



Universidad Autónoma
Del Estado De México



Facultad de Química
Doctorado en Ciencias Químicas

**Evaluación de biopolímeros a base de subproductos
agroalimentarios con la inclusión de hidrolizados de
carpa común (*Cyprinus carpio*) con propiedades
antioxidantes**

Tesis

Que para obtener el título de:

Doctorado en Ciencias Químicas

Presenta:

M. en C. Guadalupe López García

Dirigida por:

Dr. Octavio Dublán García
Dr. Leobardo Manuel Gómez Olivan
Dr. Daniel Arizmendi Cotero

Toluca, México

Diciembre 2021

DEDICATORIAS

A mi hija Alexa Sophia para quien quiero ser un ejemplo.

A mi esposo, por su apoyo incondicional.

A mis padres que siempre me impulsan a ser mejor cada día.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a mis maestros por su guía y apoyo en este camino.

Gracias a mis compañeros Paco, Ana y Selene por su apoyo, compañía y amistad. Siempre fue agradable el seguir aprendiendo de ustedes.

ÍNDICE

I. MARCO TEÓRICO	
1.1 Residuos de la industria en México	13
1.2 Residuos generados por la industria de alimentos y bebidas	15
1.2.1 Aprovechamiento y revalorización	19
1.3 Hidrolizados de pescado	20
1.4 Péptidos bioactivos	21
1.4.1 Fuentes de péptidos bioactivos	21
1.4.1.1 Péptidos de origen vegetal	21
1.4.1.2 Péptidos de origen animal	22
1.4.1.3 Péptidos a partir de subproductos	23
1.4.1.4 Carpa común (<i>Cyprinus carpio</i>) como fuente de péptidos	24
1.4.2 Producción de péptidos	25
1.4.2.1 Fermentación microbiana	26
1.4.2.2 Hidrólisis enzimática	27
1.4.2.3 Síntesis de péptidos	27
1.4.2.3.1 Piña y papaya como fuentes de enzimas proteolíticas para la obtención de péptidos	28
1.4.2.3.1.1 Piña como fuente de enzimas	28
1.4.2.3.1.2 Papaya como fuente de enzimas	30
1.4.3 Propiedades farmacológicas y beneficios a la salud de los péptidos bioactivos	30
1.4.3.1 Actividad antioxidante	31
1.4.4 Péptidos antioxidantes	33
1.4.4.1 Mecanismo de acción de péptidos antioxidantes	38
1.5 Biopolímeros	40
1.5.1 Composición de películas comestibles	40
1.5.1.1 Proteínas	40
1.5.1.1.1 Proteína aislada de suero de leche	40
1.5.1.1.2 Grenetina de subproductos acuícolas	42
1.5.1.2 Polisacáridos	42
1.5.1.2.1 Fibra de cáscaras de naranja	43
1.5.1.3 Lípidos	43
1.5.1.4 Plastificantes	44
1.5.1.5 Conservantes	44
1.5.2 Caracterización de los biopolímeros	44

1.5.2.1	Propiedades de barrera los biopolímeros	44
1.5.2.1.1	Permeabilidad al vapor de agua	44
1.5.2.1.2	Permeabilidad a gases	45
1.5.2.2	Propiedades mecánicas	45
1.5.2.3	Propiedades ópticas	46
1.5.3	Biopolímeros como portadores de sustancias activas	46
II.	JUSTIFICACIÓN	49
III.	HIPÓTESIS	50
IV.	OBJETIVOS	50
4.1	Objetivo general	50
4.2	Objetivos específicos	50
V.	METODOLOGÍA	51
5.1	Reactivos Químicos	51
5.2	Materiales y métodos	51
5.2.1	Preparados enzimáticos	51
5.2.1.1	Preparados de cáscara de piña	51
5.2.1.2	Preparados de papaya	51
5.2.1.3	Actividad proteolítica de preparados enzimáticos	51
5.2.1.4	Electroforesis de preparados enzimáticos	51
5.2.2	Obtención de hidrolizados	52
5.2.2.1	Identificación de hidrolizados	52
5.2.2.1.1	Infrarrojo por transformada de Fourier	52
5.2.2.1.2	Identificación <i>In Silico</i>	52
5.2.2.2	Actividad antioxidante ⁵³	
5.2.2.2.1	ABTS ^{•+} 2,2'-Azino-bis (3-etilenbenzotiazolino-6-ácido sulfónico)	53
5.2.2.2.2	DPPH [•] (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)	53
5.2.2.2.3	Poder reductor (RP)	53
5.2.3	Elaboración de biopolímero a base de subproductos agroalimentarios adicionado con hidrolizados de subproductos de carpa común	53
5.2.3.1	Obtención y caracterización de fibra de subproducto agroalimentario	53
5.2.3.2	Obtención y caracterización de grenetina de subproductos de pesca	53
5.2.3.3	Obtención y caracterización de proteína aislada de suero de leche	54
5.2.3.4	Elaboración de biopolímero	54
5.2.3.4.1	Caracterización del biopolímero con actividad antioxidante	54

5.2.4 Análisis estadístico	55
VI. RESULTADOS	56
6.1 Preparados enzimáticos	56
6.1.1 Electroforesis	56
6.1.2 Actividad proteolítica de preparados enzimáticos	57
6.2 Hidrolizados	57
6.2.1 Identificación infrarrojo por transformada de Fourier	57
6.2.2 Identificación <i>in silico</i>	58
6.2.3 Actividad antioxidante	58
6.2.3.1 Inhibición de ABTS•+ 2,2'-Azino-bis (3-etilenbenzotiazolino-6-ácido sulfónico) y DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)	58
6.2.3.2 Poder reductor (RP)	59
6.3 Caracterización de materias primas para la elaboración del biopolímero	60
6.3.1 Fibra de naranja	60
6.3.2 Caseína	61
6.3.3 Grenetina	62
6.4 Biopolímero a base de subproductos agroalimentarios	63
6.4.1 Caracterización de la disolución formadora de película (DFP)	63
6.4.2 Caracterización de película	63
6.4.2.1 Propiedades físicas	64
6.4.2.2 Propiedades ópticas	65
6.4.2.3 Propiedades mecánicas	66
VII. CONCLUSIONES	68
VIII. RECOMENDACIONES	69
IX. REFERENCIAS	70

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Composición de los RSU 2012.	14
Figura 2. Estudios de riesgo ambiental por tipo de industria, 1992-2015.	15
Figura 3. Diagrama del proceso de producción de péptidos bioactivos.	26
Figura 4. Representación esquemática de los mecanismos químicos y físicos de los péptidos antioxidantes para inhibir los procesos oxidativos.	38
Figura 5. Perfil electroforético y densitogramas.	56
Figura 6. Espectro infrarrojo de hidrolizados de proteínas preparados a partir de subproductos de carpa común (<i>Cyprinus carpio</i>).	58
Figura 7. Poder reductor de hidrolizados de carpa común (<i>Cyprinus carpio</i>) obtenidos con diferentes preparados enzimáticos.	60
Fig. 8. Espectro infrarrojo de la fibra de naranja.	61
Fig. 9. Espectro infrarrojo de caseína.	62
Fig. 10. Espectro infrarrojo de grenetina.	63
Figura 11. Película comestible a base de suero de leche, grenetina, fibra y glicerol.	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Problemas de control de la contaminación generados por los residuos de la producción de alimentos.	17
Tabla 2. Porcentaje de subproductos generados en diferentes sectores de la industria alimentaria.	18
Tabla 3. Principales ingredientes extraídos de residuos industriales.	20
Tabla 4. Fuentes de péptidos bioactivos de proteínas de diversos alimentos y su actividad.	22
Tabla 5. Composición nutricional de la carpa común.	24
Tabla 6. Fracciones peptídicas con actividad antioxidante.	35
Tabla 7. Relación entre actividad antioxidante, aminoácidos y mecanismo acción.	39
Tabla 8. Aplicaciones de la caseína.	41
Table 9. Bases de datos de biopéptidos.	52
Tabla 10. Componentes y proporciones empleados para la matriz del biopolímero comestible.	54
Tabla 11. Factor de retención obtenido del análisis electroforético de la preparación enzimática de piña y papaya.	57
Tabla 12. Actividad específica de preparaciones enzimáticas.	57
Tabla 13. Actividad antioxidante de hidrolizados de proteínas preparados a partir de desechos de carpa común (<i>Cyprinus carpio</i>).	59

Tabla 14. Composición proximal de la fibra de naranja obtenida.	60
Tabla 15. Composición proximal de la caseína obtenida.	61
Tabla 16. Composición proximal de la grenetina obtenida.	62
Tabla 17. Valores promedio de las variables físicas de la película.	64
Tabla 18. Propiedades ópticas de la película SL-Gre-fibra.	65
Tabla 19. Propiedades mecánicas de biopolímero a base de subproductos agroalimentarios.	66

RESUMEN

La industria procesadora de pescado a nivel mundial generó 20 millones de toneladas de subproductos durante el 2016. Asimismo, la fracción orgánica de los residuos producidos es muy alta y por la baja capacidad de procesamiento de los residuos orgánicos por compostaje, terminan en los rellenos sanitarios. En productos lácteos, de la producción mundial en 2019, el 37.1 % fueron pérdidas y se generaron diversos residuos a nivel atmosférico, sólidos y efluentes líquidos, donde la lactosa fue el principal aportante de demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y el suero resultante de la elaboración de quesos un factor crítico, ya que puede alcanzar DBO del orden de 40000 a 50000 mg/L.

La disposición inadecuada de los residuos de la producción de alimentos ocasiona alteraciones en los diferentes medios abióticos, bióticos y son una fuente de preocupación sanitaria a nivel microbiano además que éstos costos, deben ser asumidos por las mismas empresas generadoras y hacen que estos se transformen en un problema no solo ambiental sino económico por lo que el aprovechamiento de estos residuos es una estrategia ambiental y económicamente adecuada de manejo de subproductos o residuos agroalimentarios, por lo que se requieren alternativas de tratamiento. Entre las alternativas de recuperación material y energética se tiene la producción de compost, biogás, hidrógeno, biomasa y suplementos para alimentación animal y humana.

Algunos estudios muestran que de los subproductos agroalimentarios y acuícolas se ha obtenido compuestos bioactivos, que pueden ser utilizados en la elaboración y preservación de alimentos por ello éste trabajo utilizó subproductos de la industria alimentaria para la elaboración de un biopolímero a base de subproductos agroalimentarios (fibra de cáscara de naranja, gretina del homogenado de subproductos de carpa (*Cyprinus carpio*), suero de leche y glicerol) y lo utilizó como vehículo de hidrolizados de carpa común (*Cyprinus carpio*) generados a partir de la hidrólisis proteica de subproductos de carpa (cabezas, colas y espinas).

El biopolímero obtenido fue liso, delgado, con superficie homogénea, exhibió una ligera coloración amarilla, una CRA de 161.57 ± 3.30 % y una solubilidad de 49.78 ± 4.75 %. Asimismo, presentó una resistencia de 5.03 ± 1.87 N y un % de elongación 51.31 ± 5.71 .

Los hidrolizados de carpa, se obtuvieron con preparados enzimáticos de subproductos de piña y papaya, mostraron un IC₅₀ para inhibición de DPPH de 58.1 mg/mL y 31.6 mg/mL respectivamente y 1.3 y 0.8 mg/mL para ABTS.

ABSTRACT

The fish processing industry worldwide generated 20 million tons of by-products during 2016. Likewise, the organic fraction of the waste produced is very high and due to the low processing capacity of organic waste by composting, it ends up in landfills. In dairy products, of world production in 2019, 37.1% were losses and various residues were generated at the atmospheric level, solids and liquid effluents, where lactose was the main contributor of biochemical oxygen demand (BOD) and the whey resulting from cheese making a critical factor, since it can reach BOD of the order of 40,000 to 50,000 mg/L.

The inadequate disposal of waste from food production causes alterations in the different abiotic and biotic environments and is a source of health concern at the microbial level, in addition to these costs, which must be assumed by the generating companies themselves and cause them to become a problem not only environmental but also economic, so the use of these residues is an environmentally and economically adequate strategy for managing by-products or agri-food residues, for which treatment alternatives are required. Among the material and energy recovery alternatives, there is the production of compost, biogas, hydrogen, biomass and supplements for animal and human food.

Some studies show that bioactive compounds have been obtained from agri-food and aquaculture by-products, which can be used in the preparation and preservation of food. For this reason, this work used by-products from the food industry to produce a biopolymer based on agri-food by-products (fiber of orange peel, gelatin from the homogenate of carp by-products (*Cyprinus carpio*), whey and glycerol) and used it as a vehicle for hydrolysates of common carp (*Cyprinus carpio*) generated from the protein hydrolysis of carp by-products (heads, tails and spines).

The biopolymer obtained was smooth, thin, with a homogeneous surface, exhibited a slight yellow coloration, a WRC of $161.57 \pm 3.30\%$ and a solubility of $49.78 \pm 4.75\%$. Likewise, it presented a resistance of 5.03 ± 1.87 N and an elongation % of 51.31 ± 5.71 .

Carp hydrolysates, obtained with enzyme preparations from pineapple and papaya byproducts, showed an IC50 for DPPH inhibition of 58.1 mg/mL and 31.6 mg/mL, respectively, and 1.3 and 0.8 mg/mL for ABTS.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, 2018), aproximadamente un tercio de todos los alimentos producidos para el consumo humano en el mundo nunca se consumen. Según el Índice de Sostenibilidad Alimentaria (FAO 2018), los países con la menor generación de desperdicio de alimentos per cápita son Grecia y China (44 kg /año) y los países con la mayor generación de residuos son Australia (361 kg /año) y Estados Unidos (278 kg /año). México genera un desperdicio nacional de alimentos mayor a 18 toneladas al año, que representa un desecho per cápita de 149 kg/año.

Se estima que la cantidad de desperdicio de alimentos, que se producen a nivel mundial equivale a 4.4 gigatoneladas de CO₂, 250 km³ de huella de agua azul, 28% del total de tierras agrícolas a nivel mundial y un costo económico aproximado de 750 mil millones de dólares (FAO, 2019).

De acuerdo con la FAO (2019), la reducción de pérdida y desperdicio de alimentos, no solo podría abordar la necesidad de alimentar a la población mundial, sino también reducir el impacto ambiental por los alimentos que actualmente se desperdician, por lo que, en el 2015 las Naciones Unidas lo fijaron en agenda política a nivel mundial en el objetivo número 12 que tiene como meta reducir a la mitad el desperdicio de alimentos per cápita mundial en la venta al por menor, a nivel de los consumidores y las pérdidas de alimentos en las cadenas de producción y suministro para el 2030, en los Objetivos de Desarrollo Sostenible. Una alternativa consiste en el rediseño de las industrias y la vida doméstica bajo un sistema circular que se sustenta en la reutilización del desperdicio. La agroindustria pesquera ha desarrollado procesos para la recuperación de proteínas, la evaluación de sus propiedades funcionales, los efectos en la salud y aplicación en diferentes productos (Chalamaiah *et al.*, 2012) como medio para el aprovechamiento sostenible de los subproductos generados (20 millones de toneladas) (FAO, 2018).

En los últimos años se han estudiado péptidos naturales con actividad biológica provenientes de especies acuícolas marinas que han mostrado un buen perfil antioxidante, por ejemplo, los hidrolizados de músculo de bacalao, caballa, Alaska Pollack, músculo de salmón y carpa plateada que presentaron captación de radicales de oxígeno y DPPH, así como actividad secuestradora de superóxido e hidroxilo y actividad quelante de Fe (Girgih *et al.*, 2015; Ryan *et al.*, 2011).

La carpa común (*Cyprinus carpio*), una especie ampliamente producida en México se ha constituido como un recurso de consumo popular y es el tercer pescado más producido en el mundo (FAO, 2018). Es una fuente de proteínas y lípidos con contenidos que van del 15 al 18% de proteína y de 2 a 8% respectivamente (Usyus *et al.*, 2009). La hidrólisis proteolítica aplicada tanto al músculo como a los subproductos del pescado ha sido sugerida para transformar y generar productos de valor añadido, con propiedades funcionales o biológicas (Chabeaud *et al.*, 2009; Borawska *et al.*, 2016), puede ser llevada a cabo de forma

química (mediante ácido o álcali) o biológica (utilizando enzimas) (Pasupuleti *et al.*, 2010). Sin embargo, el primer tratamiento afecta la calidad nutrimental de los péptidos resultantes, por lo que la vía enzimática es la más adecuada debido a que en el proceso hay mayor control y selectividad. Además, la hidrólisis enzimática daña en menor medida a los alimentos y genera un producto de mayor valor nutrimental (Cecopesca, 2012). Las enzimas de tipo proteolítico como papaína, bromelina, ficina y cucumisina, han sido utilizadas para el ablandamiento de carne y modificaciones de la textura, así como para la solubilización de las proteínas (Ha *et al.*, 2012; Sullivan *et al.*, 2010), pueden ser utilizadas como catalizadoras del proceso de hidrólisis, generando además de la ruptura de los enlaces peptídicos, otros beneficios a la salud, a la alimentación o a la tecnología de alimentos por lo que pueden ser utilizadas como catalizadoras del proceso de hidrólisis, generando además de la ruptura de los enlaces peptídicos, otros beneficios a la salud, a la alimentación o a la tecnología de alimentos.

Otra alternativa para la revaloración de los subproductos agroalimentarios, es la reutilización de éstos como materias primas para la elaboración de biopolímeros que son materiales de propiedades termoplásticas similares a los polímeros derivados del petróleo, con la diferencia que éstos se degradan además que aprovechan polisacáridos, proteínas y lípidos derivados de los subproductos para su elaboración y además pueden utilizarse como vehículos para compuestos antimicrobianos, saborizantes, colorantes, estabilizantes de textura, minerales, vitaminas, probióticos y antioxidantes que pueden mejorar aspectos de calidad tanto nutricionales como sensoriales sin afectar la integridad del alimento o medicamento en que se apliquen, además de mostrarse como una alternativa para reducir el impacto negativo al ambiente, producido por el uso de polímeros derivados del petróleo para el empaque y embalaje de alimentos ya que la industria alimentaria, consume hasta el 50% de la producción total de éstos materiales.

Por ello el presente proyecto tuvo como objetivo utilizar subproductos de la industria alimentaria de manera eficiente a través de la elaboración y caracterización de un biopolímero a base de subproductos agroalimentarios (fibra de cáscara de naranja, grenetina del homogenado de subproductos de carpa (*Cyprinus carpio*), suero de leche y glicerol) con propiedades antioxidantes de hidrolizados de carpa común (*Cyprinus carpio*) generados a partir de la hidrólisis proteica de subproductos de carpa (cabezas, colas y espinas).

X. MARCO TEÓRICO

1.1 Residuos de la industria en México

La producción y el consumo de bienes y servicios generan inevitablemente algún tipo de residuos. Éstos pueden ser sólidos (ya sea de naturaleza orgánica o inorgánica), líquidos (que incluyen a los que se vierten disueltos como parte de las aguas residuales) y los que escapan en forma de gases. Todos ellos, en función de su composición, tasa de generación y manejo pueden tener efectos muy diversos en la población y el ambiente.

Los residuos se definen como los materiales o productos que se desechan ya sea en estado sólido, semisólido, líquido o gaseoso, que se contienen en recipientes o depósitos, y que necesitan estar sujetos a tratamiento o disposición final con base en lo dispuesto en la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos (LGPGIR; DOF, 2003). Se clasifican de acuerdo con sus características y orígenes en tres grupos: residuos sólidos urbanos (RSU), residuos de manejo especial (RME) y residuos peligrosos (RP).

Los *residuos sólidos urbanos* son aquéllos que se producen en las casas habitación como consecuencia de la eliminación de los materiales que se utilizan en las actividades domésticas (por ejemplo, residuos de los productos de consumo y sus envases, embalajes o empaques, o residuos orgánicos); los que provienen también de cualquier otra actividad que se realiza en establecimientos o en la vía pública, con características domiciliarias y los resultantes de lugares públicos siempre que no sean considerados como residuos de otra índole (DOF, 2003). En México, en 2015, la generación de RSU alcanzó 53.1 millones de toneladas, lo que representó un aumento del 61.2% con respecto a 2003 (SEDESOL, 2013).

El aumento en la generación de residuos sólidos urbanos puede explicarse como resultado de múltiples factores, reconociéndose entre los más importantes el crecimiento urbano, el desarrollo industrial, las modificaciones tecnológicas y el cambio en los patrones de consumo de la población. México está migrando hacia una composición con una menor predominancia de residuos orgánicos: en la década de los años 50, el porcentaje de residuos orgánicos oscilaba entre 65 y 70% de su volumen, mientras que en 2012 esta cifra se redujo a 52.4%. Otros componentes importantes de los residuos que se producen en el país también son el papel, sus derivados (13.8%) y los plásticos (10.9%) (Figura 1)

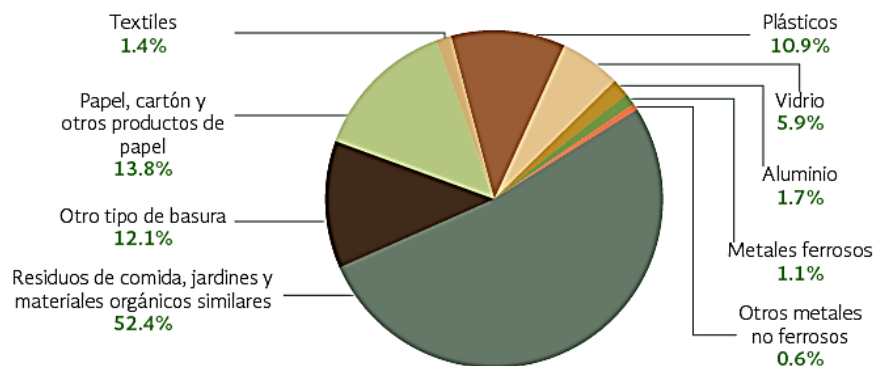


Figura 1. Composición de los RSU 2012

Fuente: Dirección de Equipamiento e Infraestructura en Zonas Urbano-Marginadas. SEDESOL. México. 2013.

Los *residuos de manejo especial* (RME) son los materiales que se generan en los procesos productivos o de servicios y que no reúnen las características para ser considerados residuos sólidos urbanos o residuos peligrosos (Ley General para la Prevención y Gestión Integral de Residuos, LGPGIR; DOF, 2003; INECC, 2012). En México durante el periodo 2006-2012, los volúmenes más altos de RME correspondieron a las excretas de ganado porcino y bovino lechero (66.71 millones ton), seguido por papel y cartón (6.82 millones ton), y en tercer lugar los residuos de la construcción y demolición (6.11 millones ton).

Los residuos peligrosos (RP) en México se definen como aquellos que poseen al menos una de las llamadas características CRETIB, es decir, pueden ser: corrosivos (C), reactivos (R), explosivos (E), tóxicos (T), inflamables (I) y biológico-infecciosos (B). También se consideran peligrosos los envases, recipientes, embalajes y suelos que hayan contenido o sido contaminados con RP, según lo establece la Ley General para la Prevención y Gestión Integral de los Residuos (DOF, 2003). La Norma Oficial Mexicana NOM-052-SEMARNAT-2005 (DOF, 2006) establece el procedimiento de identificación, las características y la clasificación de los residuos peligrosos.

Una parte importante de la generación de RP se concentra en las zonas industriales del país. Del total de empresas, la Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM) concentró 14 559 ton (15.6% del total), los otros cuatro estados que le siguen en número de empresas son Jalisco (9 079 ton, 9.7%), Baja California (5 858 ton, 6.3%), estado de México (5 120 ton, 5.5%) y Michoacán (4 696 ton, 5%). Estas entidades produjeron 756 310 ton de residuos, lo que representa el 34.5% de los RP generados en dicho periodo. Las entidades con un menor número de empresas generadoras fueron Quintana Roo (949 empresas, 1.02% del total de empresas), Zacatecas (931 empresas, 1%), Nayarit (807 empresas, 0.86%) y Tlaxcala (614 empresas, 0.66%). Respecto al tipo de industrias generadoras, en el periodo 2004-2014, las que contribuyeron con un mayor volumen de RP fueron la industria química (211 886 ton, 15.7% del total

generado), la automotriz (195 101 ton; 14.4%), la metalúrgica (190 229 ton; 14.1%) y la de petróleo y petroquímica (138 957 ton; 10.3% del total producido).

El impacto ambiental que las industrias tienen sobre el medio ambiente y los recursos naturales ha sido considerable, no tan sólo como resultado del crecimiento de la producción sino también porque el crecimiento se concentró en sectores de alto impacto ambiental. El Sistema Nacional de Información Ambiental y Recursos Naturales (2018) destaca que los giros industriales que más afectan el ambiente se encuentran la química y la industria metalúrgica, que en total pueden representar más de la mitad de la contaminación generada por el sector. En materia de residuos peligrosos, las industrias química, metalúrgica y automotriz son los sectores industriales con mayor generación, les siguen la industria eléctrica y la de alimentos. En el periodo comprendido entre 1992 y 2015, el sector que ingresó el mayor número de Estudio de Riesgo Ambiental (ERA) fue el petrolero y sus derivados (2 948 estudios; 28.4% del total), seguido por el de alimentos y bebidas (1 463; 14.1%; Figura 2) (SEMARNAT, 2018).

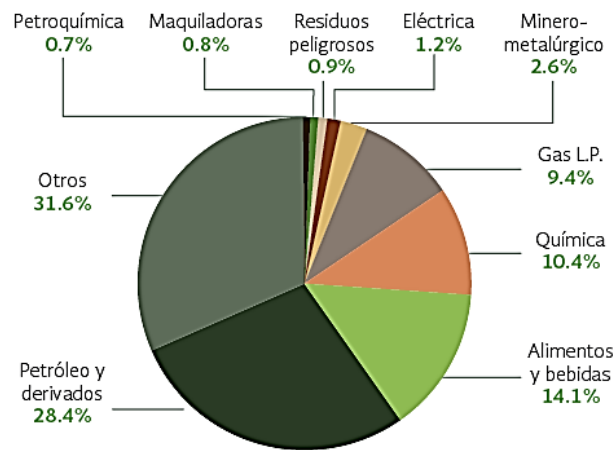


Figura 2. Estudios de riesgo ambiental por tipo de industria, 1992-2015

Fuente: Dirección General de Gestión Integral de Materiales y Actividades riesgosas. SEMARNAT. México. 2015.

El presente trabajo se enfocó en una alternativa para reutilizar residuos de la industria alimentaria y contribuir a la reducción del impacto ambiental que esta produce por sus residuos y por el uso de biopolímeros derivados del petróleo para el empaque y embalaje de alimentos.

1.2 Residuos generados por la industria de alimentos y bebidas

Anualmente, la industria de alimentos y bebidas genera una gran cantidad de residuos y subproductos que no son aprovechados, lo que tiene como consecuencia pérdidas económicas e impactos negativos sobre el medio ambiente. Se estima que la cantidad de desperdicio de alimentos, que se producen a nivel mundial

equivale a 4.4 giga toneladas de CO₂, 250 km³ de huella de agua azul, 28% del total de tierras agrícolas a nivel mundial y un costo económico aproximado de 750 mil millones de dólares (FAO, 2019).

Cada sector en particular genera residuos en diferentes porcentajes, de acuerdo con los tipos de productos que fabrican, los subproductos pueden provenir de cualquier actividad subproductos de la Industria de los animales, subproductos de la industria de los azúcares, subproductos de la industria hortícola, subproductos de la industria láctea, subproductos de la industria oleícola, subproductos de la industria vitivinícola entre otros. La FAO en 2019, reportó que se pierde el 35% de la producción mundial total de pescado y productos marinos, el 20% del procesamiento de carne de vacuno, 20% de la producción de lácteos, 45% del procesamiento de frutas y hortalizas, 45 % de raíces y tubérculos, 30% de cereales y 20% de la producción de legumbres y oleaginosas.

En el procesamiento de las frutas y vegetales generaron residuos sólidos como semillas, hojas, tallos y cáscaras, que varían según la materia prima procesada entre 2 y 8 ton por ton de materia prima, además de aguas residuales altas en sólidos suspendidos. La piña y la papaya son dos frutas que de acuerdo con el SIAP (2018), entre el 25 y 35% de las 876 mil toneladas de piña y 956 mil toneladas de papaya que se producen en México, corresponden a los desperdicios entre ellos la cáscara.

En productos lácteos, México ocupó el octavo lugar en la producción mundial en 2019, el 37.1 % fueron pérdidas y se generaron diversos residuos a nivel atmosférico, sólidos y efluentes líquidos, donde la lactosa fue el principal aportante de demanda bioquímica de oxígeno (DBO) y el suero resultante de la elaboración de quesos un factor crítico, ya que puede alcanzar DBO del orden de 40000 a 50000 mg/L. La industria procesadora de pescado generó residuos como recortes de músculo, aletas, escamas, espinas y vísceras superiores al 50% del peso total. En 2018, México produjo 2,159, 650 ton de las cuales el 54% fueron pérdidas (SIAP, 2018).

La disposición inadecuada de los residuos de la producción de alimentos ocasiona alteraciones en los diferentes medios abióticos, bióticos y son una fuente de preocupación sanitaria a nivel microbiano (Ver tabla 1) además que éstos costos, deben ser asumidos por las mismas empresas generadoras y hacen que estos se transformen en un problema no solo ambiental sino económico por lo que el aprovechamiento de este tipo de residuos es una estrategia ambiental y económicamente adecuada de manejo de subproductos o residuos agroalimentarios.

Tabla 1. Problemas de control de la contaminación generados por los residuos de la producción de alimentos

Industria	Agua	Residuos sólidos	Aire
Enlatado, congelado y deshidratado, frutas y vegetales, sopa, papa, papas fritas, artículos, comida para bebé, etc.	Grandes volúmenes. Variación en el efluente fuerza y volumen. Efluentes altamente biodegradables. Compuestos orgánicos difíciles de eliminar químicamente. Coloración del agua por pigmentos fuertes en algunos productos crudos. El líquido desperdicia gran materia putrescible.	Muy putrescible. Desperdicio de pelado y corte.	Olores del tratamiento de aguas residuales y tratamiento de desechos sólidos. Humedad visible. Pérdidas de material atrapado (partículas).
Aceites comestibles	Altas concentraciones de grasa, aceite y grasas; DBO5, sólidos suspendidos, compuestos orgánicos dispersos. Las grasas y los aceites y son difíciles de eliminar a un nivel aceptable en la descarga directa a las vías fluviales. Los efluentes altamente biodegradables. Volúmenes relativamente grandes de aguas residuales.	Producción de grandes cantidades de materia sólida como los subproductos de fertilizantes o alimentación altamente putrescibles.	Olores de las operaciones de procesamiento. Olores del tratamiento de aguas residuales y eliminación de desechos sólidos. Emisiones de partículas por manejo de frijoles o semillas. Toxinas ocasionales o descarga de alérgeno específico para el producto crudo
Lácteos	Efluentes altamente biodegradables. -Sero de producción de queso.		
Conservas	-Salmuera, altos sólidos disueltos en efluentes.		
Cacahuete		Disposición de cáscaras y cáscaras de maní.	Olor asado.
Té	Efluente de evaporación.	Envoltura y te pasado.	
Café	Evaporación y otros efluentes.	Granos de café.	Olor asado.
Chocolate	Grasas suspendidas en efluentes.	Cáscaras de cocoa.	Olor asado.
Pescado y mariscos	El líquido desperdicia compuestos putrescibles. Los desechos tienen propiedades para colorear el agua.	Procesamiento de desechos como los del cangrejo y camarón.	Humo del procesamiento. Humedad visible. Olores de la eliminación de desechos.
Carne roja	Los desechos líquidos son altamente putrescibles. Relativamente grandes volúmenes de desechos	Desechos de cribado putrescibles.	Olores asociados con desperdicio y tratamiento. Humedad visible (vapor).
Aves	Efluentes altamente orgánicos. Alto en sólidos suspendidos y materia flotante tales como grasa. Relativamente grandes volúmenes de aguas residuales.	Desechos de cribado muy putrescibles.	Olores asociados con desperdicio y tratamiento.

Restrepo, 2006; De las Fuentes *et al.*, 2003.

Los subproductos agroindustriales son aquellos que derivan exclusivamente de un proceso industrial y que usualmente se le otorga un valor menor que el producto principal. Muchas veces se le denominan “residuos”, el Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria de Argentina (2006), define subproductos de origen animal a cuerpos enteros, partes de cuerpos, excreciones y secreciones de animales de especies domesticadas, animales de caza o silvestres, que se dividen en dos grupos: Los que son elaborados y son sometidos a un proceso de transformación, y los que no son elaborados y que, además, no sufren transformación alguna.

Los residuos agroindustriales son materiales en estado sólido o líquido que se generan a partir del consumo directo de productos primarios o de industrialización, no son de utilidad para el proceso que los generó, pero son susceptibles de aprovechamiento o transformación para generar otro producto con valor económico, de interés comercial o social (Saval, 2012).

Los subproductos, transformados o no transformados, se clasifican de acuerdo al producto primario de los cuales fueron obtenidos, así como el riesgo que puedan llegar a representar.

De acuerdo con Galanakis (2012), los residuos agroindustriales pueden ser de origen vegetal o animal, éstos se dividen en siete grupos: (I) cereales, (II) raíces y tubérculos, (III) plantas oleaginosas, (IV) frutas y verduras, (V) productos cárnicos, (VI) pescados y mariscos y (VII) productos lácteos. Cada sector agroindustrial en particular genera residuos de diferentes porcentajes de acuerdo con los tipos de productos que los mismos fabrican. (Restrepo, 2006; De las Fuentes *et al.*, 2003) (Véase Tabla 2).

Tabla 2. Porcentaje de subproductos generados en diferentes sectores de la industria alimentaria.		
Industria	Subproductos	Porcentaje total*
Cárnica (mataderos)	Sangre, vísceras, huesos, intestinos, piel, grasas, pelo y plumas.	30-52
Pesquera	Cabezas, vísceras, colas, piel, espinas y conchas	30-75
Hortícola	Hojas, semillas, pieles, tallos y pulpa.	5-50
Láctea	Lacto suero	90
Oleaginosa	Hojas, orujo, goma y jabones	40-70
Azucarera	Pulpa, melazas y levaduras	88

*Porcentaje de la cantidad total de materia prima que entra al proceso productivo (Restrepo, 2006)

Otra clasificación importante, aplicable sólo para subproductos de origen animal, propone que los subproductos de origen animal presentan un riesgo de salud en su tratamiento y eliminación, y los clasifica en 3 categorías:

Categoría No.1. Subproductos de mayor riesgo: Estos son los materiales que pueden presentar riesgo en relación con contraer alguna encefalopatía espongiforme transmisible (EET). Debido a esta condición, no son aptos para consumo humano y deben ser eliminados por métodos que garanticen la reducción de estos riesgos. Esta categoría incluye animales de experimentación, animales que se han tratado con Materiales Específicos de Riesgo (MER), y animales que se sospechen tengan riesgo de padecer alguna enfermedad transmisible.

Categoría No.2. Subproductos no relacionados con riesgos incluidos en la primera categoría: Siguen siendo no aptos para el consumo humano y se incluyen subproductos de animales que hayan sido tratados con medicamentos que hayan sobrepasado el límite máximo de residuos (LMR) y animales que hayan sido recogidos de aguas residuales.

Categoría No.3. Subproductos aptos para consumo humano: Los subproductos que entran en esta categoría pueden ser aptos para consumo humano, pues no proceden de animales con enfermedad transmisible como en las dos anteriores. Los subproductos de esta categoría son derivados de la elaboración de productos que son destinados directamente al consumo humano (incluyendo los productos a base de pescado), leche cruda, conchas crudas y subproductos de incubación (López *et al.*, 2011).

Estas clasificaciones deben tomarse en cuenta para un mejor control de estos, así como la forma de poder aprovecharlos. En la presente investigación, todos los subproductos que se utilizaron se han clasificado como subproductos transformados derivados de residuos agroindustriales.

1.2.1 Aprovechamiento y Revalorización

Una alternativa para ampliar y mantener un desarrollo más sustentable en la industria alimentaria consiste en el rediseño de las industrias y la vida doméstica bajo una economía circular que se sustenta en la reutilización del desperdicio.

La industria se ha enfocado en tomar medidas que aprovechen y valoricen los subproductos generados. Al mismo tiempo que crea nuevas fuentes de riqueza, pues aportan una mayor rentabilidad económica al proceso industrial de partida. Los subproductos pueden utilizarse para:

- La extracción de sustancias de alto valor añadido
- Alimentación animal
- La obtención de compostas
- El aprovechamiento energético
- Elaboración de nuevos alimentos y obtención de materias primas

Los procedimientos tradicionales del aprovechamiento de los subproductos son frecuentemente la alimentación del ganado, fertilizantes y compostas, o como sustratos agrícolas. Sin embargo, estos procesos no aumentan la competitividad económica de las empresas respecto a su competencia, pues usualmente no toman en cuenta los ingredientes que pueden ser aprovechables tales como ácidos grasos, fibras y minerales (Fernández Ginés *et al.*, 2008).

Los residuos agroindustriales pueden usarse para obtener extractos de composición orgánica de alto valor agregado como fibras dietéticas, pigmentos, pectinas, oligosacáridos, flavonoides, carotenoides, compuestos fenólicos, tocoferoles y vitaminas (Galanakis, 2012). La Tabla 3, presenta diversos ingredientes de interés que pueden ser aprovechables y que son obtenidos de residuos agroindustrial.

Tabla 3. Principales ingredientes extraídos de residuos industriales

Origen del residuo	Ingrediente de interés
Cereales	Albúmina, globulina, hemicelulosa, fibras insolubles, arabinosilanos, beta-glucanos, glucosa, arabinosa, galactosa.
Raíces y tubérculos	Arabinosilanos, fenoles, ácidos orgánicos.
Plantas oleaginosas	Fitoesteroles, albúmina, fenoles, pectina.
Pescados y mariscos	Proteína, lípidos, quitina, quitosano.
Frutas y verduras	Hesperidina, limoneno, pectina, fenoles, fibra dietética, tartrato de calcio, beta caroteno, licopeno, carotenoides, pectina.
Productos cárnicos	Proteína, hidrolizados de proteína.
Productos lácteos	Lactoglobulina, alfa-lactoalbúmina.

Galanakis, 2012

Algunas alternativas de los distintos aprovechamientos de subproductos agroindustriales que se usaron en el presente trabajo son las enzimas que pueden aplicarse para la extracción de las moléculas bioactivas presentes en los subproductos agroindustriales y que también parten de residuos agroindustriales y constituyen una metodología viable como alternativa de valorización (Casas *et al.*, 2014). También la recuperación y la hidrólisis de las proteínas de la industria pesquera, para la evaluación de sus funcionalidades, los efectos en la salud y la aplicación en diferentes productos (Chalamaiah *et al.*, 2012) como medio para el aprovechamiento sostenible de los subproductos generados (20 millones de toneladas a nivel mundial) (FAO, 2018).

1.3 Hidrolizados de pescado

Los hidrolizados de pescado se definen como proteínas de pescado que se descomponen en péptidos de diferentes tamaños (Shan, Franco & Zhang, 2013). Una hidrólisis proteica es un proceso químico o enzimático que busca generar a partir de una proteína, una serie de péptidos de menor tamaño es más efectiva cuando se logra romper la mayor cantidad de enlaces peptídicos posibles, a esta propiedad se le conoce como grado de hidrólisis (GH) (Benítez *et al.*, 2008).

La funcionalidad de los hidrolizados y su actividad biológica depende de la naturaleza y composición de los péptidos generados durante la hidrólisis (Chabanon *et al.*, 2007), así como también del método de obtención y producción de estos (Khora, 2013). Los hidrolizados se distinguen de sus proteínas de origen en términos de tamaño molecular y de sus propiedades nutricionales y biológicas. Un grado de hidrólisis (GH) bajo, entre el 1% y el 10% mejora las propiedades funcionales de los productos alimenticios como la solubilidad, el poder espumante y el emulsificante; un grado extensivo, mayor al 10%, genera péptidos que tienen

elevada solubilidad y presentan mayor absorción gastrointestinal, por lo cual pueden usarse para aplicación en alimentos líquidos (Cecopesca, 2012).

1.4 Péptidos bioactivos

Los péptidos bioactivos son secuencias cortas de 2 a 40 unidades de aminoácidos (aa) que son inactivos dentro de la proteína precursora y al ser liberados mediante hidrólisis química, enzimática, digestión in vivo o procesado de los alimentos, pueden ejercer una variedad de actividades biológicas (Carrasco-Castilla *et al.*, 2012; De Castro *et al.*, 2015). Se ha reportado que muestran actividades hormonales o similares a las drogas y pueden clasificarse según sus modos de acción como antioxidantes, antimicrobianos, antitrombóticos, antihipertensivos, opioides, inmunomoduladores y quelantes de metales. (FitzGerald *et al.*, 2004; Aluko 2008; Mulero *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2012; Chen *et al.*, 2013); estudios indican que estas actividades están determinadas por el grado de hidrólisis (GH, número de enlaces peptídicos rotos en relación con la proteína original), concentración de sustrato, relación enzima/sustrato, tiempo de incubación, microorganismo utilizado y condiciones fisicoquímicas como pH y temperatura (Vioque *et al.*, 2005).

1.4.1 Fuentes de péptidos bioactivos

Los péptidos han sido identificados y aislados de fuentes animales y vegetales y se encuentran abundantemente en hidrolizados de proteínas y productos lácteos fermentados, así como en algunos hongos como el *Ganoderma lucidum* (Sun *et al.*, 2004). Pueden obtenerse a partir de la digestión de proteínas empleando enzimas endógenas o exógenas, fermentación microbiana, procesamiento y durante la digestión gastrointestinal. Debido a la relevancia de estas moléculas emergentes y con el fin reducir sus costos, se han buscado otras fuentes proteicas entre ellas subproductos de la industria alimentaria como cabezas y vísceras de pescado y plumas de aves (Deraz, 2014; Bougatef *et al.*, 2010; De Macedo *et al.*, 2002). Algunos estudios reportan que, dependiendo de la fuente proteica, el tipo de enzima utilizado y las condiciones de procesado, la actividad biológica y los péptidos obtenidos es distinta (Sun *et al.*, 2016; Borawska *et al.* 2015; Mulero J. *et al.*, 2011).

1.4.1.1 Péptidos de origen vegetal

La obtención de péptidos a partir de proteínas de origen vegetal, mediante enzimas de origen animal, vegetal o microbiano también ha sido reportada. Algunas fuentes proteicas de origen vegetal de las que se han aislados péptidos bioactivos son las proteínas de soja, de trigo, de maíz, de arroz, de cebada y de girasol. Se ha encontrado que presentan actividades antihipertensivas, hicolesterolémicas, antiobesidad y anticancerígenas, entre ellos los aislados de semilla y leche de soya (Capriotti *et al.*, 2015), asimismo, se ha reportado que el 51% de los péptidos presentes en las plantas tienen actividad antimicrobiana y estructura

es similar a los obtenidos en animales e insectos (Salas *et al.*, 2015; Hammami *et al.*, 2009). En la tabla 1 se pueden observar algunas fuentes de péptidos bioactivos de origen vegetal.

1.4.1.2 Péptidos de origen animal

La carne, las aves, pescado y huevos son una valiosa fuente de proteínas y micronutrientes como hierro, selenio, vitamina A, B12 y ácido fólico, que no están presentes en otros alimentos. Se ha identificado también en las proteínas de origen animal, sustancias bioactivas como ácidos grasos (ácido linoleico conjugado), carnosina, L-carnitina, glutatión, taurina, coenzima Q10 y creatina (Arihara *et al.*, 2008). Además de péptidos que se ha reportado son fisiológicamente funcionales.

El ganado, ovejas, cabras, cerdos y aves de corral son las fuentes más comunes de carne para consumo humano y proteínas; de la carne de cerdo por ejemplo se han identificado RPR, KAPVA y PTPVP, tres péptidos con actividad antihipertensiva (Escudero *et al.*, 2012); también, los péptidos más estudiados son los derivados de las caseínas de la leche; la lactotransferrina, que posee actividad antimicrobiana frente a un amplio rango de microorganismos entre ellos *Staphylococcus spp* y *Streptococcus pyogenes* (Marshall, 2004).

Otra fuente de péptidos bioactivos comprende los alimentos marinos, como algas, peces, moluscos, crustáceos, de los que se ha logrado identificar algunos péptidos bioactivos endógenos, antioxidantes, inhibidores de angiotensina convertasa mediante la fermentación de salmón, sardina, anchoveta, carpa y bonito (Borawska *et al.*, 2015; Jiang *et al.*, 2014; Ko *et al.*, 2013; Bougatef, 2010; Fujita *et al.*, 1995). La tabla 4, muestra algunas fuentes de péptidos bioactivos de origen animal.

Tabla 4. Fuentes de péptidos bioactivos de proteínas de diversos alimentos y su actividad

Actividad	Fuente	Proteína de origen	Péptidos bioactivos o secuencia
Inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) y antihipertensiva	Soya	Proteína de soya	NMGPLV
	Pescado	Proteína de músculo	LKP, IKP (derivados de sardina, bonito, atún, calamar)
	Carne	Proteína de músculo	IKW, LKP
	Leche	α -LA, β -LG	Lactoquininas (WLAHK, LRP, LKP)
	Huevo	α -, β -, κ -CN	Casoquininas (FFVAP, FALPQY, VVP)
	Trigo	Ovoalbúmina	KVREGTTY
Inmunomodulador	Brócoli	Gliadinas	Ovoquinina (FRADHPPL),
		Proteína encriptada	Ovoquinina (2-7) (KVREGTTY)
	Arroz	Albumina de arroz	IAP
Citomodulador	Huevo	Ovoalbúmina	YPK
	Leche	α - β - κ -CN α -LA	Orizatensinina (GYPMYPLR)
	Trigo	Gluten	Péptidos no especificados
Opioide agonista	Leche	α - β -CN	Inmunopéptidos
	Trigo	α -LA, β -LG	A-casomorfina (HIQKED(V)), β - casomorfina-7 (YFPFGP) α -lactorfina, β - lactorfina
		Gluten	Casomorfina
			Exorfinas de gluten A4, A5 (GYYPT), B4, B5 y C (YPISL)

Opioide antagonista	Leche	Lactoferrina κ-CN	Lactoferricina Caxosinas
Antimicrobiana	Huevo	Ovotransferrina	OTAP-92(f109-200)
	Leche	Lisozima Lactoferrina α-β-κ-CN	Péptidos no especificados Lactoferricina Caxosinas κ-CN (f106-116)a, casoplatelina
Antitrombótica	Leche	κ-CN (glicomacropéptido)	κ-CN (f106-116)a, casoplatelina
Acarreadora de minerales	Leche	κ-CN (glicomacropéptido)	κ-CN (f106-116)a, casoplatelina
Hipocolesterolémica	Soya	Glicina	LPYPR
	Leche	β-LG	IIAEK
Antioxidante	Sardina	Músculo de sardina	MY
	Trigo	Proteína de germen de trigo	Péptidos no especificados
	Leche	α-LA, β-LG	MHIRL, YVEEL, WYSLAMAASDI
Inhibición de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) y antihipertensiva	Soya	Proteína de soya	NMGPLV
	Pescado	Proteína de musculo	LKP, IKP (derivados de sardina, bonito, atún, calamar)
	Carne	Proteína de musculo	IKW, LKP
	Leche	α-LA,β-LG	Lactoquininas (WLAHK, LRP, LKP)
	Huevo	α-,β, κ-CN	Casoquininas (FFVAP, FALPQY, VVP)
	Trigo	Ovotransferrina	KVREGTTY
	Brócoli	Ovoalbúmina	Ovoquinina (FRADHPPL), Ovoquinina (2-7) (KVREGTTY)
		Gliadinas	IAP
		Proteína encriptada	YPK

CN: caseína, LA: lactoalbúmina, LG: lactoglobulina, f: fragmento (Hartmann *et al.*, 2007).

1.4.1.3 Péptidos a partir de subproductos

Innovaciones recientes para la generación de péptidos con actividad biológica consisten en el uso de proteínas de subproductos alimentarios como sustrato para la acción enzimática y microbiana para aprovechar sus propiedades tecnológicas, mejorar propiedades nutricionales y como propuesta al costo de producción.

Algunos subproductos utilizados como fuentes proteicas son los huesos de la industria cárnica de los que se puede obtener del 10-13% colágeno y gelatina, que son proteínas que contienen péptidos biológicamente activos en sus secuencias (Alemán *et al.*, 2013); los huesos de subproductos marinos hidrolizados como los huesos del atún de los que se identificó el péptido VKAGFAWTANQQLS con actividad antioxidante (Je *et al.*, 2007) ; piel de pollo hidrolizada de la que se obtuvieron cuatro péptidos inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (Saiga *et al.*, 2008) y sangre que se obtiene principalmente de fuentes bovinas y porcinas; se ha descrito que los hidrolizados de hemoglobina y plasma ejercen principalmente actividad antihipertensiva, antioxidante, antimicrobiana y opioide (Chang *et al.*, 2007).

Otros péptidos naturales con actividad biológica que se han estudiado provienen de varias fuentes proteicas como piel de tiburón, cabezas y vísceras de sardina (*Sardinella aurita*) (Bougatef *et al.*, 2009; Gu *et al.*, 2011; Lee *et al.*, 2011). Una especie poco reportada con un buen contenido de proteína (18%) y alto impacto socioeconómico, es la carpa común (*Cyprinus carpio*), que se ha constituido como un recurso de consumo popular y es el segundo pescado más producido en el país (FAO, 2016; SAGARPA, 2013).

1.4.1.4 Carpa común (*Cyprinus carpio*) como fuente de péptidos

La carpa común (*Cyprinus carpio*), es una especie ampliamente producida en México, se ha constituido como un recurso de consumo popular y es el tercer pescado más producido en el mundo (FAO, 2018). Es una fuente de proteínas con aminoácidos esenciales (15 al 18%) y lípidos de 2 a 8% principalmente omega 3 (Usyodus *et al.*, 2009). Destaca por su aporte de vitamina B12, cubriendo éste en una ración de carpa el 115% de las ingestas recomendadas al día para la población. Asimismo, tiene un alto contenido de vitamina liposoluble D, una ración de carpa (250 g) cubre prácticamente el 250% de las ingestas recomendadas de esta vitamina para hombres y mujeres de 20 a 39 años con actividad física moderada. Esta vitamina es importante para la absorción del calcio y el fósforo ya que ayuda a mantener los niveles sanguíneos de estos minerales. Contiene minerales como calcio y sodio que están presentes en más bajas cantidades; magnesio, potasio, zinc y hierro, en cantidades medias; y destaca por los aportes de fósforo y selenio. En relación con el fósforo, la carpa es el pescado más rico en este mineral, sólo por debajo del pez espada. El fósforo está presente en los huesos y dientes e interviene en el sistema nervioso y en la actividad muscular, y participa en procesos de obtención de energía (Tabla 5).

También, la carpa es uno de los pescados más ricos en hierro, aunque su valor se encuentra por debajo del que contienen las carnes. Este mineral es necesario para la formación de hemoglobina, proteína que transporta el oxígeno desde los pulmones a todas las células, y su aporte adecuado previene la anemia ferropénica.

Tabla 5. Composición nutricional de la carpa común			
	100g de porción comestible	Consumo diario recomendado hombres	Consumo diario recomendado mujeres
Energía (Kcal)	127	3000	2300
Proteínas (g)	17.8	54	41
Lípidos totales (g)	5.6	100-117	77-89
AG saturados (g)	1.083	23-27	18-20
AG monoinsaturados	2.328	67	51
AG poliinsaturados	1.431	17	13
Ω-3 (g)	0.704	3.3-6.6	2.6-5.1
C 18:2 Linoleico (g)	0.517	10	8
Colesterol (mg/1000 Kcal)	66	<300	<230
Hidratos de carbono (g)	0	375-413	288-316
Fibra (g)	0	>35	>25
Agua (g)	76.3	2500	2000
Calcio (mg)	41	1000	1000
Hierro (mg)	1.2	10	18
Yodo (µg)	-----	140	110
Magnesio (mg)	29	350	330
Zinc (mg)	1.5	15	15
Sodio	49	<2000	<2000
Potasio (mg)	333	3500	3500
Fósforo (mg)	415	700	700
Selenio (µg)	12.6	70	55
Tiamina (mg)	0.12	1.2	0.9
Riboflavina (mg)	0.06	1.8	1.4
Equivalentes niacina (mg)	1.6	20	15
Vitamina B ₄ (mg)	0.19	1.8	1.6

Folatos (µg)	15	400	400
Vitamina B ₁₂ (µg)	1.53	2	2
Vitamina C (mg)	1.6	60	60
Vitamina A: Eq. Retinol (µg)	9	1000	800
Vitamina D (µg)	24.7	15	15
Vitamina E (mg)	0.6	12	12

USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 27 (2015). (FISH, CARP, RAW)

El Estado de México es uno de los principales productores de carpa de México, durante el 2018, se produjo 5 530 toneladas de carpa con un 54% de subproductos generados, asimismo, alrededor del 88% de la producción total se utilizó para el consumo humano directo, mientras que el 12% restante se utilizó para fines no alimentarios. Se estima que alrededor del 25% y el 35% por de este restante se utiliza para producir harina y aceite de pescado.

Una alternativa de uso de estos subproductos y la reducción del impacto ambiental ocasionados por estos, es su aprovechamiento en la obtención de compuestos bioactivos como péptidos.

La hidrólisis proteolítica aplicada tanto al músculo como a los subproductos del pescado ha sido sugerida para transformar y generar productos de valor añadido, con propiedades funcionales o biológicas (Chabeaud et al., 2009; Borawska *et al.*, 2016), puede ser llevada a cabo de forma química (mediante ácido o álcali) o biológica (utilizando enzimas) (Pasupuleti et al., 2010). Sin embargo, el primer tratamiento afecta la calidad nutrimental de los péptidos resultantes, por lo que la vía enzimática es la más recomendada debido a que en el proceso hay mayor control y selectividad, además que daña en menor medida a los alimentos y genera un producto de mayor valor nutrimental (Cecopesca, 2012).

1.4.2 Producción de péptidos

Los péptidos bioactivos se encuentran en la mayoría de los productos alimentarios ricos en proteínas, por lo que el consumo de los alimentos con mayor contenido de proteínas incrementa la posibilidad de adquirirlos, su liberación es generada a través de diversos mecanismos; a través del procesamiento por calor, condiciones acido-base en las que la proteína se hidroliza, hidrólisis enzimática y actividad microbiana, principalmente en los alimentos fermentados (Pihlanto-Leppälä, 2001). Una vez que se conoce la estructura de los péptidos bioactivos, también es posible sintetizarlos mediante: síntesis química, tecnología de ADN recombinante y síntesis enzimática (Korhonen et al., 2003). La figura 3, muestra el proceso general utilizado para la producción, identificación e identificación de péptidos antioxidantes.

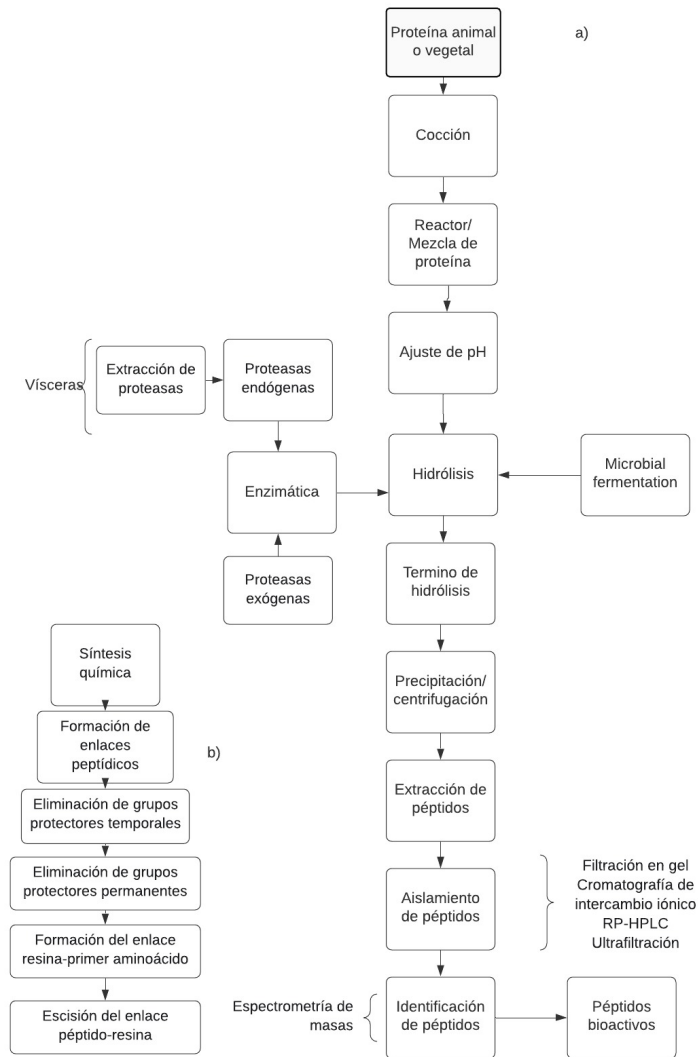


Figura 3. Diagrama del proceso de producción de péptidos bioactivos a) Hidrólisis, b) síntesis química (Martínez-Medina *et al.*, 2019; Mora *et al.*, 2014; Albericio *et al.*, 2004).

1.4.2.1 Fermentación microbiana

En este proceso se emplean microorganismos iniciadores para la inoculación de cepas microbianas en un reactor que contiene mezclas homogéneas de proteína concentrada, agua y nutrientes microbianos como azúcares simples, que pueden ser utilizados para el crecimiento y el desarrollo de las cepas (Najafian *et al.*, 2018). La proteína se rompe principalmente por la actividad de los microbios y las peptidasas secretadas por la actividad microbiana durante la fermentación (Rajendran *et al.*, 2018); se han usado principalmente bacterias ácido-lácticas debido a su alta actividad proteolítica. Algunas bacterias ácido lácticas, empleadas como microorganismos iniciadores y no iniciadores, pertenecen a cepas de *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus helveticus* y *Lactobacillus delbrueckii ssp bulgaricus*, en sus procesos de caracterización se ha visto la participación de proteinasas unidas a la pared celular bacteriana, así como la presencia de peptidasas

intracelulares, incluyendo endopeptidasas, aminopeptidasas, tripeptidasas y dipéptidasas (Christensen *et al.*, 1999).

El tipo, la cantidad y la actividad de los péptidos producidos dependen de los cultivos específicos utilizados. Kullisaar *et al.* (2003) reportó que los péptidos obtenidos con bacterias ácido-lácticas de la leche de cabra fermentada redujeron el estrés oxidativo y la teratogenicidad en los seres humanos, Lin *et al.* 1999 que los cultivos de bacterias de ácido láctico utilizados en la fermentación de yogur son capaces de estabilizar las especies reactivas de oxígeno e inhibir la peroxidación de los lípidos. El *Leuconostoc mesenteroides ssp.*, cepas de *cremoris*, *lactobacilos jensenii* (ATCC25258), y *Lactobacillus acidophilus* (ATCC4356), cepas aisladas de un sistema de fermentación de suero de leche, también exhibieron actividad de inhibición de radicales y peroxidación lipídica (Virtanen *et al.*, 2007). Asimismo, Rajapakse *et al.* (2005) obtuvo el heptapéptido His - Phe - Gly - Asp - Pro - Phe – His a partir de carnes fermentadas de mejillón y presentó una fuerte actividad de captación de radicales.

1.4.2.2 Hidrólisis enzimática

La hidrólisis enzimática de proteínas es la forma más común de producir péptidos bioactivos. Una vez seleccionada la fuente proteica, la hidrólisis se lleva a cabo utilizando una o múltiples proteasas específicas para liberar péptidos de interés. Las enzimas de tipo proteolítico pueden ser utilizadas como catalizadoras del proceso de hidrólisis, generando además de la ruptura de los enlaces peptídicos, otros beneficios al producto final que pueden ser a la salud, a la alimentación o a la tecnología de alimentos. Las proteasas papaína, bromelina, ficina y cucumisina, aisladas de papaya (*Carica papaya L.*), piña (*Ananas comosus (L.) Merr.*), higo (*Ficus carica L.*) y melón (*Cucumis melo L.*), respectivamente, (Feijoo-Siota *et al.*, 2011); han sido utilizadas para el ablandamiento de carne y modificaciones de la textura, así como para la solubilización de las proteínas y se han separado de fase acuosa y la oleosa (Ha *et al.*, 2012; Sullivan *et al.*, 2010). Los factores que influyen para la liberación de los péptidos son el tiempo de hidrólisis, el grado de hidrólisis de las proteínas, la relación enzima-sustrato y el tratamiento de las proteínas antes de su hidrólisis (Inouye *et al.*, 2009).

1.4.2.3 Síntesis de péptidos

Las aplicaciones terapéuticas de varios péptidos han llevado a sintetizarlos, la síntesis química es el método más popular en el laboratorio, ofrece mayor diversidad estructural que los métodos biotecnológicos pues se puede emplear aminoácidos no naturales y se puede introducir modificaciones químicas (Narai-Kanayama *et al.*, 2010; Dziuba *et al.*, 2014), la longitud y cantidad del péptido deseado son los criterios que determinan el método de síntesis más adecuado para su producción. Actualmente, la tecnología de elección para la obtención de péptidos de 5 a 50 aa es la síntesis química, es uno de los últimos pasos en la producción de

péptidos bioactivos de proteínas alimentarias, ya que se utiliza para validar las actividades biológicas de un péptido descubierto. Existen dos métodos:

Síntesis en fase líquida o en solución, utiliza reacciones que se desarrollan en una disolución homogénea (Fig. 3) y tiene la ventaja que su validación para la aprobación de del proceso sintético por parte de los organismos que regulan los fármacos (Federal Drug Administration, European Agency for the Evaluation of Medical products) es similar para cualquier otro fármaco, sin embargo, requiere de una etapa de purificación en cada ciclo de síntesis, siendo útil industrialmente solo para péptidos pequeños (2-35 aa). Algunos peptidos comerciales sintetizados mediante esta metodología son la felipresina (9 aa), glipresina (12 aa), enalaprilato (2 aa) bivalirudin (20 aa), goserelina (10 aa) y calcitocinas (31-32 aa). Sus desventajas es que son lentos, requieren una alta especialización, purificación y caracterización de cada intermediario peptídico protegido (Albericio *et al.*, 2004).

Síntesis en fase sólida, es el método más eficiente para la síntesis de péptidos de aproximadamente 10 a más de 100 residuos, utiliza un soporte polimérico insoluble que permite la separación de los solventes y reactivos por filtración o centrifugación (Gill *et al.*, 1996; Korhonen *et al.*, 2003). Esta estrategia se basa en hacer crecer el péptido sobre un polímero insoluble acoplado covalentemente el aminoácido correspondiente al extremo C de la secuencia a un soporte insoluble y alargar la cadena peptídica desde el residuo-soporte por incorporación de los aminoácidos restantes a través de pasos sucesivos de acoplamiento del aminoácido protegido y desprotección del grupo α -amino (Fig. 3). Sus purificaciones de cada paso son una filtración simple por lo que esta metodología permite reducir el tiempo de síntesis de péptidos, sin embargo la falta de intermedios aislables hace que incremente la posibilidad de obtener mezclas de compuestos, lo que dificulta su aprobación ante los organismos reguladores, aun así este proceso se aplica en la producción de fármacos peptídicos como la corticotropina humana y ovina (41 aa), calcitoninas de salmón y anguila (32 aa), el factor de liberación de la hormona de crecimiento (29 aa) (Garay-Pérez, 2012).

1.4.2.3.1 Piña y papaya como fuentes de enzimas proteolíticas para la obtención de péptidos bioactivos

1.4.2.3.1.1 Piña como fuente de enzimas

La piña (*Ananas comosus*) es una fuente de vitamina C (47.8 mg/100 g en pulpa), minerales (143.1 mg/100g), fibra dietética (2.8% en pulpa y 70.6 % en cáscara) y otros compuestos importantes, contiene compuestos bioactivos como antocianinas, ácidos fenólicos, estilbenos, taninos y carotenoides además de bromelina. Es la tercera fruta tropical más importante a nivel ecomómico en el mundo después del plátano y los cítricos. En México, de acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) se tuvo producción nacional de 1,208, 247 toneladas equivalentes a 630, 933,192.47 pesos en el 2020. El aumento progresivo de la producción de piña ha provocado una mayor cantidad de sus residuos.

La eliminación correcta de tales residuos representa un problema creciente, por eso se ha estudiado la reutilización de los desechos de la piña y se han identificado como una fuente potencial de proteasas, como la bromelina (Nor *et al.*, 2015; Ketnawa *et al.*, 2012).

La bromelina se obtiene principalmente del tallo, aunque también de la fruta y sus subproductos. Es una enzima que digiere proteínas, está constituida por una sola cadena polipeptídica con 212 aminoácidos plegados en dos dominios estructurales estabilizados por puentes disulfuro y numerosos enlaces de hidrógeno (Soares *et al.*, 2012), su masa molecular es de 24,5 kDa (Murachi *et al.*, 1969). Se compone de una mezcla de proteasas y no proteasas, bromelina de tallo (80%), bromelina de frutas (10%), ananáina (5%) y otros componentes como fosfatasa, glucosidasas, peroxidasa, celulasas, glicoproteínas y carbohidratos (Nadzirah *et al.*, 2013; Silvestre *et al.*, 2012) es soluble en agua, pero insoluble en solventes orgánicos (Wan *et al.*, 2016).

La enzima bromelina tiene funciones útiles para las industrias alimentaria, farmacéutica, cosmética y textil (Wu *et al.*, 2017; Nor *et al.*, 2016). En la industria alimentaria, la bromelina se ha utilizado para ablandar la carne, elaborar cerveza, hornear (Ketnawa *et al.*, 2012; Amid *et al.*, 2011), prevenir el pardeamiento del jugo de manzana (Bernela *et al.*, 2016), clarificar la cerveza y como un complemento alimenticio (Bala *et al.*, 2013). Durante el proceso de ablandamiento, la bromelina promueve el ablandamiento de la carne al romper el material fibroso (Coelho *et al.*, 2014). En la industria de la panificación, la bromelina mejora la relajación de la masa, lo que le permite aumentar de manera uniforme y producir una harina hipoalérgica que es adecuada para pacientes alérgicos al trigo (Arshad *et al.*, 2014). Se utiliza como ingrediente activo para proporcionar efectos de exfoliación suaves (Bala *et al.*, 2013) y como agente limpiador (Chaurasiya *et al.*, 2013), como ingrediente activo en dentífricos blanqueadores de dientes y productos para la piel para tratar el acné, las arrugas y la piel seca, reducir los moretones y la hinchazón después de la inyección (Arshad *et al.*, 2014). En la industria farmacéutica como fármaco para el tratamiento de dolencias inflamatorias, trastornos intestinales, enfermedades relacionadas con la coagulación sanguínea, mejor absorción de antibióticos (Nor *et al.*, 2015), como agente de desbridamiento de heridas, como agente fibrinolítico (Chaurasiya *et al.*, 2013), tratamiento oral para quemaduras de tercer grado (Bernela *et al.*, 2016), aplicación terapéutica para anticuerpos (Tap *et al.*, 2016) y para acción mucolítica (Costa *et al.*, 2014). En las industrias textiles, la bromelina se incorpora en el procesamiento del cuero (Wu *et al.*, 2017) y también se utiliza para mejorar las cualidades de teñido de las fibras proteicas, descomponiendo o solubilizando parcialmente la fibra proteica de la seda y la lana (Bala *et al.*, 2013).

Otras aplicaciones de la bromelina son la producción de hidrolizados de proteínas, la depilación (Ketnawa *et al.*, 2012), como suavizante de fibras en detergentes (Wu *et al.*, 2017) y la producción de alcohol (Tap *et al.*, 2016). Su función es similar a la papaína y ficina (Amid *et al.*, 2011).

1.4.2.3.1.2 Papaya como fuente de enzimas

La papaya (*Carica papaya*) pertenece a la familia de las caricáceas, es originaria de las zonas tropicales de México y Centroamérica, crece y se desarrolla mejor en zonas cálidas y húmedas. Es una fuente de vitamina C (47.8 mg/100 g en pulpa), minerales (143.1 mg/100g), fibra dietética (2.8% en pulpa y 70.6 % en cáscara). Contiene compuestos bioactivos como antocianinas, ácidos fenólicos, estilbenos, taninos y carotenoides. Ocupa el tercer lugar de las frutas tropicales importantes a nivel económico en el mundo después del plátano y los cítricos.

En México, de acuerdo con el Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), en el 2020 se tuvo producción nacional de 118 mil toneladas equivalentes a 86 millones 657 mil dólares. Además, en 2019, México también, se ubicó como el principal exportador mundial de esta fruta con un volumen de participación de 44.7%.

Contiene enzimas proteolíticas como la papaína y quimopapaína. La papaína es una enzima proteolítica que se obtiene del látex de frutos verdes de papaya (*Carica papaya*), posee un peso de 23 kDa y esta formada por 212 aminoácidos, que se encuentran enrollados en 2 partes separadas por un puente que tiene un lugar activo con un grupo tiol (SH) libre. Tiene baja especificidad e hidroliza tanto las proteínas como los péptidos de cadena corta, amidas y ésteres. Actúa principalmente sobre los aminoácidos básicos, Leu, Gly, Arg, Lis y Phe (Sánchez *et al.*, 2015; Taboas, 2002), se activa mediante agentes reductores como cisteína, cianuro de sodio o sulfitos y es inactivada por agentes oxidantes como iones de metales pesados e incluso de oxígeno atmosférico. El pH óptimo de esta proteasa se encuentra entre 6 y 7, su punto isoeléctrico corresponde a un pH de 9.6 y la temperatura óptima para la acción de la papaína es de 65° C (Worthinnton, 2008). Es utilizada en la industria alimentaria para ablandar la carne, en la textil para macerar fibras de lana y algodón y en el curtido de pieles, en la industria cosmética se aprovecha su poder desmanchador y cicatrizante y en la industria farmacéutica se utiliza en medicinas para la digestión, disolver membranas en difteria y reducir la hinchazón, fiebre y adhesiones post cirugía (Carrera, 2002).

Otra aplicación de esta enzima es en la hidrólisis enzimática de proteínas para obtener hidrolizados y péptidos bioactivos de algunos subproductos como suero de leche, residuos de champiñones que posteriormente se utilizan para enriquecer alimentos como yogurt (Vera-Valle,2017).

1.4.3 Propiedades farmacológicas y beneficios a la salud de los péptidos bioactivos

Se ha reportado que los péptidos presentan efectos benéficos a la salud, tienen actividad antihipertensiva, opioide, antitrombótica, actividad acarreadora de minerales, inmunomodulador, antiviral, antimicrobiana y antioxidante. Su actividad depende de la estructura, composición de aminoácidos, el tipo de aminoácido terminal, la longitud de la cadena peptídica, la carga de los aminoácidos que forman el péptido y las

características hidrófobas e hidrófilas de la cadena de aminoácidos, entre otras (Mullero *et al.*, 2011; Udenigwe *et al.*, 2012).

Se han aislado diversos péptidos con actividad inhibitora de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) a partir de fuentes proteicas de origen animal y vegetal. Dentro de los alimentos de origen animal, los productos lácteos han sido la mayor fuente (Hartman *et al.*, 2007; Aluko, 2008), su funcionalidad ha sido comprobada tanto en modelos in vitro como in vivo. Torres-Llanez *et al.*, (2011) por ejemplo demostró que los quesos frescos elaborados con diferentes cepas de *Lactococcus*, *Lactobacillus* y *Enterococcus* contienen péptidos inhibidores de ECA. Arihara *et al.*, (2001), identificó pentapéptidos que corresponden a diferentes sitios de la cadena de la miosina y actina y evaluó sus efectos a diferentes concentraciones en ratas espontáneamente hipertensas, que después de la administración disminuyeron significativamente la presión sanguínea.

Diversas proteínas también se han investigado como fuente de péptidos con actividad acarreadora de minerales, algunas han demostrado que los procesos de digestión proteolítica in vitro se relacionan con la producción de péptidos capaces de transportar hierro; la especificidad se ha relacionado con la presencia de ciertos aminoácidos como Hys-Lys-Cys-Asp-Glu, capaces de formar uniones covalentes (Ou *et al.*, 2010; Wuk *et al.*, 2012). Una fuente de péptidos con esta actividad son los derivados de la pared celular de *Saccharomyces cereviceae*, los extractos obtenidos por digestión enzimática son ricos en péptidos que han sido estudiados por De la Hoz *et al.* (2013), quienes encontraron altos contenidos de Lys, His y Arg y una mayor presencia de quelatos de hierro que permiten la estabilidad del hierro durante una digestión in vitro.

Respecto a la actividad antiviral se ha demostrado que los componentes de naturaleza proteica muestran este beneficio. La lactoferrina que se encuentra principalmente en la leche por ejemplo presenta afinidad para unirse al hierro y lo retiene a diferentes valores de pH incluyendo resistencia a proteólisis, presenta actividad antiviral contra VIH y citomegalovirus (Mills *et al.*, 2011; García-Montoya *et al.*, 2012). De los productos marinos, también se han obtenido péptidos antivirales (LLEYSI, LLEYSL) a partir de la digestión por termolisina de proteínas de ostras, los cuales tienen la capacidad de inhibir la proteasa del virus de inmunodeficiencia humana (VIH-1) y previene la replicación viral (Harnedy *et al.*, 2012). El presente trabajo estudió la actividad antioxidante de péptidos obtenidos a partir de la hidrólisis de subproductos de carpa común por bromelina y papaína obtenidas de subproductos de cáscara de piña y de semillas de papaya.

1.4.3.1 Actividad antioxidante

Los seres humanos necesitan oxígeno (O₂) para la producción de energía mediante el metabolismo oxidativo de la mitocondria. Producen ATP, que es la molécula de la que se libera la energía necesaria para los diferentes procesos vitales. Sin embargo, el exceso de O₂ en las células es nocivo debido a la formación de

especies reactivas generadas durante su oxidación. La mitocondria es considerada como la principal fuente endógena de radicales libres (RL) ya que para producir ATP, el metabolismo oxidativo reduce de forma tetraelectrónica el 95 al 98% de oxígeno y del 2 al 5% restante se reduce de forma monoeléctrica, formando intermediarios denominados especies reactivas de oxígeno/nitrógeno (ROS, RNS), estos son producidos normalmente en el organismo y actúan como defensa contra infecciones por bacterias y virus, participan en la maduración de los reticulocitos y en la degradación de proteínas. Cada mitocondria produce alrededor de 10^{-7} M RL/día y también son capaces de producir otras especies reactivas que tienen significado biológico y se forman como consecuencia de una reacción en cascada como óxido nítrico (NO•), peroxinitrito (ONOO) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) (Olivares *et al.*, 2010).

El estrés oxidativo es responsable de la degeneración celular, debido a que los RL pueden reaccionar químicamente con proteínas, lípidos y DNA produciendo diversas modificaciones, daños celulares e incluso muerte celular. Se ha reportado que los RL oxidan a los aminoácidos de las proteínas produciendo la formación de grupos carbonilo, asociación de fragmentos proteicos por entrecruzamientos de enlaces disulfuro, rompimiento de enlaces peptídicos, pérdida de la afinidad por los metales e incremento en la hidrofobicidad, ocasionando que las proteínas sufran cambios en su estructura, actividad y funcionalidad, provocando que las proteínas con daño oxidativo presenten un deterioro en la actividad hormonal y enzimática, así como el transporte de iones, además de una mayor sensibilidad a la degradación proteolítica (Perl-Treves *et al.*, 2002; Estévez, 2011). Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) al ser oxidados por los RL dan lugar a la lipoperoxidación, una reacción en donde los PUFA ceden sus electrones a los RL, y generan cambios en la estructura molecular de la membrana aunado a la formación de puentes disulfuro de las proteínas de membrana, que dan como resultado la pérdida de permeabilidad y estabilidad de la membrana, provocando la muerte celular (Huanqui, 1997).

Los RL también atacan al DNA, dañando a los genes que codifican a las proteínas evitando que realicen las funciones celulares. Se ha reportado que el OH• es responsable de diversas modificaciones en la desoxirribosa, provoca la liberación de las bases nitrogenadas que se encuentran unidas a este azúcar y genera el rompimiento de una o ambas cadenas causando deleciones, mutaciones, reordenamientos cromosómicos, activación o inactivación de genes, que afectan la biosíntesis de cadenas de DNA, asimismo las especies reactivas de oxígeno, producen errores durante la transcripción y traducción del RNA (Duncan, *et al.*, 2000; Lieber *et al.*, 2004).

Para contrarrestar el efecto nocivo del O₂ y derivados, la célula tiene enzimas, secuestrantes de electrones y nutrientes que actúan como un sistema antioxidante, encargado de mantener el equilibrio de las reacciones de óxido reducción y sobrevivencia celular sin embargo los RL también provienen de fuentes exógenas y factores que favorecen su formación como la exposición a rayos X, ozono, tabaco, a contaminantes del aire y productos químicos industriales, además de ciertos medicamentos y los inadecuados hábitos alimenticios,

consumo de alimentos con baja calidad nutricional y capacidad antioxidante, comida rápida con alto contenido en grasas, alimentos chatarra, enlatados que contienen conservadores, bebidas con alto contenido de azúcar y el reducido consumo de alimentos naturales, lo que provoca un aumento en la concentración de RL y un desbalance entre la velocidad de formación y su neutralización por el sistema antioxidante endógeno del organismo generando estrés oxidativo, que ha sido vinculado con la obesidad, enfermedades crónicas degenerativas, neurodegenerativas, cardiovasculares, diabetes mellitus y cáncer así como de producir severos daños celulares, (Pérez-Torres *et al.*, 2021; Hayes *et al.*, 2020).

Los efectos nocivos del estrés oxidativo, sobre la salud humana, pueden ser reducidos a través de la ingesta de antioxidantes dietarios, presentes en diversos alimentos; se debe lograr un equilibrio entre la abundancia de ROS y antioxidantes, que son compuestos capaces de donar electrones para estabilizar a los radicales libres y neutralizar sus efectos dañinos, éstas pueden ser de origen endógeno (sintetizados por el organismo) y exógeno (provenientes de fuentes externas). Entre los antioxidantes endógenos, se encuentran la superóxido dismutasa y el glutatión peroxidasa. Algunos antioxidantes exógenos son las vitaminas A, E y C, los β -carotenos, luteína, flavonoides, licopenos, el ácido tióico o lipoico, cofactores (cobre, zinc manganeso, hierro y selenio) que son necesarios para la actividad del sistema enzimático endógeno, la coenzima Q y los péptidos que podemos obtener a través de la dieta y pueden actuar de dos formas: previniendo la generación excesiva de RL, evitando que se produzca el daño celular por efecto del estrés oxidativo o después de que se ha producido el daño, pueden controlar los niveles de RL evitando que el daño continúe avanzando y con ello algunos síntomas de las enfermedades producidas por el efecto del estrés oxidativo pueden disminuir (Venereo, 2002; Mohseni Salehi Monfared SS, *et al.*, 2009). En este estudio se trabajó para la obtención de péptidos con propiedades antioxidantes derivados de proteínas alimentarias y subproductos agroalimentarios como coadyuvantes para reducir el estrés oxidativo.

1.4.4 Péptidos antioxidantes

Los péptidos antioxidantes son aminoácidos enlazados purificados a partir de hidrolizados, contienen de 5 a 16 residuos de aminoácidos y los que proceden de los alimentos se consideran más seguros ya que son compuestos saludables con bajo peso molecular, bajo costo, alta actividad y fácil absorción. Tienen ventajas sobre los antioxidantes enzimáticos porque tienen una estructura más simple, mayor estabilidad y no generan reacciones inmunológicas peligrosas (Chen *et al.*, 1996; Hattori *et al.*, 1998; Xie *et al.*, 2008). Pueden utilizarse como hidrolizados de las proteínas precursoras o como péptidos antioxidantes. El hidrolizado es una mezcla compuesta principalmente por péptidos y aminoácidos que se producen a través de la hidrólisis de proteínas mediante tratamiento con enzimas, ácidos, álcalis o fermentación. Vioque *et al.*, (2001) los clasifica por el grado de hidrólisis e indican que éste determina su aplicación como hidrolizados

con bajo grado de hidrólisis y características funcionales mejoradas, hidrolizados con varios grados de hidrólisis utilizados como condimentos e hidrolizados con alto grado de hidrólisis que se utilizan principalmente como suplementos nutricionales y en dietas médicas especiales.

Los 20 aminoácidos presentes en las proteínas pueden reaccionar con radicales libres, los más reactivos son los que incluyen los aminoácidos azufrados Met y Cis, los aromáticos Trp, Tir y Fen y los que contienen anillo imidazol como la His. De acuerdo con Girgih *et al.* (2014) son aminoácidos que presentan una elevada capacidad antioxidante debido al anillo imidazólico que utiliza como donador de protones. La histidina y el anillo indólico del triptófano pueden captar radicales hidroxilos actuando como donador de electrones. Así como lisina y valina que generan un microambiente hidrofóbico en la molécula, que favorece la capacidad antioxidante del péptido (Bougatef *et al.*, 2010; Ha *et al.*, 2012).

Se han realizado diversos estudios para investigar las propiedades antioxidantes de los hidrolizados o péptidos bioactivos de plantas o animales, la tabla 6 presenta una lista de diversas fracciones peptídicas con actividad antioxidante.

Tabla 6. Fracciones peptídicas con actividad antioxidante.

Fuente	Características	Obtención e identificación	Actividad	Referencia
Músculo de miyu corvina (<i>Miichthys miiuy</i>)	YASVV, NFWWP, FWKVV, TWKVV, FMPLH, YFLWP, VIAPW, WVWWW, MWKVV y IRWWW	Ultrafiltración y RP-HPLC	Captación de radicales DPPH, ABTS	(He <i>et al.</i> , 2019)
Mijo de dedo	TSSSLNMAVRGGLTR y STTVGLGISMRSASVR	Tripsina, pepsina. MALDI-TOF / TOF-MS / MS	Captación de radicales hidroxilos, DPPH, ABTS y actividad quelante.	(Agrawal <i>et al.</i> , 2019)
Gelatina de salmón	PP, GF, GPVA, GGPAGPAV, R, Y	Alcalasa, Flavourzyme 500 L, Corolase PP y Promod. RP-HPLC, UPLC-MS / MS.	Inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV) y especies reactivas de oxígeno (ORAC)	(Neves <i>et al.</i> , 2017)
Cáscaras del procesamiento de descartes de camarón	SYELPDGQVITIGNER, YPIEHGITNWDDMEK, EEYDESGPGIVHR, EVDRLEDELVNEK, ALSNAEGEVAALNR, NLNDEIAHQDELINK, LEQTLDELEDSLER	Tripsina, α -quimotripsina y pepsina. Cromatografía de filtración en gel y Espectrometría de masas Nano LC-LTQ Orbitrap.	Captación de radical ABTS, DPPH e hidroxilo, poder reductor y capacidad quelante de iones ferrosos, inhibición del blanqueamiento de β -caroteno, peroxidación de colesterol y radicales peroxilo e hidroxilo.	(Ambigaipalan <i>et al.</i> , 2017)
Recortes de salmón	GPAV, VC Y FF	Alcalasa, Flavourzyme 500 L, Corolase PP y Promod. RP-HPLC, UPLC-MS / MS.	Inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV) y especies reactivas de oxígeno (ORAC)	(Neves <i>et al.</i> , 2016)
Leche de burra	EWFTFLKEAGQGAKDMWR, GQGAKDMWR, REWFTFLK, MPFLKSPIVPF	Cromatografía líquida multidimensional y espectrometría de masas de alta resolución con nano HPLC.	Capacidad antioxidante y actividad inhibitoria de la Enzima Convertidora de Angiotensina.	(Zenezini Chiozzi <i>et al.</i> , 2016)
Leche de cabra	Suero: 883 .47-1697.82 Da Caseína: 794 .44-1956.95 Da Presencia de residuos de Pro e His.	Pepsina. Cromatografía líquida. HPLC fase reversa.	Actividad secuestradora de radicales DPPH y superóxido.	(Ahmed <i>et al.</i> , 2015)
Almendra de palma	<3 kDa Val-Val-Gly-Gly-Asp-Gly- Asp-Val Val-Pro-Val-Thr-Ser-Thr Leu-Thr-Thr-Leu-Asp-Ser-Glu	Pepsina, pancreatina. Ultrafiltración. HPLC fase reversa.	Actividad secuestradora de radicales ABTS. Poder de reducción de hierro.	(Chang <i>et al.</i> , 2015)
Músculo de bacalao	Fracciones PM <1 kDa	Pepsina y tripsina/ quimotripsina. HPLC fase reversa.	Captación de radicales de oxígeno y DPPH. Actividad secuestradora de superóxido e hidroxilo. Actividad quelante de Fe. Inhibición de la oxidación de ácido linoleico dosis dependiente.	(Girgih <i>et al.</i> , 2015)
Semillas de Juglans sigillata	Péptidos de 2 a 4 residuos de aa, ricos en Tir, Cis	Pancreatina. Cromatografía de filtración en gel. HPLC fase reversa.	Actividad secuestradora de radicales DPPH, ABTS, oxígeno. Quelación de hierro.	(Gu <i>et al.</i> , 2015)

			Actividad protectora en células PC12 contra citotoxicidad inducida por H ₂ O ₂ .	
Clara de huevo en polvo	Asp-His-Thr-Lis-Glu 628 .64 Da Phe-Phe-Glu-Phe-His 630 .71 Da Met-Pro-Asp-Ala-His-Leu 684 .1 Da	Alcalasa. Ultrafiltración. Cromatografía de filtración en gel.	628.64 Da, mejor capacidad de absorción de radicales oxígenos. 630.71 Da y 684.1 Da. Actividad secuestradora de radicales DPPH. Péptidos ácidos, hidrofóbicos y con bajo peso molecular presentaron mayor actividad antioxidante.	(Liu <i>et al.</i> , 2015)
Calamar	Trp-Cis-Thr-Ser-Val-Ser 682 .5 Da	α -quimotripsina. Cromatografía de intercambio iónico. Cromatografía de filtración en gel.	Actividad secuestradora de radicales libres (DPPH, hidroxilo, superóxido). Quelación de metales (Fe). Evita el daño del ADN. Inhibe peroxidación de lípidos (ácido linoleico).	(Sudhakar <i>et al.</i> , 2015)
Queso mozzarella de búfala Campana	1326 .5 Da Cis-Lis-Tir-Val-Cis-Thr-Cis-Lis-Met-Ser	Digestión gastrointestinal in vitro. Cromatografía de filtración en gel. HPLC.	Protección intestinal contra el estrés oxidativo inducido (células CaCo2).	(Tenore <i>et al.</i> , 2015)
Pelo bovino	Cis-Glu-Arg-Pro-Thr-Cis-CisGlu-His-Ser 1325 .4 Da	Alcalasa. Cromatografía de filtración en gel. Cromatografía de exclusión por tamaño de alta resolución.	Actividad secuestradora de radicales ABTS e hidroxilo. Inhibición de la hemólisis de eritrocitos y de la peroxidación lipídica. Protección de ADN y células PC12 contra daño oxidativo inducido por peróxido de hidrógeno.	(Zeng <i>et al.</i> , 2015)
Cirueta (<i>Prunus domestica L.</i>)	MLPSLPK, HLPLL, NLPLL, HNLPLL, KGVV, HLPVLR, HGVVQ, GLVSPH, LVRVQ, YLSF, DQVPR, LPLLR, VKPVAPF.	Ultrasonido focalizado de alta intensidad. Alcalasa. RP-HPLC-ESI-Q-TOF.	Actividad antioxidante y antihipertensiva.	(González-García <i>et al.</i> , 2014)
Frijol terciopelo (Mucuna pruriens)	<1 kDa, 1-3 kDa	Hidrólisis secuencial Alcalasa-Flavourzima/ Pancreatina. Ultrafiltración.	Actividad secuestradora de radical DPPH. Poder reductor de hierro.	(Herrera Chalé <i>et al.</i> , 2014)
Semilla de cacahuete	Thr-Pro-Ala (286 kDa) Ile/Leu-Pro-Ser (315 kDa) Ser-Pro (202 kDa)	Alcalasa. Ultrafiltración. Cromatografía de filtración en gel. HPLC preparativo.	Péptidos con PM < 3kDa mostraron mayor poder reductor que los de PM > 3kDa.	(Ji <i>et al.</i> , 2014)
Huevo de pato (clara)	202 .1 294 .1 382 .1 426 .3 514 .4 Da	Hidrólisis secuencial (alcalasa e hidrolasa específica para proteína de huevo (SEEP)). Cromatografía de filtración en gel. Cromatografía de intercambio iónico.	Capacidad de absorción de radicales oxígeno e hidroxilo.	(Ren <i>et al.</i> , 2014)
Residuo de extracción del aceite de palma	AWFS 509 .56 Da WAF 422 .48 Da LPWRPATNVF 1200 .41 Da	Papaína. HPLC fase reversa. Fraccionamiento basado en punto isoelectrico.	Actividad secuestradora de radical DPPH. Quelación de hierro.	(Zarei <i>et al.</i> , 2014)

Batata	Tyr-Tyr-Ile-Val-Ser 643.2 Da Thr-Tyr-Gln-Thr-Phe 659.4 Da Ser-Gly-Gln-Tyr-Phe-Leu 713 .2 Da Tyr-Tyr-Asp-Pro-Leu 669.3 Da	Alcalasa. Ultrafiltración. HPLC fase reversa.	Actividad secuestradora de radicales hidroxilos.	(Zhang <i>et al.</i> , 2014)
Plasma bovino		Alcalasa. Ultrafiltración. Cromatografía de intercambio iónico. HPLC fase reversa.	Capacidad de captación de radicales libres. Alto poder de reducción.	(Gómez <i>et al.</i> , 2013)

A= alanine, R = arginine, N= asparagine, D= aspartic acid, C= cysteine, E= glutamic acid, Q = glutamine, G= glycine, H= histidine, I= isoleucine,
L= leucine, K= lysine, M= methionine, F= phenylalanine, P= proline, S= serine, T= threonine, W= tryptophan, Y= tyrosine, V= valine.

1.4.4.1 Mecanismo de acción de péptidos antioxidantes

Varios estudios han demostrado que los péptidos antioxidantes, pueden actuar como (1) quelantes de un metal; (2) inhibidores de radicales o como (3) blindaje físico (Moure *et al.*, 2006; Qian *et al.*, 2008; Wu *et al.*, 2003; Rajapakse *et al.*, 2005). En la figura 4 se puede observar dichos mecanismos.

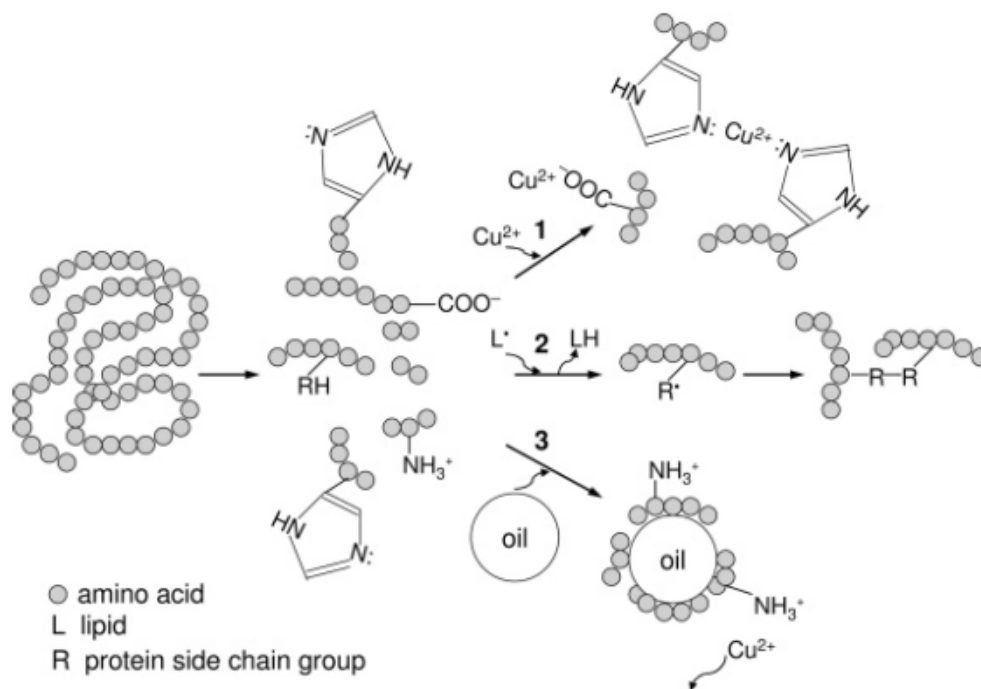


Figura 4. Representación esquemática de los mecanismos químicos y físicos de los péptidos antioxidantes para inhibir los procesos oxidativos; 1) Quelante, 2) Inhibidor de radicales, 3) Barrera física (Xiong, 2010).

Mecanismo 1, como quelantes de un metal. Inhiben la producción de radicales libres mediante la estabilización de prooxidantes metálicos a través de agentes secuestrantes. Los grupos carboxilo y amino de las cadenas laterales tienen función quelante de iones metálicos debido a su capacidad de disociarse y ser donadores de protones, asimismo se ha reportado que los péptidos quelantes son ricos en histidina y previenen la actividad oxidativa mediante la quelación del ion metálico. También se ha observado que los péptidos ricos en arginina, aunque carecen de propiedades quelantes, favorecen la unión del péptido con el ion metálico. En el caso del cobre, el anillo imidazol de este residuo está directamente implicado en la unión con el metal (Rajapakse *et al.*, 2005; Xiong, 2010; Gallegos *et al.*, 2013)

Mecanismo 2, como inhibidores de radicales. Los péptidos, estabilizan radicales mediante donación de electrones, manteniendo su propia estabilidad por resonancia de su estructura. Algunos péptidos reportados son los que contienen en su secuencia aminoácidos aromáticos como Tyr, His, Trp, Fen y tripéptidos con Cys que contienen grupos SH y son captadores de radicales. En un ambiente oxidante donde los lípidos insaturados están presentes, los péptidos activos están más inclinados a donar electrones que los lípidos y forman radicales

más estables o polímeros no reactivos a través de la condensación radical-radical (Ningappa et al., 2008; Xiong, 2010; Cian *et al.*, 2015).

Mecanismo 3, barrera física. Los péptidos inhiben la peroxidación de lípidos al actuar como una barrera física o membrana. Son componentes tensioactivos y pueden dividirse en la interfase aceite-agua, formando una membrana gruesa o revestimiento para evitar el contacto directo de lípidos y radicales con otros compuestos oxidantes.

También se ha demostrado que la secuencia de aminoácidos y la presencia de ciertos residuos particulares de aminoácidos, como histidina, tirosina, triptófano, metionina, cisteína y prolina son un factor determinante de la capacidad antioxidantes de los péptidos (Saito *et al.*, 2003. La relación entre la presencia de ciertos aminoácidos y su respectiva actividad antioxidante se muestra en la tabla 7.

Tabla 7. Relación entre actividad antioxidante, aminoácidos y mecanismo acción			
Aminoácidos	Mecanismo de acción	Ejemplo	Referencia
Cisteína	Los grupos SH son captadores de radicales, protegen tejidos de estrés oxidativo y mejora actividad del glutatión peroxidasa.	Tripéptidos con Cis son potentes secuestradores de radicales peroxinitrito. Actividad antioxidante del grupo SH de las proteínas de hojas de curry.	Ningappa <i>et al.</i> , 2008; Saito <i>et al.</i> , 2003.
Aminoácidos hidrofóbicos	Incrementan la solubilidad de los péptidos en lípidos, facilitando el acceso a especies radicales hidrofóbicas y ácidos grasos poliinsaturados.	Pro, His o Tir dentro de las secuencias y Val o Leu en el extremo N-terminal en los péptidos con actividad antioxidante. Alta reactividad de los grupos alifáticos de Ala, Val y Leu con ácidos grasos poliinsaturados. Actividad antioxidante relacionada con la presencia de aminoácidos terminales como Leu o Val y residuos de Gln y Pro en las secuencias de péptidos de gluten.	Quian <i>et al.</i> , 2008; Suetsuna <i>et al.</i> , 2002; Chen <i>et al.</i> , 1995.
Aminoácidos básicos y ácidos	Los grupos carboxilo y amino de las cadenas laterales tienen función quelante de iones metálicos debido a su capacidad de disociarse y ser donadores de protones.	Residuos de Asp (aminoácido ácido) e His (aminoácido básico) en péptidos purificados de salsa de mejillón fermentada.	Rajapakse <i>et al.</i> , 2005.
Aminoácidos aromáticos (Tyr, His, Trp, Fen)	Estabilizan radicales mediante donación de electrones, manteniendo su propia estabilidad por resonancia de su estructura.	His en el extremo N-terminal es un efectivo quelante de iones metálicos. His en el extremo C-terminal es un efectivo secuestrador de varios radicales. Tripéptidos con Trp o Tir en el extremo C-terminal son fuertes secuestradores de radicales.	Chen <i>et al.</i> , 1998.

Los avances tecnológicos y la demanda de tecnología ecológicas, ha propiciado el desarrollo de nuevas aplicaciones como el uso de películas y recubrimientos comestibles como encapsulantes o como acarreadores de aditivos que pueden ser desde antimicrobianos, antioxidantes hasta compuestos con actividad biológica, precursores metabólicos y fitoquímicos como los péptidos. Éste estudio propone la inclusión de péptidos antioxidantes en un biopolímero elaborado a partir de subproductos agroalimentarios.

1.5 Biopolímeros

La protección se hace a través de los empaques, los cuales generalmente se elaboran a partir de polímeros sintéticos. No obstante, el uso indiscriminado de empaques sintéticos ha generado serios problemas ecológicos contribuyendo a la contaminación ambiental provocada por desechos sólidos de baja degradabilidad, lo que ha impulsado a la búsqueda de biopolímeros naturales.

Los biopolímeros, son una delgada capa de material biodegradable de empaque o como barrera física para prevenir el intercambio de masa y daño físico. Deben actuar como barreras al transporte de materia, controlando la transferencia de humedad, gases, lípidos y aromas entre los componentes de un alimento y el ambiente que lo rodea. Son capaces de retener y transportar aditivos como antioxidantes, antimicrobianos, estabilizantes de textura, colorantes, saborizantes y compuestos bioactivos. El enriquecimiento de los recubrimientos con ingredientes activos permite mejorar aspectos de calidad tanto nutricionales como sensoriales, sin afectar la integridad del alimento (Rojas Graü *et al.*, 2013). Tienen propiedades fisicoquímicas y termoplásticas iguales a las de los polímeros fabricados a partir de petróleo, con la diferencia que una vez desechados, se biodegradan, una de las ventajas de sustituir el uso de petróleo y de reemplazar los polímeros actuales por polímeros biodegradables, ya que disminuiría notablemente la contaminación del medio ambiente.

Los biopolímeros naturales provienen de cuatro fuentes: origen animal (colágeno/gelatina), origen marino (quitina/quitosano), origen agrícola (lípidos y grasas e hidrocoloides: proteínas y polisacáridos) y origen microbiano (ácido poliláctico (PLA) y polihidroxialcanoatos (PHA)) (Tharanathan, 2003).

1.5.1 Composición de películas comestibles

Los componentes para fabricar las películas y los recubrimientos pueden dividirse en tres grupos: hidrocoloides, lípidos y la mezcla de ambos. Además de los plastificantes que reducen las fuerzas intermoleculares y favorecen la movilidad de las cadenas poliméricas, mejorando la flexibilidad y posibilidad de extensión, los más comunes son los polioles, mono, di o polisacáridos, así como algunos lípidos.

1.5.1.1 Proteínas

Las proteínas, proporcionan buenas propiedades de barrera frente a gases permeantes como O₂ y CO₂, pero no frente al vapor de agua (Baldwin *et al.*, 1995). Las principales proteínas de origen vegetal empleadas en la obtención de biopolímeros comestibles son la soya, el gluten de trigo y la zeína de maíz. Las proteínas lácteas, el colágeno y la queratina están entre las proteínas de origen animal utilizadas.

1.5.1.1.1 Proteína aislada de suero de leche

Las proteínas lácteas tales como la proteína del suero de leche o el caseinato sódico, son un grupo muy heterogéneo de proteínas fosforiladas que se encuentran en la leche y debido a sus estructuras complejas, variedad de compuestos nitrogenados, estructuras micelares y submicelares, se ha denominado con el nombre de simplemente, *caseína* (Requena *et al.*, 2007). La importancia de las proteínas lácteas como el componente

principal de la leche, no es sólo en nutritiva y de crecimiento de la descendencia, sino también incurre en los diferentes aspectos tecnológicos como el tratamiento térmico, la coagulación y velocidad de digestión (Salem *et al.*, 2009). La principal razón para aprovechar este subproducto es porque de acuerdo con un reporte del Banco Mundial en México (2018), se desperdician alrededor de 44.5 millones de litros de leche anualmente, que representa el 43.1% de la producción total nacional en México.

En la industria del papel, la caseína se utiliza como medida de alta calidad para papeles acristalados o para ilustraciones finas de medios tonos (Becerra, 2012). La resistencia al agua puede lograrse por exposición a vapores de formaldehído o sumergiendo en soluciones concentradas de formaldehído (Ritson *et al.*, 1963). Teniendo en cuenta su naturaleza anfipática, las caseínas a menudo se usan como emulsionantes o estabilizantes; a las películas, proporcionan excelentes propiedades de barrera frente al oxígeno, aromas y lípidos, pero no frente a la humedad (Audic *et al.*, 2003; Fabra *et al.*, 2015). La tabla 8, muestra algunas aplicaciones de la caseína.

Tabla 8. Aplicaciones de la caseína			
Producto	Propiedad	Aplicaciones	Observaciones/Importancia
Recubrimiento	Capacidad de formar películas.	Pintura.	Aun usado en algunas pinturas.
	Adherencia.	Tinta.	Aun se usa.
	Propiedades técnicas.	Papel.	Aun se usa.
		Empaque.	Desarrollado.
		Acabado de cuero.	Histórico.
		Recubrimiento textil.	Histórico.
Adhesivo	Buena procesabilidad.	Pegamentos a base de agua	Seguro. Aun es usado en algunas aplicaciones
	Fuerza de enlace. Resistencia al agua por enlace cruzado.		
Plástico	Fuerza.	Plástico rígido.	Histórico
	Buenas propiedades mecánicas.	Desechable.	Histórico
	Resistencia al agua por enlace cruzado.	Fibra.	Histórico
		Recubrimientos/hojas en aplicaciones de empaque.	Desarrollado. A escala en laboratorio.
Surfactante	Tensión superficial.	Emulsificante detergente.	Mejora por modificación química
	Estabilidad de interfase.		

(Audic *et al.*, 2003)

1.5.1.1.2 Grenetina de subproductos acuícolas

La grenetina es un grupo complejo de proteínas que provienen de una hidrólisis parcial del colágeno que, a su vez, forma parte del tejido conectivo de huesos y pieles de animales, incluyendo los humanos. La piel de cerdo es usada para la extracción de gelatina con un 46%, seguido de la piel de bovino con un 29.4%, huesos con un 23.1% y el restante 1.5% de otras fuentes diversas (Badii *et al.*, 2006).

La producción de biomasa acumulada a causa de los desperdicios pesqueros representa una contaminación exuberante, tan sólo en México se desperdician 99 mil toneladas de pescado que equivalen al 38.71% de la producción nacional, mientras que a nivel mundial se generan alrededor de 7.3 millones de toneladas anuales (Kelleher, 2005). Actualmente, se desarrolla tecnología para aprovechar los desechos que representan hasta el 60% del pescado, y esto incluye las cabezas, pieles, huesos, aletas, cola y vísceras en cantidades diferentes. Una aplicación es la extracción de aceite de pescado, a partir de enzimas como alcalasas permitiendo el aprovechamiento de un 74% de las proteínas en fase acuosa (Ramakrishnan *et al.*, 2013), y el mismo aceite puede ser hidrolizado para producir ácidos grasos insaturados y aplicarlo en alimentos nutraceuticos (Viana do Nascimento *et al.*, 2015). La cola de pescado que se obtiene de las vejigas de algunos peces se usa como clarificante. Para la revalorización de los residuos sólidos, destacan, la harina de pescado, pastas, ensilados e hidrolizados, concentrados de proteínas, derivados del tejido conectivo para aplicaciones cosméticas, enzimas, entre otros (Tejada, 1992).

Otra aplicación de importancia de las proteínas es su uso en los biofilms comestibles donde brindan una barrera a los gases como el oxígeno por lo que, en el caso de las frutas, ayuda a tener un intercambio de gases con el medio ambiente. Sin embargo, por su naturaleza hidrofílica no son tan útiles para la permeabilidad del agua, por lo que se tienen que combinar con otros componentes para evitarla. La estructura proteica de una grenetina varía de acuerdo con la secuencia de aminoácidos presentes en su estructura y a su vez, confiere propiedades distintas por lo que se debe estudiar a fondo las grenetinas de pescado debido al bajo rendimiento y fuerza del gel que se obtiene.

1.5.1.2 Polisacáridos

Los polisacáridos, son agentes hidrófilos formadores de películas con buena resistencia mecánica y sus propiedades de permeabilidad a los gases son deseables en atmósferas modificadas por lo que aumentan la vida media del producto sin crear condiciones anaerobias (Baldwin *et al.*, 1995), sin embargo, por su naturaleza hidrófila, tienen escasa barrera al vapor de agua, aunque suponen una barrera efectiva a los gases, grasas y aromas (Turhan *et al.*, 2004).

Los polisacáridos que se utilizan con mayor frecuencia en la elaboración de biopolímeros son almidón, alginato, celulosa, quitosano, carragenato y pectina (Liu, 2005).

1.5.1.2.1 Fibra de cáscaras de naranja

La fibra, es un conjunto complejo de heteropolisacáridos que son parte de un cuerpo vegetal y que, a nivel alimentario, tiene propiedades que las hacen tan atractivas para el consumidor como para la industria alimentaria en la inclusión de sus productos.

La industria de los cítricos generalmente grandes cantidades de cáscaras. El mayor aprovechamiento que se les da es la extracción de pectinas que se emplean como gelificantes. Otro uso es la extracción de aceites esenciales, coadyuvado al mismo tiempo a la reducción de compuestos hidrófobos en las aguas residuales (Restrepo, 2006). El procesamiento de las frutas y los vegetales implican dos grandes vertientes: Las aguas residuales y los residuos sólidos. Las primeras presentan niveles altos de sólidos suspendidos como azúcares, harinas, agentes de blanqueado, sales e, incluso, residuos de pesticidas. Los segundos comprenden desechos de los procesos mecánicos de separación y preparación, como semillas, hojas, tallos y cáscaras. Durante el procesado de la naranja, en particular, se desperdicia de un 23% a un 40% en peso de la fruta como desecho principal generando así un problema ambiental (Cerón-Salazar *et al.*, 2011).

Así como la fibra tiene intereses biológicos, también los tiene en algunos aspectos técnicos como ingredientes funcionales en la elaboración de productos alimenticios. Actualmente, también, tiene importancia en la elaboración de biofilms comestibles. Al adicionar compuestos celulósicos de las fibras vegetales en fórmulas para recubrimientos, se obtienen películas con mejores y mayores propiedades mecánicas si se combinan con algún polisacárido, debido a que la estructura molecular de ambos compuestos es similar, y presenta buena interacción (Agudelo *et al.*, 2015). En este proyecto se incluyó fibra de cítricos en la elaboración del biofilm desarrollado para aprovechar sus propiedades de adhesión a superficies y mantenimiento de la integridad estructural al mismo tiempo de generar una alternativa para su revaloración.

1.5.1.3 Lípidos

Los lípidos ofrecen propiedades de barrera al vapor de agua, pero las películas son opacas poco flexibles y frágiles (Gilbert, 1986). Algunos lípidos, comúnmente empleados para la obtención de películas y recubrimientos comestibles son los triglicéridos monoglicéridos acetilados alcoholes grasos y sucroesteres de ácidos grasos y ceras como la de abeja, candelilla y carnauba. La incorporación de lípidos en películas a base de proteínas mejora las propiedades de barrera al vapor de agua, aunque en función del tipo de lípido adicionado se obtienen películas de propiedades diferentes.

1.5.1.4 Plastificantes

Plastificantes se añaden para incrementar la flexibilidad y resistencia al corte, así como para reducir el carácter quebradizo, actúan disminuyendo las fuerzas intermoleculares en las cadenas del polímero produciendo un descenso en la fuerza de cohesión en la tensión y en la temperatura de transición vítrea.

Las películas o recubrimiento comestibles requieren una concentración de plastificante de entre 10 y 60% de los sólidos de la película. Los utilizados con mayor frecuencia son glicerol, sorbitol, polietilenglicol, propilenglicol y sacarosa. Los que presentan mayor poder plastificante son el polietilenglicol, el glicerol y el sorbitol (Fabra, 2008; Chen, 2002).

1.5.1.5 Conservantes

La incorporación de sustancias conservantes en la formulación de la película permite incrementar la vida útil de los productos de aplicación. Se utilizan conservantes que puedan controlar el crecimiento de bacterias, hongos y levaduras como el benzoato de sodio, ácido benzoico, ácido ascórbico, ácido propiónico y sorbato de potasio (Balwin, 1995).

1.5.2 Caracterización de los biopolímeros

1.5.2.1 Propiedades de barrera los biopolímeros

La permeabilidad que ofrecen los biopolímeros y recubrimientos comestibles a los alimentos o medicamentos es un factor importante para su aplicación ya que generalmente actúan como barrera al vapor de agua oxígeno, sabor, aroma, color o aceites e incrementan su calidad y vida de anaquel.

1.5.2.1.1 Permeabilidad al vapor de agua

La permeabilidad al vapor representa la cantidad de vapor de agua que atraviesa a la película o revestimiento por unidad de tiempo y grosor de película a diferente presión de vapor de agua a una temperatura determinada (Balwin, 1995). La transferencia de vapor de agua a través de una película depende de las condiciones ambientales como temperatura y gradiente de humedad relativa y generalmente aumenta con el carácter hidrófilo del material que constituye la película.

El método más común utilizado para determinar la permeabilidad del vapor de agua de las películas es el establecido en la norma ASTM 9695 1995 que define la permeabilidad al vapor de agua como la velocidad de transmisión de vapor de agua por unidad de área inducido por una unidad de diferencia de presión de vapor entre las dos superficies de la película, a una temperatura y humedad relativa específicas. La determinación de la permeabilidad al vapor de agua en películas comestibles se puede realizar con equipos y técnicas aplicadas a películas poliméricas sintéticas con alta barrera, puede realizarse en equipos de uso específico tipo Permatran.

El método gravimétrico más utilizado consiste en colocar la película sobre una cápsula que contiene una disolución que genera una determinada humedad relativa en el espacio de cabeza en contacto con la película, esta cápsula se sitúa en una cámara con otra humedad relativa determinada asegurando la convección suficiente del gas para mantener constante la humedad relativa en la superficie externa de la película. Una vez alcanzado el estado estacionario de las diferencias de peso de la cápsula con el tiempo, puede estimarse la velocidad de transmisión de vapor de agua dividiendo la pendiente de la curva de variación de peso de la cápsula por el área de la película.

1.5.2.1.2 Permeabilidad a gases

El transporte de gases en las películas puede ocurrir en dos mecanismos: difusión capilar y difusión activa. La difusión capilar ocurre en materiales que son porosos o se presentan imperfecciones y la difusión activa incluye la solubilización del gas en la película, la difusión del gas a través de este y finalmente la desorción al otro lado de la película. La velocidad de difusión aumenta con el tamaño y número de cavidades por lo tanto la difusión activa dependerá del tamaño y polaridad del penetrante, del grado de cristalinidad en la matriz y de los enlaces y movilidad de las cadenas del polímero (Donhowe et al., 1994). La difusión de un gas también está determinada por el área gradiente de concentración, temperatura, diferencias de presión a través de la película y humedad relativa los plastificantes y otros aditivos que reducen la fuerza cohesiva entre la cantidad del polímero, aumentando la movilidad de estas e incrementando la permeabilidad debido a la interposición del plastificante en las cadenas del polímero. La medición de la permeabilidad al oxígeno puede realizarse en equipos de uso específico tipo Oxtran que tiene un sensor coulombimétrico, basado en un método manométrico, que permiten la medición de gases a diferentes humedades relativas para simular las condiciones de un alimento envasado.

1.5.2.2 Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas una película comestible con buenas propiedades de barrera podría ser ineficientes si sus propiedades mecánicas no permiten mantener la integridad de la película durante su manejo envasado y transporte. La fuerza de punción y el módulo de elasticidad, así como la tensión y el porcentaje de elongación al punto de fractura son las propiedades mecánicas más determinadas. La tensión de fractura expresa el estrés máximo desarrollado en una película al someterse a una prueba de extensión y el valor de elongación es la extensibilidad de la película (Gennadios *et al.*, 1994). Los equipos habitualmente empleados para evaluar estas propiedades son las prensas universales de ensayos mecánicos. La incorporación de lípidos a la matriz polimérica produce un descenso de la tensión de fractura y un descenso en la extensibilidad, asociados a la presencia de discontinuidades en la matriz, que debilitan la cohesión de la matriz polimérica.

1.5.2.3 Propiedades ópticas

El color, transparencia y brillo de las películas, influyen en la apariencia y aspecto del biopolímero y son un factor de calidad para la aceptación de un producto por parte del consumidor, ya que la aplicación de recubrimientos sobre el producto tiene un impacto directo sobre el aspecto.

La caracterización de la transparencia y color de la película pueden realizarse a través de la medida del espectro de reflectancia en el intervalo de luz visible sobre un fondo estándar blanco y otro negro en superficies planas a diferentes ángulos de incidencia y reflexión dependiendo de la intensidad de brillo de la película, utilizando el método estándar ASTM D523 (ASTM, 1999). El ángulo más utilizado es 60° para los productos con brillo alto (mayor a 60%) y con brillo bajo se recomienda la medida de ángulos superiores.

La transparencia y el brillo están relacionados con la microestructura de la película interna y superficial, las películas compuestas donde no hay visibilidad entre componentes, presentan una fase lipídica dispersa en la matriz continua del polímero, esto causa heterogeneidad en el índice de refracción a través de la película, lo que provoca la dispersión de la luz con la pérdida de transparencia en función de la diferencia entre los índices de refracción y del tamaño de las partículas dispersas. A su vez, las partículas ubicadas en la superficie de la película dan lugar a un determinado grado de rugosidad superficial que distribuye el vidrio el brillo (Villalobos *et al.*, 2005).

1.5.3 Biopolímeros como portadores de sustancias activas

Los biopolímeros y recubrimientos son capaces de retener y transportar a un gran número de aditivos como antioxidantes, antimicrobianos, estabilizantes de textura, colorantes, saborizantes y compuestos bioactivos. El enriquecimiento de los biopolímeros con ingredientes activos permite mejorar aspectos de calidad, nutricionales y sensoriales sin afectar la integridad del alimento.

Las principales sustancias activas incorporadas en recubrimientos son:

Compuestos bioactivos como minerales vitaminas y probióticos: Algunas investigaciones se han centrado en la incorporación de vitaminas, minerales y ácidos grasos en recubrimientos para alimentos especialmente para frutas y hortalizas, donde estos micronutrientes están presentes a bajas concentraciones de forma natural. Han *et al.* 2004 observaron en un recubrimiento a base de quitosano con concentraciones de lactato de calcio y vitamina E se logró mantener y mejorar las propiedades nutricionales de fresas y frambuesas. En raciones de 100 g de fruta el contenido de calcio y vitamina E fue de 34-59 mg y de 1.7-7.7 mg respectivamente (Han *et al.*, 2004).

Agentes estabilizantes de textura: Los recubrimientos comestibles también pueden incorporar agentes estabilizantes de textura para el mantenimiento de la calidad de productos susceptibles a cambios de firmeza como los productos frescos cortados. El procesamiento mínimo al que estos son sometidos puede causar pérdida de firmeza de los tejidos vegetales debido a la acción de enzimas; en este tipo de productos se suelen

utilizar sales de calcio como el cloruro y el lactato cálcico en forma de inmersión para frenar los fenómenos de pérdida de firmeza, también pueden añadirse al recubrimiento para mantener la textura inicial de las frutas y hortalizas mejorando así su calidad durante el almacenamiento. La adición de calcio en un recubrimiento comestible se puede hacer de dos maneras ya se incluyéndolo como parte de la formulación o aplicado como una segunda capa en aquellos recubrimientos que necesitan la presencia de iones multivalentes para facilitar la formación de enlaces cruzados contribuyendo a la obtención de recubrimientos estructuralmente más fuertes y estables (Mei *et al.*, 2002).

Saborizantes y colorantes: Los biopolímeros, también pueden usarse para transportar y mantener diferentes concentraciones de colorantes saborizantes y especies en la superficie del alimento en el que se apliquen, mejorando el sabor y la percepción visual de los productos recubiertos. Actualmente existen en el mercado diferentes películas comestibles capaces de transportar una gran variedad de ingredientes, un ejemplo son las películas comestibles de *pullulan* comercializadas en países como Japón, estas se pueden encontrar en diferentes colores, contienen especies y sazoadores, se utilizan como transportadoras de saborizantes en productos cárnicos precocidos, se emplean para recubrir carnes, jamones y productos avícolas justo antes de los procesos de humado y cocido a vapor; las películas se disuelven durante el proceso sobre la superficie del alimento obteniéndose un producto recubierto con mayor rendimiento, estructura y textura así como capacidad de retención de agua (Stollman *et al.*, 1994).

Otro tipo de películas comestibles son las desarrolladas en California por la empresa Origami foods, estas son comestibles y elaboradas a base de puré de frutas y hortalizas como brócoli, zanahoria, tomate, manzana, melocotón, pera y mango y también contienen especies, sazoadores, colorantes, saborizantes y vitaminas.

Antimicrobianos: Los biopolímeros también pueden utilizarse como vehículos portadores de conservantes que aseguren una mayor vida útil de los productos, se han incorporado diferentes compuestos o mezclas con actividad antimicrobiana para que actúen en la superficie del producto extendiendo su vida útil (Jan, 2005). Los antimicrobianos químicos más comúnmente utilizados son los ácidos orgánicos debido a su eficiencia y bajo costo. El ácido sórbico y su sal son los más solubles y utilizados como conservantes por su buena solubilidad, estabilidad y fácil manejo. También se han incorporado productos naturales con actividad antimicrobiana procedentes de plantas, organismos marinos, insectos y microorganismos como alternativas al uso de antimicrobianos sintéticos. Algunos compuestos naturales con actividad antimicrobiana son quitosano mucílagos propóleos y aceites esenciales (Tripathi *et al.*, 2004).

Otros antimicrobianos naturales incorporados son las bacteriocinas; péptidos biológicamente activos con propiedades bactericidas contra otras especies estrechamente relacionadas con la cepa productora (Sablón *et al.*, 2000).

Antioxidantes: La incorporación de antioxidantes a los recubrimientos comestibles puede incrementar la estabilidad de diferentes componentes alimentarios como de los lípidos, además de así mantener el color

original del alimento al prevenir los procesos de oxidación enzimática. Se puede emplear compuestos fenólicos como butilhidroxitolueno, butilhidroxianisol, terbutilhidroquinona y tocoferoles para evitar la oxidación lipídica ya que al ser incorporados en un recubrimiento comestible estos son retenidos durante más tiempo en la superficie del alimento, evitando los procesos típicos de oxidación lipídica que se dan entre el alimento y el oxígeno ambiental (Quezada-Gallo, 2009).

Los recubrimientos comestibles que contienen antioxidantes también pueden reducir los fenómenos de pardeamiento enzimático en productos susceptibles al oscurecimiento principalmente en frutas y hortalizas. Entre los antioxidantes comúnmente usados para evitar el oscurecimiento superficial se encuentra el ácido ascórbico y sus sales 4-hexilresorcinol asimismo algunos aminoácidos que contiene azufre como la cisteína y glutatión o ácidos carboxílicos como el cítrico y el oxálico (Journey, 2012; Dong *et al.*, 2000; Jiang *et al.*, 2004).

Rojas Grau *et al.* 2007 y Rojas Grau *et al.* 2008, confirmaron el potencial de un recubrimiento de alginato y gelato como transportador de antioxidantes (cisteína y glutatión) en trozos de manzana evitando el pardeamiento de las mismas, durante 20 días de almacenamiento, también, Olive *et al.* 2008, incorporaron n-acetilcisteína al 75% p/v y glutatión 75% p/v en formulaciones de alginato gelato y pectina aplicadas a trozos de pera mejorando su textura.

En los últimos años se han desarrollado diferentes biopolímeros basados en diferentes materiales como almidón, celulosa, aceites vegetales, ácido láctico. Algunos estudios sobre sus propiedades y eficiencia para la preservación de diferentes alimentos, son por ejemplo el estudio de Ballard en el 2003, quien aplicó revestimientos comestibles de metilcelulosa y aislado de proteína de suero de leche para preservar la textura crujiente de nuggets de pollo frito demostrando que la aplicación de este revestimiento de película comestible y el uso de gas nitrógeno como el medio de presurización pueden mejorar y mantener la frescura de los alimentos fritos empanizados y Dehnan en 2014, quien utilizó películas de quitosano-nano celulosa para prolongar la vida útil de la carne molida teniendo una alta inhibición de bacterias Gram positivo y Gram negativo. Asimismo, Morachis-Valdez *et al.* (2017), utilizó películas a base de quitosano, suero de leche e inulina, observando que al ser aplicado a filetes de carpa se prolongó su vida de anaquel durante la congelación por cuatro meses conservando sus características fisicoquímicas y microbiológicas.

Por todo lo anterior, el desarrollo de un biopolímero a base de subproductos agroalimentarios adicionado con péptidos bioactivos permitirá su manejo eficiente, coadyuvando a la disminución de la contaminación por el excesivo uso de empaque no degradables, y su revalorización al aplicarse como una alternativa de métodos de conservación de alimentos.

XI. JUSTIFICACIÓN

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, 2018), aproximadamente un tercio de todos los alimentos producidos para el consumo humano en el mundo nunca se consumen, 45% son de frutas y verduras, 35% de pescados y mariscos, 30% de cereales, 20% de productos lácteos y 20% de carne. Según el Índice de Sostenibilidad Alimentaria (FAO 2018).

Según el Índice de Sostenibilidad Alimentaria (FAO 2018), los países con la menor generación de desperdicio de alimentos per cápita son Grecia y China (44 kg /año) y los países con la mayor generación de residuos son Australia (361 kg /año) y Estados Unidos (278 kg /año). México genera un desperdicio nacional de alimentos mayor a 18 toneladas al año, que representa un desecho per cápita de 149 kg/año. El sector de los transformados vegetales generó cantidades importantes de residuos y subproductos orgánicos (entre un 13% y un 65% respectivamente) así como lodos de depuración, que varían según la materia prima procesada entre 2 y 8 toneladas por tonelada de materia prima procesada. Así mismo, el 90% del total de la leche que es utilizada en la industria quesera es eliminado como lactosuero descartado como efluente el cual crea un serio problema ambiental. De igual manera, la industria procesadora de pescado generó una gran cantidad de subproductos que puede llegar a ser incluso superior al 50% del peso total, encontrándose recortes de músculo (15-20%), piel y aletas (1-3%), espinas (9-15%), cabezas (9-12%), vísceras (12-18%) y escamas.

Se estima que la cantidad de desperdicio de alimentos, que se producen a nivel mundial equivale a 4.4 gigatoneladas de CO₂, 250 km³ de huella de agua azul, 28% del total de tierras agrícolas a nivel mundial y un costo económico aproximado de 750 mil millones de dólares (FAO, 2019).

De acuerdo con la FAO (2019), la reducción de pérdida y desperdicio de alimentos, no solo podría abordar la necesidad de alimentar a la población mundial, sino también reducir el impacto ambiental por los alimentos que actualmente se desperdician, por lo que, en el 2015 las Naciones Unidas fijaron en la agenda política a nivel mundial el objetivo número 12 que tiene como meta reducir a la mitad el desperdicio de alimentos per cápita mundial en la venta al por menor, a nivel de los consumidores y las pérdidas de alimentos en las cadenas de producción y suministro para el 2030, en los Objetivos de Desarrollo Sostenible.

Una alternativa desarrollada es la recuperación de compuestos bioactivos, la evaluación de sus propiedades funcionales, los efectos en la salud y aplicación en diferentes productos (Chalamaiah et al., 2012) como medio para el aprovechamiento sostenible de los subproductos generados (FAO, 2018).

Por ello el presente proyecto objetivo utilizar subproductos de la industria alimentaria de manera eficiente a través de la elaboración y caracterización de un biopolímero a base de subproductos agroalimentarios (fibra de cáscara de naranja, grenetina del homogenado de subproductos de carpa (*Cyprinus carpio*), suero de leche y glicerol) con propiedades antioxidantes y antimicrobianas de péptidos de bajo peso molecular generados a partir de la hidrólisis proteica de subproductos de carpa (cabezas, colas y espinas) como alternativa para la revalorización y aprovechamiento de los mismos.

III. HIPÓTESIS

Los subproductos agroalimentarios pueden ser utilizados para la elaboración de un biopolímero biodegradable que servirá de vehículo a hidrolizados de carpa común con características antioxidantes.

IV. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

Evaluar un biopolímero biodegradable a base de subproductos agroalimentarios adicionado con hidrolizados de carpa común con propiedades antioxidantes.

4.2 Objetivos específicos

- Obtener hidrolizados de subproductos de carpa con preparados de subproductos agroalimentarios.
- Determinar la actividad antioxidante y antimicrobiana de los hidrolizados de carpa común.
- Obtener fibra, grenetina y proteínas a partir de subproductos agroalimentarios.
- Caracterizar parcialmente fibra, grenetina y proteínas obtenidas de subproductos agroalimentarios.
- Diseñar un biopolímero biodegradable a base de subproductos agroalimentarios con hidrolizados de carpa común.
- Determinar la actividad antioxidante y antimicrobiana del biopolímero diseñado.

V. METODOLOGÍA

5.1 Reactivos Químicos

Los reactivos pepsina, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-Azino-bis 3-etilenbenzotiazolino-6-ácido sulfónico) y Trolox (6-hydroxy-2, 3, 7 ,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), así como ferricianuro de potasio, ácido tricloroacético y clorido férrico adquiridos en Sigma–Aldrich (Ciudad de México). Los solventes utilizados en los métodos fueron de grado analítico.

5.2 Materiales y métodos

5.2.1 Preparados enzimáticos

5.2.1.1 Preparados de cáscara de piña

Se utilizaron cáscaras de piña recolectadas de los vendedores de cocteles de frutas del mercado de Atlacomulco, México, se lavaron y extrajo el jugo con un extractor Turmix Rudo. Los preparados de piña se obtuvieron con la metodología de Gallardo et al., 2008. A 100 mL de jugo de cáscara de piña se le adicionaron 150 mL de etanol y se colocaron a -10°C etanol durante 7 días. La mezcla extracto-etanol fue centrifugada. Se obtuvo un precipitado amarillo oscuro que se dejó secar a temperatura ambiente y se conservó en un envase seco hasta su uso.

5.2.1.2 Preparados de papaya

Los preparados de semillas de papaya se obtuvieron con la metodología de Glibota *et al.*, (2000). Se utilizaron semillas de papa recolectadas con los vendedores de cocteles de frutas del mercado de Atlacomulco, México, se lavaron y secaron a 60°C durante 4 horas, se molieron y se conservaron en envase seco hasta su uso.

5.2.1.3 Actividad proteolítica de preparados enzimáticos

La determinación de la actividad proteolítica se llevó a cabo por medio de los métodos de Kunitz (1947), utilizando como substrato la caseína al 1%.

5.2.1.4 Electroforesis de preparados enzimáticos

La electroforesis se realizó de acuerdo con la metodología de García-Carreño *et al.*, (1993) con modificaciones. El análisis se llevó a cabo a corriente constante de 200 volts, utilizándose un equipo de electroforesis Mini-Protean II Slab cell de Bio-Rad (Richmond, CA.) a 4 °C. Se utiliza un volumen de 7 µL para las muestras y 5 µL para el marcador de peso molecular.

5.2.2 Obtención de hidrolizados

Sustrato

Los desperdicios de carpa común (piel, cabeza, huesos y aletas) se obtuvieron del mercado de San Luis Mextepec, Zinacantepec, Toluca, México. Se utilizó un lote de 10 kg de subproductos de carpa, se lavó con abundante agua potable, se calentó en agua purificada a ebullición por 10 min. Se eliminó el exceso de agua y se secó a 45° durante 12 h. Se molió y tamizo en una malla número 80 y se conservó en un envase seco hasta su uso.

Hidrólisis enzimática

Las reacciones de hidrólisis para cada preparado enzimático se realizaron de acuerdo con el método de Yae-Young *et al.*, (2007) con modificaciones. Se utilizó una proporción 1:4 (m/v) de sustrato y buffer. Los preparados enzimáticos se adicionaron considerando con una actividad proteolítica de 1100 U/g y se encubaron por 2.4 h. Al finalizar el periodo de incubación se inactivaron las enzimas a 95°C por 10 min. Posteriormente la mezcla fue enfriada rápidamente y centrifugada a 10,000 x g durante 20 min a 4°C. El sobrenadante obtenido fue liofilizado y se conservó en un envase seco hasta su análisis.

5.2.2.1 Identificación de hidrolizados

5.2.2.1.1 Infrarrojo por transformada de Fourier

Los espectros de FTIR se obtuvieron usando un espectrofotómetro IRAffinity-1S FTIR. Los espectros se obtuvieron con un promedio de resolución de 8 cm⁻¹, 26 escaneos y un rango de 400 – 4000 cm⁻¹.

5.2.2.1.2 Identificación *In Silico*

Se investigó *in silico*, en las bases de datos citadas en la tabla 9, utilizando la metodología reportada por de Carrasco Castilla *et al.*, 2012.

Database	Web address	Content
AHTPDB*	http://crdd.osdd.net/raghava/ahtpdb/	Antihypertensive peptides
AntiTbPdb	http://webs.iitd.edu.in/raghava/antitbpdb	Antitubercular and myobacterial peptides
APD	http://aps.unmc.edu/AP/main.html	Antimicrobial and anticancer peptides
AVPdb	http://crdd.osdd.net/servers/avpdb/	Antiviral peptides
BaAMPs	http://www.baamps.it/	Antimicrobial peptides tested against microbial films
BactPepDB	http://bactpepdb.rpbs.univ-paris-diderot.fr/cgi-bin/home.pl	Bacterial peptides
BIOPEP-UWMTM*	http://www.uwm.edu.pl/biochemia	Bioactive peptides/sensory peptides and amino acids
Brainpeps	http://brainpeps.ugent.be/	Blood-brain barrier passing peptides
CAMP _{R3}	http://www.camp.bicnirrh.res.in/	Antimicrobial peptides
CancerPPD	http://crdd.osdd.net/raghava/cancerppd/index.php	Anticancer peptides and proteins
CPPSite 2.0	http://crdd.osdd.net/raghava/cppsite/	Cell-penetrating peptides
DBAASP	https://dbaasp.org/	Antimicrobial peptides
EROP-Moscow	http://erop.inbi.ras.ru/	Bioactive peptides
Hemolytik	http://crdd.osdd.net/raghava/hemolytik/	Hemolytic and non-hemolytic peptides
MBPDB*	http://mbpdb.nws.oregonstate.edu/	Milk protein-derived bioactive peptides
NeuroPep	http://isislab.info/NeuroPep/	Neuropeptides
PepBank	http://pepbank.mgh.harvard.edu/	Bioactive peptides

Quorumpeps	http://quorumpeps.ugent.be/	Quorum sensing signalling peptides
SATPdb	http://crdd.osdd.net/raghava/satpdb/links.php	A metabase of therapeutic peptides
StraPep	http://isyslab.info/StraPep/	Structures of bioactive peptides
THPdb	http://crdd.osdd.net/raghava/thpdb/index.html	FDA-approved therapeutic peptides
TumorHoPe	http://crdd.osdd.net/raghava/tumorhope/	Tumor homing peptides
YADAMP	http://yadamp.unisa.it/about.aspx	Antimicrobial peptides

5.2.2.2 Actividad antioxidante

5.2.2.2.1 ABTS•+ 2,2'-Azino-bis (3-etilenbenzotiazolino-6-ácido sulfónico)

Se utilizó el método de López-Martínez *et al.*, (2009). Se analizó una disolución de Trolox (2 mM) como antioxidante positivo y se tomaron lecturas de un blanco del reactivo, la lectura de la absorbancia se realizó después de 10 min de combinar el extracto con la disolución del reactivo ABTS (7 mM) a 734nm. El porcentaje de inhibición del ABTS•+ se calculó con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{\text{Abs inicial} - \text{Abs final}}{\text{Abs inicial}} (100) \quad \text{Ecuación 1}$$

5.2.2.2.2 DPPH• (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

La actividad anti-radical será adaptada del método de López-Martínez *et al.*, (2009). La disminución en la absorbancia del DPPH• se midió a 520 nm. Se utilizó metanol como blanco, Trolox (2 mM) como un control positivo antioxidante y el control una mezcla de 2.8 mL de DPPH• (0.1mM) y 100 µL de metanol. La actividad antioxidante se expresó como % de inhibición, calculado con la ecuación 1.

5.2.2.2.3 Poder reductor (RP)

Se utilizó el mencionado por Nur Alam *et al.*, (2013). El incremento en la absorbancia se midió 700 nm y se utilizó una disolución de Glutación (2 mM) como antioxidante positivo.

5.2.3 Elaboración de biopolímero a base de subproductos agroalimentarios adicionado con hidrolizados de subproductos de carpa común

5.2.3.1 Obtención y caracterización de fibra de subproducto agroalimentario (cáscara de naranja)

Para la obtención de la fibra se utilizaron cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*), recolectadas de los microproductores de jugo de la fruta, en Atlacomulco, México; la fibra de naranja se obtuvo por el método de Álvarez *et al.* (2009). Al producto se le determinó composición proximal, identificando sus principales grupos funcionales por espectrometría IR. Se almacenó en bolsas de polietileno dentro de un desecador hasta su posterior uso.

5.2.3.2 Obtención y caracterización de grenetina de subproductos de pesca

Se utilizaron subproductos (piel, cabeza, huesos y aletas) de San Luis Mextepec, México, obteniéndose grenetina de acuerdo con Avena-Bustillos *et al.* (1994). El material obtenido se caracterizó por espectrometría

IR y de acuerdo con la norma NMX-F-043-1970, se secó y se almacenó en bolsas de polietileno dentro de un desecador hasta su posterior uso.

5.2.3.3 Obtención y caracterización de proteína aislada de suero de leche

La proteína aislada de suero de leche se obtuvo por precipitación del lactosuero de la elaboración de quesos de la planta de lácteos, Facultad de Química UAEMex. Se caracterizó por espectrometría IR y de acuerdo con la NOM-243-SSA1-2010. El material obtenido se secó y se almacenó en bolsas de polietileno dentro de un desecador hasta su posterior uso.

5.2.3.4 Elaboración de biopolímero

El desarrollo del biopolímero se llevó a cabo utilizando el método propuesto por García-Argueta *et al.*, (2016) y Herrera-Vázquez *et al.* (2022). Se tomó como base el recubrimiento que presentó una superficie lisa, transparente, baja permeabilidad al vapor de agua, máxima resistencia a la tracción y una baja solubilidad. Las proporciones de los componentes empleados para la matriz del biopolímero comestible se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 10. Componentes y proporciones empleados para la matriz del biopolímero comestible	
Componente	%
Fibra (cáscara de naranja)	2
Suero de leche	2
Glicerol	4
Grenetina (homogenado de carpa)	4.5
Hidrolizados de carpa	3

5.2.3.4.1 Caracterización del biopolímero con actividad antioxidante

Para la caracterización del biopolímero, se realizarán los siguientes análisis:

pH

La determinación de pH se realizará de acuerdo con la NOM-F-317-S-1978.

Acidez

La determinación de acidez se realizará de acuerdo con la NMX-F-102-NORMEX-2010.

Espesor

Se empleará un micrómetro digital de acuerdo con lo reportado por Valdez-Valdez (2018).

Humedad

Se calculará de acuerdo con la AOAC (1995).

Capacidad de retención de agua (CRA)

La CRA se mediará de acuerdo con la norma ASTM D5229 (2004) con modificaciones.

Solubilidad

La solubilidad se medirá con una modificación del método de Gómez-Estaca *et al.*, (2009).

Color

Se medirá utilizando un colorímetro Konica Minolta (modelo Chroma Meter CR-400, Sesing, Inc., Japan), con placa de calibración número 12633047 y estándares de $L=97.3$, $a=0.17$, $b= 1.9$, de acuerdo con lo reportado por Herrera-Vázquez (2014).

Propiedades mecánicas

Utilizando la metodología descrita por Silva-Ríos *et al.* (2013), se determinó la resistencia a la ruptura, elasticidad, porcentaje de elongación (% E) y módulo de Young (MY), de acuerdo con la metodología descrita por Valdez-Valdez, 2018, utilizando un texturómetro, TA-XT2 Instron Universal (Texture Analyser, Stable Micro Systems, Texture Technologies, Corp.).

5.2.4 Análisis estadístico

Todos los análisis se realizaron por triplicado con una significancia de $p<0.05$ usando ANOVA y las diferencias de medias mediante prueba de Tukey ($p<0.05$). El software utilizado fue Statgraphic.

VI. RESULTADOS

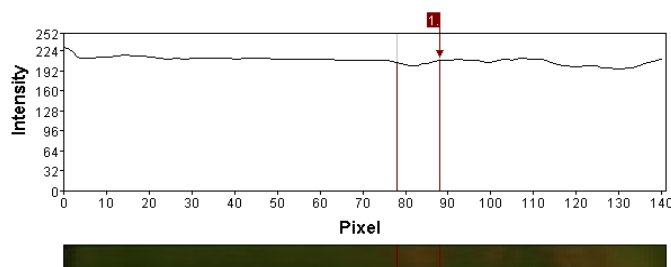
6.1 Preparados enzimáticos

6.1.1 Electroforesis

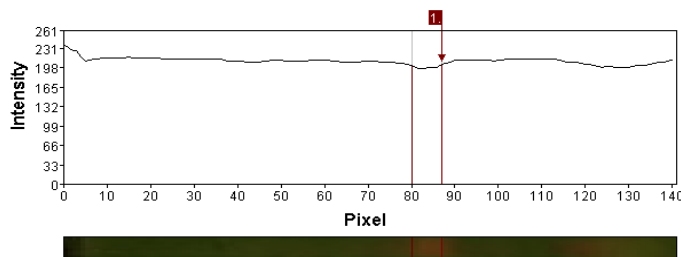
La figura 5 muestra el análisis electroforético de los preparados enzimáticos obtenidos. Se observó que los métodos de extracción no tienen un efecto negativo sobre los preparados enzimáticos además de que se obtuvieron los factores de retención de las muestras (Tabla 11) y con ello su peso molecular aproximado de los hidrolizados obtenidos que es de 24 000 Da para los preparados enzimáticos de cáscaras de piña y 21 000 Da para los preparados enzimáticos de semillas de papaya y coincide con el peso molecular reportado para la bromelina y papaína (Carvajal, 2010 ; Mejía Aguilar, *et al.*, 2010).



a) Gel de electroforesis de preparaciones enzimáticas



b) Densitograma de preparaciones enzimáticas de cáscara piña



c) Densitograma de preparaciones enzimáticas de semillas de papaya

Figura 5. Perfil electroforético y densitogramas (a) preparación enzimática de cáscara de piña (b) preparación enzimática de cáscara de papaya.

Tabla 11. Factor de retención obtenido del análisis electroforético de la preparación enzimática de piña y papaya.

Muestra	Factor de retención
Preparación enzimática de cáscaras de piña	0.462
Preparación enzimática de semillas de papaya	0.542

6.1.2 Actividad proteolítica de preparados enzimáticos

La tabla 12, muestra la comparación de la actividad específica entre los preparados enzimáticos y pepsina comercial que también ha sido utilizada para la obtención de hidrolizados de proteína de pescado. Se observó que los preparados enzimáticos de cáscara de piña presentan la mayor actividad específica con respecto a la pepsina comercial y los preparados enzimáticos de semillas de papaya la más baja. Esta diferencia es estadísticamente significativa.

Esto podría deberse al proceso de obtención de cada preparado enzimático y a la pureza de los preparados enzimáticos de semilla de papaya ya que éstos podrían contener una mezcla de enzimas como papaína, quimiopapaina y lisozima que de acuerdo con Mejía-Aguilar, *et al.* (2010) y Navarro-Cruz, *et al.* (2016) están presentes en estas semillas de papaya.

Tabla 12. Actividad específica de preparaciones enzimáticas

Muestra	Actividad específica (U/mg proteína)
Preparación enzimática de cáscaras de piña	969.4 ± 58.5 ^b
Preparación enzimática de semillas de papaya	420.2 ± 7.4 ^a
Pepsina	430.6 ± 15.9 ^a

6.2 Hidrolizados

6.2.1 Identificación infrarrojo por transformada de Fourier

El espectro de infrarrojo de los hidrolizados de desperdicios de carpa que se presenta en la figura 6 muestra en forma clara dos picos asociados con las proteínas presentes en la muestra. Los picos asociados con las proteínas en el espectro se ubican en 3430 cm⁻¹ y 3367 cm⁻¹ relacionados con el estiramiento asimétrico y el estiramiento simétrico del enlace N-H. Ambas señales son características de aminas primarias. En 1637 cm⁻¹ relacionado con la vibración de varios enlaces: estiramiento del C=O, estiramiento del C-N y bandeo del N-H. En 1535 cm⁻¹, asociado con la vibración de bandeo los enlaces del N-H y estiramiento C-N. En el espectro se pueden observar otros picos de 900~500 cm⁻¹ relacionados con las vibraciones de flexión y de 1230~1030 relacionados con las vibraciones de estiramiento del enlace C-N y estiramiento C-C.

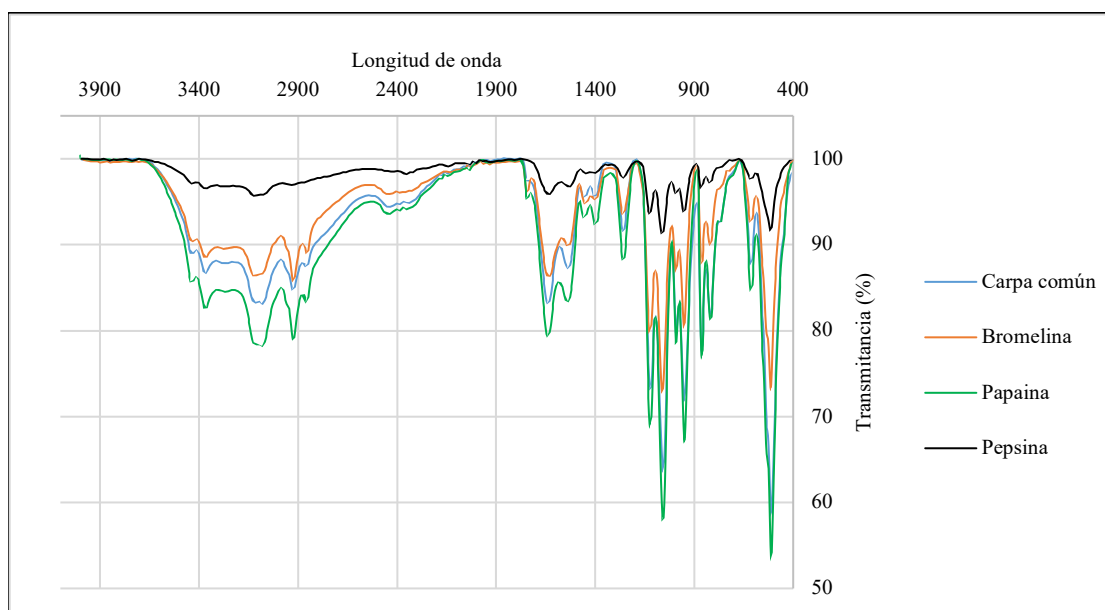


Figura 6. Espectro infrarrojo de hidrolizados de proteínas preparados a partir de subproductos de carpa común (*Cyprinus carpio*).

6.2.2 Identificación *in silico*

En las bases de datos utilizadas, únicamente en BaAMPs Biofilm-active AMPs database se encontró un péptido antioxidante presente en la carpa común, Ala-Tyr reportado por Di Luca *et al.*, (2015). El valor de FRAP fue el más alto (89,23 μM Trolox/mg), y su capacidad de eliminación de DPPH fue de 38,69%. Asimismo, el péptido sintético no mostró capacidad para quelar iones de hierro (3,09%).

Este análisis brindó información previa al estudio experimental como herramienta de predicción rápida, para conocer las relaciones estructura-función, predecir secuencias peptídicas susceptibles de exhibir actividades específicas, localizar péptidos encriptados en la carpa, y predecir propiedades bioactivas de los péptidos obtenidos.

6.2.3 Actividad antioxidante

6.2.3.1 Inhibición de ABTS $\bullet+$ 2,2'-Azino-bis (3-etilenbenzotiazolino-6-ácido sulfónico) y DPPH \bullet (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

La inhibición de DPPH \bullet y ABTS $\bullet+$ presentaron diferencias estadísticamente significativas entre el Ic_{50} de los hidrolizados obtenidos con preparados enzimáticos y los obtenidos con pepsina. En la tabla 13 se observa que se requiere una concentración mayor de los hidrolizados para inhibir el 50% del radical DPPH \bullet en comparación con la concentración de los hidrolizados requerida para inhibir el 50% del radical ABTS $\bullet+$. El hidrolizado de desperdicios de carpa que presenta la mayor actividad antioxidante es el obtenido con los preparados enzimáticos de semillas de papaya. El hidrolizado que requiere una mayor concentración para inhibir el 50%

de los radicales son los obtenidos con pepsina. De acuerdo con Wang *et al.* (2014) esta actividad antioxidante depende en gran medida del peso molecular de los hidrolizados, de su composición aminoacídica, solubilidad e hidrofobicidad ya que se probaron en diferentes medios (acuosos para ABTS•+ y metanólicos para DPPH•). También se pudo observar que la muestra de desperdicios de carpa con buffer utilizada como blanco presentó actividad antioxidante, esta podría deberse los aminoácidos esenciales presentes en la proteína de la carpa como la histidina, triptófano, que por el proceso de secado y agitación pudieron solubilizarse en el buffer y que de acuerdo a Girgih *et al.*, (2014) y Torres-Fuentes *et al.*, (2015) son aminoácidos que presentan una elevada capacidad antioxidante debido al anillo imidazólico que utiliza como donador de protones la histidina y el anillo indólico del triptófano que puede captar radicales hidroxilo actuando como donador de electrones. Así como lisina y valina que generan un microambiente hidrofóbico en la molécula, que favorece la capacidad antioxidante del péptido (Bougatef *et al.*, 2010; He *et al.*, 2012).

Tabla 13. Actividad antioxidante de hidrolizados de proteínas preparados a partir de desechos de carpa común (*Cyprinus carpio*).

Muestra	Ic50 ABTS•+ (mg de hidrolizado/ mL)	Ic50 DPPH• (mg de hidrolizado/ mL)
Proteína preparada a partir de subproductos de carpa común sin enzimas	1.1 ± 0.1 ^a	71.3 ± 1.0 ^a
Hidrolizados de proteína de subproductos de carpa común obtenidos con preparaciones enzimáticas de cáscaras de piña	1.3 ± 0.1 ^b	58.1 ± 0.5 ^b
Hidrolizados de proteína de subproductos de carpa común obtenidos con preparaciones enzimáticas de semillas de papaya	0.8 ± 0.1 ^c	31.6 ± 0.3 ^c
Hidrolizados de proteína de subproductos de carpa común obtenidos con pepsina	1.7 ± 0.1 ^d	76.7 ± 0.9 ^d

6.2.3.2 Poder reductor (RP)

En la figura 7 se muestra que el hidrolizado de desperdicios de carpa obtenido con preparados enzimáticos de semillas de papaya es el que presentó un mayor poder reductor y comparado con los hidrolizados que se obtuvieron con otros preparados enzimáticos hay una diferencia estadísticamente significativa. De la muestra de carpa con buffer utilizada como blanco también se obtuvieron hidrolizados con actividad antioxidante sin embargo ésta es la que presentó un menor poder reductor. Estos péptidos podrían por tanto ser utilizados para prevenir la peroxidación lipídica catalizada por metales como el Fe⁺² y Cu⁺² (Bueno-Gavila, 2017).

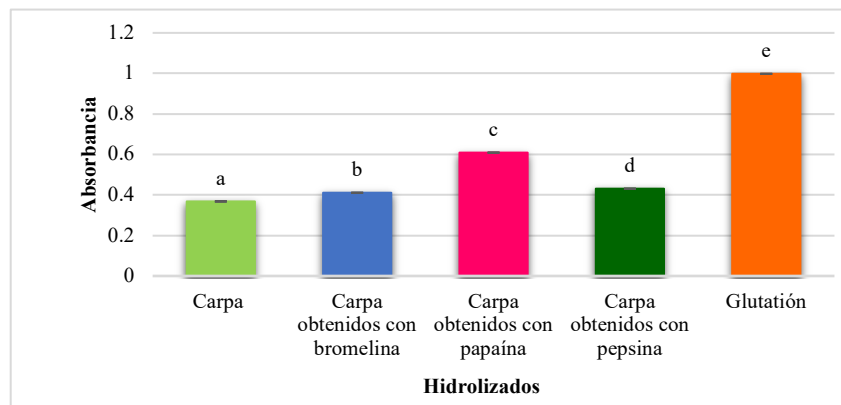


Figura 7. Poder reductor de hidrolizados de carpa común (*Cyprinus carpio*) obtenidos con diferentes preparados enzimáticos.

6.3 Caracterización de materias primas para la elaboración del biopolímero.

6.3.1 Fibra de naranja

En la tabla 14 se observa la composición de la fibra de naranja. Gutiérrez *et al.* (2002) reportaron un valor de humedad de 4.5% para fibra de cítricos, este valor es mayor al de la fibra obtenida; sin embargo, este valor debe ser bajo (<10%) para evitar la proliferación de microorganismos y poder prolongar la vida útil del producto. En cuanto al contenido de cenizas, el valor obtenido (3.54%) indica un alto contenido en minerales como el calcio, fósforo y magnesio, componentes encontrados en harina de cáscara de naranja, de acuerdo con Rincón *et al.* (2005).

El IR se comparó con el de una fibra comercial, coincidiendo en grupos funcionales (figura 8); se observan los picos asociados con los polisacáridos presentes en la muestra, entre 3300 cm^{-1} relacionados con el enlace O-H y en $1650\text{ -}1750\text{ cm}^{-1}$ relacionado con los enlaces de C=O (Mondragón-Cortez, 2017).

Tabla 14. Composición proximal de la fibra de naranja obtenida.

Parámetro	Contenido (%)
<i>Humedad</i>	3.61 ± 0.20
<i>Cenizas</i>	3.54 ± 0.04
<i>Lípidos crudos</i>	0.60 ± 0.08

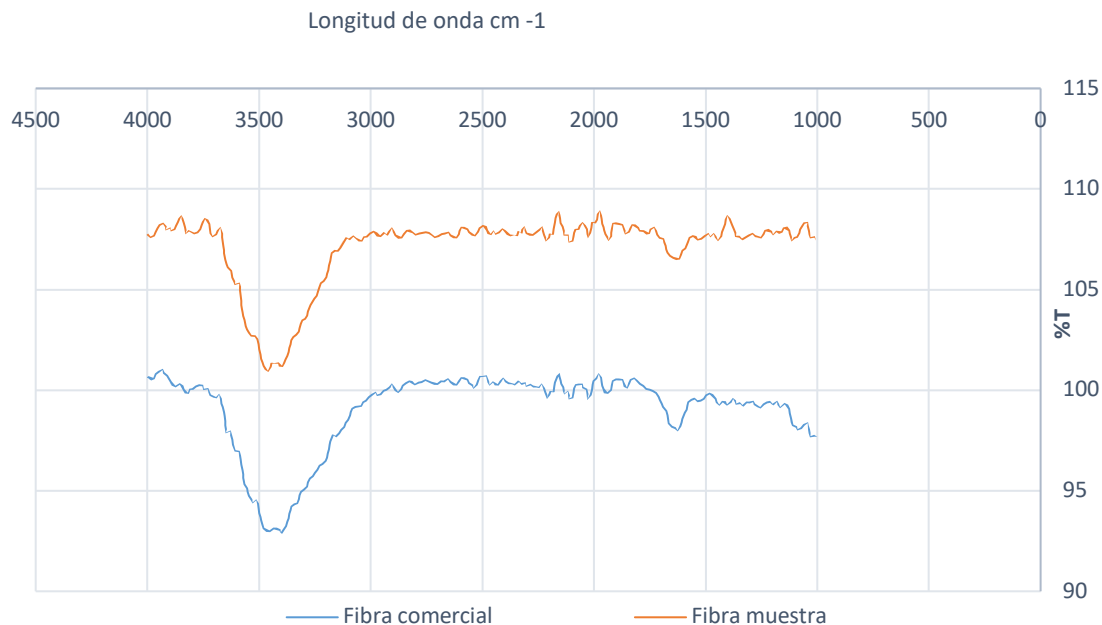


Fig. 8. Espectro infrarrojo de la fibra de naranja.

6.3.2 Caseína

Los resultados de la composición de la proteína del lactosuero (caseína), se encuentran dentro de las especificaciones establecidas en la NOM (Tabla 15), coincidiendo con lo reportado por Santiago- Castro *et al.*, 2014. El IR (Fig. 9) se comparó con el espectro de una caseína comercial, coincidiendo en sus principales grupos funcionales; los picos asociados con los espectros de las proteínas, se ubican entre 3430 cm^{-1} y 3367 cm^{-1} relacionados con el estiramiento asimétrico y el estiramiento simétrico del enlace N-H; en 1650 cm^{-1} relacionados con el enlace C=O, C-N y 1565 cm^{-1} para los enlaces N-H, C-N (Mondragón-Cortez, 2017).

Tabla 15. Composición proximal de la caseína obtenida.		
Parámetro	Contenido (%)	Especificación (%)
<i>Humedad</i>	4.0 ± 0.1	4.0 máx.
<i>Cenizas</i>	4.0 ± 0.5	15.0 máx.
<i>Lípidos</i>	32.0 ± 3.5	26.0-42.0

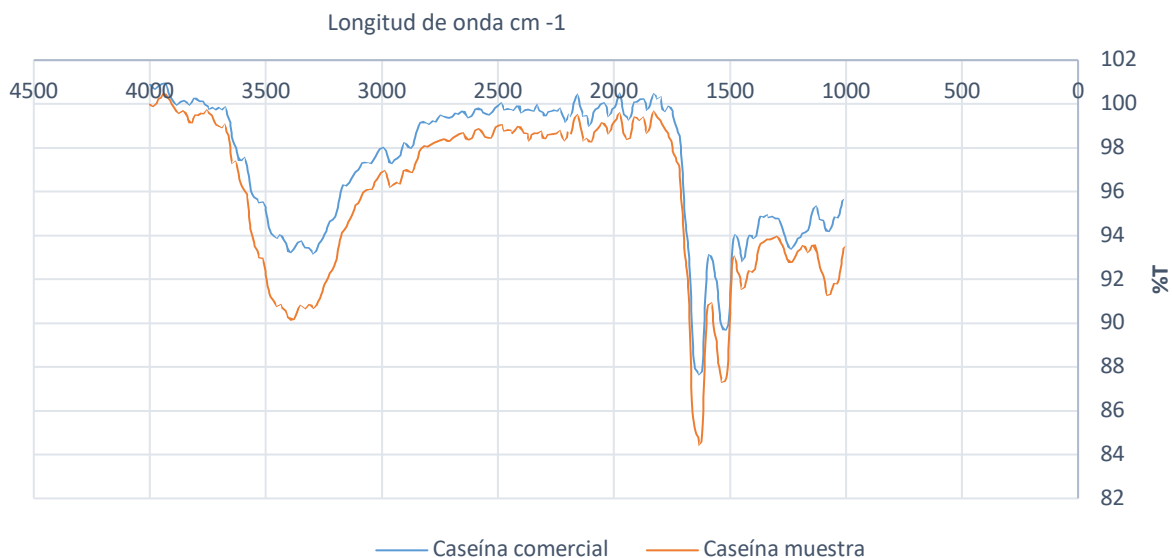


Fig. 9. Espectro infrarrojo de caseína

6.3.3 Gernetina

La gernetina obtenida se encuentra dentro de las especificaciones establecidas en la NOM coincidiendo con lo reportado por Avena-Bustillos, 2006, teniendo una fuerza de gel de 187 ° Bloom. El IR se comparó con el de una gernetina comercial, coincidiendo en sus principales grupos funcionales, ubicándose entre 3300 cm^{-1} los relacionados con el enlace O-H, 1668 cm^{-1} el enlace C=N, 1550 cm^{-1} con los enlaces N-H, C-N y 1390 cm^{-1} el C-O (Mondragón-Cortez, 2017) (Fig. 10).

Tabla 16. Composición proximal de la gernetina obtenida.		
Parámetro	Resultado	Especificación (%)
<i>pH</i>	4.6 ± 0.1	4.0 mín.
<i>Transmitancia</i>	$1.1 \pm 0.1\%$	Por convenio
<i>Humedad</i>	$5.9 \pm 0.2\%$	12.5 % máx.
<i>Cenizas</i>	$1.6 \pm 0.4\%$	2.0 % máx.
<i>Viscosidad</i>	29.0 ± 0.8 cps	30cps
<i>Fuerza de gel</i>	5.0 ± 0.4 N	1.5-5.8 N

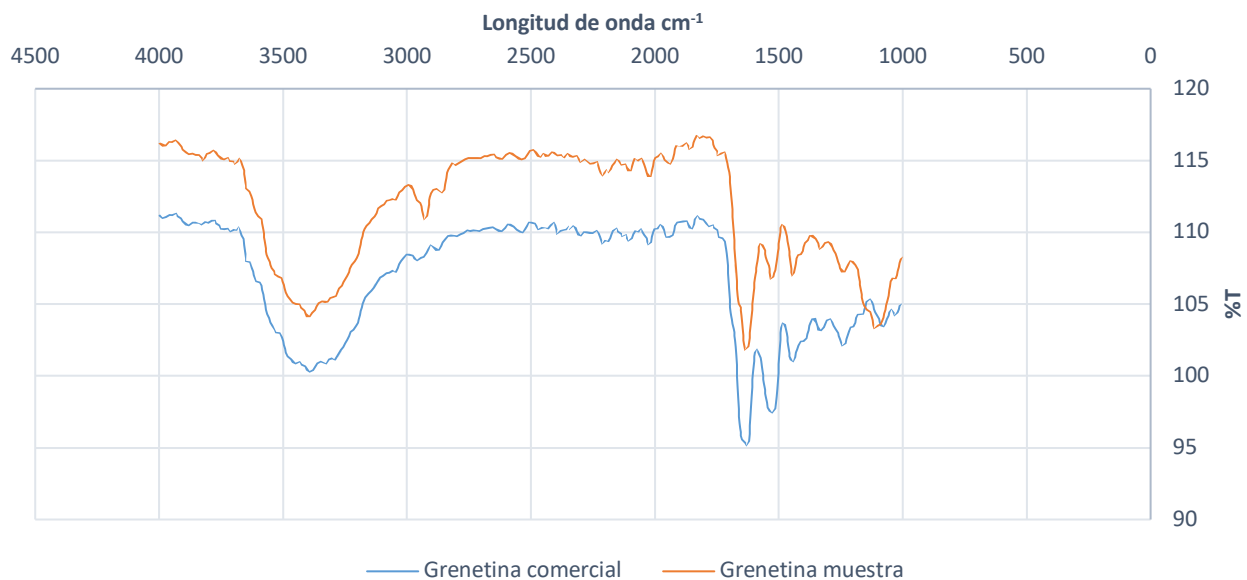


Fig. 10. Espectro infrarrojo de grenetina

6.4 Biopolímero a base de subproductos agroalimentarios

6.4.1 Caracterización de la disolución formadora de película (DFP)

La disolución formadora de película fue de 5.60 y la acidez de 0.39 ± 0.010 esta tendencia ligeramente ácida, puede atribuirse a que la cáscara de naranja contiene altas cantidades de un compuesto (aceite) llamado limoneno que le provee un carácter mayormente ácido. Por otra parte, la interacción de suero de leche-grenetina (SL-Gre) reduce el pH. Una alta concentración de suero de leche (13%) resulta en la disminución de este, de acuerdo con Herrera-Vázquez (2014). Esta variable es importante, en el caso de la grenetina ya que su punto isoeléctrico se encuentra en un intervalo de pH 4.8-5, por lo que valores de pH lejanos a este intervalo favorecen la solubilidad de la proteína, manteniéndola dispuesta a interactuar con los demás componentes.

6.4.2 Caracterización de película

Los biopolímeros resultantes de las dispersiones de caseína-grenetina-fibra de cáscara de cítricos y glicerol como plastificante resultaron ser lisos, delgados, con superficies homogéneas, y exhibieron una ligera coloración amarilla (figura 11). Por otra parte, se observó que la concentración de fibra impartió una coloración amarillenta en la película, así como una menor uniformidad del componente.

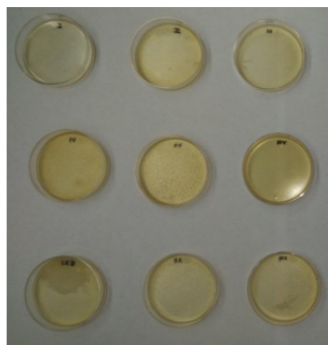


Figura 11. Película comestible a base de suero de leche, grenetina, fibra y glicerol

6.4.2.1 Propiedades físicas

La tabla 17, se muestran los valores promedio de las variables físicas de la película. El espesor es un parámetro que influye en otras propiedades de la película, tales como el color, transparencia y ciertas propiedades mecánicas, ya que, al contener mayor o menor cantidad de sólidos, las películas se comportan de diferente manera. Debido a ello, se fijó una cantidad de 5g de disolución formadora de película en cada placa petri, obteniendo valores de $0.17 \pm 0.05 \mu\text{m}$.

Tabla 17. Valores promedio de las variables físicas de la película.

Parámetro	Resultado
<i>Espesor (μm)</i>	0.17 ± 0.05
<i>H (%)</i>	33.80 ± 1.24
<i>CRA (%)</i>	161.57 ± 3.30
<i>S (%)</i>	49.78 ± 4.75

Con respecto a la humedad (H%), las películas presentaron valores $33.80 \pm 1.24 \%$. De acuerdo con Herrera-Vázquez (2014), la interacción de la grenetina con los demás componentes podría ser el componente que afecta a este parámetro. Por otro parte, la concentración de glicerol (9%) también influye en la obtención de altos valores de humedad en las partículas, pues estudios realizados por Rivero *et al.*, (2010), y Ramos *et al.* (2013), al ensayar diferentes concentraciones de glicerol (10-100%; 40-60% w/w) en películas a base de gelatina y concentrados de suero de leche respectivamente, observaron que una mayor concentración del plastificante (glicerol) incrementa el contenido de humedad significativamente (10.3-44.6%; 17.91-21.71%). El aumento observado en el presente estudio se podría atribuir a la concentración de glicerol empleada (9%) y la naturaleza higroscópica del mismo, que atrae y retiene moléculas de agua, lo que favorece la humectación de la superficie de la película y la absorción de humedad (Kokoszka *et al.*, 2010).

La capacidad de retención de agua (CRA), esta relacionada con la capacidad de ligar agua en la matriz de la película. Harper *et al* (2013), reportaron una pérdida de humedad mayor (29.4%) a una concentración baja de proteína de suero de leche al ensayar diferentes concentraciones de proteína aislada de suero (0.4 y 0.8 %) en geles a base de alginato. En la película elaborada, la adición de proteína de suero de leche aumentó la cantidad de agua ligada en las redes que forma la película, dado que contiene grupos hidrofílicos que por efecto del proceso térmico interactúan con el agua, aumentando la CRA (Cáñez-Carrasco *et al.*, 2016).

La solubilidad es una propiedad física relacionada con la capacidad de las películas para disolverse en el agua, por lo que cuando se ingiere puede digerirse adecuadamente o, si se vierte al medio ambiente, se puede descomponer de forma natural (Arham *et al.*, 2016). Por lo que la solubilidad deseada de un film dependerá de su aplicación o intención de uso. El intervalo de esta propiedad se encontró de 49.78 ± 4.75 como se muestra en la tabla 16. Lo anterior puede deberse a que, en el caso de la fibra, su composición contiene un mayor porcentaje de fibra del tipo insoluble. Valores de solubilidad similares fueron reportados por Pitak *et al.*, (2011) en films compuestos a base de harina de plátano y quitosano.

6.4.2.2 Propiedades ópticas

La tabla 18 muestra los valores de los parámetros ópticos de las películas elaboradas.

Tabla 18. Propiedades ópticas de la película SL-Gre-fibra.

Atributo de color	Valor
L*	91.22 + 0.31
a*	-2.10 + 0.49
b*	12.16 + 2.20
C	12.51 + 2.14
°H	100.02 + 0.16
ΔE	12.50 + 2.04

Para la variable L, las películas presentaron valores de alta luminosidad, estos valores son similares a los obtenidos por Herrera-Vázquez (2014) y Galus *et al.*, (2015) para otras películas comestibles basadas en proteína de suero de leche. Con respecto a las coordenadas cromáticas a* y b*, a* mostró, un comportamiento negativo, que indica una coloración con tendencia al verde, mientras que para la variable b*, los valores presentaron un comportamiento positivo, lo que indica una coloración con tendencia al amarillo, esto en base a la ubicación en las coordenadas situadas en la esfera de color. De acuerdo con Vaaldez-Valdez, 2018, esto puede atribuirse a la presencia de fibra en la matriz de proteína de suero para el aumento del tono verde. El ángulo fue de 100.02 °H lo que indica que las películas a base de suero-grenetina-fibra presentaron una coloración amarilla (tono predominante) verde, permaneciendo traslucidas.

La cromaticidad (C) es un parámetro similar al delta E (ΔE), el primero indica el grado de tonalidad en el color de las muestras, mientras el segundo la diferencia de color total de la muestra con respecto a la placa de calibración estándar, los valores obtenidos en ambos casos presentaron una misma tendencia. Las películas obtenidas en el presente estudio presentaron un color amarillento, tal como se puede observar en la figura 11. Ramos *et al.* (2013) atribuye tal coloración observada en películas de concentrado de suero de leche a la presencia de grasa y fosfolípidos, lo cual no implica un problema, pues puede superarse mediante la adición de agentes colorantes, como se hace frecuentemente en las películas de envasado de alimentos.

6.4.2.3 Propiedades mecánicas

Las propiedades mecánicas de las películas comestibles son importantes para garantizar que la película tenga la resistencia mecánica y la integridad adecuada durante el transporte (Ozdemir *et al.*, 2008). Las propiedades mecánicas evaluadas en las películas se muestran en la tabla 19.

Tabla 19. Propiedades mecánicas de biopolímero a base de subproductos agroalimentarios.	
Parámetro	Resultado
Resistencia (N)	5.03 ± 1.87
Elongación (mm)	19.22 ± 0.73
% de elongación	51.31 ± 5.71
MY (N/mm)	0.32 ± 0.12

La tensión de fractura expresa el estrés máximo desarrollado en una película al someterse a una prueba de extensión, mientras que el valor de elongación representa la extensibilidad de la película (Gennaadios *et al.*, 1994). Los niveles de tensión pudieran deberse a la interacción química entre los componentes del residuo agroindustrial (celulosa, hemicelulosa y lignina) con la grenetina, provocándose una mayor fuerza de unión entre éstos, con uniones hidrofílicas, lo cual repercute directamente en la propiedad de resistencia a la ruptura (Niño *et al.*, 2010).

El módulo de Young (MY) es una medida de la rigidez de la película, mientras la elongación, es el cambio máximo en la longitud de una muestra antes de romperse (Galus *et al.*, 2015). Por lo general, se requiere para que una película mantenga su integridad cuando se aplica a productos alimenticios (Arham *et al.*, 2016). Las películas proteínicas son generalmente frágiles y susceptibles de agrietarse (Lim *et al.*, 2002). Los valores de elongación presentados en el presente estudio son mayores a los reportados por Niño *et al.*, (2010) para películas elaboradas a base de cáscara de limón, alcohol polivinílico y benzoato de sodio (3.02-5.9%), lo anterior puede atribuirse a la capacidad de la gelatina para formar geles que, junto a sus propiedades

fisicoquímicas, crean sinergia entre los demás componentes, permitiendo la formación de redes tridimensionales más flexibles en las biopelículas (García Argueta *et al.*, 2013).

Los resultados obtenidos revelaron que los subproductos de la industria agroalimentaria pueden ser reutilizados en la obtención de materias primas para biopolímeros con actividad antioxidante. Éstos exhibieron propiedades satisfactorias para su uso como materiales de embalaje biodegradables, por lo que podrían aplicarse de manera efectiva a la industria del envasado de alimentos, lo que podría ayudar a mitigar los problemas ambientales asociados con materiales de embalaje sintéticos y los desperdicios de alimentos cuya reducción es una de las metas del objetivo 12 de la agenda 2030.

Por tanto, este proyecto se propone para coadyuvar la disminución de contaminantes ambientales y el desarrollo de nuevos productos para la aplicación de alimentos. Podría ser patentado, además que ayuda a la consolidación del grupo de investigación y a la sociedad, aportado un producto que puede ayudar a alargar la vida de anaquel de alimentos al ser aplicado a matrices alimentarias.

No obstante, se requieren estudios adicionales para determinar el uso de las películas en fines comerciales.

VII. CONCLUSIONES

Los preparados enzimáticos de subproductos agroalimentarios (cáscara de piña y semillas de papaya) mostraron ser eficientes en la producción de hidrolizados antioxidantes de proteína presente en cabeza y colas de carpa común, por lo que podrían aprovecharse como fuentes de enzimas proteolíticas.

De acuerdo con estudios *in silico* un péptido antioxidante que se espera esté presente en los hidrolizados de carpa común obtenidos es Ala-Tyr.

Es posible emplear residuos de la industria alimentaria para obtener péptidos con alta capacidad antioxidante, incluso mayor que la pepsina comercial.

El uso de los subproductos de la industria pesquera y del procesamiento de frutas y verduras destinados a la producción de harina para consumo animal, se podrían transformar en un producto de alto valor agregado como enzimas y péptidos con aplicaciones a la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética.

La obtención de películas biodegradables, elaboradas a base de fibra de cáscara de naranja como un residuo agroindustrial en combinación con suero de leche, gelatina y glicerol como plastificante es posible y pueden ser utilizadas como vehículo de compuestos bioactivos.

Las propiedades físicas y mecánicas de las películas fibra cítricos-suero de leche- grenetina-glicerol obtenidas presentó propiedades bioactivas, y dependieron de la concentración e interacción de los componentes.

VIII. RECOMENDACIONES

Es conveniente evaluar las propiedades funcionales del biopolímero obtenida, aplicandola en una matriz alimentaria.

Identificar los péptidos presentes en los hidrolizados de carpa común A TRAVÉS DE ESTUDIOS...

Otros análisis para considerar del biopolímero obtenido son permeabilidad al vapor de agua y oxígeno, así como un análisis de microscopia electrónica de barrido que permitan observar y comprender la interacción de los diversos componentes a un nivel microestructural en la matriz del biopolímero comestible.

IX. REFERENCIAS

- Agudelo E. L., Restrepo-Molina D. A., Cartagena J. R. (2015). Chemical, Physicochemical and Functional Characteristics of Dietary Fiber Obtained from Asparagus Byproducts (*Asparagus officinalis L.*). *Revista Facultad Nacional de Agronomía-Medellín*, 68(1): 7533-7544.
- Agrawal, H., Joshi, R., Gupta, M., 2019. Purification, identification and characterization of two novel antioxidant peptides from Finger millet (*Eleusine coracana*) protein hydrolysate. *Food Research International*, 120:697–707.
- Ahmed A.S., El-Bassiony, Elmalt T., Ibrahim L.M., H.R. (2015). Identification of potent antioxidant bioactive peptides from goat milk proteins. *Food Research International*, 74:80-88.
- Ahmed, R., Chun, B. (2018). Supercritical Fluids Subcritical water hydrolysis for the production of bioactive peptides from Tuna skin collagen. *Journal Supercrit Fluids* 141: 88–96.
- Alam, N., Bristi, N. J. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 21(2), 143–152.
- Alavi, F., Jamshidian, M., Rezaei, K. (2018). Hydrolysis of kilka fish proteins by crude melon extract. *Food Chemistry*, 1-37.
- Alvarez E. C., Chamorro R. A. M. (2009). Obtención de fibra insoluble a partir de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*). *Revista de Investigación Universitaria*, 1(1):25-30.
- Albericio F., Jiménez J.C., Giralt E. (2004). Péptidos y la Industria Farmacéutica. *Anales de la real Sociedad española de Química*, 10-16.
- Alemán A., Gómez-Guillén M.C., Montero P. (2013) Identification of ace-inhibitory peptides from squid skin collagen after in vitro gastrointestinal digestion. *Food Research International*, 54, 790-795.
- Aluko, R.E. (2008). Determination of nutritional and bioactive properties of peptides in enzymatic pea, chickpea and mung bean protein hydrolysates. *Journal AOAC International*, 91:947-956.
- Alvarez, C., Tiwari, B.K., Rendueles, M., Díaz, M., 2016. Use of response surface methodology to describe the effect of time and temperature on the production of decoloured, antioxidant and functional peptides from Porcine haemoglobin by subcritical water hydrolysis. *LWT - Food Science Technology*, 73: 280–289.
- Ambigaipalan P., Shahidi F. (2017). Bioactive peptides from shrimp shell processing discards: Antioxidant and biological activities. *Journal of Functional Foods*, 34: 7–17.
- Anunthawan T., De la Fuente-Núñez C., Hancock R.E, Klaynongsruang S. (2015). Cationic amphipathic peptides KT2 and RT2 are taken up into bacterial cells and kill planktonic and biofilm bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1848(6):1352–1358.
- Anuraj H.S., Anada S.P. (1998). Zinc and immune function: the biological basis of altered resistance to infection. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 68:63S-447S.

- Arihara K., Ohata M. (2008). Bioactive Compounds in Meat. *Meat Biotechnology*, 231-249.
- Audic J. L., Chaufer B., Daufin G. (2003). Non-food applications of milk components and dairy co-products: A review. *Le Lait, INRA Editions*, 83(6):417-438.
- Avena-Bustillos R. J., Krochta J. M., Mikal E. S., Rojas-Villegas R. J., Saucedo-Pérez J.A. (1994). Optimization of edible coating formulations on zucchini to reduce water loss. *Journal Food Engineering*, 21: 197-214.
- Badii F., Howell N. Z. (2006). Fish gelatin: Structure, gelling, properties, and interaction with egg albumen proteins. *Food Hydrocolloids*, 20(5): 630-640.
- Bamdad F., Shin S.H., Suh J., Nimalaratne C. (2017). Anti-inflammatory and antioxidant properties of Casein hydrolysate produced using high hydrostatic pressure combined with proteolytic enzymes. *Molecules* 22 (4): 1–16.
- Bhat Z. F., Kumar S., Bhat H. F. (2015). Bioactive peptides from egg: a review. *Nutrition and Food Science*, 45: 190–212.
- Barbosa Pelegrini P., Perseghini del Sarto R., Nascimento Silva O., Franco O.L., Grossi-de-Sa M.F. (2011). Antibacterial peptides from plants: What they are and how they probably work. *Biochemistry research*, 1-9.
- Becerra López, S. (2012) Uso de caseína como film comestible. Licenciatura, Universidad de Chile, Universidad de Chile.
- Bougatef A., Nedjar-Arroume N., Manni L., Ravallec R., Barkia A., Guillochon D., Nasri M. (2010). Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products proteins. *Food Chemistry*, 118: 559-565.
- Borawska, J., Darewicz, M., Vegarud, G. E., Iwaniak, A., Minkiewicz, P. (2015). Ex vivo digestion of carp muscle tissue – ACE inhibitory and antioxidant activities of the obtained hydrolysates. *Food & Function*, 6:211–21.
- Borawska, J., Darewicz, M., Vegarud, G. E., Minkiewicz, P. (2016). Antioxidant properties of carp (*Cyprinus carpio* L.) protein ex vivo and in vitro hydrolysates. *Food Chemistry*, 194, 770–779.
- Bozelli Jr J.C., Sasahara E.T., Pinto M.R., Nakaie C.R., Schreier S. (2012). Effect of head group and curvature on binding of the antimicrobial peptide tritrypticin to lipid membranes. *Chemistry and Physics of Lipids*, 165:365–73.
- Brodgen K.A. (2005). Antimicrobial Peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria?, *Nature Reviews Microbiology*, 3:238-250.
- Bulet P., Stöcklin R. (2005). Insect antimicrobial peptides: structures, properties and gene regulation. *Protein and Peptide Letters*, 12: 3-11.

- Bueno-Gavilá (2017). Utilización de proteasas de *Cynara scolymus* L. para la obtención de péptidos bioactivos a partir de ovoalbúmina, caseína y leche. Universidad Católica de Murcia. pp. 406.
- Cáñez-Carrasco M. G., Cumplido-Barbetia L. G., Orduño-Fragoza O., Corella-Madueño M. A. G. (2016). Estudio de las propiedades funcionales de mezclas de proteínas en un sistema modelo. *Acta universitaria*, 26(4): 3–11.
- Capriotti A., Caruso G., Cavaliere C., Samperi R., Chiozzi S. and Laganà A. (2015). Identification of potential bioactive peptides generated by simulated gastrointestinal digestion of soybean seeds and soy milk proteins. *Journal of Food Composition and Analysis*, 44: 205- 213.
- Carrasco-Castilla J., Hernández-Álvarez A. J., Jiménez-Martínez C., Gutiérrez-López G. F., Dávila-Ortiz, G. (2012). Use of proteomics and peptidomics methods in food bioactive peptide science and engineering. *Food Engineering Reviews*, 4: 224–243.
- Carrera, J., Módulos de Biotecnología, Enzimas Industriales, Biorreactores, Variables de Control, *Guías de Laboratorio y Biotecnología Agrícola y Vegetal*. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad del Cauca. (2002).
- Carvajal, C., Márquez, M., Pérez, A.T., Chávez, M. A., Hernández, M. (2010) Kinetic characterization of a semipurified preparation from bromelain for antitumor use. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 15(2), 27-41.
- Casas L., Coral G. (2014). Enzimas en la valorización de residuos agroindustriales. *Revista digital universitaria*, 15(12):2-4.
- Castaldi P., Alberti G., Morella, R., Melis P. (2005). Study of the organic matter evolution during municipal solid waste composting aimed at identifying suitable parameters for the evaluation of composting maturity. *Waste Management* (25), 209-213.
- Cerón-Salazar I., Cardona-Alzate C. (2011). Evaluación del proceso integral para la obtención de aceite esencial y pectina a partir de la cáscara de naranja. *Ingeniería y Ciencia*, 7(13):65-86.
- Chabeaud, A., Vandanjon, L., Bourseau, P., Jaouen, P., Guérard, F. (2009). Fractionation by ultrafiltration of a saithe protein hydrolysate (*Pollachius virens*): Effect of material and molecular weight cut-off on the membrane performances. *Journal of Food Engineering*, 91(3), 408–414.
- Chakrabarti S., Jahandideh F., Wu J. (2014) Food-Derived Bioactive Peptides on Inflammation and Oxidative Stress. *BioMed Research International*, 1-11.
- Chalamaiah, M., Dinesh Kumar, B., Hemalatha, R., Jyothirmayi, T. (2012). Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition, antioxidant activities and applications: A review. *Food Chemistry*, 135(4), 3020–3038.
- Chang C-Y., Wu K-C., Chiang S.H. (2007) Antioxidant properties and protein compositions of porcine haemoglobin hydrolysates. *Food Chemistry*, 100, 1537-1543.

- Chang S.K., Ismail A., Yanagita T., Mohd Esa N., Baharuldin M.T.H. (2015). Antioxidant peptides purified and identified from the oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) kernel protein hydrolysate. *Journal of functional foods*, 14: 63-75.
- Chen D., Liu Z., Huang W., Zhao Y., Dong, S., Zeng M. (2013) Purification and characterization of a zinc-binding peptide from oyster protein hydrolysate. *Journal of functional foods*, 5:689-697.
- Chen H.M., Muramoto K, Yamauchi F, Nokihara K. (1996) Antioxidant activity of design peptides based on the antioxidative peptide isolated from digests of a soybean protein. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 44:2619-2623.
- Chian, F.M., Kaur, L., Oey, I., Astruc, T. (2019). Effect of pulsed electric fields (PEF) on the ultrastructure and in vitro protein digestibility of bovine longissimus thoracis. *LWT - Food Science Technology*, 103, 253–259.
- Christensen J. E., Dudley E.G., Pederson J.A., Steele J.L. (1999). Peptidases and amino acid catabolism in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 80:155-165.
- Cho Y., Haq M., Park J., Lee H., Chun B. (2018). Physicochemical and Biofunctional properties of Shrimp (*Penaeus japonicus*) hydrolysates obtained from hot-compressed water treatment. *Journal of Supercritical Fluids*, 147: 322–328.
- Cian R.E., Vioque J., Drago S.R. (2015). Structure–mechanism relationship of antioxidant and ACE I inhibitory peptides from wheat gluten hydrolysate fractionated by pH. *Food Research International*, 69:216-223.
- CECOPESCA, *Guía para el aprovechamiento de los subproductos de pescado para la obtención de productos funcionales y bioactivos*. Madrid, 2012, pp. 44.
- Cerna, E., Ochoa, Y., Mendoza, R., Badii, M.H., Gallegos, G., Landeros, J. (2010) Assessment of protein quantification methods in *Tetranychus urticae*, as a potential tool for resistance detection to pesticides, *International Journal of Experimental Botany*, 79:149-152.
- Cook J.J., Huang T.F., Rucinsky B., Tuma R.F., Williams J.A., Niewiarowski S. (1988). Inhibition of platelet hemostatic plug formation by triagramin, a novel RGD peptide. *Circulation*, 78:1248-1253.
- Correa, A.P.F., Daroit, D.J., Coelho, J., Meira, S.M., Lopes, F.C., Segalin, J., Brandelli, A. (2011). Antioxidant, antihypertensive and antimicrobial properties of ovine milk caseinate hydrolyzed with a microbial protease. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(12), 2247-2254.
- Cruz, N., Vera, M. (2016). Propiedades funcionales de semillas de papaya (*Carica papaya* L.). *Revista de Ciencias de la Salud*, 3(7), 48–56.
- Danihlík, J., Aronstein, K., Petřivalský, M. (2015). Antimicrobial peptides: a key component of honey bee innate immunity. *Journal of Apicultural Research*, 54(2), 123–136.

- De Castro R.J.S., Sato H.H. (2015). Biologically active peptides: Processes for the generation, purification and identification and applications as natural additives in the food and pharmaceutical industries. *Food Research International*, 74:185-198.
- De Costa E.L., Rocha J.A., Netto F.M. (2007). Effect of heat and enzymatic treatment on the antihypertensive activity of whey protein hydrolysates. *International Dairy Journal*, 17:632–640.
- Delgado Olivares L., Betanzos Cabrera G., Sumaya Martínez M.T. (2010) Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Investigación y Ciencia*, (18)50:10-15.
- De las Fuentes L., Garay I., Berganza J., Guijarro J. (2003). Problemática y posibilidades de aprovechamiento de los subproductos generados en la industria alimentaria en la CEE. *Alimentación, equipos y tecnología*, 175: 91-94.
- De Lucca A.J., Bland J.M., Jacks T.J., Grimm C., Walsh T.J. (1998). Fungicidal and binding properties of the natural peptides cecropin B and dermaseptin. *Medical Mycology*, 36: 291-298.
- De Macedo M., Segura R., Piñero Bonilla J., Coello N. (2002). Obtención de un hidrolizado proteico por fermentación sumergida de plumas utilizando *Bacillus* spp. *Revista Científica, FCV-LUZ*, (7)3:214-220.
- Deraz, S. F. (2014). Protein hydrolysate from visceral waste proteins of Bolti fish (*Tilapia nilotica*): chemical and nutritional variations as affected by processing pHs and time of hydrolysis. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 24 (6):614-631.
- Di Luca M., Maccari G., Maisetta G., Batoni G. (2015) BaAMPs: the database of biofilm-active antimicrobial peptides, *Biofouling*, 31(2):193-9.
- Diz M.S.S., Carvalho A.O., Rodrigues R., Neves-Ferreira A.G.C., Da Cunha M., Alves E.W. (2006). Antimicrobial peptides from chili pepper seeds causes yeast plasma membrane permeabilization and inhibits the acidification of the medium by yeast cells. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1760: 1323-1332.
- Dong X., Li J., Jiang G., Li H., Zhao M., Jiang Y. (2019) Effects of combined high pressure and enzymatic treatments on physicochemical and antioxidant properties of Peanut proteins. *Food Science Nutrition*, 7 (4): 1417–1425.
- Dunkan S., Farewell A., Ballesteros Radman M., Nystrom T. (2000) Protein oxidation in response to increased transcriptional or translational errors. *Proceedings of the National Academy of Science*, 97(11): 5746-5749.
- Dziuba, B., Dziuba, M. (2014). Milk proteins-derived bioactive peptides in dairy products: molecular, biological and methodological aspects. *Acta Scientiarum Polonorum. Tecnologia Alimentaria*, 13: 5–25.
- Estévez M. (2011). Protein carbonyls in meat systems: A review, *Meat Science*, 89:259–279.
- Erdmann K., Cheung B.W.Y., Schroder H. (2008). The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease. *Journal of Nutritional Biology*, 19:643–54.

- Escudero E., Toldrá F., Sentandreu M., Nishimura H. and Arihara K. (2012) Antihypertensive activity of peptides identified in the in vitro gastrointestinal digest of pork meat. *Meat Science*, 91: 382-384.
- Fabra M. J., Pardo P., Martínez-Sanz M., Lopez-Rubio A., Lagarón J.M. (2015). Combining polyhydroxialkanoates with nanokeratin to develop novel biopackaging structures. *Journal of Applied Polymer Science*, 133(2).
- FAO (2018). *El estado mundial de la pesca y la acuicultura 2018. Cumplir los objetivos de desarrollo sostenible*. pp 220.
- FAO. (2019). *El estado mundial de la agricultura y la alimentación. Progresos en la lucha contra la pérdida y el desperdicio de alimento*. pp 2-149.
- Fernández Ginés J. M. (2008). Obtención de ingredientes funcionales a partir de subproductos: Situación y alternativas para su aprovechamiento y revalorización. *Revista de tecnología e higiene de los alimentos*, 39-42.
- Fernández-Ginés J. M., Fernández-López J., Sayas-Barberá E., Pérez-Alvarez J. A. (2005). Meat products as functional foods: A review. *Journal of Food Science*, 70: R37–R43
- FitzGerald R.J., Murray B.A., Walsh D.J. (2004). Hypotensive peptides from milk proteins. *Journal of Nutrition*, 134:980S–988S.
- Fujita H., Yokoyama K., Yasumoto R., Yoshikawa M. (1995). Antihypertensive Effect of thermolysin digest of dried bonito in spontaneously hypertensive rat. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 22(1):S304-305.
- Galanakis C. M. (2012) Recovery of high added-value components from food wastes: Conventional, emerging technologies and commercialized applications. *Trends in Food Science & Technology*, 26(2): 68-87.
- Gallardo, L., Sánchez, A., Montalvo, C., Alonso, A. (2008). Extracción de bromelina a partir de residuos de piña. *Ciencia y Tecnología de los alimentos*, 18, 1–4.
- Gallegos Tintoré S., Chel Guerrero L., Corzo Ríos L.J., Martínez Ayala A.L. (2013). Péptidos con actividad antioxidante de proteínas vegetales. En M. Segura Campos L., Guerrero C., Betancur Ancona D. (Eds), *Bioactividad de péptidos derivados de proteínas alimentarias*, Barcelona: OmniaScience, pp. 111-122.
- Galus S., Kadzińska J. (2015). Food applications of emulsion-based edible films and coatings. *Trends in Food Science & Technology*, 45(2): 273–283.
- García-Argueta I., Dublán-García O., Quintero-Salazar B., Dominguez-Lopez A., Gómez-Oliván L. M., Salem A.-F. Z. (2013). Effect of lactic acid bacteria on the textural properties of an edible film based on whey, inulin and gelatin. *African Journal of Biotechnology*, 12(19).
- García-Montoya I.A., Siqueiros T., Arévalo-Gallegos S., Rascón-Cruz Q. (2012). Lactoferrin a multiple bioactive protein: An overview. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1820(2012):226-236.

- Gardner M.L.G. (1984). Intestinal assimilation of intact peptides and proteins from the diet—a neglected field. *Biological Reviews*, 59:289–331.
- Gardner M.L.G. (1988). Gastrointestinal absorption of intact proteins. *Annual Review Nutrition*, 8:329–50.
- Gardner M.L.G. Transmucosal passage on intact peptides in mamalian metabolism. In: Grimble GK, Backwell FRG, editors. Tissue utilization and clinical targeting. London: Portland Press Ltd.; 1998.
- Gauthier S.F., Pouliot Y., Saint-Sauveur D. (2006). Immunomodulatory peptides obtained by the enzymatic hydrolysis of whey proteins. *International Dairy Journal*, 16:1315–1323.
- Garay-Pérez H.E. (2012). Síntesis de péptidos modificados químicamente con posibles aplicaciones farmacéuticas. Universidad de la Habana. Facultad de Química, La Habana.
- García-Carreño, F. L., Dimes, L. E., Haard, N. F. (1993). Substrate-gel electrophoresis for composition and molecular weight of proteinases or proteinaceous proteinase inhibitors. *Analytical Biochemistry*. 214(1), 65–69.
- Gennadios A., Weller C.L. (1994). Moisture adsorption by grain protein films, *Transactions ASAE*, 37:535-539.
- Gill I., López-Fandino R., Jorba X., Vulfson E.N. (1996). Biologically active peptides and enzymatic approaches to their production. *Enzyme and Microbial Technology*, 18:162–183.
- Girgih A.T., He R., Hasan F.M., Udenigwe C.C., Gill T.A., Aluko R.E. (2015). Evaluation of the in vitro antioxidant properties of a cod (*Gadus morhua*) protein hydrolysate and peptide fractions. *Food Chemistry*, 173:652-659.
- Glibota, G.S., Garro, O. A., Judis, M. A. (2000) Comparación de distintos métodos para medir la actividad enzimática del látex de Carica papaya. *Comunicaciones Científicas y tecnológicas*, Universidad Nacional del Nordeste, pp. 1-4.
- Gobbetti M., Stepaniak L., De Angelis M., Corsetti A., Di Cagno R. (2002). Latent bioactive peptides in milk proteins: proteolytic activation and significance in dairy processing. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 42: 223–239.
- Gobbetti M., Minervini F., Rizzello C.G. (2007). Bioactive peptides in dairy products. Handbook of food products manufacturing. Wiley, Hoboken, Hui YH pp. 489–517
- Gohi B.F.C.A., Du J., Zeng H.-Y., Cao X., Zou K. (2019). Microwave pretreatment and enzymolysis optimization of the Lotus seed protein. *Bioengineering* 6 (2): 1–13.
- Gómez L.J., Figueroa O.A., Zapata J.E. (2013). Actividad antioxidante de hidrolizados enzimáticos de plasma bovino obtenidos por efecto de Alcalasa 2.4 L. *Información tecnológica*, 24(1): 33-42.
- González-García E., Marina M. L., García M. C. (2014). Plum (*Prunus Domestica* L.) by-product as a new and cheap source of bioactive peptides: extraction method and peptides characterization. *Journal of Functional Foods*, 11: 428–437.

- Grimble G.K. (1994). The significance of peptides in clinical nutrition. *Annual Review of Nutrition*, 14:419–47.
- Gu M., Chen H.-P., Zhao M. M., Wang X., Yang B., Ren J.Y. (2015). Identification of antioxidant peptides released from defatted walnut (*Juglans Sigillata* Dode) meal proteins with pancreatin. *LWT – Food Science and Technology*, 60(1), 213-220.
- Guaní-Guerra E., Santos-Mendoza T., Lugo-Reyes S.O., Teran L.M. (2010). Antimicrobial peptides: general overview and clinical implications in human health and disease. *Clinical Immunology*, 135: 1-11.
- Guerreiro C.I., Fontes C.M., Gama M., Domigues L. (2008). Escherichia coli expression and purification of our antimicrobial peptides fused to a family 3 carbohydrate-binding module (CBM) from *Clostridium thermocellum*. *Protein Expression and Purification*, 59: 161-168.
- Ha, M., Bekhit, A. E. D. A., Carne, A., Hopkins, D. L. (2012). Characterisation of commercial papain, bromelain, actinidin and zingibain protease preparations and their activities toward meat proteins. *Food Chemistry*, 134(1), 95–105.
- Hammami, R., Hamida B.J., Vergoten G., Fliss I. (2009). PhytAMP: a database dedicated to antimicrobial plant peptides. *Nucleic Acids Research*, 37: 963-968.
- Harnedy P.A., FitzGerald R.J. (2012). Bioactive peptides from marine processing waste and shellfish: A review. *Journal of functional foods*, 4(2012):6-24.
- Harper B. A., Barbut S., Lim L.-T., Marcone M. F. (2013). Characterization of ‘wet’ alginate and composite films containing gelatin, whey or soy protein. *Food Research International*, 52(2): 452–459.
- Hartmann R., Meisel H. (2007). Food- derived peptides with biological activity: from research to food applications. *Current Option in Biotechnology*, 18:163-169.
- Hattori M., Yamaji-Tsukamoto K.A., Kumagai H., Feng Y., Takahashi K. (1998). Antioxidative activity of soluble elastin peptides. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 46:2167–2170.
- He, Y., Pan, X., Chi, C., Sun, K., Wang, B., 2019. Ten new pentapeptides from protein hydrolysate of Miiuy Croaker (*Miichthys miiuy*) muscle: preparation, identification, and antioxidant activity evaluation, *LWT - Food Science Technology*, 105:1–8.
- Herrera-Chalé F.G., Ruiz-Ruiz J.C., Acevedo-Fernández J.J., Betancur-Ancona D.A., Segura-Campos M.R. (2014). ACE inhibitory, hypotensive and antioxidant peptide fractions from *Mucuna pruriens* proteins. *Process Biochemistry*, 49(10):1691-1698.
- Herrera-Vázquez, S. E. (2014). Efecto de un recubrimiento comestible a base de suero de leche, inulina, grenetina y glicerol, sobre las características fisicoquímicas, texturales, y sensoriales de la fresa (*fragaria vesca* l.), durante su vida útil (Maestría). Universidad Autónoma Del Estado De México, México.
- Herrera-Vázquez, S. E., Dublán-García, O., Arizmendi-Cotero, D., Gómez-Oliván, L.M., Islas-Flores, H., Hernández-Navarro, M.D., Ramírez-Durán, N. (2022). Optimization of the Physical, Optical and

- Mechanical Properties of Composite Edible Films of Gelatin, Whey Protein and Chitosan. *Molecules*, 27(3):869.
- Horner K., Drummond E., Brennan L. (2016). Bioavailability of milk protein-derived bioactive peptides: a glycaemic management perspective. *Nutrition Research Reviews*, 29(01), 91–101.
- Huanqui, G.C. (1997). Oxidantes-antioxidantes en reumatología. *Revista Peruana de Reumatología*, 3(1), 35-40.
- Inouye K., Nakano K., Asaoka K., Yasukawa K. (2009) Effects of thermal treatment on the coagulation of soy proteins induced by subtilisin Carlsberg. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 57:717-723.
- Long, Y. O. L. X. (2008). Reducing radical Scavenging and chelation properties of in Vitro digests of Alcalase-Treated Zein hydrolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(8), 2714–2721.
- Jauhainen T., Korpela T.R. (2007). Milk peptides and blood pressure. *Journal of Nutrition*, 137: 825S-829S.
- Jayanthi, P., & Lalitha, P. (2011). Reducing power of the solvent extracts of *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(3), 126–128.
- Je, J. Y., Qian, Z. J., Byun, H. G., and Kim, S. K. (2007). Purification and characterization of an antioxidant peptide obtained from tuna backbone protein by enzymatic hydrolysis. *Process Biochemistry*. 42, 840–846.
- Jean-Francois F., Elezgaray J., Berson P., Vacher P., Dufoure E.J. (2008). Pore formation induced by an antimicrobial peptide: electrostatic effects. *Biophysical Journal*, 95:5748–56.
- Jenssen H., Hamill P., Hancock R.E.W. (2006). Peptide antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 19: 491-511.
- Ji N., Sun C., Zhao Y., Xiong L., Sun Q. (2014). Purification and identification of antioxidant peptides from peanut protein isolate hydrolysates using UHR-Q-TOF mass spectrometer. *Food Chemistry*, 161:148-154.
- Jin H., Xu H., Li Y., Zhang Q., Xie H. (2019). Preparation and evaluation of peptides with potential antioxidant activity by microwave assisted enzymatic hydrolysis of collagen from sea Cucumber *Acaudina Molpadioides* obtained from Zhejiang province in China. *Marine Drugs*, 17 (169): 1–14.
- Jiang H., Tong T., Sun J., Xu Y., Zhao Z., Liao D. (2014). Purification and characterization of antioxidative peptides from round scad (*Decapterus maruadsi*) muscle protein hydrolysate. *Food Chemistry*, 154: 158-63.
- John D. H., Dinkova-Kostova A.T., Tew K.D. (2020) Review Oxidative Stress in Cancer. *Cancer cell*, 38:1-31.
- Kelleher K. (2005). Discards in the World's Marine Fisheries An Update, Rome: FAO Fisheries Technical Paper No. 470.

- Kim C., Spano J., Park E.K., Wi S. (2009). Evidence of pores and thinned lipid bilayers induced in oriented lipid membranes interacting with the antimicrobial peptides, magainin-2 and aurein-3.3. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1788:1482–1496.
- Ko JY., Lee JH., Samarakoon K., Kim JS., Jeon YJ. (2013). Purification and determination of two novel antioxidant peptides from flounder fish (*Paralichthys olivaceus*) using digestive proteases. *Food Chemistry Toxicology*, 52: 113-20.
- Kokoszka S., Debeaufort F., Lenart A., Voilley A. (2010). Water vapour permeability, thermal and wetting properties of whey protein isolate based edible films. *International Dairy Journal*, 20(1): 53–60.
- Korhonen H., Pihlanto A. (2003). Food-derived bioactive peptides opportunities for designing future foods. *Current Pharmaceutical Design*, 9:1297–1308.
- Korhonen, H. (2009). Milk-derived bioactive peptides: from science to applications. *Journal of Functional Foods*, 1: 177–187.
- Korhonen H., Pihlanto A. (2006). Bioactive peptides: production and functionality. *International Dairy Journal*, 16: 945–960.
- Korhonen H., Pihlanto A. (2007). Technological options for the production of health-promoting proteins and peptides derived from milk and colostrum. *Current Pharmaceutical Design*, 13: 829–843.
- Ktari N., Fakhfakh N., Balti R., Ben K. H., Nasri M., Bougateg A. (2012). Effect of degree of hydrolysis and protease type on the antioxidant activity of protein hydrolysates from cuttlefish (*Sepia officinalis*) by-products, *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 22(5), 436-448.
- Kullisaar T., Songisepp E., Mikelsaar M., Zilmer K., Vihalemm T., Zilmer M. (2003). Antioxidative probiotic fermented goats' milk decreases oxidative stress-mediated atherogenicity in human subjects. *The British Journal of Nutrition*, 90 (2): 449-456.
- Kunitz, M. (1947). Crystalline Soybean Trypsin Inhibitor: Ii. General Properties. *The Journal of General Physiology*, 30(4), 291–310.
- Leung E.H.W., Ng T.B. (2007). A relatively stable antifungal peptide from buckwheat seeds with antiproliferative activity toward cancer cells. *Journal of Peptide Science*, 13: 762-767.
- Li G.H., Le G.W., Shi Y.H., Shrestha S. (2004). Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins and their physiological and pharmacological effects. *Nutrition Research*, 24:469–86.
- Li Y., Xiang Q., Zhang Q., Huang Y., Su Z. (2012) Overview on the recent study of antimicrobial peptides: Origins, functions, relative mechanisms and application. *Peptides*, 37: 2207-215.
- Lieber M.R., Karanjawala Z.E. (2004). Ageing, repetitive genomes and DNA damage, *Nature*. 5: 69-75.
- Lim L.-T., Mine Y., Britt I. J., Tung M. A. (2002). Formation and properties of egg white films and coatings. *Protein-based Films and Coatings*, 233–252.

- Lin M.Y., Yen C.L. (1999). Reactive oxygen species and lipid peroxidation product-scavenging ability of yoghurt organisms. *Journal of Dairy Science*, 82: 1629-1634.
- Liu J., Jin Y., Lin S., Jones G.S., Chen F. (2015). Purification and identification of novel antioxidant peptides from egg white protein and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 175: 258-266.
- Lopes J.L., Nobre T.M., Siano A., Humpola V., Bossolan N.R., Zaniquelli M.E. (2009) Disruption of *Saccharomyces cerevisiae* by Plantaricin 149 and investigation of its mechanism of action with biomembrane model systems. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1788:2252–8.
- López M. E., Sainz M. J. (2011). Gestión de residuos orgánicos de uso agrícola. Santiago de Compostela: Servizo de Publicacións e Intercambio Científico, Universidade de Santiago de Compostela.
- López-Expósito I., Recio I. (2006). Antibacterial activity of peptides and folding variants from milk proteins. *International Dairy Journal*, 16:1294–1305.
- López-Expósito I., Quiros A., Amigo L., Recio I. (2007). Caseinhydrolysates as a source of antimicrobial, antioxidant and antihypertensive peptides. *Le Lait, INRA Editions*, 87 (4-5):241–249.
- Marshall K. (2004) Therapeutic applications of whey protein. *Alternative Medicine Review*, 9:136-156.
- Martínez-Medina G.A., Prado-Barragán A., Martínez Hernández J.L., Ruíz H.A., Rodríguez M.R., Contreras-Esquivel J.C., Aguilar C.N. (2019) Peptidos bio-funcionales: bioactividad, producción y aplicaciones. *Journal of BioProcess and Chemical Technology*, (13)22: 1-7.
- Mazoyer E., Lévy-Toledano S., Rendu F., Hermant L., Lu H., Fiat A.M. (1990). KRDS. A new peptide derived from human lactotransferrin, inhibits platelet aggregation and release reaction. *European Journal of Biochemistry*, 194:43-49.
- Matsui T, Yukiyoshi A, Doi S, Sugimoto H, Yamada H, Matsumoto K. (2002) Gastrointestinal enzyme production of bioactive peptides from royal jelly protein and their antihypertensive ability in SHR. *Nutrition Biochemistry*. 13:80-86.
- McDonagh D., FitzGerald R.J. (1998). Production of caseinophosphopeptides (CPPs) from sodium caseinate using a range of commercial protease preparations. *International Dairy Journal*, 8:39–45.
- Medina, I., Gallardo, J.M., Aubourg, S.P. (2009). Quality preservation in chilled and frozen fish products by employment of slurry ice and natural antioxidants. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(8), 1467-1479.
- Meisel H. (2005). Biochemical properties of peptides encrypted in bovine milk proteins. *Current Medicinal Chemistry*, 12: 1905–1919.
- Meisel H., FitzGerald R.J. (2003). Biofunctional peptides from milk proteins: mineral binding and cytomodulatory effects. *Current Pharmaceutical Design*, 9:1289–1295.

- Mejía-Aguilar, R.B., Vega-Ramos, C.X. (2010) Medición de la actividad proteolítica de la enzima papaína natural extraída del látex de papayo (*carica papaya*) e inmovilizada en gel de agar. Universidad de el Salvador. San Salvador, El Salvador. pp. 127.
- Mihajlovic M., Lazaridis T. (2010). Antimicrobial peptides bind more strongly to membrane pores. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1798:1494–502.
- Mikhaylin S., Boussetta N., Vorobiev E., Bazinet L. (2017). High voltage electrical treatments to improve the protein susceptibility to enzymatic hydrolysis. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 5 (12): 11706–11714.
- Mills S., Ross R.P., Hill C., Fitzgerald G.F., Stanton C. (2011). Milk intelligence: Mining milk for bioactive substances associated with human health. *International Dairy Journal*, 21(2011):377-401.
- Mohseni Salehi Monfared S.S., Vahidi H., Abdolghaffari A.H., Nikfar S., ABDOLLAHI, M. (2009) Antioxidant therapy in the management of acute, chronic, and post-ERCP pancreatitis: a systematic review, *World Journal of Gastroenterology*. 15(36):4481-90.
- Mondragón-Cortez, P. Espectroscopia de infrarrojo para todos y 51 espectros de alimentos consumidos en México. Primera Edición, 2017. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, pp 1-199.
- Mora L., Reig M., Toldrá F. (2014). Bioactive peptides generated from meat industry by-products. *Food Research International*, 65: 344-349.
- Moughan P.J., Rutherford S.M., Montoya C.A., Dave L.A. (2014) Food derived bioactive peptides-a new paradigm: Review. *Nutrition Research Reviews*, 27(1):16-20.
- Moure A., Domínguez H., Parajó J.C. (2006). Antioxidant properties of ultrafiltration recovered soy protein fractions from industrial effluents and their hydrolysates. *Process Biochemistry*, 41:447–456.
- Mulero C.J., Zafrilla R.P., Martínez-Cacha M.A., Leal H.M., Abellan A.J. (2011). Péptidos bioactivos. *Clinica e Investigación en Arteriosclerosis*, 23:219-227.
- Najafian, L., Salam, A. (2018). Fractionation and identification of novel antioxidant peptides from fermented fish (Pekasam), *Journal of Food Measurement*, 12 (3):2174–2183.
- Narai-Kanayama A., Shikata Y., Hosono M., Aso K. (2010). High level production of bioactive di- and tri-tyrosine peptides by protease-catalysed reactions. *Journal of Biotechnology*, 150: 343-347.
- Neves, A. C., Harnedy, P. A., O’Keeffe, M. B., FitzGerald, R. J. (2016). Bioactive peptides from Atlantic salmon (*Salmo salar*) with angiotensin converting enzyme and dipeptidyl peptidase IV inhibitory, and antioxidant activities. *Food Chemistry*, 218:396–405.
- Neves, A. C., Harnedy, P. A., O’Keeffe, M. B., Alashi, M. A., Aluko, R. E., FitzGerald, R. J. (2017). Peptide identification in a salmon gelatin hydrolysate with antihypertensive, dipeptidyl peptidase IV inhibitory and antioxidant activities. *Food Research International*, 100: 112–120.

- Nimalaratne C., Bandara N., Wu J. (2015). Purification and characterization of antioxidant peptides from enzymatically hydrolyzed chicken egg white. *Food Chemistry*, 188:467-472.
- Niño K. A., Huerta M. E. A., Verde M. G. R., Rodríguez L. A. M. (2010). Películas biodegradables a partir de residuos de cítricos: propuesta de empaques activos, *Rev. Latinoam Biotecnol Amb Algal*, (1)2:124-134.
- Ngo D.H., Vo T-S., Ngo D-N., Wijesekara I., Kim S-K. (2012). Biological activities and potential health benefits of bioactive peptides derived from marine organisms. *International Journal of Biological Macromolecules*, 51: 378-383.
- North Carolina Department of Environment and Natural Resources, 2018. Clean Technologies in U.S industries: Focus and Food Processing. [En línea]
Available at: <http://infohouse.p2ric.org/ref/09/08853.htm>
- Ou K., Lui Y., Zhang L., Yang X., Huang Z., Nout M.J.R., Liang J. (2010). Effect of Neutrase, Alcalase and Papain Hydrolysis of Whey Protein Concentrates on Iron Uptake by Caco-2 Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 4894-4900.
- Ovissipour, M., Rasco, B., Shiroodi, S. G., Modanlow, M., Gholami, S., & Nemati, M. (2013). Antioxidant activity of protein hydrolysates from whole anchovy sprat (*Clupeonella engrauliformis*) prepared using endogenous enzymes and commercial proteases. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(7), 1718-1726.
- Ozdemir M., Floros J. D. (2008). Optimization of edible whey protein films containing preservatives for mechanical and optical properties. *Journal of Food Engineering*, 84(1): 116–123.
- Pálffy R., Gardlik R., Behuliak M., Kadasi L., Turna J., Celec P. (2009). On the physiology and pathophysiology of antimicrobial peptides. *Molecular Medicine*, 15: 51-59.
- Pan Y., Lee A., Wan J., Conventry M.J., Michalski W.P., Shiell B., Roginski H. (2006). Antiviral properties of milk proteins and peptides. *International Dairy Journal*, 16:1252-1261.
- Pasupuleti, V. K., & Demain, A. L. (2010). Protein hydrolysates in biotechnology. *Protein Hydrolysates in Biotechnology*, 1–229.
- Pérez-Torres I., Castrejón-Téllez V., Soto M.E., Rubio-Ruiz M.E., Manzano-Pech L., Guarner-Lans V. (2021). Oxidative Stress, Plant Natural Antioxidants, and Obesity. *International Journal of Molecular Sciences*, 22:1786.
- Perl-Treves R., Perl A. (2002). Oxidative Stress: An introduction in Inzé, D. and Van Montagu M. (ed). Oxidative stress in plants. London: Taylor & Francis, 1-32.
- Pihlanto-Leppälä (2001). Bioactive Peptides derived from bovine whey proteins: opioid and ace-inhibitory peptides. *Trends Food Science of Technology*, 11:347-356.
- Pihlanto A. (2006). Antioxidative peptides derived from milk proteins. *International Dairy Journal*, 16:1306–1314.

- Pihlanto-Leppälä A., Koskinen P., Piilola K., Tupasela T., Korhonen H. (2000). Angiotensin I-converting enzyme inhibitory properties of whey protein digests: concentration and characterization of active peptides. *Journal of Dairy Research*, 67:53–64.
- Qian Z.J, Jung W.K., Kim S.K. (2008). Free radical scavenging activity of a novel Antioxidative peptide purified from hydrolysate of bullfrog skin, *Rana catesbeiana*. *Bioresource Technology*, 99:1690–1698.
- Rajakpakse N., Mendis E., Jung W.K., Je J.Y., Kim S.K. (2005). Purification of a radical scavenging peptide from fermented mussel sauce and its antioxidant properties. *Food Research International*, 38:175–182.
- Rajendran S.R.C.K., Mohan A., Khiari Z., Udenigwe C.C., Mason B. (2018). Yield, physicochemical, and antioxidant properties of Atlantic Salmon visceral hydrolysate: comparison of lactic acid bacterial fermentation with Flavourzyme proteolysis and formic acid treatment. *Journal of Food Processing and preservation*, 42(6): 1–11.
- Ramakrishnan V. V., Ghaly A. E., Brooks M. S., Budge S. M. (2013). Enzymatic extraction of amino acids from waste for possible use as a substrate for production of jadomycin. *Enzyme Engineering*, 2(2).
- Ramos Ó. L., Reinas I., Silva S. I., Fernandes J. C., Cerqueira M. A., Pereira R. N., Malcata F. X. (2013). Effect of whey protein purity and glycerol content upon physical properties of edible films manufactured therefrom. *Food Hydrocolloids*, 30(1): 110–122.
- Ren Y., Wu H., Li X., Lai F., Xiao X. (2014). Purification and characterization of high antioxidant peptides from duck egg white protein hydrolysates. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 452(4):888-894.
- Requena F. D., Agüera E. I., Requena, F. (2007). Genética de la caseína de la leche en el bovino Frisón. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 8(1):1-9.
- Restrepo, M. (2006). *Producción más limpia en la industria alimentaria*. Revista Limpia, 1:88-89.
- Ritson D. D., Greif D. S., Stonebreaker M. E. (1963). Paper coating additives. New York: Hall H.R., pp. 155.
- Rivero S., García M. A., Pinotti, A. (2010). Correlations between structural, barrier, thermal and mechanical properties of plasticized gelatin films. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(2): 369–375.
- Roberts P.R., Burney J.D., Black K.W., Zaloga G.P. (1999). Effect of chain length on absorption of biologically active peptides from the gastrointestinal tract. *Digestion*, 60:332–337.
- Rojas Graü M.A., Soliva Fortuny R., Martín Belloso O. Recubrimientos comestibles como portadores de sustancias activas. *Películas y recubrimientos comestibles. Propiedades y aplicaciones en alimentos*. Olivas Orozco G.I., González-Aguilar G., Martín-Belloso O., Soliva-Fortuny R., Eds., ed. CLAVE, México, 2013, 363-384.
- Roufik S., Gauthier S.F., Turgeon S.L. (2006). In vitro digestibility of bioactive peptides derived from bovine β -lactoglobulin. *International Dairy Journal*, 16:294–302.

- Rubas W., Grass G.M. (1991). Gastrointestinal lymphatic absorption of peptides and proteins. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 7:15–69.
- Ryan, J. T., Ross, R. P., Bolton, D., Fitzgerald, G. F., & Stanton, C. (2011). Bioactive peptides from muscle sources: Meat and fish. *Nutrients*, 3(9), 765–791.
- Saiga A., Kanda K., Wei Z., Okumura T., Kaneko T., Nishimura T. (2003). Hypotensive activity of muscle protein and gluten hydrolysates obtained by protease treatment. *Journal of Food Biochemistry*, 26:391-401.
- Saiga A., Iwai K., Hayakawa T., Takahata, Y., Kitamura S., Nishimura T., Morimatsu F. (2008). Angiotensin I-converting enzyme-inhibitory peptides obtained from chicken collagen hydrolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 9586-9591.
- Saito K., Jin D.H., Ogawa T., Muramoto K., Hatakeyama E., Yasuhara T. (2003). Antioxidative properties of tripeptide libraries prepared by the combinatorial chemistry. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 51:3668–3674.
- Sakaguchi M., Koseki M., Wakamatsu M., Matsumura E. (2006). Effects of systemic administration of beta-casomorphin-5 on learning and memory in mice. *European Journal of Pharmacology*, 530:81-87.
- Salas C.E., Badillo-Corona J.A., Ramírez-Sotelo G., Oliver-Salvador C. (2015). Biologically Active and Antimicrobial Peptides from Plants. *Biomed Research International*, 1-11.
- Salem S. A., El-Agamy E. I., Salama F. A., Abo-Soliman N. H. (2009). Isolation, molecular and biochemical characterization of goat milk casein and its fractions. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 11(1): 29-35.
- Scocchi M., Mardirossian M., Runti G., Benincasa M. (2016). Non-membrane permeabilizing modes of action of antimicrobial peptides on bacteria. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 16(1):76–88.
- Segura-Campos M., Chel-Guerrero L., Betancur-Ancona D., Hernandez-Escalante V.M. (2011). Bioavailability of Bioactive Peptides. *Food Reviews International*, 27(3):213-226.
- SENASA, 2006. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. [En línea] Available at: <http://www.senasa.gob.ar/> [Último acceso: 14 Enero 2022].
- Saval S. (2012) Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales: Pasado, Presente y Futuro. *BioTecnología, UNAM*, 16(2): 15-16.
- Shabir U., Ali S., Magray A. R., Ganai B. A., Firdous P., Hassan T., Nazir, R. (2018). Fish antimicrobial peptides (AMP's) as essential and promising molecular therapeutic agents: A review. *Microbial Pathogenesis*, 114, 50–56.
- Shenkarev Z.O., Balandin S.V., Trunov K.I., Paramonov A.S., Sukhanov S.V., Barsukov L.I. (2011). Molecular mechanism of action of β -hairpin antimicrobial peptide arenicin: oligomeric structure in

- dodecylphosphocholine micelles and pore formation in planar lipid bilayers. *Biochemistry*, 50:6255–6265.
- Shimizu M., Tsunogai M., Arai S. (1997). Transepithelial transport of oligopeptides in the human intestinal cell, Caco-2. *Peptides*, 18:681–7.
- Subbalakshmi C., Sitaram N. (1998). Mechanism of antimicrobial action of indolicidin. *FEMS Microbiology Letters*, 160: 91-96.
- Suetsuna K., Osajima K. (1989). Blood pressure reduction and vasodilatory effects in vivo of peptides originating from sardine muscle. *Journal of Japan Society of Nutrition and Food Science*, 42: 47-54.
- Suetsuna K., Chen J.R. (2001). Identification of antihypertensive peptides from peptic digest of two microalgae. *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis*. *Marine Biotechnology*, 3:305-309.
- Sudhakar S., Nazeer R.A. (2015). Structural characterization of an Indian squid antioxidant peptide and its protective effect against cellular reactive oxygen species. *Journal of functional foods*, 14: 502-512.
- Sullivan, G. A., Calkins, C. R. (2010). Application of exogenous enzymes to beef muscle of high and low-connective tissue. *Meat Science*, 85(4), 730–734.
- Sun J., He H., Xie B. J. (2004). Novel Antioxidant Peptides from Fermented Mushroom *Ganoderma lucidum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(21): 6646–6652.
- Sun H., Mu T., Xi L., Zhang M., Chen J. (2014) Sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves as nutritional and functional foods. *Food Chemistry*, 1(156):380-389.
- Sun, Q., Zhang, B., Yan, Q.J., Jiang, Z.Q. (2016). Comparative analysis on the distribution of protease activities among fruits and vegetable resources. *Food Chemistry*, 213, 708-713.
- Taboas Susi., Plantas de Acción digestiva y eupeptica Plantas con enzimas: Papaina, Bromelaina. PAPAYA (Carica papaya). 2002
- Tejada M. (1992). Tratamiento de residuos sólidos de la industria transformadora del pescado: Aprovechamiento y obtención de subproductos. *Alimentación, equipos y tecnología*, 11(7): 123-129.
- Tenore G.C., Ritieni A., Campiglia P., Stiuso P., Di Maro S., Sommella E., Pepe G., D’Urso E., Novellino E. (2015). Antioxidant peptides from “Mozzarella di Bufala Campana DOP” after simulated gastrointestinal digestion: In vitro intestinal protection, bioavailability, and anti-haemolytic capacity. *Journal of Functional Foods*, 15: 365–375.
- Teschemacher H. (2003). Opioid receptor ligands derived from food proteins. *Current Pharmaceutical Design*, 9:1331–1344.
- Tomoyuki, K. (2004). The use of food waste as a protein source for animal feed - current status and technological development in Japan. FAO.
- Torres-Llanez M.J., Vallejo-Cordoba B., González-Córdova A.F. (2005). Péptidos bioactivos derivados de las proteínas de la leche. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 55(2):111-117.

- Torres-Llanez M.J., González-Córdova A.F., Hernández Mendoza A., García H.S., Vallejo-Cordoba B. (2011). Angiotensin- converting enzyme inhibitory activity in Mexican Fresco cheese. *Journal of Dairy Science*, 94: 3794-3800.
- Udenigwe Ch. C., Aluko R.E. (2012). Food Protein-Derived Bioactive peptides: Production, Processing, and Potential Health Benefits. *Journal of Food Science*, 71: R11-R24.
- US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Nutrient Data Laboratory. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 27 (slightly revised). Mayo 2015. Internet: <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>
- Usydus, Z., Szlinder-richert, J., Adamczyk, M. (2009). Protein quality and amino acid profiles of fish products available in Poland. *Food Chemistry*, 112(1):139-145.
- Valdés Rodríguez Y. C., Bilbao Díaz M., León Álvarez J.L., Merchán González F. (2002). Origen e importancia de la fosfolipasa A2 de secreción. *Revista Cubana de Farmacia*, 36(2):121-8.
- Venereo, G.J.R., Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana Medico Militar*, 31(2): 126-133.
- Vera-Valle (2017). Desarrollo de un yogur bebible enriquecido con péptidos bioactivos obtenidos de la hidrólisis enzimática de proteínas de suero lácteo utilizando papaína. Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química. Tesis de maestría.
- Vermeirssen V., Van Camp J., Verstraete W. (2004). Bioavailability of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides. *British Journal of Nutrition*, 92: 357–366.
- Viana do Nascimento V. L., Bermúdez S., Lima de Oliveira V. M., Nunes Kleinberg A. L. (2015). Characterization of a hydrolyzed oil obtained from fish waste for nutraceutical application, *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 35(2): 321-325.
- Vioque J., Clemente A., Pedroche J., Yust M. M., Millán F. (2001). Obtención y aplicaciones de hidrolizados proteicos. *Grasas Aceites*, 52:132–136.
- Vioque, J., Millán, F. (2005). Los hidrolizados proteicos en alimentación: Suplementos Alimenticios de gran calidad Funcional y Nutricional. *CTC Alimentación*, 26.
- Virtanen T., Pihlanto A., Akkanen S., Korhonen H. (2007). Development of antioxidant activity in milk whey during fermentation with lactic acid bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 102: 106-115.
- Wachinger M., Kleinschmidt A., Winder D., von Pechmann N., Ludvigsen A., Neumann M., Holle R., Salmons B., Erfle V., Brack-Werner R. (1998). Antimicrobial peptides melittin and cecropin inhibit replication of human immunodeficiency virus 1 by suppressing viral gene expression. *Journal of General Virology*, 79: 731-740.
- Wang, M., Jia, C., Qi, W., Yu, Q., Peng, X., Su, R., He, Z. (2011). Porous-CLEAs of papain: application to enzymatic hydrolysis of macromolecules. *Bioresource Technology*, 102, 3541-3545.

- Wang X., Zhu M., Zhang A., Yang F., Chen P. (2012). Synthesis and secretory expression of hybrid antimicrobial peptide CecA-mag and its mutants in *Pichia Pastoris*. *Experimental Biology and Medicine*, 237: 312-317.
- Wang, X., Yu, H., Xing, R., Li, P. (2017). Characterization, preparation, and purification of marine bioactive peptides, *BioMed Research International* 2017:1-16.
- Wen, C., Zhang, J., Zhou, J., Cai, M., Duan, Y., Zhang, H., & Ma, H. (2020). Antioxidant activity of arrowhead protein hydrolysates produced by a novel multi-frequency S-type ultrasound-assisted enzymolysis. *Natural product research*, 34(20): 3000–3003.
- Wu C.H., Chen H.M., Shiao C.Y. (2003). Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). *Food Research International*, 36:949–957.
- Wu H., Liu Z., Zhao Y., Mingyong Z. (2012). Enzymatic preparation and characterization of iron-chelating peptides from anchovy (*Engraulis japonicus*) muscle protein. *Food Research International*, 48:435-441.
- Xie Z., Huang J., Xu X., Jin Z. (2008). Antioxidant activity of peptides isolated from alfalfa leaf protein hydrolysate. *Food Chemistry*, 111:370–376.
- Xiong Y. L. (2010). Antioxidant peptides. In: *Bioactive Proteins and Peptides as Functional Foods and Nutraceuticals*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK, pp. 29–42.
- Yamamoto N., Ejiri M., Mizuno S. (2003). Biogenic peptides and their potential use. *Current Pharmaceutical Design*, 9:1345–1355.
- Yeaman M.R., Yount N.Y. (2001). Mechanisms of antimicrobial peptide action and resistance. *Pharmacological Reviews*, 55: 27-55.
- Zenezini Chiozzi R., Capriotti A. L., Cavaliere C., La Barbera G., Piovesana S., Samperi R., Lagana A. (2016). Purification and identification of endogenous antioxidant and ACE-inhibitory peptides from donkey milk by multidimensional liquid chromatography and nanoHPLC-high resolution mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408:5657–5666.
- Zeng W. C., Zhang W. H., Qiang H., Bi S. (2015). Purification and characterization of a novel antioxidant peptide from bovine hair hydrolysates. *Process Biochemistry*, (50)6:948-954.
- Zhang, M., Mu, T., 2017. Identification and characterization of antioxidant peptides from Sweet Potato protein hydrolysates by Alcalase under high hydrostatic pressure. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 43, 92–101.
- Zhu, L., Chen, J., Tang, X., Xiong, Y. I. (2008). Reducing radical scavenging, and chelation properties of in vitro digests of alcalase-treated zein hydrolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(8), 2714-2721.
- Ziv E., Bendayan M. (2000). Intestinal absorption of peptides through the enterocytes. *Microscopy Research and Technique*, 49:346–52.

- Zoghbi S., Trompette A., Claustre J. E. I., Homsy M., Garzon J., Jourdan G. (2006). b-Casomorphin-7 regulates the secretion and expression of gastrointestinal mucins through a muopioid pathway. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 290:G1105-G1113.
- Zou Y., Wang W., Li Q., Chen Y., Zheng D., Zou Y., Zhang M., Zhao T., Mao G., Feng W., Wu X., Yang L. (2015). Physicochemical, functional properties and antioxidant activities of Porcine Cerebral hydrolysate peptides produced by ultrasound processing. *Process Biochemistry*, (51)3: 441-443.