



Proteasas Vegetales como Herramientas Biotecnológicas para Hidrolizar y Revalorizar Proteínas de Girasol

Plant Proteases as Biotechnological Tools to Hydrolyze and Value Sunflower Proteins

Laura M.I. LÓPEZ¹, Nadia SANTONE¹, María E. GALAZZI², Alicia GALLO³, María J. TORRES², María E. ERRASTI¹

¹ Instituto de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional Arturo Jauretche. CITEC (CIC-INTI), Argentina. *
llopez@unaj.edu.ar

² Departamento de Ciencias Básicas y aplicadas. UNNOBA

³ Laboratorio Avanzado de Alimentos, UNLu. Buenos Aires, Argentina

Presentación Póster No. 78

ABSTRACT

Proteins from defatted sunflower flour are increasingly being studied to offer an alternative to animal proteins. Its amino acid composition is balanced (except for lysine) according to the recommendations of the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and is rich in sulfur amino acids, unlike soy proteins. It has also been reported that sunflower proteins have a low content of allergenic factors and could have interesting techno-functional properties, however, sunflower flour proteins have low solubility ^[1]. Several studies have reported the use of “limited” or “partial” proteolysis as a tool for improving solubility and generating bioactive peptides ^[2]. The objective of the work was to recover and valorize the proteins present in the sunflower expeller by obtaining an enzymatically hydrolyzed sunflower protein concentrate (SPC) using plant proteases from *Pseudananas macrodentes* fruits ^[3] and from *Carica papaya* latex (papain). The defatted sunflower meal was initially obtained from the sunflower pellet by grinding and sieving it with a 500 μ mesh sieve to partially remove the fibers and enrich the protein. The production of a SPC was subsequently optimized by successive washings with a 70% ethanol-HCl solution (pH 5.0) in an ultrasonic bath at 25 °C. Hydrolyses were performed using an enzyme/substrate ratio of 5% (w/w) under optimal pH conditions for each enzyme in a thermostatic bath at 45 °C with orbital agitation (100 rpm). Different reaction end times were evaluated (0, 5, 10, 30, 60, and 120 min). In each case, the reaction was terminated by heating in a water bath for 10 min. Simultaneously, the control was performed for each of the hydrolysis conditions described above, but using the heat inactivated enzyme. Degree of hydrolysis (DH) was determined using the OPA (O-phthalaldehyde) method. The concentration of soluble



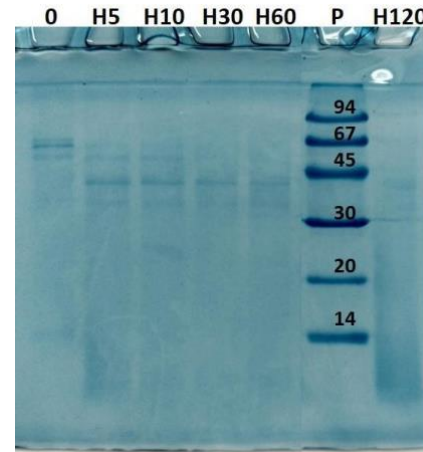
proteins in the each sample before and after hydrolysis was determined using the Bradford method. The electrophoretic pattern of the original sunflower protein sample was determined by tricine-SDS-PAGE, which was subsequently characterized and compared with the peptide profiles of the hydrolysates. Finally, to determine the presence of bioactive peptides, antioxidant activity was evaluated using the DDPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. The DH levels achieved were close to 5%, and a considerable increase in solubility was achieved, almost doubling the initial solubility (non-hydrolyzed proteins). Electrophoretic profiles (Figure 1) show the disappearance of the main proteins characteristic of SPC due to enzymatic hydrolysis and the appearance of lower molecular weight bands. Antioxidant activity was detected in sunflower protein hydrolysates, starting from a hydrolysis time of 5 minutes with papain and starting from a reaction time of 60 minutes with proteases from *P. macrodontes*. Therefore, sunflower proteins were revalued through their concentration and subsequent controlled hydrolysis, obtaining hydrolysates with antioxidant activity that can be used in food formulations.

Figure 1. Electrophoresis

0: CPG without hydrolyzing

H5, H10, H30, H60, H120: hydrolysis time 5, 15, 30, 60, and 120 min, respectively (papain)

P: Molecular weight standards



Key words:

Proteases, Biotechnology, Peptides, Sunflower

RESUMEN

Las proteínas de la harina desgrasada de girasol representan una alternativa a las proteínas de origen animal, dado que poseen una composición de aminoácidos equilibrada (excepto lisina) de acuerdo con las recomendaciones de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), siendo ricas en alergénicas y presentan buenas propiedades tecno funcionales pero presentan una solubilidad reducida ^[1]. Diferentes estudios han reportado el uso de la proteólisis parcial como herramienta para aminoácidos azufrados a diferencia de las proteínas de soja. También se ha informado que las proteínas de girasol son poco mejorar la solubilidad y generar péptidos bioactivos ^[2]. El objetivo del trabajo fue recuperar y valorizar las proteínas presentes en el expeller de



girasol (subproducto de la obtención de aceite) mediante la obtención de un concentrado proteico (CPG) y su hidrólisis enzimática utilizando proteasas vegetales de frutos de *Pseudananas macrodentes* [3] y del látex de *Carica papaya* (papaína). La harina de girasol desgrasada se obtuvo del pellet de girasol moliéndolo y tamizándolo con una malla de 500 μ para eliminar parcialmente las fibras y enriquecer en proteínas. La producción del CPG se optimizó mediante lavados sucesivos con una solución de etanol-HCl al 70% (pH 5,0) en un baño ultrasónico a 25°C. Los ensayos de hidrólisis se realizaron utilizando una relación enzima/sustrato del 5% p/p en condiciones óptimas de pH para cada enzima, empleando un baño termostático a 45 °C con agitación orbital (100 rpm). Se evaluaron diferentes tiempos de reacción (0, 5, 10, 30, 60 y 120 min). Simultáneamente, se realizó el control utilizando la enzima inactivada térmicamente. El grado de hidrólisis (GH) se determinó utilizando el método OPA (*O*-ftaldehído). La concentración de proteínas solubles en cada muestra, antes y después de la hidrólisis, se determinó mediante el método de Bradford. El patrón electroforético de la muestra original de CPG se obtuvo mediante tricina-SDS-PAGE y se comparó con los perfiles peptídicos de los hidrolizados. Finalmente, para determinar la presencia de péptidos bioactivos, se evaluó la actividad antioxidante utilizando el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DDPH). Se obtuvo un CPG con 50,7% de proteína en base seca (Kjeldahl). Los niveles de GH alcanzados fueron cercanos al 5%, y se logró un aumento considerable de la solubilidad que duplicó la solubilidad inicial del CPG no hidrolizado. Los perfiles electroforéticos (Figura 1) muestran la desaparición de las principales proteínas características del concentrado de girasol debido a la hidrólisis enzimática y la aparición de bandas de menor peso molecular. Se detectó actividad antioxidante en hidrolizados de proteína de girasol: a partir de un tiempo de hidrólisis de 5 minutos con papaína y de 60 minutos con proteasas de *P. macrodentes*. Se logró revalorizar a las proteínas de girasol mediante su concentración y posterior hidrólisis enzimática controlada, obteniendo hidrolizados que podrán emplearse en la formulación de alimentos.

Palabras clave:

Proteasas, Biotecnología, Péptidos, Girasol

Agradecimientos/Acknowledgements

Proyecto UNAJ Investiga 2023-2025

Referencias/References

- [1] BEAUBIER, S. et al. (2021). A Rational Approach for the Production of Highly Soluble and Functional Sunflower Protein Hydrolysates. *Foods*, 10(3): 664. [\[DOI\]](#)
- [2] MAZORRA-MANZANO, J.C. et al. (2017). Plant proteases for bioactive peptides release: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. [\[DOI\]](#)



REVISTA PRODUCTOS NATURALES

ISSN 1916-2413



Vol. 6 Núm. 1 (2025): I Congreso Colombiano de Productos Naturales

Disponible en línea en

<https://www.nozomiscience.org/index.php/rpn/issue/view/587>

doi: <https://doi.org/10.3407/rpn.v6i1pp78>



-
- [3] LÓPEZ, L.M.I. et al. (2001). Comparison of Two Cysteine Endopeptidases from *Pseudananas macrodontes* (Morr.) Harms (Bromeliaceae). Biol. Chem. Hoppe-Seyler, 382: 875–878. [DOI]