



## OBTENCIÓN DE PEPTIDOS CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE A PARTIR DE GLUTELINAS DE SEMILLA DE CACAO (*Theobroma cacao* L.).

Erik G. Tovar Pérez, Lucía Guerrero Becerra y Eugenia Lugo Cervantes. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ), A.C. Unidad de Tecnología Alimentaria. Guadalajara, Jalisco. 44270, egtovarpe@conacyt.mx

*Palabras clave:* *Theobroma cacao* L., péptidos, capacidad antioxidante

**Introducción.** Debido a que en los últimos años, el estudio de péptidos bioactivos ha obtenido gran interés en la ciencia de los alimentos y la nutrición, se sigue en la búsqueda de nuevas fuentes para su obtención<sup>(1)</sup>. En la semilla de cacao, el componente más importante es la grasa (47 – 55%), la cual es ampliamente utilizada en la industria chocolatera, farmacéutica y de cosméticos. Además de ser una rica fuente de polifenoles y alcaloides con distinta bio-funcionalidad<sup>(2)</sup>. Después de la grasa el segundo componente mayoritario en ésta semilla es la proteína (10 – 15%), la cual podría ser aprovechada como fuente de péptidos bio-funcionales y ser una alternativa de uso, ya que hasta el momento no se han realizado estudios en esta área.

El objetivo del presente estudio fue obtener péptidos con capacidad antioxidante mediante hidrólisis enzimática de las proteínas de semilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad Forastero.

**Metodología.** A partir de harina de *Theobroma cacao* L. variedad Forastero se obtuvo el extracto seco acetónico. Se realizó la extracción (por solubilidad) de las distintas fracciones proteínicas: albúminas (*Albs*); globulinas (*Globs*); glutelinas (*Gluts*) y prolaminas (*Prols*). Posteriormente se evaluó la capacidad antioxidante (CAx) mediante los ensayos de DPPH, ABTS<sup>+</sup> y ORAC<sup>(3,4,5)</sup>. La fracción de *Gluts* (proteínas con mayor CAx) se hidrolizó con alcalasa (E:S 1:10, pH 7.5, T 50°C y tiempos entre 5 – 120 min). La purificación de los péptidos se realizó mediante ultrafiltración (M<sub>w</sub>CO 3000 Da) y FPLC. La CAx de los péptidos se evaluó con los ensayos mencionados anteriormente y se determinaron los valores EC<sub>50</sub> por análisis de regresión lineal.

**Resultados.** Las 4 fracciones proteínicas (*Albs*, *Globs*, *Gluts* y *Prols*) mostraron CAx, obteniendo valores de 3.2 – 13.5 % (DPPH), 4.2 – 8.6 % (ABTS<sup>+</sup>) y 0.07 – 0.28 TE/mg proteína (valor ORAC), siendo *Gluts* la que presentó la mayor CAx para los tres métodos. Por lo anterior, se decidió utilizar *Gluts* para la obtención de péptidos. Bajo las condiciones de hidrólisis con alcalasa, se obtuvieron valores de grado de hidrólisis (GH) entre 6 – 20 %. Todos los hidrolizados y fracciones de péptidos (< 3000 Da) presentaron CAx, obteniendo valores de 32.5 – 48.9 % (DPPH), 26.3 – 41.2% (ABTS<sup>+</sup>) y 0.52 – 1.6 TE/mg proteína (valor ORAC), observándose un aumento significativo (p<0.05) con respecto a *Gluts*. Por lo tanto, tanto el proceso de hidrólisis, como la

separación por ultrafiltración de péptidos resulto en un incremento de la CAx.

**Tabla 1.** CAx de proteínas, hidrolizados y péptidos obtenidos de la semilla de cacao.

Muestra	Capacidad Antioxidante		
	DPPH (%)	ABTS <sup>+</sup> (%)	ORAC (TE/mg proteína)
Glutelinas	13.5	8.6	0.28
Hidrolizados	32.5	26.3	0.59
Fracción de péptidos	48.9	41.2	1.58
Péptidos purificados	56.2	80.5	1.27

La mayor CAx se presentó en la fracción de péptidos obtenidos a los 15 min de hidrólisis. Esta fracción mostró 4 péptidos con M<sub>w</sub> de 2960, 1860, 997 y 535 Da. Los péptidos con M<sub>w</sub> de 2960 Da fueron los que presentaron la mayor CAx, con valores EC<sub>50</sub> de 237.5 y 19.3 µg/mL, para DPPH y ABTS<sup>+</sup>, respectivamente, similares a los obtenidos con glutatión reducido (GSH). Para el caso del ensayo ORAC, la fracción de péptidos (t= 15 min) presentó mayor actividad con respecto a los péptidos purificados, sin embargo para este método se obtuvo menor CAx con respecto al GSH.

**Conclusiones.** La fracción de *Gluts* presento mayor potencial antioxidante que las fracciones de *Albs*, *Globs* y *Prols*. Los procesos de hidrólisis enzimática, separación por ultrafiltración y purificación por FPLC incrementaron la CAx. El estudio demostró que la semilla de cacao podría ser utilizada para la obtención de péptidos antioxidantes.

### Bibliografía.

1. Singh, B. P., Vij, S., & Hati, S. (2014). Functional significance of bioactive peptides derived from soybean. *Peptides*, 54, 171–179.
2. Rusconi, M., & Conti, A. (2010). *Theobroma cacao* L. the food of the gods: a scientific approach beyond myths and claims. *Pharmacological Research*, 61, 5–13.
3. Chen, N., Yang, H., Sun, Y., Niu, J., & Liu, S. (2012). Purification and identification of antioxidant peptides from walnut (*Junglas regia* L.) protein hydrolysates. *Peptides*, 38, 344–349.
4. Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying and improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231–1237.
5. Dávalos, A., Gómez-Cordovés, C., & Bartolome, B. (2004). Extending applicability of the oxygen radical absorbance capacity (ORAC-fluorescein) assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(1), 48–54.