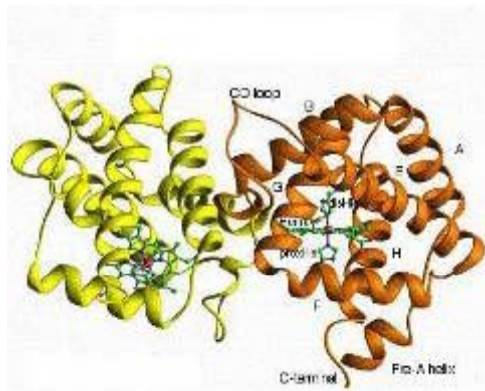


# ALIMENTOS FUNCIONALES. FUENTES NATURALES DE PEPTIDOS BIOACTIVOS

Maria Cristina Añon



CIDCA  
CONICET - UNLP  
La Plata, Argentina

# Componentes presentes en alimentos funcionales

Fibra dietética

Azúcares de baja energía

Fitoesteroles

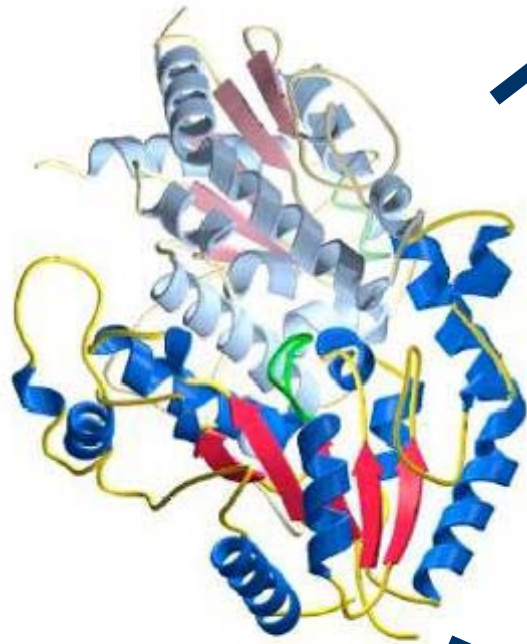
Ácidos grasos insaturados

Vitaminas y minerales

Antioxidantes

Probióticos

# Proteínas



**Propiedades Nutricionales**  
materia y aas esenciales

**Propiedades Funcionales**  
de hidratación, espumantes,  
emulsificantes, gelificantes,  
etc.

**Propiedades Biológicas**  
ingredientes potenciales que  
promueven la salud del  
consumidor

# Proteínas bioactivas en leche



## Enzimas

Lactoperoxidasa,  
lisozima, xantioxidasa,  
glucosaoxidasa, etc.

## Acción protectora

Inmunoglobulinas,  
lactoferrina,  
transferrina,  
proteosa-peptona

## Factores de crecimiento

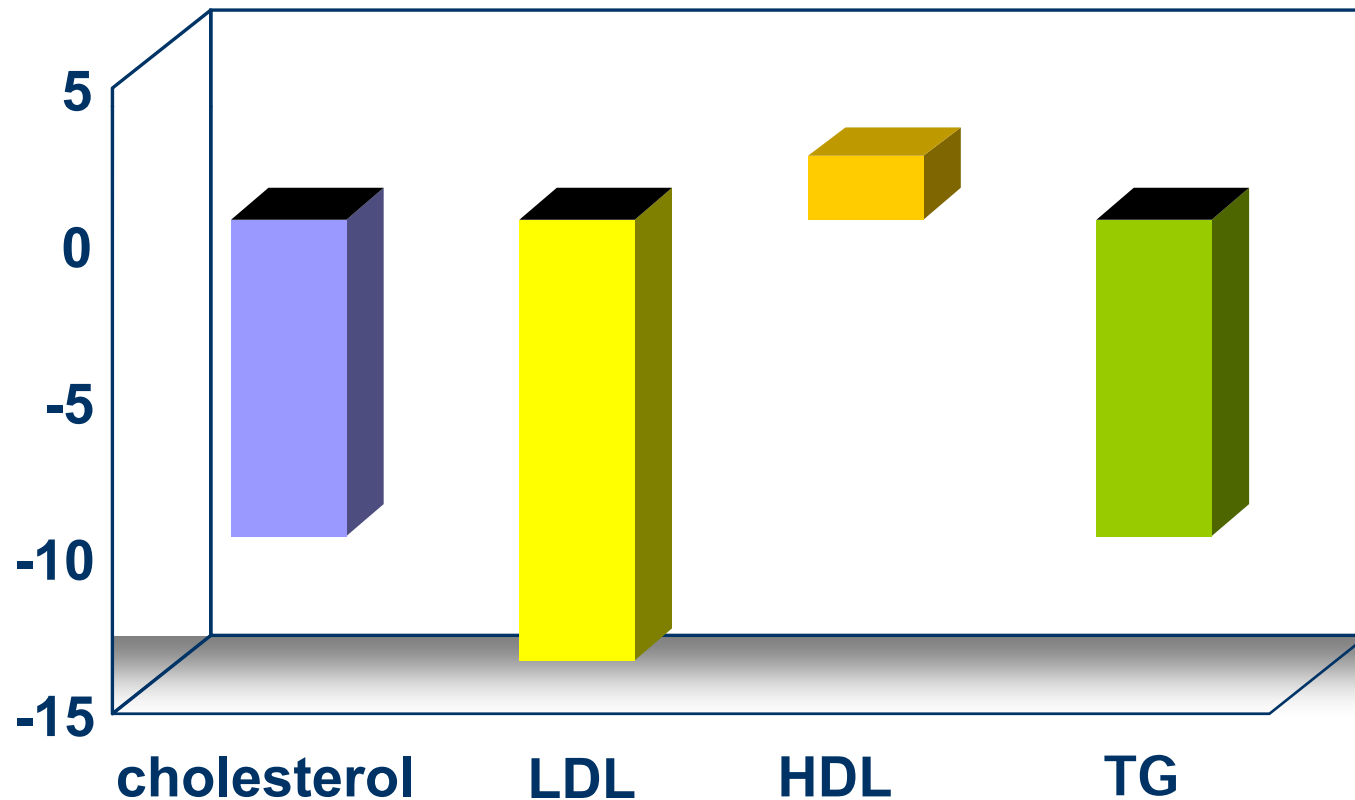
EGF, TGF, IGF-1

## Hormonas

Calcitonina, insulina,  
prolactina, relaxina, etc.

# Metabolismo lipídico

Estudios clínicos en humanos - Meta-análisis  
Efecto de dietas a base de proteínas de soja



Anderson et al. (1995)

# ¿Cuál es el mecanismo responsable?

Cultivo celular de hepatoma humano  
Hep G2 + globulina 7S

Activación de receptores LDL- Captura y  
degradación de LDL en f(dosis)

Subunidades  $\alpha'$  y  $\alpha$  de  $\beta$ -conglucina

PÉPTIDO

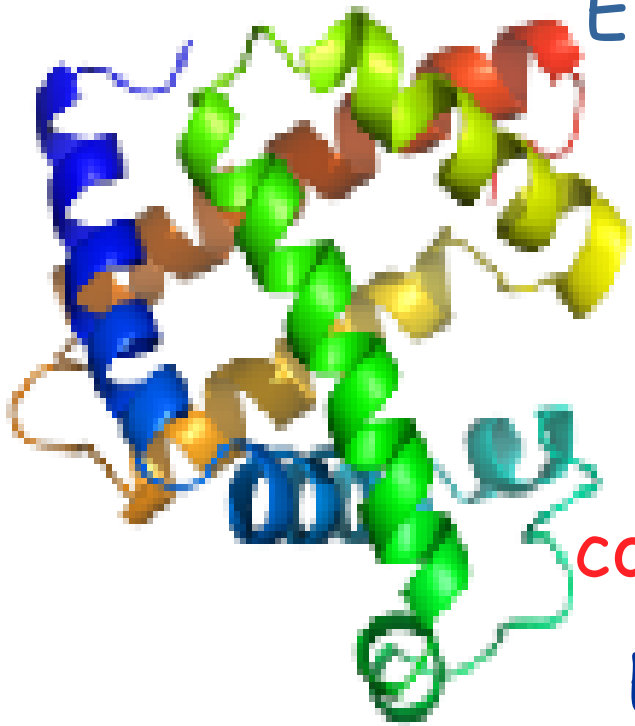
Lovati et al. (1989, 1992, 1996, 2000)

# Péptidos bioactivos

Son péptidos derivados de proteínas de la dieta que ejercen un beneficio a nivel fisiológico independiente de su función nutricional

Sistema Cardiovascular	Sistema Nervioso	Sistema Gastrointestinal	Sistema Inmune
Antihipertensiva		Quelante	Inmunomoduladora
Hipocolesterolemica		Agonista opioide	
Antioxidante		Antagonista opioide	
Antitrombótica		Antimicrobiana	

# Características de los péptidos bioactivos



En general poseen entre 3 y 20 aas,  
con aas característicos

Actúan como moduladores y  
compuestos regulatorios

Su actividad es función de la  
composición de aas y de la secuencia

En la base BIOPEP se encuentran  
registrados 1968 péptidos bioactivos  
de distinto origen



# Características de algunos tipos de biopeptidos

**Antioxidantes**



Alta cantidad de His  
y aa hidrofóbicos

**Antitromboticos**



**Ile, Lys, Asp**

**Hipocolesterolemicos**



Baja relacion  
Met/Gly y Lys/Arg  
alto contenido de aa  
hidrofobicos

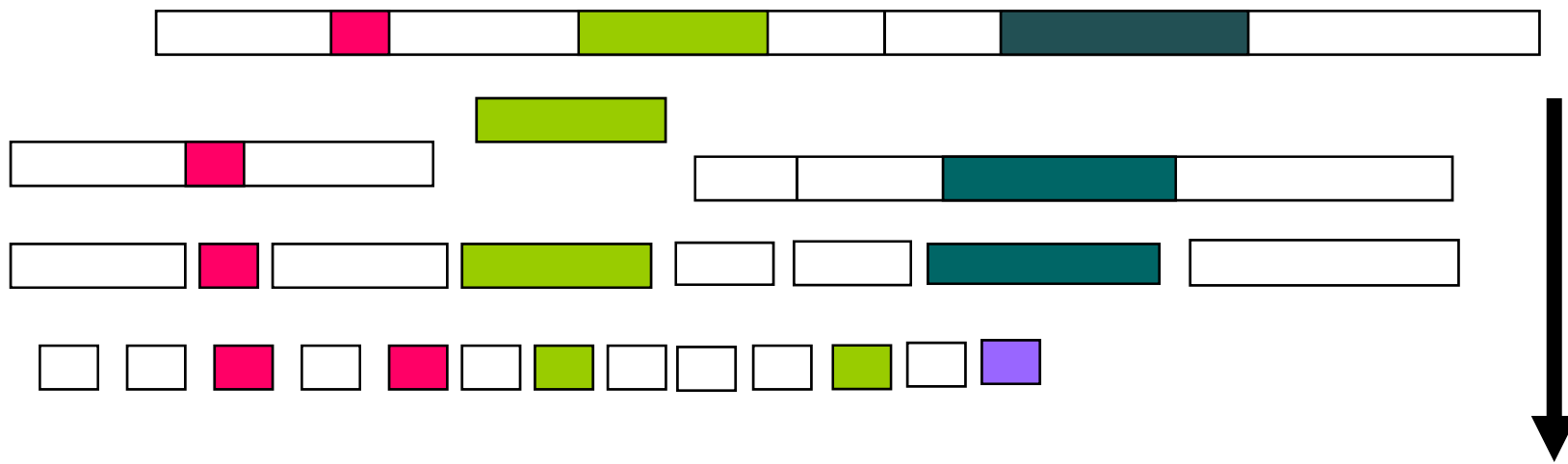
**Antiobesidad y  
antitumoral**



**Péptidos largos**

# Liberación de péptidos encriptados

- ⇒ Proceso de digestión *in vivo*
- ⇒ Hidrólisis enzimática *in vitro*
- ⇒ Acción de microorganismos
- ⇒ Combinación de procedimientos



# Etapas a seguir en el estudio de biopéptidos



Obtención de péptidos



Búsqueda de la actividad biológica  
Ensayos de simulación e *in vitro*



Separación y caracterización del o los péptidos responsables de la actividad



Ensayos de actividad *in vivo*  
y en humanos

# Peptidos bioactivos en productos lacteos fermentados



Maduración de quesos  
Parmigiano, manchego,  
muzzarella, gouda,  
emmental, entre otros



Leches acidas,  
yogur, dahi

Actividad ACE

Fosfopeptidos

Inmunomodulación

Act. antimicrobiana

Kohoronen y col. 2006

# Biopéptidos de origen lácteo

## Antimicrobianos

Casecidina,  
casocidina  
isracidina  
kappacina

lactoferricina



Poseen aa básicos que  
forman un bucle de  
 $\alpha$ -hélice en C ter

## Opiodes

Casomorfina

exorfina

alactorfina

$\beta$ lactorfina

casoxinas

lactoferroxinas

agonistas

antagonistas

## Transportadores

SerP-SerP-SerP-Glu-Glu la carga  
los hace resistentes a proteólisis

## Antitrombóticos

Met-Ala-Ile-Pro-Pro-Lys-Lys-Asn-Gln-Asp-Lys  
secuencia semejante al  $\gamma$ -fibrinógeno

**Casoplatelinas** inhiben agregación de plaquetas

Se determinó la presencia de péptidos antitrombóticos en plasma de recién nacidos y en estómago, duodeno y sangre de adultos

## Inmunomoduladores

Estimulan la actividad de los fagocitos y modulan la función de los linfocitos

## Antihipertensivos

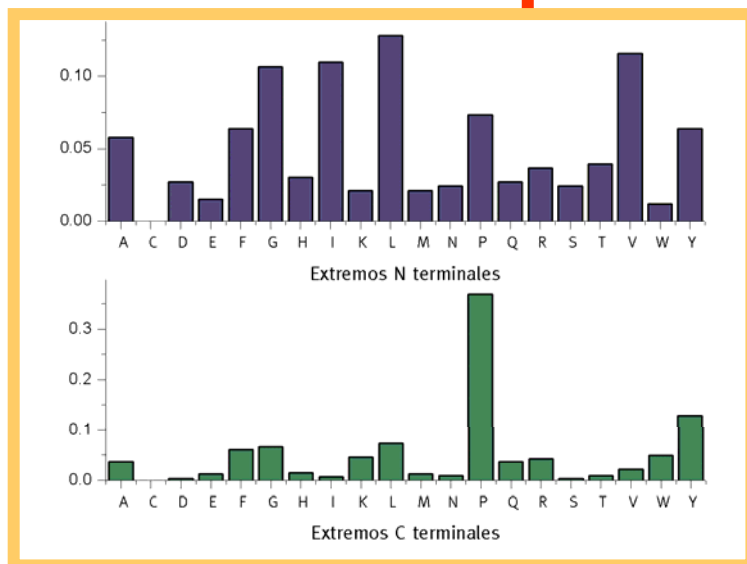
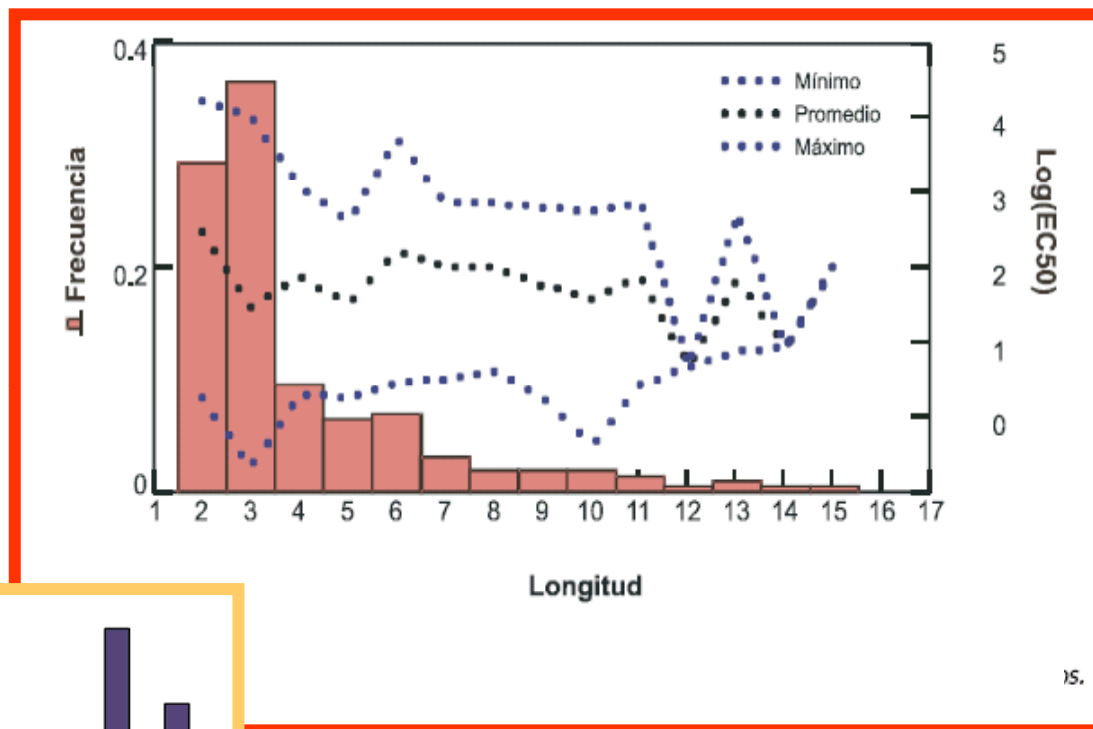
Casoquininas  
lactoquininas  
inhibidores de ACE

# Sistema ACE



# Actividad antihipertensiva

Longitud de péptidos activos : 2-15 aa



Péptidos activos poseen Pro en el C-terminal y residuos hidrofóbicos en el extremo N-terminal



# Actividad ACE de hidrolizados de caseina y suero de leche

## Hidrólisis con pepsina+ tripsina

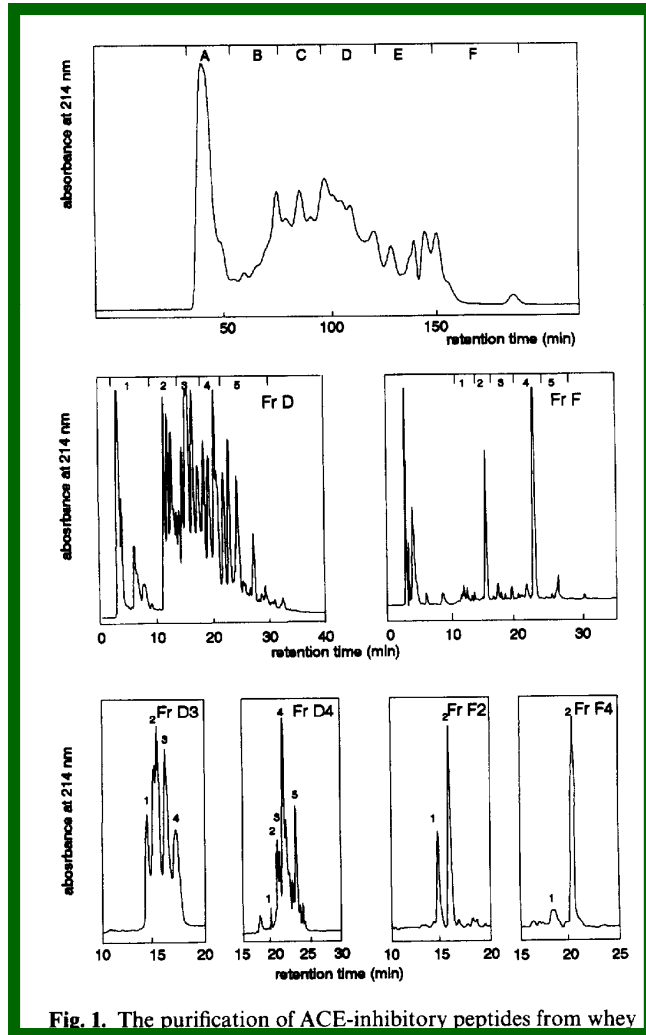


Fig. 1. The purification of ACE-inhibitory peptides from whey

HPLC-fraction <sup>a</sup>	Mass/charge	Origin <sup>b</sup>	Sequence
D3.2	674	$\beta$ -lg f9-14	Gly-Leu-Asp-Ile-Gln-Lys
D3.3	675, 805, 1095, 1244		
D3.4	215, 286, 399, 592, 758		
D4.1	205, 365, 341, 441, 1301		
D4.4	332, 342, 888		
F2.2	654	$\alpha$ -la f105-110	Leu-Ala-His-Lys-Ala-Leu
F4.2	696	$\beta$ -lg f15-20	Val-Ala-Gly-Thr-Trp-Tyr
K1.7	830	$\beta$ -cn f177-183	Ala-Val-Pro-Tyr-Pro-Gln-Arg
K2.3	748, 772	$\beta$ -cn f108-113	Glu-Met-Pro-Phe-Pro-Lys (m/z)
K2.5	747	$\beta$ -cn f193-198	Tyr-Gln-Gln-Pro-Val-Leu
L3.2	866	$\alpha$ <sub>1</sub> -cn f157-164	Asp-Ala-Tyr-Pro-Ser-Gly-Ala- $\beta$
L6.2	748	$\alpha$ <sub>1</sub> -cn f194-199	Thr-Thr-Met-Pro-Leu-Trp
L6.3	429	$\alpha$ <sub>1</sub> -cn f142-147	Leu-Ala-Tyr-Phe-Tyr-Pro
Captopril			

IC<sub>50</sub> 51 a 580  $\mu$ M  
Captopril 0.007  $\mu$ m

# Actividad ACE de hidrolizados de soja

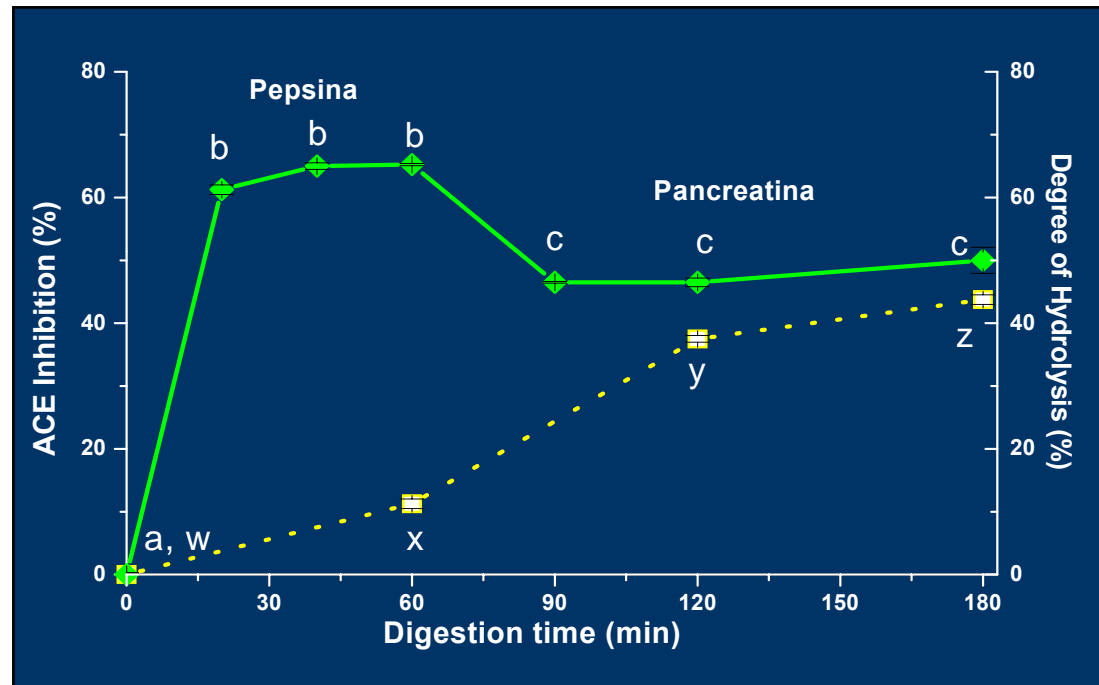
## péptidos de soja

- ✓ fermentación
- ✓ digestión *in vitro*



Modelos animales  
Ensayos "in vitro"

Wendy et al 2005



Péptidos de menor MM y más hidrofóbicos fueron más activos

# Alimentos fermentados tempeh y natto

hidrólisis con  
distintas proteasas



Simulación del  
proceso digestivo

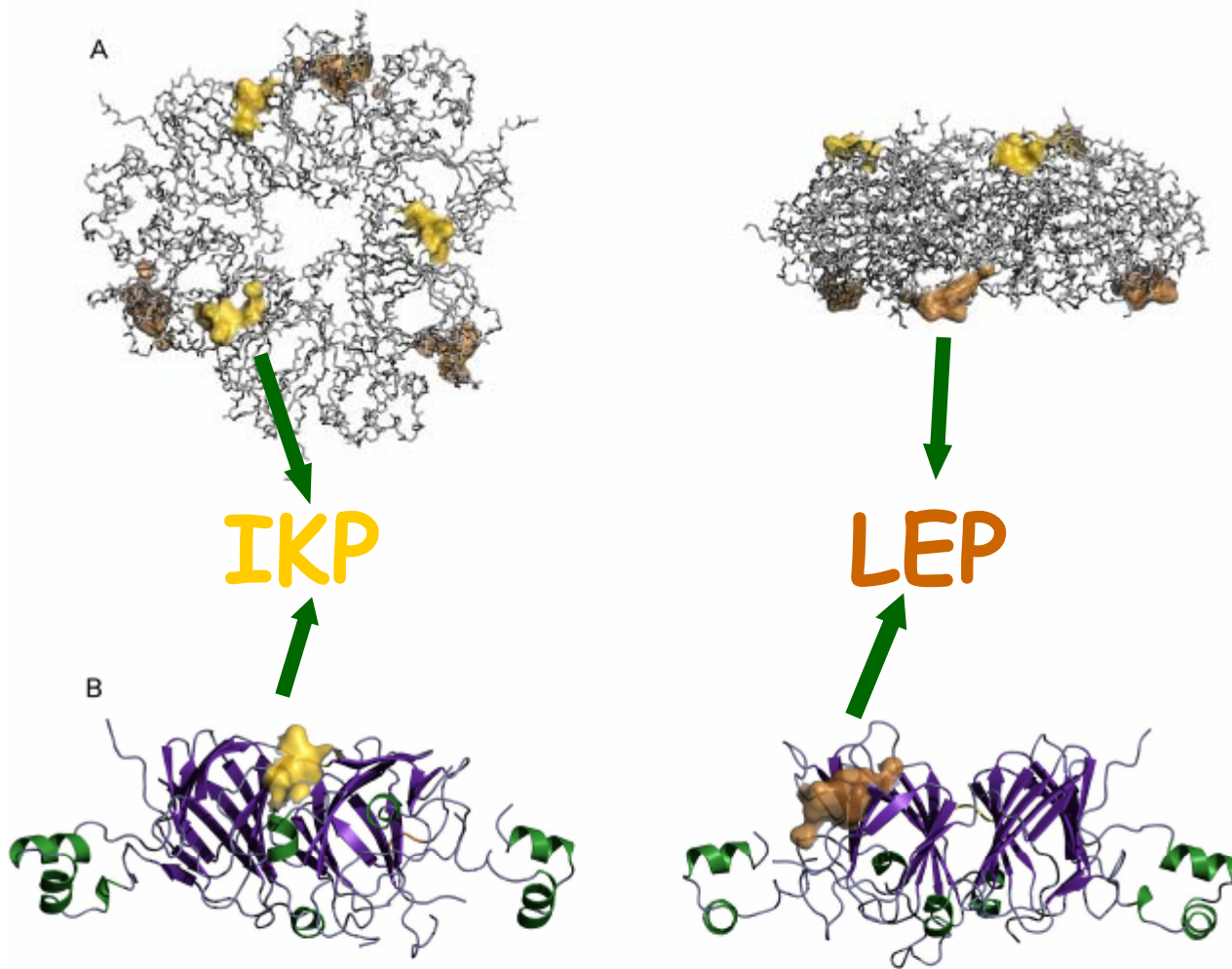
Separación de péptidos (HPLC, espectroscopía de masa)  
Determinación de actividades biológicas

Pép. A (natto-pronasa)  $IC_{50}$  - Ih ACE -  $0.2 \pm 0.1 \mu\text{M}$

Pép. E (tempeth-prot. riñon)  $IC_{50}$  - Ih ACE -  $0.6 \pm 0.1 \mu\text{M}$  y actividad antioxidante

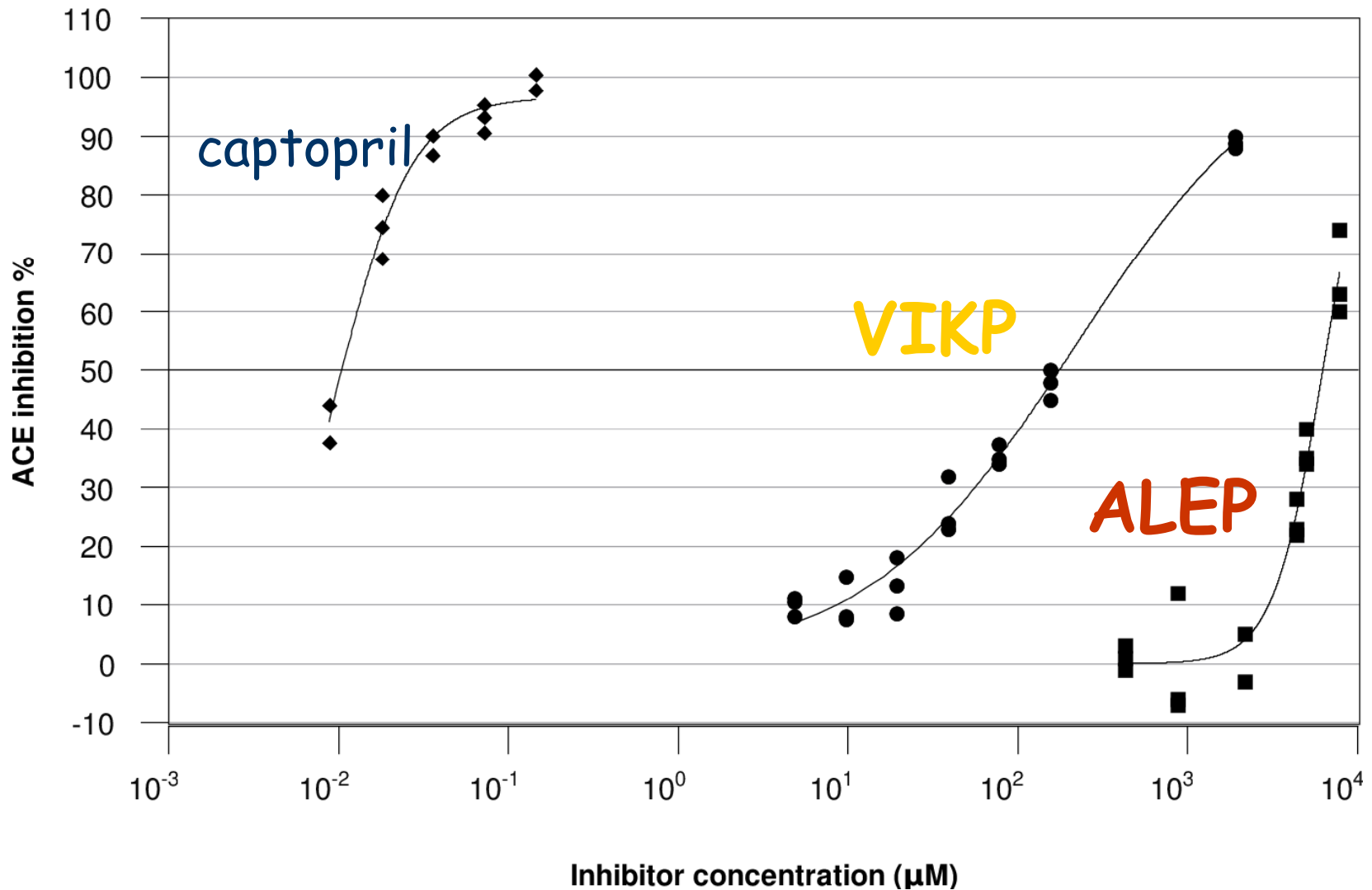
Pép. G (ídem anterior)  $IC_{50}$  - ac. antitrombótica -  $9.8 \pm 0.9 \mu\text{M}$

# Ensayos de simulación *in silico*



# Inhibición de la Actividad ACE

## Péptidos sintéticos - Ensayo *in vitro*



# Comparación de IC50

Comparación de valores de EC50			
Origen	EC50 (mg/mL)	EC50 ( $\mu$ M)	Referencia
A. Mantegazzianus, Hid. F (GH 45%)	0,12 $\pm$ 0,02	415 $\pm$ 70	Este trabajo.
A. Mantegazzianus, Hid. G (GH 65%)	0,12 $\pm$ 0,02	600 $\pm$ 100	Este trabajo.
Suero leche cabra, Termolisina 24 horas.	0,081	n/d	Hernández-Ledesma, 2002
Suero leche cabra, Quimotripsina 24 horas	0,296	n/d	
Suero leche cabra, Proteinasa K 24 horas	0,038	n/d	
Suero leche cabra, Tripsina 24 horas	0,196	n/d	
Suero leche bovina, GH 18%	0,202	n/d	van der Ven, 2002
Suero leche bovina, GH 31%	0,155	n/d	
Soja, Alcalasa 12 horas.	0,32	n/d	Wu, 2002
Plasma bovino, Flavourzyme GH 43%	1,08	n/d	Wanasundara, 2002
Ovoalbúmina, Pepsina	0,055	n/d	Miguel, 2004
Germen trigo, Alcalasa 8 h	0,37	n/d	Matsui, 1999
IKY (tripéptido)	8,9 $\cdot 10^{-5}$	0,21	Wu, 2006
SVY (tripéptido)	0,625	1700	
FP (dipéptido)	0,083	316	
AW (dipéptido)	5,1 $\cdot 10^{-3}$	18,6	

Los nombres de los péptidos puros se asignaron utilizando el código de aminoácidos de acuerdo a su secuencia.



# Matrices en las que se han detectado péptidos bioactivos

Antitumoral

Antioxidante

Antitrombótica

Hipocolesterolémica

Hipotrigliceridémica

Antihipertensiva

Antiobesidad

Antimicrobiana

Inmunomodulatoria

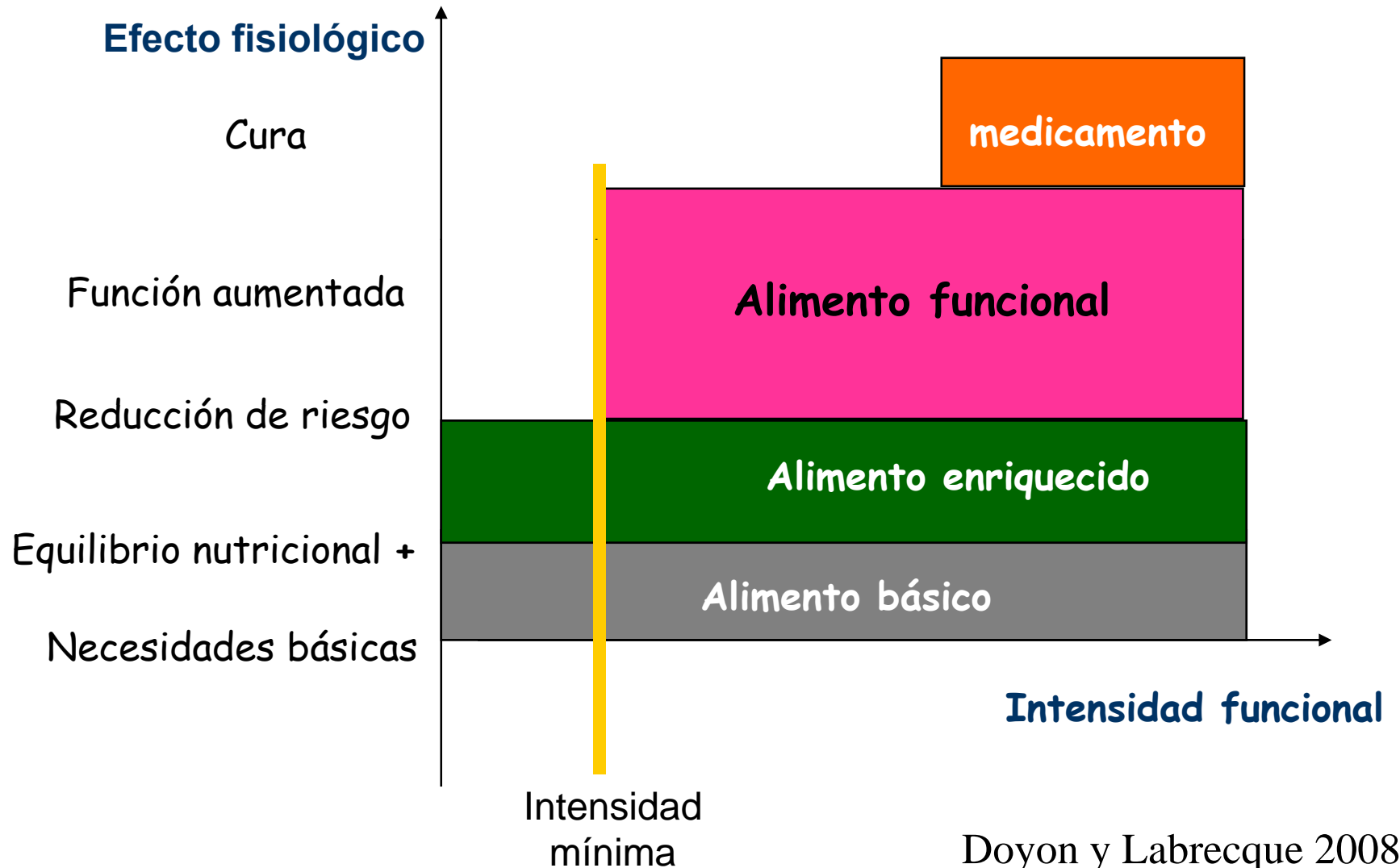


# Conceptos claves en la definición de un alimento funcional

- el concepto de aportar beneficios para la salud es central
- la naturaleza del alimento ser o asemejarse a un alimento tradicional
- el nivel de función más allá de la función nutricional
- el perfil de consumo debe ser parte de la dieta normal



# Fronteras del universo de los alimentos funcionales



# Alimentos funcionales hipotensores

## EJEMPLOS DE ALIMENTOS FUNCIONALES HIPOTENSORES EN EL MERCADO MUNDIAL

Producto	Empresa	Tipo de alimento	Péptido/s bioactivo/s
Calpis AMEEL S (Japón) Calpico (Europa)	Calpis Co., Japón	Leche agria	VPP + IPP
Evolus	Vallo, Finlandia	Leche fermentada	VPP + IPP
BioZate	Davisco, EE.UU.	Hidrolizado de $\beta$ -LG	Péptidos de suero de leche
C 12 Peption	DMV, Holanda	Ingrediente	FFVAPFPEVFGK de Caseína
Peptide Soup	NIPPON, Japón	Sopa	Péptidos de pescado
Casein DP Peptio Drink	Kanebo, Japón	Refresco	FFVAPFPEVFGK de Caseína

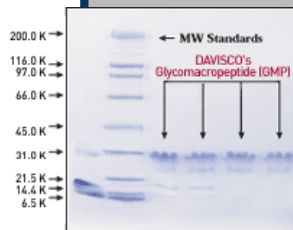


Nippon Supplement develops and provides innovative functional foods that enable people to live longer and healthier lives.

**Nippon Supplement, Inc.**

# Otros alimentos funcionales disponibles en el mercado

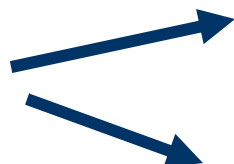
Producto	Empresa	Alimento	Efecto
Bio-PURE GMP	Davisco, USA	Glicomacropéptido  Hidrolizado de proteínas	antitrombótico antimicrobiano anticariogénico
Cholesteblock	Kyowa Hakko	Peptidos de soja unido a PL Soft drink	hipocolesterolémico



**DAVISCO**  
FOODS INTERNATIONAL, INC.

# Evolus - Double effect - 2008

Leche fermentada con *L. helvéticus*

efecto  **Controla la presión sanguínea**  
**Reduce el colesterol plasmático**

Componentes: esteroides de origen vegetal y  
biopeptidos (VPP y IPP)

Se realizaron ensayos *in vitro*, *in vivo* y  
pruebas con humanos

# Esquema de los estudios realizados con humanos

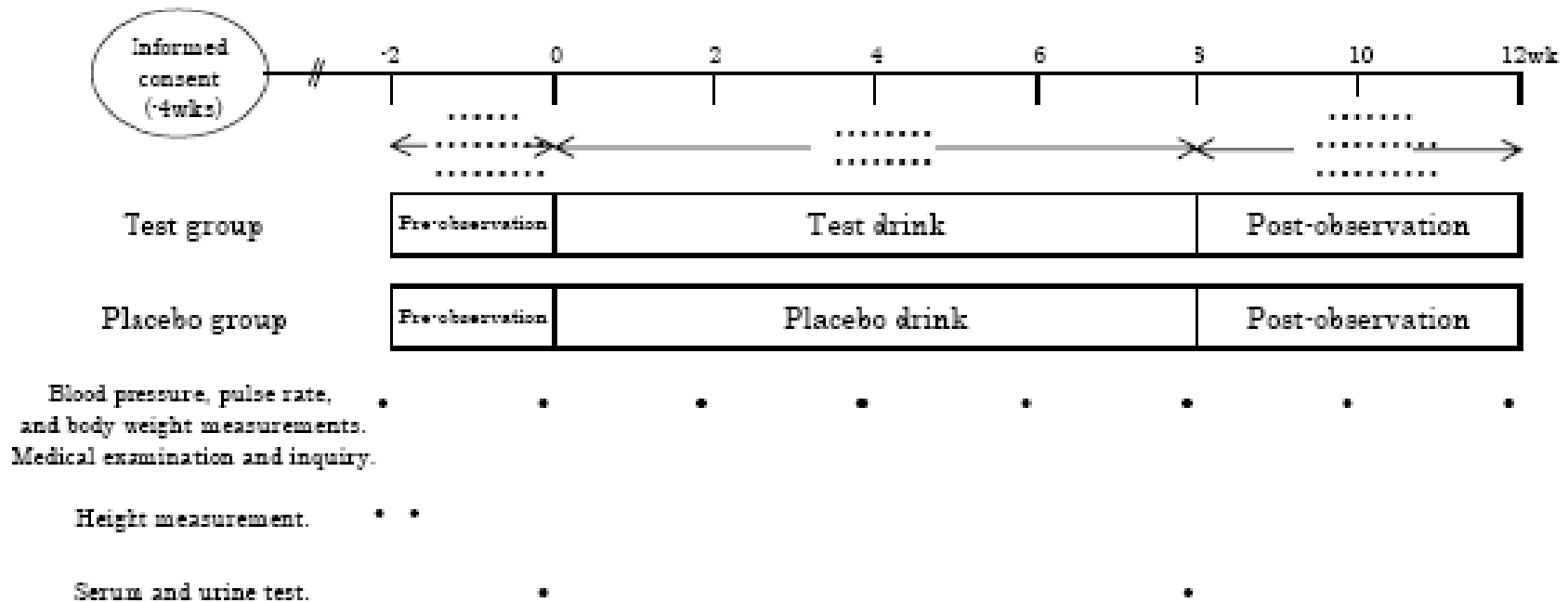
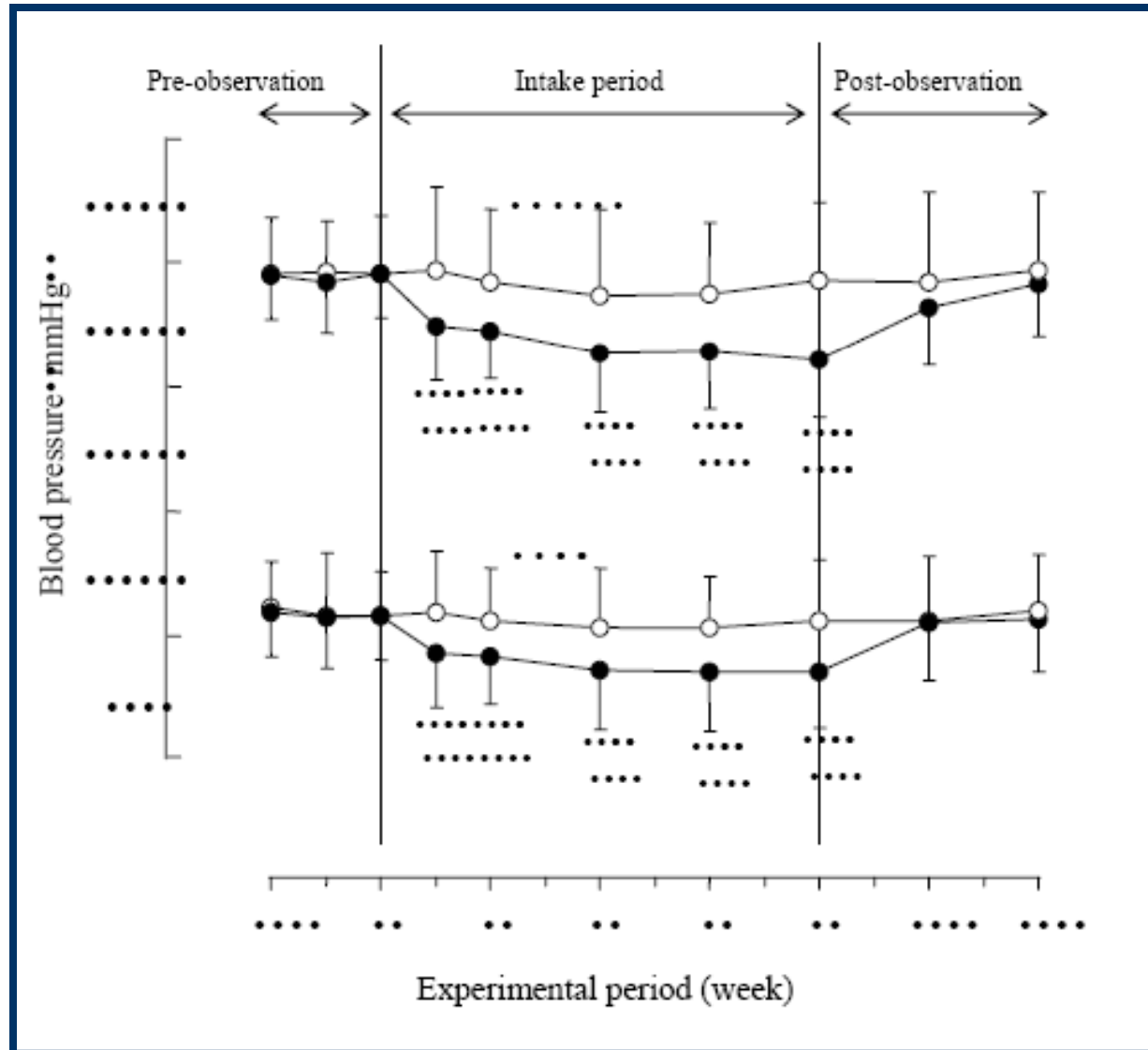


Fig 1 Test schedule

# Datos obtenidos



# Producción de péptidos bioactivos

## Aproximación tecnológica



### Preparación de los péptidos

Hidrólisis química o enzimática *in vivo*  
e *in vitro*

### Ingeniería genética - Biopharming

Tecnología de DNA recombinante  
(péptidos largos)



### Caracterización de péptidos bioactivos

Separación y purificación

Determinación de propiedades fisicoquímicas

Evaluación de la bioactividad *in vitro* e *in vivo*

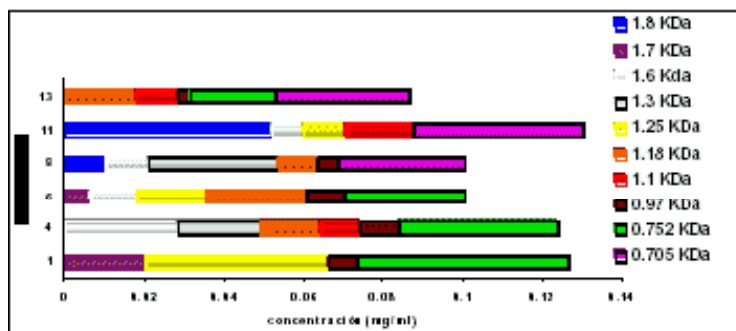
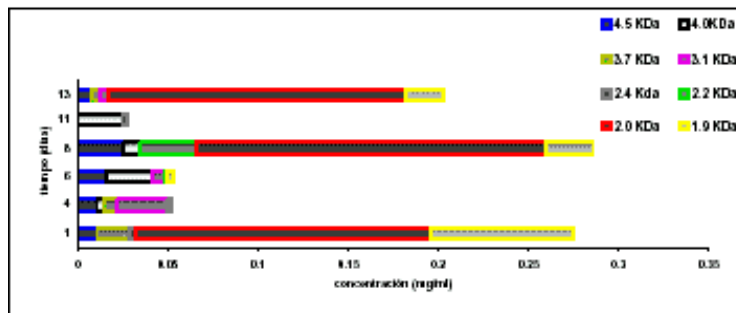
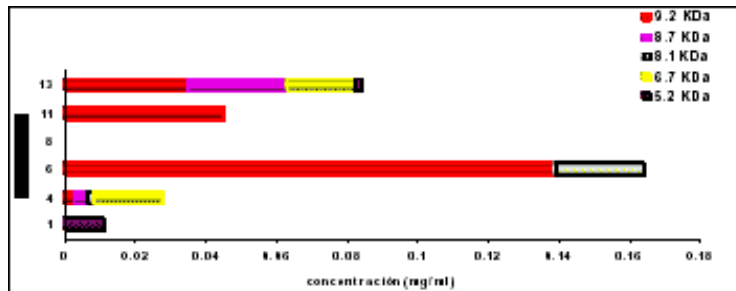
# Consideraciones a tener en cuenta para los alimentos funcionales con biopéptidos

- ✓ Complejidad de la matriz del alimento. Interacción del o los biopéptidos con otros componentes
- ✓ Efecto de las condiciones de procesamiento
- ✓ Cambios durante el período de vida útil



# Algunos ejemplos

Producto fermentado - cambio del contenido de péptidos



tratamiento térmico



Desnaturalización

Desfosforilación,  
ej. de caseína

# Destino de los biopéptidos

Alimento funcional  
conteniendo biopéptidos

digestión

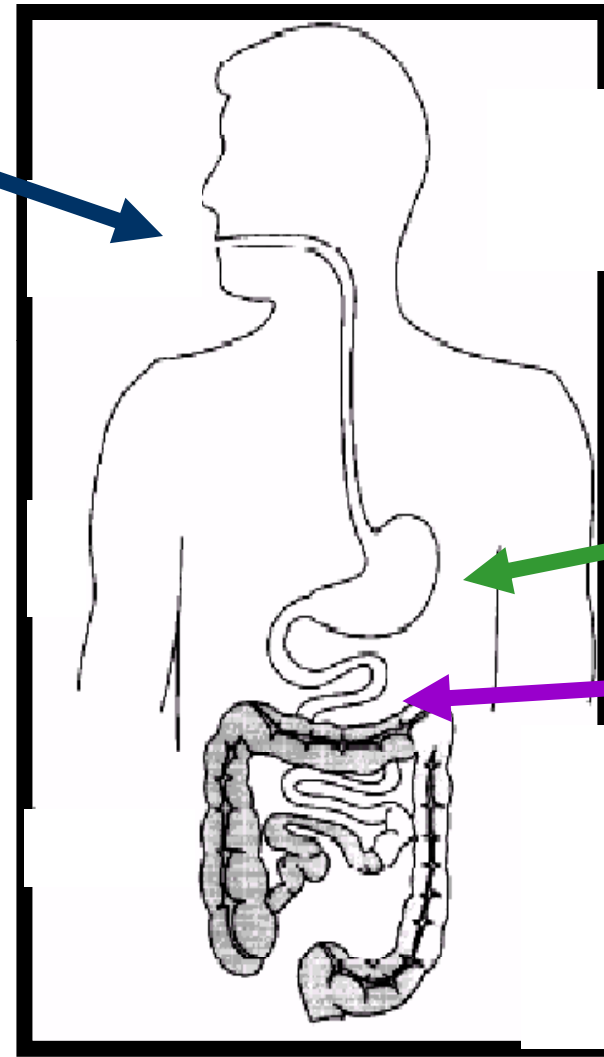
absorción

¿es afectado?

transporte

¿llega en la  
concentración adecuada ?

¿un único punto de acción o  
puntos múltiples?



# Desafíos futuros para obtener alimentos funcionales con biopéptidos

Desarrollo de alimentos funcionales sin efectos colaterales de los biopéptidos adicionados y retener su estabilidad durante el período de vida útil



**PROBLEMAS A SORTEAR:** degradación durante la digestión, mala absorción, baja concentración en sangre o el tejido específico, modificación de actividad por el procesamiento o interacción con otros ingredientes