

A dark green map of Iberoamerica (Spain, Portugal, and Latin America) is overlaid on a dark blue background. The map shows the outlines of the continents and countries in a slightly lighter shade of green.

INGREDIENTES BIOACTIVOS Y ALIMENTOS FUNCIONALES EN IBEROAMÉRICA

Ed.: Javier Fontecha, 2013

ANEXO: Jornadas CYTED-IBEROFUN SOBRE:
Ingredientes bioactivos y alimentos funcionales en Iberoamérica
CUBA, JUNIO 2012





**INGREDIENTES
BIOACTIVOS Y ALIMENTOS
FUNCIONALES EN
IBEROAMÉRICA**

INGREDIENTES BIOACTIVOS
Y ALIMENTOS FUNCIONALES
EN IBEROAMERICA
ISBN: 978-84-15413-20-2

Ed.: Javier Fontecha, 2013

INGREDIENTES
BIOACTIVOS Y ALIMENTOS
FUNCIONALES EN
IBEROAMÉRICA

ANEXO: Jornadas CYTED-IBEROFUN SOBRE:
Ingredientes bioactivos y alimentos funcionales en Iberoamérica
CUBA, JUNIO 2012

Editor: **F. Javier Fontecha Alonso**

Autores: F. Javier Fontecha, Juan Miguel Rodríguez Patino y Cecilio Carrera Sánchez, Nivia Cárdenas, Virginia Martín, Susana Delgado, Juan Miguel Rodríguez, Leónides Fernández, Lucía de La Hoz L., Marcelo Morgano, María Teresa Bertoldo Pacheco, Daniel Martínez Maqueda, Paula Copovi, Isidra Recio, José A. Pérez-Álvarez, M. Viuda-Martos, E. Sánchez-Zapata, A. Martín-Sánchez, Y. Ruiz-Navajas, E. Sayas-Barberá, C. Navarro, E. Sendra, J. Fernández-López, Débora Barbosa Vendramini-Costa e João Ernesto de Carvalho, Rodrigo Jiménez-Saiz, Carlos Pineda-Vadillo, Rosina López-Fandiño, Elena Molina, Amorim, M. M., Pereira, J. O., Pereira, C. D., Carvalho, J. E. & Pintado, M.E., María del Pilar Castro-Gómez Luis M. Rodríguez-Alcalá, María Visitación Calvo, Manuela Juárez, Moreno FJ, Villamiel M, Díez-Municio M, Corzo-Martínez M, Olano A, Corzo N., Montilla A, Guerrero Legarreta, I.; Guzmán-García, X.; García Barrientos, R.; Hernández-Calderas, I.; Gonzales-Rebollar, S. y Matadamas-Guzmán, M., Hernández-Sámano, Jerónimo-Juárez, J.R., Nopaltitla-Delgadillo, M., Minor-Pérez, H., Hernández-Hernández, E., Savoy de Giori, Graciela; Laviño, Jonathan; Juárez del Valle, Marianela; Font de Valdez, Graciela; Taranto, María Pia; LeBlanc, Jean Guy; Sesma, Fernando, Carolina Cueva, M. Victoria Moreno-Arribas y Begoña Bartolomé, Rey Gutiérrez Tolentino, Salvador Vega y León, Jorge Luis Ruiz Rojas, Alberto Yamazaki Maza, Acacia Ramírez Ayala, Marcela Ortiz Romero, Beatriz Schettino Bermúdez, Rutilio Ortiz Salinas, Marta Coronado Herrera, Muñoz L. A., Aguilera J.M., Martínez-Cuesta, M.C, Bustos, I., García-Cayuela, T., Barroso, E., Peláez, C., Requena, T., Almudena García-Ruiz, Begoña Bartolomé y M. Victoria Moreno-Arribas, Carolina Cueva, M. A. Brizuela, Heidi Pérez, P. Serrano, G. Bueno, G. Delgado, J. Piloto, D. Camps, G. de Armas, K. Tortoló, M. Ibañez.

ÍNDICE GENERAL

Introducción

Ingredientes bioactivos y alimentos funcionales en el marco del Proyecto CYTED-IBEROFUN <i>Javier Fontecha (Coordinador del Proyecto)</i>	10
1. Función de la ingeniería interfacial en los procesos tecnológicos y biológicos implicados en el consumo y digestión de dispersiones alimentarias <i>Juan Miguel Rodríguez Patino y Cecilio Carrera Sánchez</i>	11
2. Utilidad de bacterias lácticas aisladas de leche humana para la elaboración de productos lácteos funcionales <i>Nivia Cárdenas, Virginia Martín, Susana Delgado, Juan Miguel Rodríguez, Leónides Fernández</i>	18
3. Identificación de péptidos de suero lácteo con capacidad quelante de hierro. <i>Lucía de La Hoz L., Marcelo Morgano, María Teresa Bertoldo Pacheco, Daniel Martínez Maqueda, Paula Copovi, Isidra Recio</i>	24
4. Compuestos bioactivos obtenidos a partir de co-productos agroalimentarios de origen mediterráneo <i>José A. Pérez-Álvarez, M. Viuda-Martos, E. Sánchez-Zapata, A. Martín-Sánchez, Y. Ruiz-Navajas, E. Sayas-Barberá, C. Navarro, E. Sendra, J. Fernández-López</i>	31
5. Câncer, Inflamaçãõ e Produtos Naturais <i>Débora Barbosa Vendramini-Costa e João Ernesto de Carvalho</i>	38
6. Digestibilidad y alergenicidad de la proteína termoestable s-ova formada durante el almacenamiento de los huevos <i>Rodrigo Jiménez-Saiz, Carlos Pineda-Vadillo, Rosina López-Fandiño, Elena Molina</i>	44
7. Extractos peptídicos obtenidos por hidrólisis de proteínas lácteas y levaduras con actividades funcionales <i>Amorim, M. M., Pereira, J. O., Pereira, C. D., Carvalho, J. E. & Pintado, M.E.</i>	50
8. La membrana del glóbulo graso lácteo como fuente de lípidos polares bioactivos <i>María del Pilar Castro-Gómez Luis M. Rodríguez-Alcalá, María Visitación Calvo, Manuela Juárez y Javier Fontecha</i>	57
9. Obtención y caracterización de nuevos oligosacáridos bioactivos a partir de permeados de suero de quesería <i>Moreno FJ, Villamiel M, Díez-Municio M, Corzo-Martínez M, Olano A, Corzo N., Montilla A.</i>	64
10. Estudios histológicos y bioquímicos de las principales fuentes marinas potencialmente utilizables <i>Guerrero Legarreta, I.; Guzmán-García, X.; García Barrientos, R.; Hernández-Calderas, I.; Gonzales-Rebollar, S. y Matadamas-Guzmán, M.</i>	70

11. Purificación parcial y caracterización de Enzimas proteolíticas de <i>cyprinus sp.</i> <i>Hernández-Sámamo, R. García-Barrientos, X. Guzmán-García, I. Guerrero-Legarreta.....</i>	77
12. Estudio ecotoxicológico y capacidad antioxidante de proteínas sarcoplásmicas y miofibrilares de la almeja <i>Jerónimo-Juárez, J.R., García-Barrientos, R., Nopaltitla-Delgadillo, M., Minor-Pérez, H., Hernandez-Hernandez, E., Guerrero-Legarreta I.; Guzmán-García, X.; González-Rebollar, S. y Matadamas-Guzmán, M.</i>	84
13. Bacterias lácticas productoras de biomoléculas, como innovación tecnológica, para la obtención de alimentos funcionales <i>Savoy de Giori, Graciela; Laiño, Jonathan; Juarez del Valle, Marianela; Font de Valdez, Graciela; Taranto, María Pia; LeBlanc, Jean Guy; Sesma, Fernando</i>	89
14. <i>Rhizophora mangle L</i> un producto natural con alta potencialidad para el desarrollo de alimentos funcionales y suplemento nutricionales <i>Arturo Escobar, Roberto Faure, Dayana Sosa Pacheco, Yanet Sánchez, Luz Maria Sánchez, Evangelina Marrero; Elizabeth de Armas y Salvador Vega y León.....</i>	92
15. Contenido de ácidos grasos de leche orgánica producida en Tecpatán, (Chiapas, México) <i>Rey Gutiérrez Tolentino, Salvador Vega y León, Jorge Luis Ruiz Rojas, Alberto Yamazaki Maza, Acacia Ramírez Ayala, Marcela Ortiz Romero, Beatriz Schettino Bermúdez, Rutilio Ortiz Salinas, Marta Coronado Herrera</i>	97
16. Matrices alimentarias funcionales <i>Muñoz L. A., Aguilera J.M.</i>	104
17. Interacción de polifenoles de la dieta con la microbiota y el epitelio intestinales <i>Martínez-Cuesta, M.C. *, Bustos, I., García-Cayuela, T., Barroso, E., Peláez, C., Requena, T.</i>	110
18. Importancia de la microbiota intestinal en la obesidad <i>T. Requena, M.C. Martínez-Cuesta, E. Barroso, T. García-Cayuela, C. Peláez</i>	116
19. Polifenoles como antimicrobianos naturales en el control del crecimiento de bacterias lácticas en vinos: eficacia tecnológica y mecanismos bioquímicos y moleculares implicados <i>Almudena García-Ruiz, Begoña Bartolomé y M.Victoria Moreno-Arribas.....</i>	123
20. Modulación de la microbiota humana por polifenoles del vino <i>Carolina Cueva, M.Victoria Moreno-Arribas y Begoña Bartolomé</i>	130
21. Microorganismos bioactivos (probióticos y mezclas simbióticas) como ingredientes alimenticios mejoradores de la alimentación y salud animal y humana. <i>M. A. Brizuela, Heidi Pérez, P. Serrano, G. Bueno, G. Delgado, J. Piloto, D. Camps, G. de Armas, K. Tortoló, M. Ibañez</i>	137
22. Utilización de <i>Lactobacillus casei</i> y <i>Lactobacillus acidophilus</i> en la elaboración de productos lácteos con características probióticas <i>Hernández, Aldo</i>	143

23. Prebiótico y probiótico un impacto en la salud animal y humana <i>Lilian Sánchez, Miriam Pedroso, Jovier Vichi Estrada, Dulce María Soler, Ana María Acebe y J. Lavielle.....</i>	148
24. Elaboración de una bebida de lactosuero fermentada con cultivos probióticos <i>Migdalia Caridad Arazo Rusindo, Aldo Hernández Monzón, Cira Duarte, Yeilet Alejo Batista</i>	154
25. Desarrollo de un biocatalizador para la producción de fructooligosacáridos (FOS) de alto efecto prebiótico y con aplicaciones potenciales en Cuba <i>Luis E. Trujillo, Enrique R. Pérez, Duniesky Martínez, Carmen Menéndez, Ricardo Ramírez, Alina Sobrino, Lázaro Hernández</i>	160
26. Suplemento dietético ferrical®: nueva solución a las anemias por déficit de hierro <i>García Cáceres, Cesar; Álvarez Camero, Mercedes</i>	166
27. Formación de jueces analíticos para la evaluación sensorial de leche fermentada marca paraíso <i>Ivonne García; Julia Esninosa; Ada Manresa</i>	170
28. Composición fitoquímica de fuentes vegetales regionales: productos naturales potencialmente bioactivos de plantas tropicales <i>Idania Scull, Lourdes Savón, Yusmely Ramos</i>	177
29. Microorganismos funcionales: efectos de tipo probiótico en pollos de ceba <i>Yaneisy García *, Mayriulis Pérez, Yanelys García, Ramón Boucourt, Bárbara Rodríguez, Nereyda Albelo, Odalys Núñez, Milagro Febles y Aida Noda</i>	184
30. Fructanos de henequén: características químicas y propiedades funcionales <i>Yanelys García Curbelo, Mercedes Guadalupe López, Ramón Bocourt Salabarría, Zoraya Rodríguez, Lourdes L.Savón.....</i>	190

ANEXO

SESION DE POSTERS

1. Levaduras como fuente proteica para formación de complejos con hierro de la Hoz, Lucia; Milani, F.Rachel; Ponesi, Alexandre; Silva, Vera S.Nunes; Souza, Ap. Sonia; Bertoldo-Pacheco, Maria Teresa	197
2. Ácidos grasos, fosfolípidos y salud: ensayos en lipidoma animal, celular y humano <i>Rodríguez-Alcalá, L.M, Castro-Gómez, P., Calvo, M.V. y Fontecha, J*</i>	199
3. Estudio ecotoxicológico y capacidad antioxidante de proteínas sarcoplásmicas y miofibrilares de la almeja <i>Jerónimo-Juárez, J.R., García-Barrientos, R., Nopaltitla-Delgadillo, M., Minor-Pérez, H., Hernandez-Hernandez, E., Guerrero-Legarreta I.; Guzmán-García, X.; González-Rebollar, S. y Matadamas-Guzmán, M</i>	201

4. Purificación parcial y caracterización de Enzimas proteolíticas de <i>cyprinus sp.</i> <i>Hernández-Sámamo, R. García-Barrientos, X. Guzmán-García, I. Guerrero-Legarreta</i>	202
5. Extracción de colágeno, colágeno hidrolizado y gelatina de las escamas de la sardina y caballa desechadas en el proceso de enlatado <i>Vincenza Ferraro, Paula Castro e Manuela E. Pintado</i>	203
6. Impacto del procesamiento en extractos acuosos secos de arándanos <i>Silva, S.; Costa, E.M.; Pereira, M.F.; Costa, M.R.; Morais, R.M.; Pintado, M.E. *</i>	204
7. Desarrollo de un biocatalizador termoestable para la producción de azúcar invertido <i>Carmen Menéndez</i>	205
8. Suplemento nutricional Vimang. De la etnomedicina a la investigación en el desarrollo de productos fitofarmacéuticos <i>Carmen I. Morales Paneque, Mariela M. Guevara García, Sirley González Laime</i>	206
9. Desarrollo de una leche fermentada con cualidades beneficiosas <i>García Ivonne, Medina Regla M., Espinosa Julia</i>	207

PURIFICACIÓN PARCIAL Y CARACTERIZACIÓN DE ENZIMAS PROTEOLÍTICAS DE *Cyprinus sp.*

Anaís Hernández-Bámano*, Xochitl Guzmán-García, Riquelme García-Barraltoy*, Isabél Guerrero-Legarreta*,
*Departamento de Biotecnología, †Departamento de Hidrobiología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, C.P. 09340, México D.F., México. †Universidad Politécnica de Tlaxcala, C.P. 90180, San Pedro Xalcatzínco, Tepeyanco, Tlaxcala, México.
*e-mail: anaiz5@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

Cuando se intentan comprender los procesos químicos en las células y organismos, sus interacciones y cambios, es preciso estudiar sus diversos constituyentes, identificarlos y estudiar sus estructuras y propiedades. Por lo tanto, para pasar a un material purificado, se suelen utilizar diversas técnicas de purificación de modo secuencial. El estudio de enzimas marinas ha sido de interés ya que se han adaptado a diferentes condiciones, lo que se ha traducido en proteasas con propiedades únicas. Algunas de estas enzimas están en función de temperatura, pH, salinidad, intensidad de luz y oxígeno (Hwang y col., 2000). El uso de proteasas marinas en la industria es limitado por la escasez de información básica sobre ellas. Uno de los organismos estudiados es la carpa, que pertenece a la familia Cyprinidae (Linnaeus, 1758). Esta se distribuye en ríos de África, Eurasia y Norteamérica (desde el norte de Canadá hasta el sur de México). El objetivo de este trabajo fue purificar parcialmente el extracto proteolítico de la piel de *Cyprinus sp.* y estudiar el efecto del pH sobre la actividad enzimática, así como identificar las proteínas presentes mediante electroforesis (SDS-PAGE).

METODOLOGÍA

Se capturaron carpas (*Cyprinus sp.*) de 30 a 35 cm y 1 kg, en la Laguna de Zumpango, Estado de México. Se obtuvieron extractos proteolíticos por homogenización del tejido con amortiguador de fosfatos 20 mM pH 7 y centrifugación a 10,000 rpm por 30 minutos a 4 °C. Se realizó fraccionamiento con sulfato de amonio saturado al 20 %, 50 % y 80 % (Scopes, 1993). Se diluyó frente a agua desionizada por 48 horas a 4 °C con recambio cada 8 horas. Se concentró cada fracción por ultrafiltración con membranas con diámetro de corte de 100 kDa. Se determinó la concentración de proteína por el método de Bradford y se midió el efecto de pH (2-10) sobre la actividad proteolítica reportándose como actividad específica (UAP/mg_{proteína}) (Yamaguchi y col. 1963) usando como sustrato hemoglobina y caseína al 1 %, por los métodos de Anson (1938) y Kunitz (1947), respectivamente. Finalmente, por medio de electroforesis, se identificaron las proteínas presentes y se estimaron los pesos moleculares de acuerdo al método de Laemmli (1970).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El extracto crudo mostró una alta especificidad de actividad proteolítica a pH 2-10, excepto los valores significativos ($p < 0.0001$) a pH de 5 y 7, con una concentración de proteína alrededor de 11 mg_{proteína}/mL. Las proteínas precipitadas con (NH₄)₂SO₄ saturado al 20 % tuvieron picos a pH 5, 8 y 10, mientras que en las fracciones al 50 % y 80 % según lo control a pH 5. Estas 2 últimas fracciones mostraron perfiles de actividad similares, con picos a pH 6, sin embargo, la fracción al 80 % llevó un incremento a pH 8 (Figura 1). Las especies carbohidratos poseen regiones ricas de actividad de proteasas ácidas que las hidrolizan (Jones y col. 1993) por lo que la homogeneidad de actividad enzimática puede explicarse al ser la carpa una especie omnívora. La ultrafiltración menor a 100 kDa de la precipitación al 50 % fue la que tuvo mayor actividad proteolítica significativa en pH 5-8 (Figura 2) con 8.63 mg_{proteína}/mL. El extracto crudo presentó 10 proteínas de 10-105 kDa (Figura 3). Estas proteínas prevalecieron en las fracciones, destacando 3 proteínas de 21-26 kDa. Las proteínas de 11 kDa precipitaron a una concentración de 50 y 80 %, y las proteínas de 30 kDa solo a 80 %, lo cual demuestra el colapso de la solubilidad de estas proteínas al aumentar la fuerza iónica del medio.

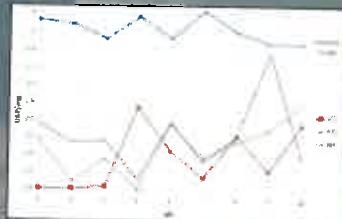


Figura 1. Actividad específica de extracto crudo de la piel de *Cyprinus sp.* y fracciones precipitadas con (NH₄)₂SO₄ al 20, 50 y 80 %.

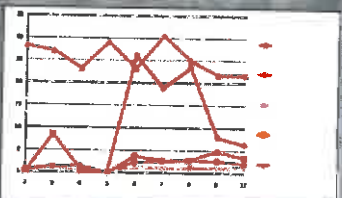


Figura 2. Perfil de actividad específica de extracto crudo de la piel de *Cyprinus sp.* y fracciones concentradas por ultrafiltración.



Figura 3. Perfil electroforético del extracto crudo de la piel de *Cyprinus sp.* y las fracciones precipitadas con (NH₄)₂SO₄.

CONCLUSIÓN

El extracto enzimático crudo de la piel de *Cyprinus sp.* se mostró estable a los cambios de pH en el medio de reacción, a su embargo tuvo valores significativos ($p < 0.0001$) a pH ácido (pH 5) y neutro. El extracto purificado parcialmente que fue seleccionado fue la subfracción menor a 100 kDa precipitada con (NH₄)₂SO₄ saturado al 50 %, con actividad óptima en el rango de pH 5-8. El extracto crudo presentó 13 proteínas (10-105 kDa) con embargo la subfracción seleccionada no presentó la proteína de 30 kDa (solo presente al 80 %) lo cual demuestra que esta proteína es más hidrofóbica. Por medio de ultrafiltración, se seleccionaron en estudios posteriores cuales son las proteínas importantes del comportamiento analizado en el estudio de actividad proteolítica a diferentes pH. Por lo tanto, los resultados obtenidos permitirán la realización de un estudio más específico sobre la purificación y caracterización de las proteínas presentes en *Cyprinus sp.*, esperando tener las bases para posibles aplicaciones industriales.

EXTRACCIÓN DE COLÁGENO, COLÁGENO HIDROLIZADO Y GELATINA DE LAS ESCAMAS DE LA SARDINA Y CABALLA DESECHADAS EN EL PROCESO DE ENLATADO

Vincenza Ferraro, Paula Castro e Manuela E. Pintado*

CBQF/Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa, Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 4200-072 Porto, Portugal mpintado@porto.ucp.pt

La demanda de consumo de sardina y caballa en conserva es muy alta entre la población mediterránea. Gran cantidad de subproducto y residuos se generan a lo largo del proceso de enlatado de estas especies, ya que el pescado enlatado final llega al consumidor como un producto pronto para el consumo. La parte descartable como las cabezas, vísceras, escamas, huesos, piel y carne residual constituyen cerca de 40-50% del peso total del pescado.

Las escamas son una fuente importante de colágeno de tipo I, que puede ser después hidrolizado a la gelatina por calentamiento o a péptidos de colágeno por un tratamiento enzimático. La extracción de colágeno se llevó a cabo por varios pasos que consisten en la eliminación de proteínas no colágenas, desmineralización, tratamiento ácido y precipitación de fracciones de colágeno. Proteínas no colágenas se separaron por una solución de 10% de NaCl durante 3 días a 4 °C, en una proporción de 1:3 con 350 g de escamas. Una cantidad de proteínas no colágenas de ca. 1.3 g/L se encontró en el lavado de la solución después del tratamiento. La desmineralización de hasta 90% se logró mediante EDTA 0,5 M durante 3 días a 4 °C en una proporción de 1:1 con escamas. El tratamiento ácido con 0,5 M de ácido acético se llevó a cabo durante 5 días a 4 °C, en una relación 1:2 con escamas.

La cantidad de proteína solubilizada fue de aprox. 30 g/L consistiendo 7 ca. g/L de ácido soluble en colágeno y ca. 23 g/L de colágeno no soluble que se recuperó por centrifugación a 4 °C, 5000 rpm, 1 h. Esta fracción fue tratada con pepsina para obtener atelo-colágeno y puede ser también procesada para obtener gelatina no soluble. Colágeno soluble en ácido se recuperó por "salting-out" con 2.5 M de NaCl. El efecto de secado por *spray-drying*, en lugar del "salting-out" sobre la reología se está estudiando.

La gelatina se obtuvo por calentamiento de escamas a 70-90 °C en una relación 1:2 con agua durante 5 horas, después de un paso de desmineralización, como se ha descrito anteriormente. Una cantidad de aprox. 70 g/L de gelatina se encuentra en solución.

Dos tipos de hidrolizados de colágeno se obtuvieron mediante un tratamiento enzimático de colágeno y gelatina. Una cantidad de 1 g/L de pepsina (1:60000) se añadió a la solución ácida de colágeno y a la solución de gelatina, durante 1 hora a 40 °C, o alternativamente, durante 24 horas a 4 °C. Los resultados revelaron una mayor cantidad de péptidos biológicamente activos (<10000 Da) en la solución de gelatina hidrolizada.

Los resultados para efecto antihipertensivo sugieren que toda la solución hidrolizada debe ser ultrafiltrada (<3000 Da) con el fin de aislar y concentrar los péptidos responsables de la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ACE).