

CARACTERIZACIÓN DE HIDROLIZADO PROTEICO Y FRACCIONES PEPTÍDICAS ANTIOXIDANTES OBTENIDAS DESDE DESECHOS DE CAMARÓN

¹Leiva D, ¹Martínez R, ^{1,2}Bernal C

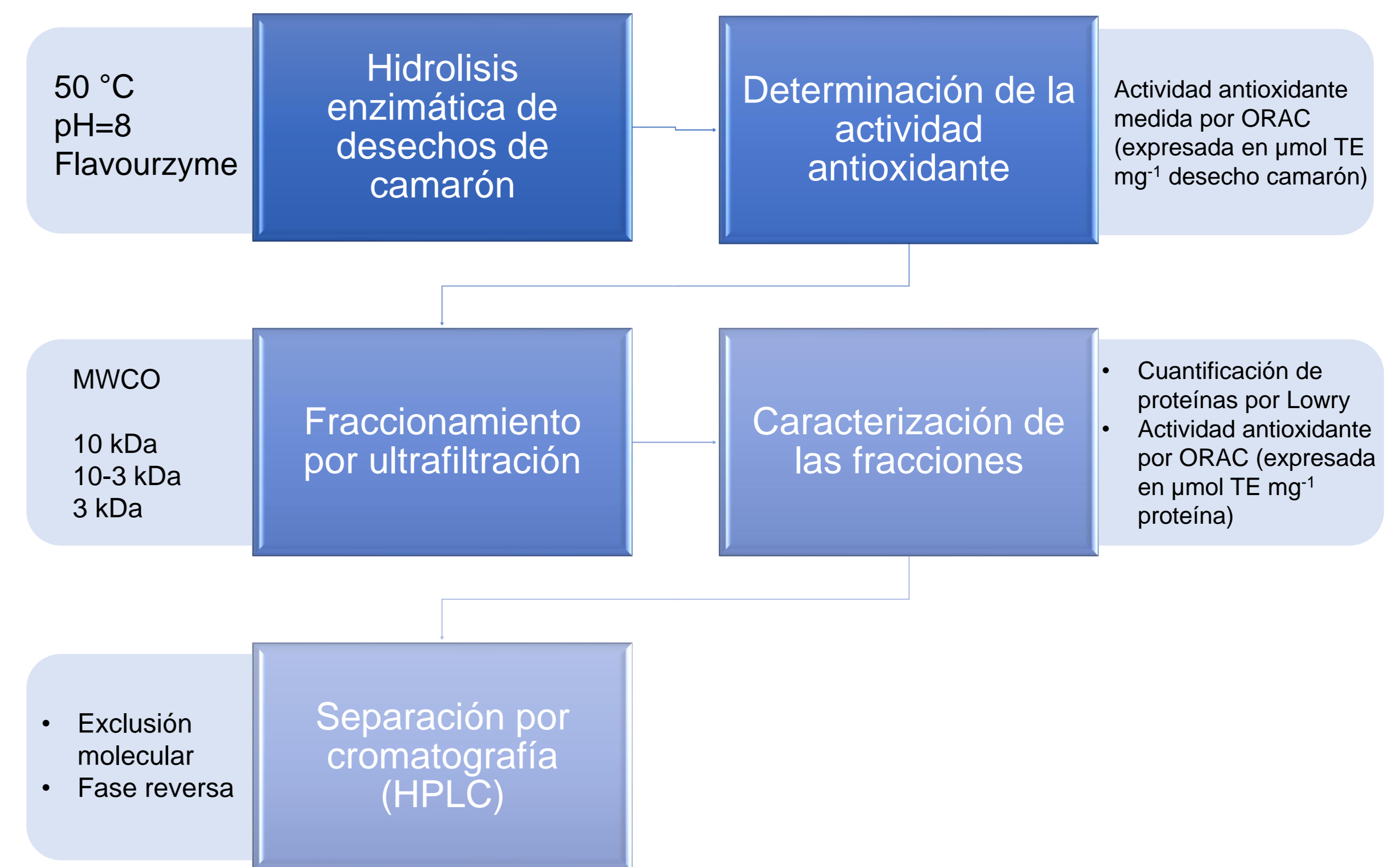


¹Tecnología enzimática para bioprocesos (TEB), Departamento de Ingeniería de Alimentos, Universidad de La Serena, Raúl Bitrán 1305, La Serena, Chile
²Instituto de Investigación Multidisciplinario en Ciencia y Tecnología, Universidad de La Serena, Raúl Bitrán 1305, La Serena, Chile

Introducción

El camarón es uno de los principales recursos de la industria pesquera a nivel mundial y representa el 17% de los ingresos pesqueros internacionales. Considerando que solo un 30% del peso del camarón se procesa y comercializa, el 70% restante se considera desperdicio, por lo que el aumento de la producción de camarón ha llevado a una mayor cantidad de subproductos del procesamiento¹. Estos residuos tienen poca o ninguna recuperación, lo que representa un desafío importante para los procesadores debido a la gran cantidad de carga orgánica presente en estos residuos, generando costos de disposición y un gran problema de contaminación ambiental. Así, la recuperación de esta materia orgánica podría reducir el coste de los tratamientos descontaminantes y supondría también una valorización de los residuos y la búsqueda de moléculas bioactivas a partir de proteínas. En los últimos años se ha considerado el uso de péptidos e hidrolizados de proteínas como fuentes antioxidantes debido a su capacidad para interactuar con los radicales libres e inhibir las reacciones oxidativas. Los antioxidantes juegan un papel importante en el cuerpo humano para reducir los procesos oxidativos y en los alimentos son uno de los principales mecanismos de defensa para proteger su calidad y extender la vida útil. El objetivo de este estudio fue producir hidrolizados antioxidantes evaluando el uso de una enzima comercial (flavourzyme), y obtener fracciones peptídicas antioxidantes.

Materiales y métodos



Resultados y discusión

La hidrólisis enzimática se realizó utilizando la enzima Flavourzyme durante 12 h, tomando muestras a diferentes tiempos (Fig 1.). El alto grado de hidrólisis (GH) obtenido se atribuye al mecanismo de escisión de la enzima utilizada. Flavourzyme es una mezcla de endo y exopeptidasas, por lo que pueden liberar aminoácidos laterales de las cadenas de proteínas o péptidos cortos (3-5 aminoácidos)², cuantificando así una mayor cantidad de aminoácidos libres y consecuentemente un mayor GH. Los resultados mostraron un incremento progresivo significativo ($p < 0.05$) de la actividad antioxidante a medida que aumenta el GH.

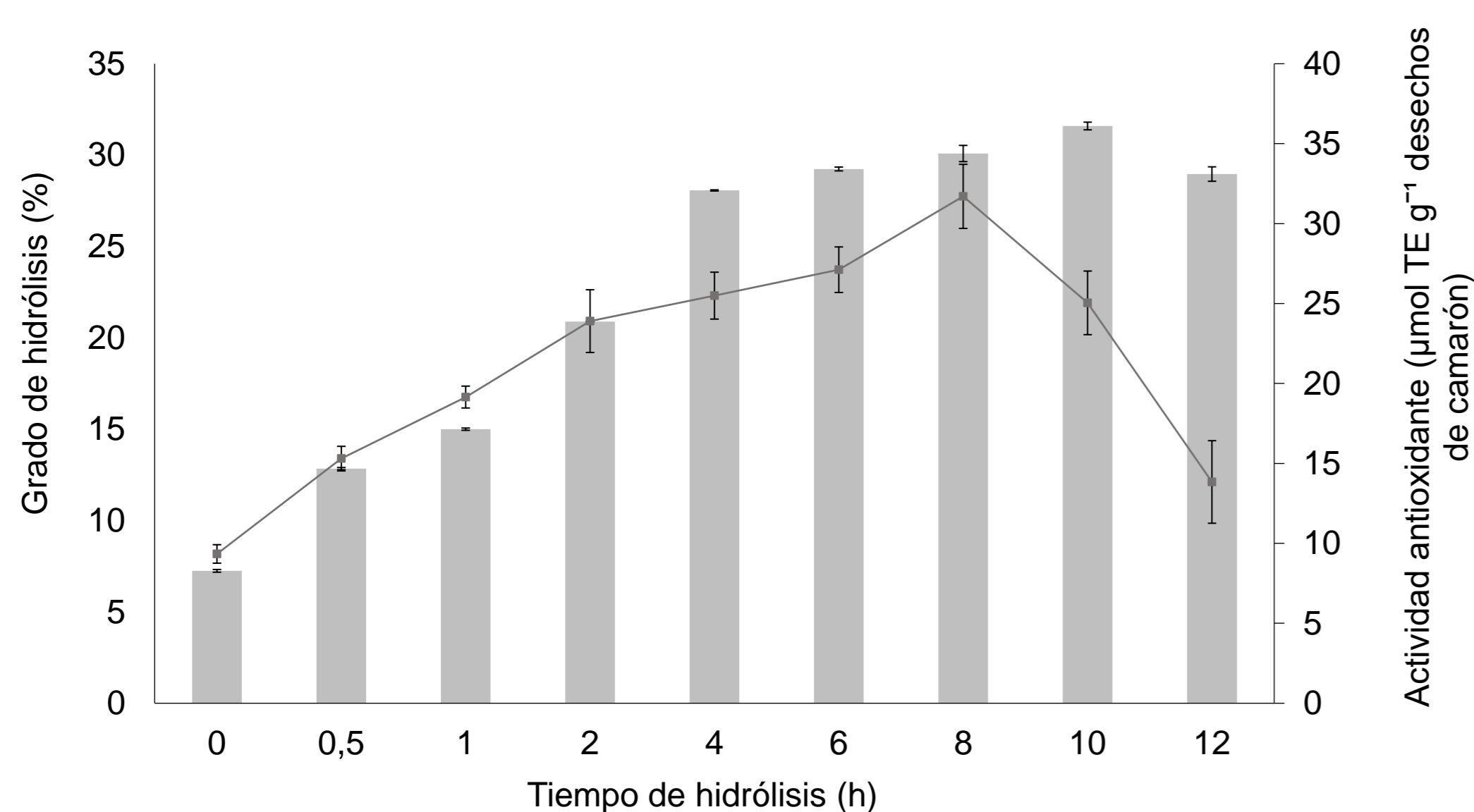


Figura 1. Grado de hidrólisis (barras) y actividad antioxidante (línea) de hidrolizado Flavourzyme durante 12 h de hidrólisis.

El valor antioxidante mas alto se obtuvo a las 8 horas (Fig. 1), evidenciándose un efecto negativo al extender la hidrólisis por mas tiempo. Probablemente porque a medida que avanza la hidrólisis, la escisión de las cadenas peptídicas produjo una degradación progresiva de las estructuras antioxidantes.

Algunas características de la estructura del péptido se han identificado como un factor para la actividad antioxidante. Los hidrolizados son mezclas complejas, por lo tanto, se necesita un método de separación adecuado para enriquecer o incluso aislar las fracciones de péptidos antioxidantes más potentes.

Mediante ultrafiltración, el hidrolizado se dividió en tres fracciones: H1 (MW>10 kDa), H2 (MW 10-3 kDa) y H3 (MW<3 kDa). La fracción H3 fue significativamente ($p < 0.05$) la fracción antioxidante más alta (Tabla 1), a pesar que el contenido de proteínas es menor que en las demás fracciones, lo que significa que en esta fracción se concentran los péptidos antioxidantes. Polipéptidos de menor tamaño se asocian a la actividad antioxidante debido a que tienen menores obstáculos estéricos que los péptidos más voluminosos, aumentando la eliminación de radicales libres.

Muestra	Contenido de proteínas (mg ml ⁻¹ muestra)	Actividad antioxidante (µmol TE mg ⁻¹ proteína)
Hidrolizado	33.8 ± 1.7 ^a	0.19 ± 0.08 ^a
Fracción >10 kDa	16.9 ± 1.0 ^b	0.48 ± 0.02 ^b
Fracción 10-3 kDa	11.5 ± 0.2 ^c	0.58 ± 0.03 ^c
Fracción <3 kDa	6.6 ± 0.1 ^d	0.91 ± 0.04 ^d

Tabla 1. Actividad antioxidante de las fracciones de hidrolizado

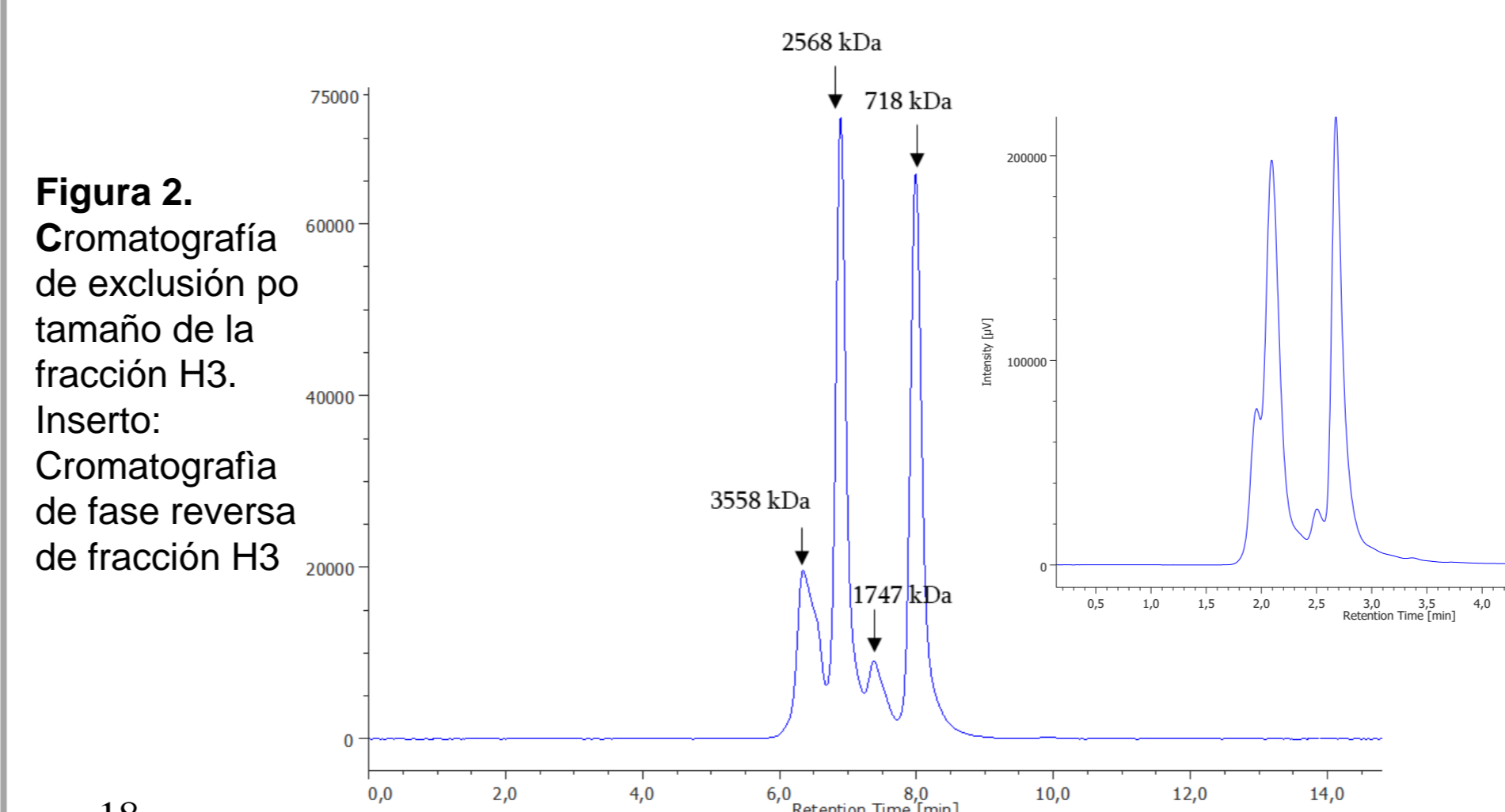


Figura 2. Cromatografía de exclusión por tamaño de la fracción H3. Inserto: Cromatografía de fase reversa de fracción H3

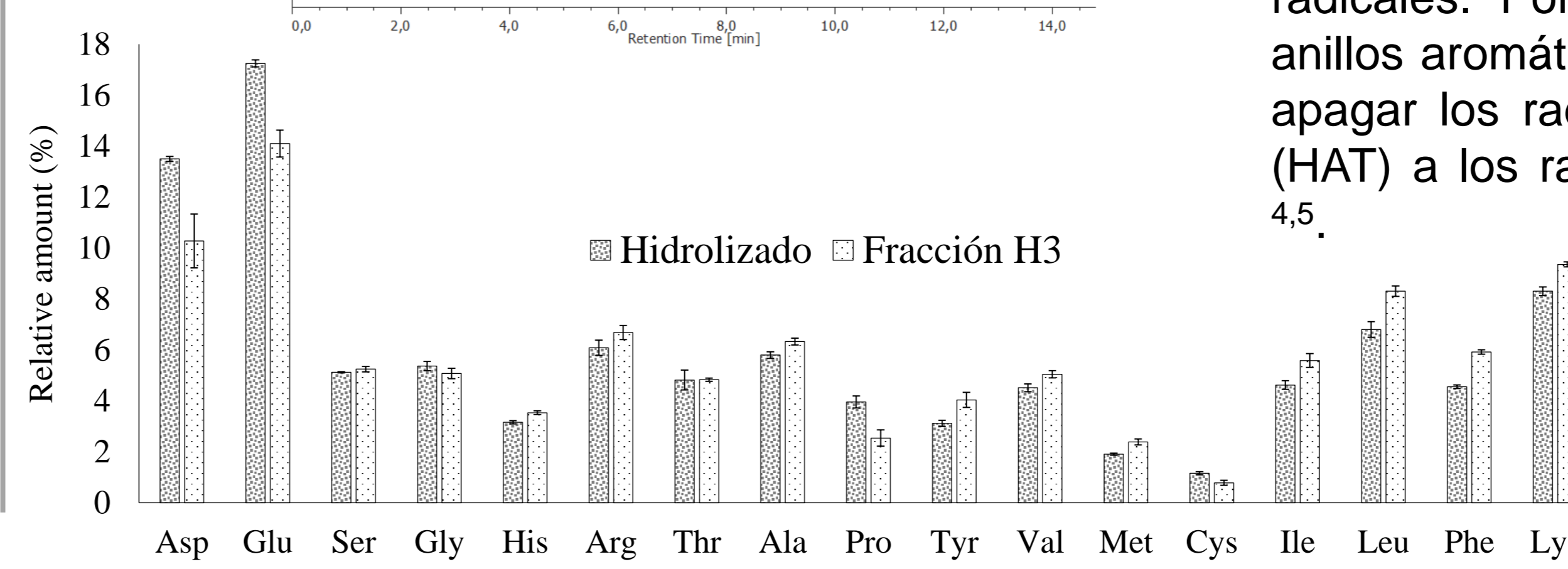


Figura 3. Perfil de aminoácidos del hidrolizado y fracción H3.

Se purificó parcialmente la fracción mediante cromatografía de exclusión por tamaño para determinar la distribución de masa molecular de los péptidos contenidos en la fracción H3. Para determinar el número de componentes presentes, se utilizó una cromatografía de fase reversa. La fracción H3 se separó en cuatro péptidos con un peso molecular de 3558, 2568, 1747 y 718 kDa (Fig. 2); o 31, 23, 15 y 6 aminoácidos respectivamente.

Además, la fracción H3 respecto al hidrolizado tiene un aumento significativo ($p < 0.05$) en la cantidad relativa de aminoácidos hidrófobos (Ala, Val, Ile, Leu y Met) y aminoácidos con anillo en su estructura química (Pro, Trp, Tyr y Phe).

Aminoácidos hidrófobos presentes en la secuencia de péptidos mejora la solubilidad en lípidos, facilitando la accesibilidad a los radicales. Por otro lado los aminoácidos con anillos aromáticos, imidazol y pirrolidina Puede apagar los radicales libres donando un protón (HAT) a los radicales deficientes en electrones 4.5.

Conclusiones

- Grado de hidrólisis es un parámetro relevante para la obtención de hidrolizados antioxidantes
- Actividad antioxidante de la fracción H3 está asociada al bajo peso molecular de los péptidos y su composición aminoacídica.
- La alta actividad antioxidante de los hidrolizados obtenidos de una fuente considerada como residuo, ofrece la posibilidad de valorización de este material que actualmente se descarta.

Referencias

- Nirmal et al. (2020). Trends in shrimp processing waste utilization: An industrial prospective. *Trends in Food Science & Technology*, 103, 20–35.
- Dhanabalan et al. (2017). Effect of processing conditions on degree of hydrolysis, ACE inhibition, and antioxidant activities of protein hydrolysate from *Acetes indicus*. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(26), 21222–21232.
- Nwachukwu & Aluko. (2019). Structural and functional properties of food protein-derived antioxidant peptides. *Journal of Food Biochemistry*. 43, 1–13.
- Elias et al. (2008). Antioxidant activity of proteins and peptides. *Critical Reviews of Food Science and Nutrition*. 48, 430–441
- Ishihara et al. (2021). Isolation of balenine from opah (*Lampris megalopsis*) muscle and comparison of antioxidant and iron-chelating activities with other major imidazole dipeptides. *Food Chemistry*, 364, 130343.

