



## HIDROLIZADOS SUBTILISÍNICOS DE PROTEÍNAS DE SOYA. FUNCIONALIDAD DE LA FRACCIÓN SOLUBLE OBTENIDA EN LA ETAPA DE DIGESTIÓN PRIMARIA

Heidi Palma-Rodríguez, Ma. Isabel Cortes-Vázquez, Roberto Briones-Martínez. Laboratorio de Enzimología. Departamento de Biotecnología. CEPROBI-IPN. Km. 8.5. 62731 Yautepec-Jojutla. Yautepec, Morelos, México. [hpalmar@ipn.mx](mailto:hpalmar@ipn.mx)

*Palabras clave: Proteínas de soya, digestión primaria, subtilisina*

**Introducción.** El control del grado de hidrólisis combinado con la restricción de acceso al sustrato que impone el fenómeno de agregación que se presenta en las primeras fases de la digestión de las proteínas de soya con subtilisina, es una estrategia de proteólisis limitada que puede generar estructuras peptídicas solubles, cuyas estructuras interesan como funcionalidades realizadas y/o nuevas alternativas de productos bioactivos. Se ha demostrado que las proteínas aisladas de soya, hidrolizadas con subtilisina Carlsberg, son digeridas muy rápidamente en los primeros 20-70 min, produciendo fragmentos con pesos moleculares (PM) <16 kDa que coagulan (1). Se ha propuesto un modelo con una etapa digestión primaria en la que subtilisina digiere las proteínas indiscriminadamente; produciendo dos tipos de fragmentos: uno de alto PM, >16 kDa; y otro de bajo PM, <16 kDa. Después de la digestión primaria la enzima hidroliza ambos fragmentos en la etapa de digestión secundaria, siendo hasta las 24 h que desaparecen esos coágulos insolubles.

En el presente trabajo interesó separar y analizar la funcionalidad de la fracción peptídica soluble que se obtiene bajo condiciones de reacción que incluyen: grados de hidrólisis bajos (GH) y el empleo de una proteasa, cuya forma de acción o especificidad propicia reacciones tempranas de agregación del sustrato y/o de los productos de la digestión, como es el caso de la subtilisina (Alcalasa de Novozymes), enzima con la que se induce un fenómeno de coagulación que constituye una limitación adicional a la susceptibilidad enzimática,

**Metodología.** Se sometieron a hidrólisis proteínas de soya (aislado, APS) empleando subtilisina (Alcalasa de Novozymes) grado alimentario: Vr= 500ml, [S]=4 y 6%, [E]=0.25%, pH=8, tr=0-3 T=55°C. Las mezclas de hidrólisis a 0, 1, 2, y 3 h, se centrifugaron, y a los sobrenadantes se les determinó el perfil de solubilidad en función del pH, la actividad antioxidante AOX (2) y el contenido de fenoles totales por el método de Folin-Cicalteu.

**Resultados.** En los hidrolizados subtilisínicos de las proteínas de soya se observó disminución de la proteína soluble (Bradford) contenida en el sobrenadante conforme avanzó el GH o tiempo de reacción de 0-3 h (Fig. 1); infiriéndose fue resultado de una rápida hidrólisis extensiva y formación de agregados insolubles. Las modificaciones observadas en la gama de pH alcalina, aparentemente, son indicativas de cambios en el tamaño de los polipéptidos, según muestran los datos obtenidos con Bradford. Indirectamente representan la degradación de polipéptidos de alto PM a péptidos <5 kDa. Los límites de detección del método de Bradford están en los 5 kDa; es decir, fue posible medir las proteínas >5 kDa, dando así seguimiento a la desaparición de sustrato durante el tiempo de hidrólisis ensayado: la disminución observada al aumentar el GH, indirectamente nos informa, por diferencia, la aparición de péptidos con PM <5 kDa, los cuales no son detectados por ese método.

La AOX de las proteínas o péptidos de las fracciones solubles obtenidas en la fase de agregación que se presenta en la digestión

primaria, fueron mayores en los hidrolizados de 3 h, en los dos niveles de concentración de sustrato ensayados (Fig. 2). El incremento de la AOX al aumentar el GH coincide con el incremento de fenoles totales.

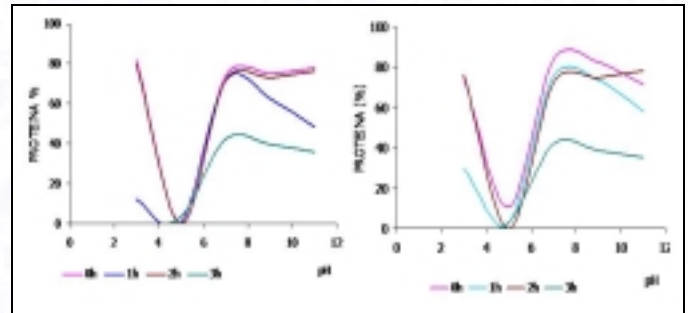


Fig. 1 Perfiles solubilidad-pH de hidrolizados subtilisínicos. Fig. izq.: [S]= 4%. Fig. izq.: [S]= 6%.

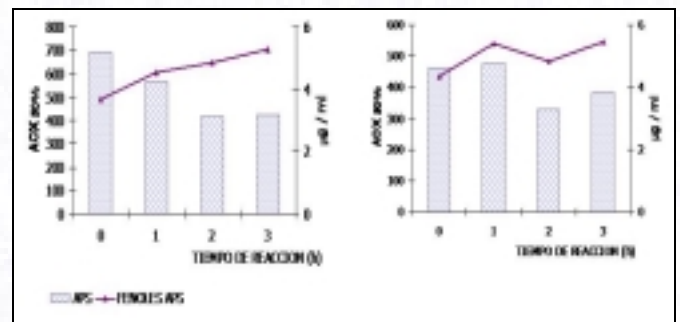


Fig. 2. AOX y fenoles totales de hidrolizados subtilisínicos. Fig. izq.: [S]= 4%. Fig. izq.: [S]= 6%.

**Conclusiones.** La proteólisis limitada de las proteínas de soya, con subtilisina en la etapa de agregación o de digestión primaria proporciona un sistema en el que se pueden generar estructuras peptídicas solubles, contenidas en los sobrenadantes de las mezclas de reacción, que correspondan a propiedades funcionales y/o bioactividades realizadas; como es el caso de la AOX que se analizó en el presente trabajo.

**Agradecimientos.** Financiamiento SIP-IPN 2006-0669. FOMIX-CONACYT-GOB. CAMP-2003-8991, del que Palma-Rodríguez fue tesista-becaria de licenciatura; actualmente es becaria PIFI-IPN de nivel maestría. Briones-Martínez y Cortés-Vázquez son Becarios EDI-IPN y SIBE-IPN.

### BIBLIOGRAFIA

- Inouye, K., Nagai, K., y Takita, T. 2002 Coagulation of Soy Protein Isolates Induced by Subtilisin Carlsberg J. Agric. Food Chem, 50, 1237-1242.
- von Gadow, A., E. Joubert, and C.F. Hansmann. 1997. Comparison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*), alpha-tocopherol, BHT, and BHA. J. Agric. Food Chem. 45:632-638.