



Frijol negro, frijol blanco y frijol rojo
Imagen tomada de: Canva educativo

Péptidos bioactivos derivados de las semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)

Bioactive peptides derived from bean seeds (*Phaseolus vulgaris* L.)

Raúl Reyes-Bautista*, José de Jesús Flores-Sierra, Luis Ángel Xoca-Oroxco

RESUMEN

Diversos compuestos de origen vegetal pueden coadyuvar en el control y prevención de las enfermedades consideradas como un problema de salud pública, entre ellas las crónico-degenerativas. Las proteínas de origen vegetal representan una excelente alternativa frente a las de origen animal debido a la menor huella de carbono. Se les considera una excelente fuente de péptidos funcionales, que presentan diferentes actividades biológicas. El objetivo de este trabajo fue analizar los avances en el estudio de los hidrolizados proteínicos, para la obtención de péptidos bioactivos, que se encuentran encriptados en las proteínas de almacenamiento de las semillas del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). Los estudios se han enfocado a mejorar el proceso de obtención a través de hidrólisis enzimática, fermentación microbiana e incluso métodos sintéticos. También se tienen adelantos en su purificación, identificación y en la evidencia de su actividad funcional, tales como: propiedades antioxidantes, antihipertensivas y antidiabéticas. Las investigaciones localizadas están dirigidas a lograr que los hidrolizados proteínicos, derivados del frijol, con potencial nutracéutico o terapéutico, por haberse demostrado su actividad biológica *in vitro* e *in vivo*, puedan incorporarse en el desarrollo de alimentos funcionales.

PALABRAS CLAVE: frijol, biopéptidos, actividad biológica, hidrolizados proteínicos.

ABSTRACT

Various compounds of plant origin can contribute to the control and prevention of diseases considered a public health problem, including chronic-degenerative diseases. Plant-based proteins are an excellent alternative compared to those of animal origin due to their lower carbon footprint, and they are also an excellent source of peptides that have different biological activities. The aim of this work was to analyze the research progress on the protein hydrolysates/peptides that are encrypted in the storage proteins of the seeds of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Studies have focused on its production process (enzymatic hydrolysis, microbial fermentation, and method synthetic), purification and identification and evidence of its functional activities such as antioxidant, antihypertensive, antidiabetic among others. The research that has been carried out and that is concentrated in this document aim that in the future protein hydrolysates derived from the bean that have demonstrated biological activity (*in vitro* and *in vivo*) can offer nutraceutical and therapeutic potential in addition to their incorporation into the development of functional foods.

KEYWORDS: beans, biopeptides, biological activity, protein hydrolysates.

*Correspondencia: raul.rb@purisima.tecnm.mx/ Fecha de recepción: 22 de enero de 2024/ Fecha de aceptación: 12 de julio de 2024/ Fecha de publicación: 19 de julio de 2024.

Tecnológico Nacional de México/ITS de Purísima del Rincón, Laboratorio de Bioprocesos, División de Ingeniería Bioquímica, boulevard del Valle núm. 2301, Guardarrayas, Purísima del Rincón, Guanajuato, México, C. P. 36425.

INTRODUCCIÓN

El impacto ambiental que genera la producción de alimentos de origen vegetal es menor comparado con los de origen animal, debido a la huella de carbono; medida del efecto ambiental, en términos de la cantidad de gases de efecto invernadero generados (CO_2 , CH_4 , entre otros). La carne tiene una huella de carbono que es de varias decenas de veces mayor que la de la mayoría de las frutas y verduras (Shabir y col., 2023). Los alimentos de origen vegetal están surgiendo como un nuevo horizonte en la industria agrícola, siendo una alternativa a los alimentos de origen animal (la carne, el pescado, los huevos, la leche, el queso y el yogur), debido a que pueden satisfacer las necesidades de los seres humanos (McClements y Grossmann, 2021; Mullins y Arjmandi, 2021; Goldstein y Reifen, 2022). Actualmente, los consumidores prestan mayor atención en la calidad de los alimentos, debido a que existe una mejor educación sanitaria y una mayor conciencia sobre los beneficios para la salud de los productos alimenticios, además de la creación de nuevas tendencias dietéticas en las generaciones de jóvenes y adultos mayores (Baker y col., 2022).

Las legumbres, que son el fruto de las leguminosas, forman parte de la alimentación humana y se remontan al año 5500 a.C; su cultivo tiene una historia larga y diversa, asociada con el desarrollo de prácticas agrícolas y la satisfacción de las necesidades nutricionales humanas. Se cree que fueron de las primeras plantas cultivadas y consumidas por los humanos, las cuales también se utilizaban para alimentar a los animales (Siddiq y col., 2022). Estos cultivos alimentarios tienen diferentes orígenes de domesticación. Muchas legumbres (e.g. lentejas y garbanzos) generalmente se obtuvieron y cultivaron en las regiones de Medio Oriente, mientras que los frijoles comunes o secos (*Phaseolus vulgaris* L.) se conocen como cultivos del “nuevo mundo” (Miklas y col., 2022).

La inclusión dietética y el consumo regular de legumbres se asocia con muchos benefi-

cios para la salud. Los compuestos contenidos en estas plantas ejercen efectos antioxidantes, hipocolesterolémicos, hipoglucemiantes, anticancerígenos, antiobesidad y reguladores hormonales (Grdeń y Jakubczyk, 2023).

Según la Organización Mundial de la Salud (WHO, por sus siglas en inglés: World Health Organization), reportó que las enfermedades no transmisibles (ENT) continúan causando la mayor carga de morbilidad en todo el mundo. El impacto de las ENT generó en 2019 el 74 % de las muertes mundiales (41 millones). Las cuatro principales ENT, que generaron en conjunto alrededor de 33.3 millones de muertes, fueron las enfermedades cardiovasculares (17.9 millones), el cáncer (9.3 millones), las enfermedades respiratorias crónicas (4.1 millones) y la diabetes (2.0 millones) (WHO, 2023).

Las ENT ocurren como resultado de la interacción de un conjunto multifactorial de exposición, que incluyen factores de riesgo conductuales, metabólicos y ambientales. Una gran proporción de estas enfermedades se puede prevenir reduciendo los principales factores de riesgo, tales como, una nutrición poco saludable, baja actividad física, el tabaquismo y el consumo de alcohol (Alidoost y col., 2021). Por lo tanto, la búsqueda de alimentos que coadyuven a controlar los principales problemas de salud pública, a través de sus componentes bioactivos con diversas actividades, tales como, antioxidantes, antihipertensivos, antidiabéticos, antitrombóticos, entre otros (Granato y col., 2020), los cuales están presentes en la dieta, es un reto que se ha expuesto durante los últimos años y que es objeto de estudio de diversos investigadores en distintas áreas del conocimiento, en particular, el desarrollo de alimentos funcionales (Vignesh y col., 2024); síntesis y mecanismos de acción (Akbarian y col., 2022) así como biodisponibilidad y seguridad (Bhandari y col., 2020).

El objetivo del presente trabajo fue analizar la evidencia científica de los péptidos bioacti-

vos obtenidos por hidrólisis enzimática, derivados de las semillas del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) y los mecanismos de su actividad farmacológica evaluados de forma *in vitro* e *in vivo*, con la finalidad de reconocer su papel como potenciales nutraceuticos.

Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés: Food and Agriculture Organization of the United Nations), la producción de frijol seco en 2022 fue superior a 28 millones de T, en donde América representa aproximadamente el 32 % de participación en la producción mundial. En este continente, los principales productores de frijol son Brasil (3 millones de T), Estados Unidos de América (1.2 millones de T) y México (1.1 millones de T), ocupando el segundo, el quinto y el sexto lugar a nivel mundial, respectivamente (FAO, 2022).

Se considera que el frijol común fue domesticado en Centroamérica hace casi 7000 años, en dos regiones principales: Mesoamérica y los Andes. Sin embargo, varios estudios moleculares recientes sugieren la evolución del acervo genético andino a partir del germoplasma mesoamericano, lo que demuestra que el acervo genético mesoamericano es una fuente importante de diversidad genética (Biotocchi y col., 2012; Choudhary y col., 2022). Existen alrededor de 80 especies cultivadas y silvestres del género *Phaseolus*, de las cuales *P. vulgaris*, perteneciente a la familia de plantas Fabaceae, es la especie de leguminosa más cultivada en el mundo (Freytag y Debouck, 2002; Porch y col., 2013).

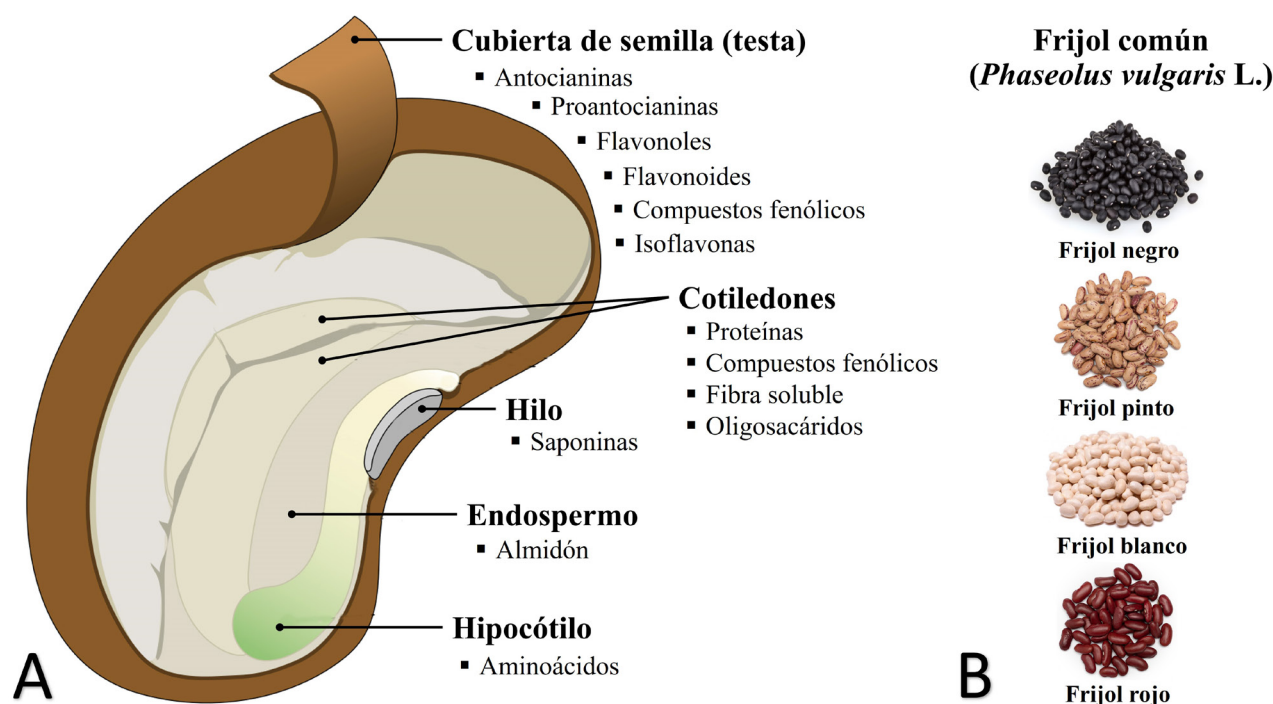
Los frijoles comunes presentan tipos de semillas pequeñas (*e.g.* blanco, negro, pinto) provenientes de la región mesoamericana y tipos de semillas grandes (*e.g.* riñón, arándano, Mayacoba) de origen andino (Miklas y col., 2022). Estas semillas son una fuente excelente de proteína (16 % a 33 %), fibra, compuestos fenólicos y fitoquímicos asociados con efectos benéficos para la salud (Fi-

gura 1). Al igual que otras leguminosas, el frijol acumula grandes cantidades de proteínas en sus semillas, la mayoría de las cuales son proteínas de almacenamiento, las cuales reciben ese nombre porque son movilizadas desde compartimentos subcelulares especializados para proporcionar nutrientes para el crecimiento de nuevas plantas durante el proceso de germinación (de-Fátima-García y col., 2021). Dichas proteínas se pueden clasificar de acuerdo con su solubilidad (Osborne, 1924) siendo las globulinas (solubles en soluciones salinas) y albúminas (solubles en agua) las más abundantes. La faseolina (una globulina) es la principal proteína de almacenamiento en los frijoles secos, representando hasta la mitad de la proteína total de la semilla (Montoya y col., 2010).

Herrera-Hernández y col. (2023) realizaron un estudio para evaluar la composición de aminoácidos esenciales y no esenciales, así como el contenido proteínico de 23 variedades de frijol producidas y consumidas en México; encontraron variedades con un contenido de proteína del 17 % al 30 %; además determinaron que los aminoácidos esenciales más destacados en las variedades de frijol mexicano fueron: lisina y leucina. La lisina participa en la construcción de masa muscular, recuperación de lesiones y heridas, producción de hormonas, enzimas y anticuerpos; absorbe calcio y estimula la liberación de la hormona del crecimiento. Por su parte, la leucina mitiga la destrucción muscular, y proporciona energía a los músculos y órganos del cuerpo. En humanos, comer frijoles se podría correlacionar con un menor riesgo de desarrollar cáncer, debido a que puede inducir la detención del ciclo celular y la apoptosis en cultivos celulares, e inhibir la carcinogénesis en modelos animales (Bessada y col., 2019; de-Fátima-García y col., 2021).

Péptidos bioactivos

Los péptidos son compuestos de dos o más aminoácidos unidos por enlaces peptídicos que desempeñan un papel fisiológico impor-



■ Figura 1. A) Anatomía de la semilla del frijol, se muestran las principales partes y sus compuestos bioactivos. B) Cultivares del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.).

Figure 1. A) Anatomy of the bean seed, the main parts and their bioactive compounds are shown. B) Common bean cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.).

tante en el organismo. Los péptidos que presentan actividad biológica se denominan péptidos bioactivos (PBA) y suelen constar de 2 a 20 residuos de aminoácidos (Maestri y col., 2019). Se ha demostrado que tienen múltiples funciones fisiológicas, tales como, antioxidante, antihipertensiva, antidiabética, anticancerígena, inmunomoduladora, antimicrobiana e hipocolesterolemica (Wen y col., 2020; Zhu y col., 2023) que contribuyen a regular las funciones fisiológicas y prevenir determinadas enfermedades crónicas, asimismo pueden aplicarse al desarrollo de alimentos funcionales (Sánchez y Vázquez, 2017). Además, presentan un efecto positivo sobre el sabor, las propiedades tecnofuncionales, la composición nutricional de los alimentos y prolongan la vida útil de los alimentos (Yuan y col., 2022).

Métodos de obtención de los PBA

Las proteínas vegetales son ricas en PBA, que

deben liberarse de las proteínas para exhibir actividad funcional. Por lo tanto, el método de preparación de los péptidos es especialmente crucial. Los métodos comunes incluyen principalmente hidrólisis enzimática, fermentación microbiana y métodos sintéticos (químicos y recombinación genética) (Kent, 2019; Cruz-Casas y col., 2021), sin embargo, existen tecnologías emergentes, tales como: extracción asistida por microondas y ultrasonido, alta presión hidrostática, campos eléctricos pulsados, agua subcrítica y disolventes eutécticos profundos (Rogalinski y col., 2005; Balasubramaniam y col., 2015; Su y col., 2015; Hernández-Corroto y col., 2020). No obstante, estas nuevas tecnologías se encuentran desarrolladas a nivel laboratorio e incluso algunas de ellas serían muy costosas de implementarse a nivel industrial (Ulug y col., 2021).

Hidrólisis enzimática

Para exhibir actividad biológica, los péptidos

deben liberarse de la estructura primaria de la proteína. La hidrólisis enzimática es uno de los métodos más utilizados, esta requiere condiciones específicas, tales como: actividad enzimática, concentración de sustrato, temperatura y pH (Naeem y col., 2022). La alcalasa® ha demostrado ser una de las enzimas más eficientes para la preparación de PBA. Es una "serina endopeptidasa" obtenida originalmente de *Bacillus subtilis* y conocida como "subtilisina Carlsberg". Se produce principalmente mediante fermentación sumergida en lote alimentado, utilizando *Bacillus licheniformis* (Tacias-Pascacio y col., 2020). Una de las propiedades más relevantes de esta proteasa es que tiene la capacidad de producir péptidos hidrofóbicos a pH's alcalinos (9 - 11) (Adamson y Reynolds, 1996).

Diferentes investigadores han utilizado enzimas digestivas *in vitro* (pepsina, tripsina, quimotripsina) para producir péptidos, con el fin de predecir su formación durante la digestión humana (Marciniak y col., 2018). La hidrólisis enzimática puede realizarse usando una sola enzima, así como mediante hidrólisis secuenciales con múltiples enzimas, con la finalidad de generar una mayor cantidad de péptidos con diversas características estructurales que al final puedan exhibir diferentes actividades biológicas (Tak y col., 2021).

Fermentación microbiana

La fermentación es un proceso más económico, comparado con la hidrólisis enzimática, en la cual se utilizan microorganismos generalmente reconocidos como seguros (GRAS, por sus siglas en inglés: Generally Recognized as Safe). Es una forma eficaz de generar PBA y proteínas hidrolizadas mediante enzimas microbianas producidas por levaduras, bacterias y hongos (Cruz-Casas y col., 2021). El género de bacterias más usado, para la preparación de PBA mediante el método de fermentación, es *Lactobacillus*. El ácido láctico producido por la fermentación de *Lactobacillus* puede acidificar rápidamente los alimentos, proporcionando así seguridad alimentaria y calidad sensorial (De-Vuyst y Leroy,

2007). Este género puede influir en la calidad de los polipéptidos al controlar la hidrólisis de las proteínas intracelulares (Zhu y col., 2023). Además de bacterias ácido-lácticas se han usado otro tipo de bacterias (*Bacillus subtilis*) y hongos (*Aspergillus flavipes* y *Aspergillus oryzae*) para producir PBA en soya y leche, respectivamente (Tak y col., 2021; Naeem y col., 2022). En general, la fermentación microbiana es un método prometedor para la preparación de PBA. Es importante señalar que el tipo y la cantidad de estos péptidos generados dependen principalmente del microorganismo utilizado para la fermentación (Babini y col., 2017).

Método sintético

Los métodos de síntesis química incluyen la síntesis en fase sólida y la síntesis en fase soluble. El método de fase sólida se basa en la reacción de aminoácidos que se recubren y no reaccionan en grupos en presencia de sustancias insolubles (Mourtas y col., 2023); esta estrategia se utiliza para dirigir la reacción hacia el camino deseado. Dicho método supera la desventaja de la síntesis en fase soluble que requiere purificación en cada paso y mejora la eficiencia en la producción de péptidos, sin embargo, el proceso de producción debe estar sobrecargado de materias primas, lo que conduce al desperdicio de recursos. Este método puede sintetizar péptidos de hasta 50 aminoácidos, a diferencia del método de fase soluble en el cual se pueden sintetizar únicamente oligopéptidos, con un máximo de 20 unidades de aminoácidos (Kaur, 2018; Zamyatnin, 2018; Akbarian y col., 2022).

El método de recombinación genética se ha convertido en uno de los más eficaces para la producción de PBA específicos en la actualidad. Las cepas genéticamente modificadas, comúnmente utilizadas, son levaduras (e.g. *Saccharomyces cerevisiae*) y bacterias (e.g. *Escherichia coli*); ambas son económicas y fáciles de cultivar, por lo que se pueden preparar PBA en grandes cantidades, con excelente eficiencia y alta pureza (Ozawa y col., 2007).

Purificación e identificación de los PBA

Los hidrolizados de proteínas son mezclas de péptidos, proteínas no degradadas y aminoácidos libres, debido a esto se requiere de un proceso de purificación, el cual tiene como objetivo que diversos compuestos del medio no interfieran en su actividad biológica y faciliten la identificación estructural de los PBA. Se han reportado diferentes métodos de purificación como la ultrafiltración y diferentes técnicas de cromatografía (*e.g.* filtración en gel, intercambio iónico, fase reversa, afinidad).

La ultrafiltración utiliza la tecnología de una membrana porosa que se encuentra presurizada, la cual es semipermeable para retener las proteínas y los péptidos con pesos moleculares de entre 1 kDa y 500 kDa. En este método existe una diferencia de presión entre la entrada y la salida de la membrana, la cual actúa como fuerza impulsora, para la retención de acuerdo con el diámetro de corte. Dicho proceso permite conservar las fracciones peptídicas con excelente actividad biológica (Olagunju y col., 2018; Aondona y col., 2021).

La cromatografía es el método más utilizado para la separación de péptidos, existen diversos tipos y cada uno de ellos ofrece ciertas características estructurales que le confieren al péptido una relación estructural: actividad. La cromatografía de filtración en gel realiza una separación por tamaño molecular. Es aplicable cuando se busca separar fracciones peptídicas con masas moleculares entre 1 kDa y 200 kDa; permite una alta recuperación de péptidos y una buena preservación de la actividad biológica (Piovesana y col., 2018; Yang y col., 2021). La cromatografía de intercambio iónico se fundamenta en separar moléculas cargadas, existen dos tipos de resinas intercambiadoras: catiónicas y aniónicas. Presenta una alta resolución, sin embargo, la fuerza iónica del eluyente tiene un gran impacto sobre la actividad de la fracción peptídica obtenida (Zhu y col., 2023). La cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC,

por sus siglas en inglés: Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography), tiene la capacidad de separar PBA en función de su hidrofobicidad, debido a que consta de una fase estacionaria no polar y una fase móvil polar (Piovesana y col., 2019). Por último, la cromatografía de afinidad se basa en el principio de interacción molecular específica para la purificación de péptidos, los péptidos diana pueden unirse selectivamente a algún grupo portador de la fase estacionaria, logrando así la separación de otros péptidos, las ventajas significativas de este método son la alta especificidad y resolución, sin embargo, su rango de aplicabilidad es pequeño y se utiliza principalmente para la purificación de glicoproteínas y anticuerpos (Barredo-Vacchelli y col., 2021; Su y col., 2023).

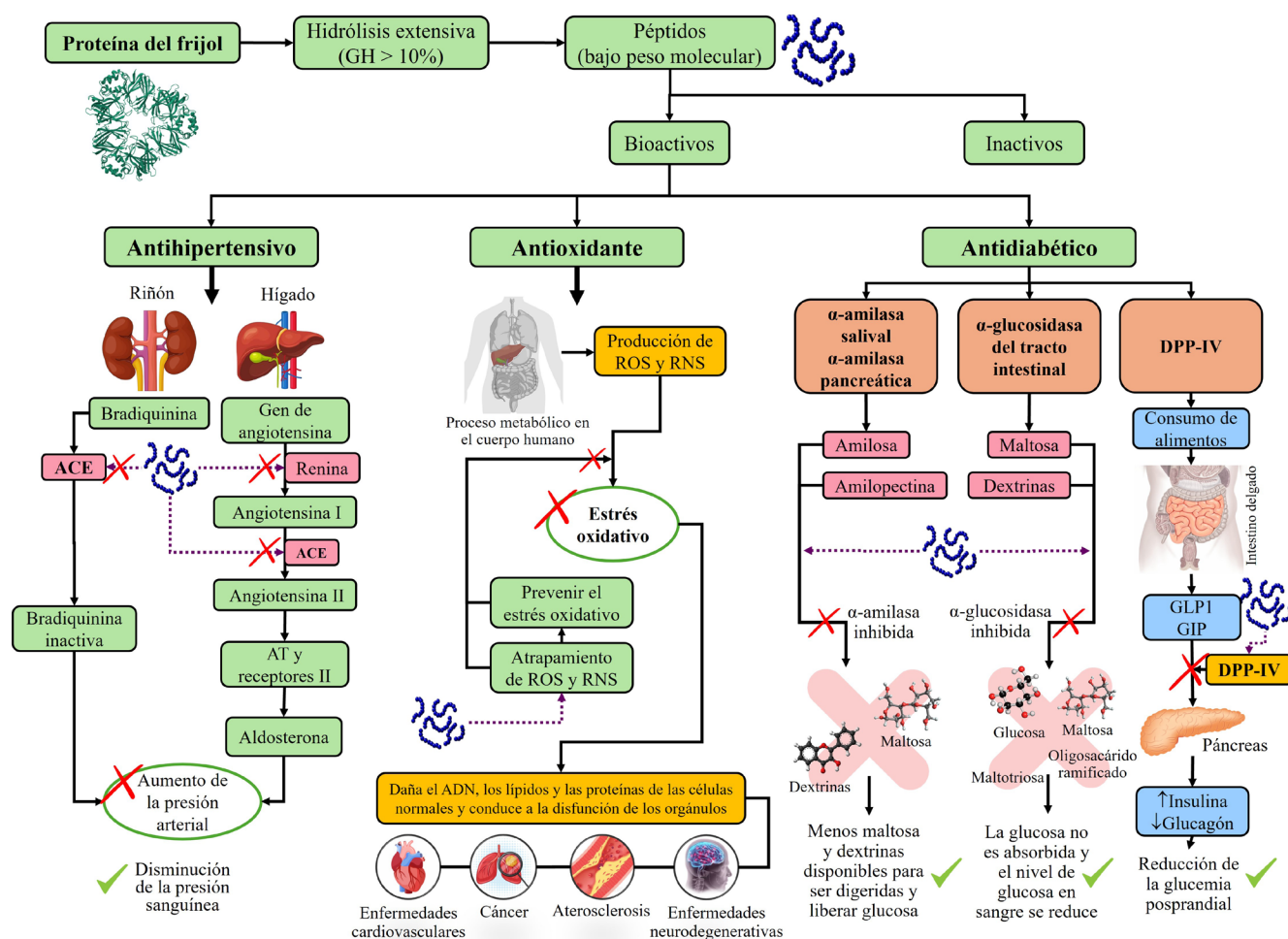
Para la identificación de los PBA se ha empleado la espectrometría de masas (MS, por sus siglas en inglés: Mass Spectrometry), debido a su alta sensibilidad, precisión y facilidad de operación. En la MS se bombardean los péptidos para convertirlos en iones y fragmentarlos, y así poder detectarlos según su relación carga-masa. Existen diversas modificaciones en la técnica, una de ellas es la MS en tándem (MS/MS) con la cual se pueden medir con precisión su masa molecular y secuencia de aminoácidos (Mora y Toldrá, 2021). Las técnicas de ionización suave como la espectrometría de masas por tiempo de vuelo con desorción/ionización de láser asistida por matriz (MALDI-TOF-MS, por sus siglas en inglés: Matrix Assisted Laser Desorption Ionization -Time of Flight Mass Spectrometry) los iones moleculares y fragmentados de la muestra pasan a través de una serie de separadores y lentes electrostáticos hacia un analizador de masas. La técnica presenta una sensibilidad de intervalo de masa entre 2 Da y 20 000 Da, con una exactitud 10 ppm a 100 ppm (Ahamad y col., 2022).

Actividades biológicas

Durante las últimas dos décadas, el frijol co-

mún (*Phaseolus vulgaris* L.) ha sido objeto de una gran cantidad de estudios, debido a que es una leguminosa que ha estado presente en la alimentación del ser humano de forma milenaria, pero que actualmente, debido a los usos y costumbres que prevalecen en países desarrollados y en vías de desarrollo, han hecho que su consumo per cápita disminuya de forma considerable (Gharibzadeh y col., 2024). Este cambio en los hábitos alimenticios, con una tendencia ha-

cía la comida rápida, se ha asociado con el desarrollo de las ENT (Wang y Wang, 2020). Por lo que los investigadores se encuentran interesados en rescatar diversos componentes de los alimentos que actualmente son subutilizados, como es el caso de las proteínas del frijol. En la Figura 2 se presenta el papel que desempeñan los PBA identificados en el frijol, asociados con su efecto antihipertensivo, antioxidante y antidiabético; se muestran cuáles son las enzimas diana



Nota: El conglomerado de círculos azules indica las fracciones peptídicas; los taches rojos se refieren a las dianas: enzimas o efecto sobre alguna actividad farmacológica asociada; las líneas punteadas indican el efecto directo de las fracciones peptídicas sobre sistemas enzimáticos y/o moléculas específicas; y las viñetas en verde refieren el efecto positivo de los péptidos en cada bioactividad.

■ Figura 2. Representación esquemática de las principales actividades farmacológicas de los péptidos del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.).

Figure 2. Schematic representation of the main pharmacological activities of common bean peptides (*Phaseolus vulgaris* L.).

y/o moléculas en donde los péptidos pueden ejercer su efecto farmacológico en el organismo. El efecto de los péptidos inhibidores sobre las principales enzimas diana, tales como: la enzima convertidora de angiotensina (ACE, por sus siglas en inglés: Angiotensin Converting Enzyme), encargada de la modulación de la presión arterial y generar por lo tanto un efecto antihipertensivo, está modulado por la inhibición de compuestos que incrementan la presión arterial, como son, bradiquininas inactivas y la angiotensina II, los cuales son potentes vasoconstrictores, por lo tanto, la inhibición de ACE produce una reducción en la presión arterial (Tawalbeh y col., 2023). Por otro lado, el papel de los péptidos con funcionalidad antioxidante es prevenir el estrés oxidativo (proceso que ocurre cuando existe un desequilibrio entre la producción de radicales libres y la capacidad del organismo para neutralizarlos), debido al atrapamiento de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, las cuales se producen de forma endógena y exógena, y son responsables del daño celular que puede desencadenar en distintas enfermedades crónico-degenerativas (Tak y col., 2021). Por último, el efecto antidiabético se ha demostrado mediante la aplicación de las fracciones peptídicas del frijol en la inhibición las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa; encargadas de la absorción de glucosa en el tracto gastrointestinal, y la enzima dipeptidil peptidasa: DPP – IV, responsable de modular la actividad de dos hormonas llamadas incretinas (GLP-1: el péptido I, similar al glucagón; y GPI: péptido insulinoatrópico dependiente de glucosa), de manera postprandial, por lo que la inhibición de estas enzimas dará como resultado una reducción significativa en los niveles de glucosa en sangre (Rahmi y Arcot, 2023).

Actividad antioxidante

Las especies reactivas de nitrógeno (RNS, por sus siglas en inglés: Reactive Nitrogen Species) o especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés: Reactive Oxygen Species), en su forma de radicales y no ra-

dicales, se producen durante el proceso metabólico normal de las células. Si dichas especies aumentan a nivel celular, causan una alteración en el equilibrio oxidativo y conducen a la condición denominada estrés oxidativo (Mudgil y col., 2019). El estrés oxidativo está relacionado con el desarrollo de ENT, como el cáncer, la aterosclerosis, las enfermedades cardiovasculares y las neurodegenerativas (*e.g.* Alzheimer) (Uttara y col., 2009; Tak y col., 2021; Naeem y col., 2022; Karami y Duangmal, 2023). La producción excesiva de radicales libres pueden dañar el ADN, los lípidos y las proteínas de las células normales (Lorenzo y col., 2018; Li y col., 2020). Los péptidos con propiedades antioxidantes se pueden utilizar para prevenir ese daño oxidativo, debido a su capacidad para atrapar y neutralizar los radicales libres. Peighambar-doust y col. (2021) informaron que factores como la polaridad, el efecto estérico, la hidrofobicidad, los enlaces de hidrógeno, la secuencia de aminoácidos y su impacto en la estructura secundaria, están relacionados con las funciones bioactivas de los péptidos. En la Tabla 1 se encuentra concentrada la información correspondiente a la actividad antioxidante evaluada en los hidrolizados del frijol común.

Para evaluar el efecto antioxidante de los péptidos *in vitro* se han utilizado diversos métodos químicos, entre los cuales destacan los ensayos como la eliminación del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH $\cdot$) y el radical catiónico 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) (ABTS $^{+}$); la capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC, por sus siglas en inglés: Oxygen Radical Absorbance Capacity), reduciendo la actividad mediante voltamperometría cíclica (CV, por sus siglas en inglés: Cyclic Voltammetry), por colorimetría midiendo la capacidad de reducción férrica del plasma (FRAP, por sus siglas en inglés: Ferric Reducing Ability of Plasma); y la capacidad antioxidante reductora del cobre (CUPRAC, por sus siglas en inglés: Cupric Reducing Antioxidant Capacity); respectivamente, el potencial antioxidante total de

■ Tabla 1. Actividad antioxidante de los hidrolizados proteínicos de distintos cultivares del frijol.
Table 1. Antioxidant activity of protein hydrolysates from different bean cultivars.

Tipo/ Cultivar/ (Referencias)	Tipo de enzima	Condiciones de hidrólisis ^a	Tipo de actividad antioxidante ^b	Notas especiales ^c
Frijol negro (Zheng y col., 2019)	Alcalasa®, Tripsina	E/S: 0.3 %, HTi: 1.0 h a 6.0 h, pH: 9.0, HTe: 50 °C	RP, MIC	Efectos positivos de la glicosilación en el RP Mejora la MIC de los HP mediante la conjugación con la glucosa
Frijol negro (Zheng y col., 2019)	Alcalasa®, Bromelina, Ficina	E/S: 2.0 %, HTi: 1.0 h a 5.0 h, pH-HTe: Ficina (5.7 °C a 65 °C), Bromelina (7.0 °C a 55 °C), Alcalasa® (8.5 °C a 55 °C)	LOI, MIC	Una forma independiente de la dosis para los cambios en la actividad antioxidante La MIC es más fuerte para los HP tratados con Alcalasa® en diferentes tiempos de reacción, mientras que los HP tratados con Bromelina fueron mejores en LOI
Frijol pinto (Ngho y Gan, 2016)	Protamex®	E/S: 0.1 %, HTi: 1.0 h, pH: 7.5, HTe: 50 °C	RP	El RP incrementó al aumentar la relación E/S en los HP
Frijol común (Ohara y col., 2021)	Flavourzima®, Alcalasa®, Neutrassa®	Enzima conc.: 50 U/mL, HTe: 50 °C, HTi: 2.0 h, pH: 7.0	RP	Es mejor el RP de los HP obtenidos por la enzima binaria y las mezclas ternarias que las preparadas por enzimas individuales
Frijol negro Jamapa (Carrasco- Castilla y col., 2012)	Pepsina, Pancreatina	E/S: 0.05 %, HTe: 37 °C, Pepsina (pH: 2.5, HTi: 1.5 h), Pancreatina (pH: 7.5, HTi: 2.0 h)	RP, MIC, β-CBI	Las actividades antioxidantes se debieron a la liberación de secuencias de péptidos que contenían arginina, leucina, fenilalanina, triptófano y lisina en su extremo carboxilo terminal
Frijol rojo riñón (Udeh y col., 2021)	Alcalasa®, Pepsina + Pancreatina	Alcalasa® (HTe: 50 °C, pH: 8, HTi: 4 h), Pepsina (HTe: 37 °C, pH: 2, HTi: 2 h), Pancreatina (HTe: 37 °C, pH: 8, HTi: 4 h)	RP, MIC	Un aumento de 6 a 8 veces para los HP que la proteína nativa para el PR Mejor valor de la MIC de los HP (18 % a 30 %) en comparación con las proteínas
Frijol rojo riñón (Al-Ruwaih y col., 2019)	Alcalasa®	E/S: 0.5 % a 1.0 %, HTi: 4.0 h, HTe: 50 °C	DPPH	El efecto antirradical máximo (~ 30.1 %) y DH (23.9 %) para los HP generados a partir de proteínas pretratadas a 300 MPa (15 min) y 1.0 % de Alcalasa®
Frijol rojo riñón (Saad y col., 2020)	Pepsina	E/S: 0.005 %, HTi: 6.0 h, HTe: 37 °C	DPPH, ABTS	La actividad antirradical máxima (85 % para DPPH y 80 % para ABTS) después de 6 h de hidrólisis

Continúa...

Frijol rojo riñón (Udeh y col., 2021)	Alcalasa®, Pepsina, Pancreatina	E/S: 0.04 %, HTi-HTe: Alcalasa® (4.50), Pepsina (2.37), Pancreatina (4.37)	DPPH, ABTS, OH	Una mejora significativa en la actividad antirradical de los HP comparados con la proteína nativa
Frijol pinto (Ngho y Gan, 2016)	Protamex®	E/S: 0.1 %, HTi: 1.0 h	ABTS	La actividad antirradical más alta (42.18 %) para los péptidos fraccionados de < 3 kDa durante la ultrafiltración
Frijol negro (Evangelho y col., 2017)	Alcalasa®, Pepsina	E/S: 0.05 %, HTi: 0.25 h a 2.0 h, HTe: 37 °C y 50 °C	DPPH, ABTS	El alto potencial para obtener DPPH y ABTS es por HP obtenidos mediante la Pepsina y Alcalasa®, respectivamente
Frijol negro (Zheng y col., 2019)	Ficina, Bromelina, Alcalasa®	E/S: 2.0 %, HTi: 1.0 h a 5.0 h, HTe: 55 °C y 65 °C	DPPH	La actividad antirradical máxima después de la hidrólisis de 4 h con ficina en un patrón dependiente de la concentración
Frijol negro Jamapa (Carrasco-Castilla y col., 2012)	Pepsina, Pancreatina	E/S: 0.05 %, HTi: 1.5 h a 2.0 h, HTe: 37 °C	ABTS	Un aumento de siete veces en comparación con la preparación original de HP y Faseolina lo cual se debe al alto contenido de aminoácidos hidrofóbicos, en particular la fenilalanina
Frijol Lima (Polanco-Lugo y col., 2014)	Pepsina, Pancreatina	E/S: 0.02 %, HTi: 0.1 h a 5.0 h, HTe: 37 °C	ABTS	El alto TEAC (13.2 mM/mg de proteína) es debido a la actividad proteolítica específica para hidrolizar las vicilinas, con una considerable composición activa de superficie y aminoácidos
Frijol HTC (Betancur-Ancona y col., 2014)	Alcalasa®-Flavourzima®, Pepsina-Pancreatina	E/S: 2.4 AU/g* (Alcalasa®), 0.1 LAPU/g* (Flavourzima®), Pepsina-Pancreatina (0.5 %), HTi: 0.25 h a 2.0 h, HTe: 37 °C y 50 °C	ABTS	Un TEAC es más fuerte para la mezcla de Alcalasa®-Flavourzima® (8.1 mM/mg) en comparación con Pepsina-Pancreatina (6.4 mM/mg)
Frijol HTC (Ruiz-Ruiz, y col., 2013)	Alcalasa®-Flavourzima®, Pepsina-Pancreatina	E/S: 3.0 AU/g* (Alcalasa®), 50 LAPU/g* (Flavourzima®), Pepsina-Pancreatina (0.1 %), HTi: 0.75 h y 1.5 h, HTe: 37 °C y 50 °C	ABTS	El TEAC máximo para fracciones <1 kDa de los hidrolizados de Alcalasa®-Flavourzima®

Continúa...

Frijol común (Ohara y col., 2021)	Flavourzima [®] , Alcalasa [®] , Neutrasa [®]	E/S: 50 U/mL, HTi: 2.0 h, HTe: 50 °C	DPPH	El efecto sinérgico de Flavourzima [®] y Alcalasa [®] aumenta el 40.13 % y el 30.59 % en la búsqueda de DPPH que los HP obtenidos con enzimas individuales
---	--	--	------	--

^aE/S: enzima/sustrato (% p/v); HTi: tiempo de hidrólisis (h); HTe: temperatura de hidrólisis (°C); AU: Unidades Anson; LAPU: Unidades Leucina Aminopeptidasa. ^bInhibición de la Oxidación de Lípidos (LOI, por sus siglas en inglés: Lipid Oxidation Inhibition); Poder Reductor (RP, por sus siglas en inglés: Reducing Power); Quelación de Iones Metálicos (MIC, por sus siglas en inglés: Metal Ion Chelation); HP: Hidrolizados Proteínicos; β -CBI: Inhibición del blanqueamiento de β -caroteno; ABTS: Ácido 2,2'-azino-bis-(3-etiltiazolina- bencenosulfónico-6, DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidracilo. ^cGrado de hidrólisis (DH, por sus siglas en inglés: Degree of Hydrolysis); Capacidad Antioxidante Equivalente de Trolox (TEAC, por sus siglas en inglés: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity).

captura de radicales (TRAP, por sus siglas en inglés: Total Reactive Antioxidant Potential), poder reductor (RP, por sus siglas en inglés: Reducing Power) e inhibición de la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (Gulcin, 2020).

Aguilar y col. (2019) utilizando hidrolizados proteínicos (HP) del frijol negro informaron que mejoraba su actividad antioxidante hasta en un 70 % en el RP, usando una mezcla de proteasas (alcalasa[®] y flavourzyme[®]). Otros investigadores utilizando dos proteasas de la familia de las subtilisin: alcalasa[®] y savinasa, encontraron hidrolizados con potentes actividades eliminadoras de radicales libres (326 mmol a 348 mmol TE/g) cuando se utilizó alcalasa[®] durante 2 h de hidrólisis (García-Mora y col., 2015). La alcalasa[®] puede producir péptidos antioxidantes de manera efectiva debido a su amplia especificidad y sitios de corte de aminoácidos hidrofóbicos que actúan como donantes de hidrógeno. Los PBA reportados fueron: SGAM, DSSG, LLAH, YVAT, EPTE y KPKL con propiedades antioxidantes obtenidos de cultivares de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), cuyas masas moleculares determinadas por cromatografía de líquidos acoplado a espectrometría de masas/masas (LC-MS/MS, por sus siglas en inglés: Liquid Chromatography Mass Spectrometry/Mass Spectrometry) osciló entre 300 Da y 1 500 Da (Mojica y de-Mejía, 2015). Zheng y col. (2019) evaluaron la actividad antioxidante de HP del frijol negro usando proteasas vegetales (*e.g.*

ficina y bromelina) y microbianas (*e.g.* alcalasa[®]) durante 5 h de hidrólisis, donde se encontró, que los hidrolizados con mayor capacidad antioxidante fueron obtenidos con alcalasa[®], evaluado como capacidad de eliminar el radical DPPH (IC₅₀ 21.11 μ g/mL), así como de quelar el ion ferroso (IC₅₀ 6.82 μ g/mL). Por otro lado, algunos investigadores, utilizando el frijol rojo riñón, aplicando tecnologías emergentes como alta presión hidrostática (300 MPa) acoplado a hidrólisis enzimática utilizando alcalasa[®] (1 % E/S), durante 15 min, obtuvieron un valor de 30.1 % en la capacidad para eliminar el radical DPPH, en comparación con la hidrólisis enzimática, la cual fue de 24.7 % (Al-Ruwaih y col., 2019).

Evangelho y col. (2017) utilizando hidrolizados enzimáticos del frijol negro, mediante pepsina y alcalasa[®] (1:20 E/S), durante 2 h, encontraron que la actividad eliminadora del radical DPPH fue mayor ($\approx$ 44 %) para la pepsina comparado con alcalasa[®] ($\approx$ 37 %), sin embargo, al evaluar la actividad eliminadora del radical ABTS^{•+} observaron que los hidrolizados obtenidos con alcalasa[®] presentaron un valor mayor de 64 % comparado con la pepsina, que fue de 47 %. Estudios recientes han demostrado que, fraccionar las proteínas del frijol rojo riñón en albúminas y globulinas antes de hidrolizarlas, permite inducir diferentes efectos; la fracción de globulinas mostró mayor capacidad antioxidante: atrapamiento de los radicales ($\cdot$ OH, DPPH $\cdot$ y ABTS^{•+}), quelación de metales y

FRAP, que asociaron a un carácter más hidrofóbico, resultante del mayor contenido de enlaces disulfuro presentes en la globulina en comparación con las glicoproteínas de la albúmina. Sin embargo, cuando la fracción proteínica original fue hidrolizada mediante alcalasa® y la combinación pepsina-pancreatina se encontró un aumento de $\approx 88 \%$, 80% y 73% en el atrapamiento de los radicales $\cdot\text{OH}$, $\text{DPPH}\cdot$ y $\text{ABTS}^{\cdot+}$, respectivamente, para los hidrolizados realizados con pepsina-pancreatina. Los autores mencionaron que la hidrólisis dio como resultado un aumento del contenido de aminoácidos aromáticos e hidrofóbicos, los cuales, al estar presentes en los hidrolizados, sus péptidos manifiestan una alta capacidad para transferir electrones, quelar o para neutralizar las ROS y RNS (Udeh y col., 2021).

Actividad antihipertensiva

La hipertensión representa una amenaza grave y creciente para la salud humana, puede causar muchas enfermedades graves, como insuficiencia cardíaca, accidente cerebrovascular e insuficiencia renal (Wei y col., 2019); a nivel mundial afecta entre el 10% al 20% de los adultos y del 40% al 50% de las personas de edad avanzada (Das y Hati, 2022). Los estilos de vida poco saludables, un elevado estrés psicológico y los cambios en las funciones físicas debido al envejecimiento y la obesidad son responsables de la alta prevalencia de la hipertensión (Xiang y col., 2023). Para regular la presión arterial en humanos y otros mamíferos existen dos sistemas endócrinos: renina-angiotensina y calicreínacina, en donde la enzima convertidora de angiotensina ACE presenta un papel clave en modulación de la presión arterial al convertir la angiotensina-I en angiotensina-II, un potente vasoconstrictor, lo que provoca un aumento de la presión arterial (Jogi y col., 2022; Tawalbeh y col., 2023). Por lo tanto, la inhibición de esta enzima se ha considerado como una forma crucial de reducir la presión arterial, así como ajustes en el estilo de vida, enfoques dietéticos y terapia farmacológica.

Diversos autores han utilizado hidrólisis enzimática para producir péptidos inhibidores de la ACE. Udeh y col. (2021) realizaron hidrolizados proteínicos (HP) del frijol rojo riñón, encontrando un incremento en la actividad inhibitoria de la ACE (i-ACE) de 93% y 85% cuando se usó pepsina-pancreatina y alcalasa®, respectivamente; se reportó que después de 4 h de hidrólisis, la mayor actividad i-ACE se presentó en el sistema proteolítico conjugado (pepsina-pancreatina), debido a las actividades duales de endo y exopeptidasa. Rui y col. (2012) evaluaron las actividades i-ACE de los HP obtenidos de frijoles rojos, blancos y negros calentados o sin calentar en un sistema de digestión secuencial de alcalasa®-flavourzyme® o alcalasa®-papaína. Los resultados mostraron que el uso de pretratamiento térmico y una mezcla de alcalasa®-papaína podría degradar rápidamente las proteínas del frijol en péptidos más pequeños en las primeras etapas de la digestión, lo que generó a una mayor actividad antihipertensiva. Los autores reportaron, la actividad inhibidora media máxima (IC_{50}) de la ACE para los hidrolizados con alcalasa®-papaína durante 95 min a 100 min de frijoles calentados, obteniendo los siguientes valores: blancos ($\text{IC}_{50} = 68 \mu\text{g/mL}$), rojos ($\text{IC}_{50} = 78 \mu\text{g/mL}$) y negros ($\text{IC}_{50} = 83 \mu\text{g/mL}$). Estos hallazgos demostraron que el mecanismo de escisión de la proteasa específico de la papaína acelera la liberación de péptidos con actividades de i-ACE a partir de las proteínas del frijol. Por otro lado, Akilloğlu y Karakaya (2009), reportaron un incremento en la actividad i-ACE en los HP de frijol común y pinto al aplicar calor a 121°C en varios momentos antes de la digestión gastrointestinal (GI) *in vitro*, debido a una mayor liberación de PBA. Rui y col. (2013) también evaluaron la actividad i-ACE ($\text{IC}_{50} = 67.2 \mu\text{g/mL}$) de HP del frijol rojo producidos por digestión secuencial con alcalasa®-papaína seguida de simulación GI *in vitro*. La purificación y el fraccionamiento en tres pasos de los hidrolizados del frijol rojo condujeron a la detección de péptidos de 5 kDa con una actividad i-ACE del 78.2% . Ruiz-Ruiz y col. (2013), usando frijol negro común (*Phaseolus*

vulgaris L.) var. Jamapa, difíciles de cocinar, realizaron HP utilizando dos sistemas enzimáticos secuenciales de pepsina-pancreatina y alcalasa®-flavourzyme®. Posteriormente se fraccionaron en varias secuencias de péptidos con diferentes masas moleculares, las fracciones peptídicas que tenían de entre 9 a 11 aminoácidos (1.1 kDa a 1.3 kDa) presentaron actividades i-ACE más altas, por lo que los investigadores indicaron una correlación entre la masa del péptido y la actividad i-ACE. En la Tabla 2 se encuentra concentrada la información correspondiente a la actividad antihipertensiva evaluada en los hidrolizados del frijol común.

Actividad antidiabética

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónica de distribución mundial causada por una hiperglucemia crónica, resultante de defectos en la secreción y/o acción de la insulina, que afecta el metabolismo de los carbohidratos, los lípidos y las proteínas, causando una morbilidad y mortalidad impresionantes en todo el mundo. Se encuentra dentro de las 10 principales causas de muerte a nivel mundial (Lin y col., 2020). La Asociación Americana de Diabetes (ADA, 2021), informó que los efectos de la DM a largo plazo están asociados a un gran número de complicaciones, tales como enfermedades cardiovasculares (ECV), enfermedad renal, hipertensión, neuropatías (enfermedad de los nervios) y ceguera (retinopatías). Existen varios tipos de DM, sin embargo, los tipos más representativos de dicha enfermedad a nivel mundial son: el tipo 1 y 2, y la gestacional, ocupando el 90 %, 5 % a 7 % y 2 % a 3 %, respectivamente (Antony y Vijayan, 2021). En 2021, 537 millones de personas padecían diabetes, se prevé que esta cifra alcance los 643 millones en 2030 y los 783 millones en 2045. Además, 541 millones de personas presentaron intolerancia a la glucosa en 2021, según los datos de la Federación Internacional de Diabetes (IDF, 2021).

Debido al impacto que representa la DM a nivel mundial, siendo la tipo 2 la de mayor

prevalencia en la población, existen diversos medicamentos con efecto hipoglucemiante y que son bien tolerados vía oral. Los hipoglucemiantes orales ayudan a controlar los niveles de glucosa en sangre por diversos mecanismos, entre los cuales se encuentran las biguanidas (metformina), la cual reduce la resistencia a la insulina en el hígado y disminuye la producción de glucosa hepática; tiazolidinedionas, que mejoran la sensibilidad a la insulina; sulfonilureas y meglitinidas; que son secretagogos de insulina; gliflozinas: inhibidores del cotransportador sodio-glucosa tipo 2 (SGLT2, por sus siglas en inglés: Sodium-Glucose co-Transporter-2); acarbosa y miglitol: inhibidores de la α -glucosidasa; acarbosa: inhibidor de la α -amilasa y; gliptinas: inhibidores de la dipeptidil peptidasa - IV (DPP-IV) (ADA, 2020; Moreno-Valdespino y col., 2020; Hu y col., 2023; Rahmi y Arcot, 2023).

La DPP-IV, la α -glucosidasa y la α -amilasa son algunas de las enzimas implicadas en el metabolismo de la glucosa. La DPP-IV degrada dos hormonas llamadas incretinas (GLP1 y GPI) que estimulan la liberación de insulina durante una comida, responsables de hasta el 70 % de liberación de esta hormona de forma posprandial (Barati y col., 2020). Por el papel que representa la DPP-IV, la inhibición de dicha enzima es una estrategia para tratar la diabetes. Otra forma de controlar la enfermedad es inhibir la actividad de la α -glucosidasa o α -amilasa, con ello se retardará la liberación de glucosa, debido a que estas enzimas son cruciales para controlar la absorción de glucosa en el intestino delgado (Acquah y col., 2022). En la Tabla 3 se encuentra concentrada la información correspondiente a la actividad antidiabética evaluada en los hidrolizados del frijol común.

Los HP de frijoles (Pinto Durango y Negro 8025) difíciles de cocinar (*Phaseolus vulgaris* L.) fueron evaluados como fuente de péptidos antidiabéticos por Oseguera-Toledo y col. (2015), quienes demostraron que las fracciones con un peso molecular inferior a 1 kDa de los hidrolizados de frijol, obtenidos por

■ Tabla 2. Actividad antihipertensiva de hidrolizados proteínicos de distintos cultivares del frijol.
Table 2. Antihypertensive activity of protein hydrolysates from different bean cultivars.

Tipo/ Cultivar/ (Referencias)	Tipo de enzima	Condiciones de hidrólisis ^a	IC ₅₀ más bajo (mg/mL)	Notas especiales ^b
Frijol común (Ariza-Ortega y col., 2014)	Alcalasa®	E/S: 0.3 AU/g, HTi: 2.0 h	0.061 mg/mL	La máxima actividad inhibidora de la ACE-I <i>in vitro</i> ocurrió en la variedad azufrado higuera, el cual contiene la fracción peptídica (F 3-10 kDa), la cual disminuye la presión arterial sistólica en ratas en un período de 2 h después de la administración de una dosis única por vía Interperitoneal
Frijol blanco (Rui y col., 2012)	Alcalasa®- Flavourzima®, Alcalasa®- Papaína	E/S: 0.125 %, 0.1 %, 0.04 %. HTi: 1.5 h.	68 µg/mL	La mayor liberación de péptidos bioactivos con actividades antihipertensivas de los HP generados fue a partir de Alcalasa®-Papaína
Frijol azufrado (Valdez-Ortiz y col., 2012)	Alcalasa®, Termolisina, Pancreatina	E/S: 1.0 %, 3.3 %, 4.0 %, HTi: 2.0 h.	0.11 µg/mL	La diversa capacidad antihipertensiva entre los HP generalmente se basó en la proteasa aplicada para la hidrólisis en lugar de en el origen del concentrado proteínico
Frijol negro (Rui y col., 2012)	Alcalasa®- Flavourzima®, Alcalasa®- Papaína	E/S: 0.125 %, 0.1 %, 0.04 %, HTi: 1.5 h	83 µg/mL	Mayor potencial antihipertensivo de los HP obtenidos con Alcalasa®-Papaína en comparación con el de los HP producidos Alcalasa®-Flavourzima®
Pequeño frijol rojo (Rui y col., 2012)	Alcalasa®- Flavourzima®, Alcalasa®- Papaína	E/S: 0.125 %, 0.1 %, 0.04 %, HTi: 1.5 h	78 µg/mL	Las actividades inhibitorias de la ACE más altas para los HP fueron de Alcalasa®-Papaína comparados con los generados por Alcalasa®-Flavourzima®
Pequeño frijol rojo (Rui y col., 2012)	Alcalasa®- Papaína	E/S: 0.125 %, HTi: 1.5 h	206.7 µM	Se identificó el octapéptido PVNNPQIH con una considerable actividad inhibidora de la ACE por primera vez
Frijol HTC (Ruiz-Ruiz, y col., 2013)	Alcalasa®- Flavourzima®, Pepsina- Pancreatina	E/S: 3.0 AU/g* (Alcalasa®), 50 LAPU/g* (Flavourzima®), Pepsina- Pancreatina (0.1), HTi: 0.75 h y 1.5 h	0.001 µg/mL	La actividad inhibitoria máxima de la ACE para < 1 kDa fue de fracciones peptídicas de Alcalasa®-Flavourzima®

Continúa...

Frijol Lima (Torruco-Uco y col., 2009)	Alcalasa®, Flavourzima®	E/S: 0.3 AU/g* (Alcalasa®), 50 LAPU/g* (Flavourzima®), HTi: 0.25 h a 1.5 h	0.006 9 mg/ mL	La máxima actividad inhibitoria de la ACE para los HP producidos con Flavourzima® a los 90 min
Frijol Lima (Chel- Guerrero y col., 2012)	Alcalasa®, Pepsina- Pancreatina	E/S: 0.02 % a 0.1 %, HTi: 0.5 h ó 2.0 h	0.250 mg/mL	La actividad inhibidora de la ACE más alta fue para los HP generados con Pepsina-Pancreatina
Frijol Jamapa (Torruco-Uco y col., 2009)	Alcalasa®, Flavourzima®	E/S: 3.0 AU/g* (Alcalasa®), 50 LAPU/g* (Flavourzima®), HTi: 0.25 h a 1.5 h	0.061 mg/mL	La actividad antihipertensiva máxima para los HP obtenidos fue con Alcalasa® a los 60 min

*E/S: enzima/sustrato (% p/v); HTi: tiempo de hidrólisis (h); AU: Unidades Anson; LAPU: Unidades Leucina Aminopeptidasa. ^bEnzima convertidora de angiotensina (ACE, por sus siglas en inglés: Angiotensin converting-enzyme); HP: Hidrolizados Proteínicos.

alcalasa® y bromelina, presentaron potencial antidiabético. Se demostró que la fracción < 1 kDa del frijol pinto Durango-bromelaína mostró la mejor inhibición de la α -amilasa (49.9 ± 1.4 %), y la fracción < 1 kDa del frijol pinto Durango-alcalasa® inhibió tanto la α -glucosidasa (76.4 ± 0.5 %) como la DPP-IV (55.3 ± 1.6 %); y las secuencias peptídicas de LLSL, QQEG y NEGEAH se identificaron a partir de las fracciones más potentes. Además, encontraron que los hidrolizados y las fracciones (< 1 y 1 kDa a 3 kDa) aumentaron la secreción de insulina, estimulada por glucosa en las células iNS-1E hasta un 57 % en comparación con el control de glucosa. Se ha demostrado que los péptidos antidiabéticos, con los aminoácidos: prolina, glicina, serina, leucina, valina y alanina; en la posición N-terminal, inhiben el sitio catalítico de las enzimas α -amilasa, α -glucosidasa y DPP-IV. El cambio de los aminoácidos en esta ubicación, así como la estructura y conformación de la cadena peptídica, dio como resultado un potencial inhibidor variado (Castañeda-Pérez y col., 2019). En un estudio de frijol común (variedades negro, pinto, rojo, blanco y gran norte), los HP de frijol blanco, elaborados con pepsina-pancreatina, exhibieron la mayor actividad inhibidora de la DPP-IV. Las

secuencias identificadas fueron QQRRLLRRK y LRENNKLMLELK, las cuales se identificó que obstaculizaban el sitio catalítico de las enzimas α -amilasa, α -glucosidasa y DPP-IV, y por lo tanto su función (Mojica y col., 2015). Por otro lado, Mojica y de-Mejía (2016), evaluando HP del frijol negro (*Phaseolus vulgaris* L.), encontraron que, utilizando alcalasa® durante 2 h (E/S 1:20), se obtuvo la mayor cantidad de péptidos antidiabéticos para DPP-IV (96.7 %), α -amilasa (53.4 %) y α -glucosidasa (66.1 %). Los autores evaluaron mediante un análisis de acoplamiento molecular las secuencias peptídicas: EGLELLLLLLLAG, AKSPLF y FEELN (inhibieron la DPP-IV), TTGGKGGK (inhibió la α -glucosidasa), así como AKSPLF y WEVM (inhibieron la α -amilasa). También reportaron que las principales uniones en el sitio catalítico fueron con los aminoácidos Asp₁₉₂, Glu₁₉₂ y Arg₂₅₃ para la enzima DPP-IV; Tyr₁₅₁, His₂₀₁ e Ile₂₃₅ para la α -amilasa; y Asp₃₄, Thr₈₃ y Asn₃₂ con la α -glucosidasa. En otro estudio de revisión se argumentó que los residuos de aminoácidos de: histidina, triptófano, tirosina y arginina mostraron potencial de inhibición de la α -amilasa. Estos residuos, identificados en fracciones peptídicas, se unían al sitio catalítico de la enzima mediante interacciones hidrofóbicas que impidieron a la enzima li-

■ Tabla 3. Actividad antidiabética de los hidrolizados proteínicos cultivares del frijol.
Table 3. Antidiabetic activity of bean cultivar protein hydrolysates.

In vitro					
Tipo/ Cultivar/ (Referencias)	Tipo de enzima	Condiciones de hidrólisis ^a	Máxima inhibición enzimática		Secuencia peptídica
			α -amilasa	α -glucosidasa	
Frijol común (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.): Negro Pinto Rojo Navy Gran Norte (Mojica y col., 2015)	Pepsina- Pancreatina	E/S: 1:20, pH: Pepsina (2.0), Pancreatina (7.5), HTi: 2 h, HTE: 37 °C	36 % inh AC/mg de proteína [Prot] = no reportada [Enz] = 13 U/mL [Ac] = 1mM Muestra: Frijol Rojo Tipo de muestra: Cruda, entera	> 40 % (~ 48 %-67 %) inh AC/ mg de proteína [Prot] = no reportada [Enz] = 1U/mL [Ac] = 1mM Muestra: Todos Tipo de muestra: Cruda y precocinada	LAPPG, KLLL RRLQ, REYLLVAQ, LRENNKLML LELK, RLLLKLRRQ
Frijol común (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.): México, Pinto: Pinto-Bayacora Pinto-Bravo Pinto-Centenario Pinto-Saltillo México, Flores de Mayo y Junio: FMayo-Eugenia FMayo-67 FMayo-199 FMayo-202 FJunio-Leon FJunio-Marcela México-Negros: Negro-Frijozac Negro-Otomí Brazil, Carioca: BRSHorizonte BRS-Pontal Perola (Mojica y de- Mejía, 2015)	Pepsina- Pancreatina	E/S: 1:20, pH: Pepsina (2.0), Pancreatina (7.5), HTi: 6 h, HTE: 37 °C	14.9 $\pm$ 1.7 % inh AC/mg BPI [Prot] = no reportada [Enz] = 13 U/mL [Ac] = 1mM Muestra: Frijol Pinto-Bayacora Tipo de muestra: Cruda, descascarada		SGAM, DSSG, LLAH, YVAT, EPTE, KPKL
					Continúa...

Frijol común (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.): Negro Otomí BRS-Horizonte BRS-Pontal Perola (Mojica y col., 2016)	Alcalasa®	E/S: 1:20, HTi: 2 h, HTe: 50 °C	64.5 ± 2.7 % inh/mg materia seca [Prot] = 1 mg DM/mL [Enz] = 13 U/mL [Ac] = 1 mM Tipo de muestra: Cruda, descascarada	50.10 % inh/mg DW [Prot] = 1 mg DW/mL [Enz] = 1 U/mL [Ac] = 1 mmol/L Muestra: BRS-Horizonte Tipo de muestra: Cruda, descascarada	0.14 mg DW/mL [Prot] = 1 mg DW/mL [Enz] = 10 ng/mL [control] = no reportada Muestra: Negro Otomí Tipo de muestra: Cruda, descascarada	
Negro Otomí (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) (Mojica y de-Mejía, 2016)	Flavourzyme®, Papaina, Alcalasa®	E/S-HTi: Flavourzyme® (1:20, 2 h), Papaina (1:20, 1:30 y 1:50; 2 h, 3 h y 4 h), Alcalasa® (1:20, 2 h)	64.5 ± 2.7 % inh/mg materia seca [Prot] = 1 mg DM/mL [Enz] = 13 U/mL [Ac] = 1 mM Tipo de muestra: Cruda, descascarada	75.3 ± 0.7 % a 78.4 ± 0.6 % inh/mg materia seca (no estadísticamente diferente) [Prot] = 1 mg DM/mL [Enz] = 1 U/mL [Ac] = 1 mmol/L Tipo de muestra: Cruda, descascarada	96.7 % inh/materia seca [Prot] = 1 mg DW/mL [Enz] = 10 ng/mL [control] = no reportada Tipo de muestra: Cruda, descascarada	AKSPLF, Q TPF, FEELN, LSKSVL, EGLE LLLL LLAG
Frijol común HTC (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.): cv Negro 8025 cv Pinto-Durango (Oseguera-Toledo y col., 2015)	Bromelina, Alcalasa®	HTi: 2 h (Bromelina), 2 h (Alcalasa®)	49.9 ± 1.4 % [Prot] = 100 µg/mL [Enz] = 10.8 U/mL [Ac] = 1 mM Muestra: Pinto Durango Tipo de muestra: Cruda, descascarada	76.4 ± 0.5 % [Prot] = no reportada [Enz] = 1.0 U/mL [Ac] = 1 mM Muestra: Pinto Durango Tipo de muestra: Cruda, descascarada	55.3 ± 1.6 % [Prot] = 100 µg/mL [Enz] = 100 ng/mL [control] = no reportada Muestra: Pinto Durango Tipo de muestra: Cruda, descascarada	FFL, LLSL, QQEG, NEGEAH
Frijol común (<i>Phaseolus vulgaris</i>) (de-Souza-Rocha y col., 2015)	Alcalasa®	HTe: 50 °C, HTi: 4 h, pH: 8.0	30.88 ± 2.45 % AC/mg SP [Prot] = 1 mg/mL [Enz] = 13 U/mL [Ac] = 1 mM Tipo de muestra: Descascarada, germinada 24 h	1.2 mg proteína soluble/ mL [Prot] = 0.1-4.0 mg/mL [Enz] = 100 ng/mL [control] = no reportada Tipo de muestra: Descascarada, no germinada		RGPLVNP DPKPFL

Continúa...

Frijol Pinto (<i>Phaseolus vulgaris</i> cv. Pinto) (Ngho y Gan, 2016)	Protamex®	E/S: 1:10, HTi: 1 h, pH: 6.5	57.48 ± 2.51 % [Prot] = no reportada [Enz] = 0.5 mg/mL [Ac] = no se usó Tipo de muestra: Cruda, entera			PPHMLP, PPMHLP, PLPWGAGF, GDAACCGLP LLP, PPHMGGP, PLPPHDL, FNPFPSPHTP
Frijol Pinto (<i>Phaseolus vulgaris</i> cv. Pinto) (Ngho y Gan, 2018)	Protamex®	E/S: 1:10, HTi: 1 h, pH: 6.5 Fracción de péptido de frijol pinto sintetizado 5 (PBp5)	57.8 % inh/100 µg 10.03 ± 0.47 mM [Prot] = 1 mg/mL [Enz] = 0.5 mg/mL [Ac] = no se usó Tipo de muestra: Cruda, entera			PBp1: PPHMLP PBp2: PLPWGAGF PBp3: PPHMGGP PBp4: PLPLHMLP PBp5: LSSLEMGS- L-GALFVCM
Frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) (Jakubczyk y col., 2017)	Amilasa®- Pepsina- Pancreatina		E/S: Amilasa® (1:10), Pepsina (1:100), Pancreatina (1:2.5), HTe: 22 °C, HTi: 3 h	0.038 µg/mL [Prot] = no reportada [Enz] = no reportada [Ac] = no se usó Tipo de muestra: Fermentada con <i>L. plantarum</i> 299v		INEGSLLLPH, FVVAEQAGN EEGFE, INEGSLLLPH, SGGGGGGVA GAATASR
BRS Pontal (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.) (Valencia-Mejía y col., 2019)	Pepsina, Pancreatina	E/S: 1:20, HTi: 3 h, pH: 2.0 (Pepsina), 7.5 (Pancreatina)	89.1 ± 0.3 % [Prot] = 10 mg/mL [Enz] = 10 U/mL [Ac] = 10 mg/mL Tipo de muestra: Frijol HTC, crudo, descascarado	89.2 ± 0.1 % [Prot] = 1 mg/mL [Enz] = 2 U/mL [Ac] = 10 mg/mL Tipo de muestra: Frijol HTC, crudo, descascarado		
Frijol Carioca (<i>Phaseolus vulgaris</i> L. cv Carioca) (Ohara y col., 2021)	Alcalasa®- Neutrasa®, Flavourzyme®, Alcalasa®	E/S: Alcalasa®- Neutrasa® (1/2:1/2), Flavourzyme®, Alcalasa® (1/1:2/2)	101.61 ± 0.78 % [Prot] = 1 mg/mL [Enz] = no reportada [Ac] = no se usó Tipo de muestra: Cruda, entera	34.73 ± 4.65 % [Prot] = 1 mg/mL [Enz] = 1 U/mL [Ac] = no se usó Tipo de muestra: Cruda, entera		Continúa...

In vivo				
Tipo/ Cultivar/ (Referencias)	Tipo de enzima	Condiciones de hidrólisis ^a	Notas especiales	Mecanismo
Frijol negro (Mojica y col., 2017)	Alcalasa [®]	E/S: 1:20, HTi: 2 h, pH: 7.0	Modelo: Ratas Wistar inducidas por STZ, célula Caco-2 Patrón de alimentación y tratamiento: 100 mg, 150 mg y 200 mg HPI/kg/BW, 15 d, péptido puro (100 µM), HPI (10 mg/mL) Efecto e índice hipoglucemiantes: BW↓, BG↓, nivel postprandial de glucosa↓, insulina↓, GLP-1↑, OGTT↓, absorción de glucosa↓, GLUT2↓, SGLT1↓ Secuencia de aminoácidos: AKSPLF, ATNPL, FFEELN, LSVSVL	Reducir la absorción de glucosa mediante el bloqueo de los transportadores de glucosa GLUT2 y SGLT1 (en silicio)
Frijol común (Valencia-Mejía y col., 2019)	Pepsina, Pancreatina	E/S: 1:20, HTi: 3 h, pH: 2.0 (Pepsina), 7.5 (Pancreatina)	Modelo: Rata Wistar macho Patrón de alimentación y tratamiento: 0.5 mg/kg a 5 mg/kg Efecto e índice hipoglucemiantes: Nivel de glucosa↓, consumo de glucosa ↑	Actividad hipoglucemiantes
Frijol HTC (Oseguera-Toledo y col., 2015)	Bromelina, Alcalasa [®]	HTi: 2 h (Bromelina), 2 h (Alcalasa [®])	Modelo: célula INS-1E Patrón de alimentación y tratamiento: 1 g de tratamiento hidrolizado Efecto e índice hipoglucemiantes: Aumentar la secreción de insulina hasta un 57 %	Aumento de la secreción de insulina
Frijol común (G0-OH) (de-Souza-Rocha y col., 2015)	Alcalasa [®]	HTi: 4 h, pH: 8.0	Modelo: Célula β-pancreática INS-1E Patrón de alimentación y tratamiento: 2 mg SP/mL Efecto e índice hipoglucemiantes: Aumentar la secreción de insulina en un 45 % desde el estado basal	Aumento de la secreción de insulina

^aE/S (Relación enzima-sustrato); HTi (Tiempo de hidrólisis); HTe (Temperatura de hidrólisis); peso en seco (DW, por sus siglas en inglés: dry weight); Ac: Acarbosa; AC: relación a acarbosa; mg (proteína; DW; hidrolizado; proteína soluble)/mL, µg/mL, o µmol/L; aislado de proteínas de frijol (BPI, por sus siglas en inglés: bean protein isolate); proteína soluble (SP, por sus siglas en inglés: soluble protein); Transportador de glucosa tipo 2 (GLUT2, por sus siglas en inglés: Glucosa Transporter Type 2); Streptozotocin; Aislado de proteína hidrolizada (HPI, por sus siglas en inglés: Monosaccharide protein isolate); masa corporal (BW, por sus siglas en inglés: body weight); péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1, por sus siglas en inglés: Glucagon-like peptide-1); línea celular utilizada en mecanismos de secreción de insulina estimulada por glucosa (INS-1E, por sus siglas en inglés: cell line used in glucose-stimulated insulin secretion mechanisms); SP (proteína soluble); difícil de cocinar (HTC, por sus siglas en inglés: Hard-to-cook); prueba oral de tolerancia a la glucosa (OGTT, por sus siglas en inglés: Oral Glucose Tolerance Test); G0-OH (muestra no germinada y no hidrolizada); ↓ (efecto inhibitorio); ↑ (efecto estimulativo).

garse con el respectivo sustrato (Obiro y col., 2008). Mojica y col. (2017), sometieron frijol negro mexicano y carioca brasileño a digestión con pepsina/pancreatina, y encontraron que la concentración media máxima inhibitoria (IC_{50}) para la DPP-IV fue entre 0.03 mg/mL a 0.87 mg/mL (presentando inhibición del tipo competitivo) y para la α -amilasa 36.3 % a 50.1 %. También probaron la actividad de 4 péptidos puros, previamente aislados de los frijoles analizados, encontrando uno que mostró mayor actividad inhibitoria ($P < 0.05$) para la DPP-IV, el cual fue KTYGL.

Otras bioactividades

Algunos trabajos de investigación han mostrado evidencia de otras actividades en los HP del frijol común. Luna-Vital y col. (2014), utilizando péptidos presentes en las fracciones no digeribles (FND) del frijol común, los cuales fueron obtenidos mediante hidrólisis enzimática, evaluaron su actividad anticancerígena, específicamente su acción antiproliferativa sobre las células de cáncer colorrectal humano. Encontraron cinco péptidos con actividad antiproliferativa (GLTSK, LSGNK, GEGSGA, MPACGSS y MTEFY), de las dos líneas celulares estudiadas: HCT116 y RKO, los extractos que mostraron mayor grado de inhibición fueron los del frijol azufrado Higuera ($IC_{50} = 0.53$ mg/mL) y bayo Madero ($IC_{50} = 0.51$ mg/mL), respectivamente. Además, ambos cultivos aumentaron significativamente ($P < 0.05$) la expresión de p53 en la línea celular HCT116 en un 76 % y 68 %, respectivamente. Los resultados sugieren que los péptidos presentes en la FND del frijol común contribuyeron al efecto antiproliferativo en las células de cáncer colorrectal humano, al modificar las moléculas involucradas en la detención del ciclo celular o la apoptosis.

La actividad antiinflamatoria de HP del frijol pinto (*Phaseolus vulgaris* L.), obtenidos mediante la acción de dos subtilisinas (alcalasa® y savinasa), aumentó al incrementar la concentración de péptidos de bajo peso molecular, después de 120 min con alcalasa®, así como, con el incremento simultáneo del conte-

nido de ácidos hidroxicinámicos y flavonoides en los hidrolizados, después de 90 min, utilizando savinasa, debido a su mayor actividad esterasa. En el estudio se usaron células del miofibroblasto (CCD-18Co) inducidas por la Interleucina 1 beta (IL-1 β), sobre la expresión de la Interleucina 6 (IL-6) utilizada como marcador proinflamatorio. El hidrolizado obtenido por alcalasa® (120 min) fue el que inhibió con mayor potencia la secreción de IL-6 con un valor del 28 % de inhibición *vs.* control, seguido de los hidrolizados producidos por alcalasa® (15 min) y savinasa (60 min o 90 min) siendo del 16 % de inhibición *vs.* control (García-Mora y col., 2015).

Roy y col. (2020) evaluaron el efecto antimicrobiano de hidrolizados proteínicos de frijol rojo riñón obtenidos por pepsina (DPH-1) y papaína (DPH-2). Los investigadores encontraron que el hidrolizado de DPH-1 podría inhibir fuertemente dos bacterias Gram-negativas como *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, con un diámetro de zona de inhibición de 20.26 mm y 19.23 mm, respectivamente. Aunque se observó una ligera actividad bactericida, tanto de DPH-1 como de DPH-2 contra *B. subtilis* y *Staphylococcus aureus*, estos hidrolizados no pudieron prevenir el crecimiento de bacterias Gram positivas como *Proteus mirabilis* y *Klebsiella pneumoniae* y especies de hongos como *Aspergillus* y *Penicillium*. Por otro lado, se ha evaluado la actividad antimicrobiana, en el mismo frijol rojo riñón utilizando el método de difusión en disco, evaluando una concentración de 100 mg/mL de HP de frijol con diversos grados de hidrólisis (GH). La actividad antimicrobiana máxima *in situ* e *in vitro* se encontró para los hidrolizados con un GH del 33.7 %. Los hidrolizados de frijol inhibieron el crecimiento celular de bacterias Gram negativas (*E. coli* O157:H7 y *E. coli* E32511) y Gram positivas (*B. licheniformis* y *B. thuringiensis*) en un 78 % a 80 % y un 70 % a 75 %, respectivamente (Roy y col., 2020).

Referente a la actividad hipocolesterolémica, Gomes y col. (2020) demostraron que, el uso

de HP de frijol común, en ratones BALB/c alimentados con una dieta aterogénica, podría prevenir de forma adecuada la disfunción endotelial al modular el metabolismo de los lípidos. Los autores concluyeron que el HP del frijol mostró actividad hipocolesterolemica, previniendo la inflamación y disfunción del endotelio vascular, además de disminuir el estrés oxidativo, indicando un efecto coadyuvante en la reducción del riesgo aterogénico.

La producción de péptidos vía hidrólisis enzimática ha sido el mejor método para la generación de bioactividades en las proteínas de origen vegetal, sin embargo, debido a la disponibilidad de microorganismos fermentativos, se están explorando nuevas formas de producción de biopéptidos. El método de purificación que tiene un mayor costo/beneficio es el de ultrafiltración, debido a que existen equipos a nivel industrial que permiten una correcta separación. Las proteínas “subutilizadas” encontradas en las semillas de frijol, han demostrado presentar una serie de bioactividades, tales como, antioxidantes, antihipertensivas, antidiabéticas, anticancerígena, antiinflamatoria y antimicrobiana, las cuales pueden ser obtenidas mediante acción proteolítica, lo que hace que los alimentos de origen vegetal sean de interés para una alimentación saludable; dichos alimentos han demostrado tener una excelente biodisponibilidad, además de ser seguros para el ser humano.

CONCLUSIONES

Los hidrolizados proteínicos del frijol común

(*Phaseolus vulgaris* L.) y sus respectivos péptidos derivados presentan diferentes propiedades bioactivas. La hidrólisis enzimática representa un excelente método para la obtención de péptidos bioactivos. En particular, la enzima alcalasa® o la combinación de esta con alguna proteasa comercial o gastrointestinal, podría ser utilizada con éxito, debido a la liberación de hidrolizados proteínicos/péptidos bioactivos, los cuales podrían ser incorporados en suplementos alimenticios con la finalidad de prevenir o reducir el aumento de la glucosa, el colesterol o los triglicéridos en sangre y con ello reducir el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas, como las cardiovasculares, el cáncer y la diabetes mellitus tipo 2. Entre las actividades que presentan los péptidos bioactivos se encuentran las que podrían tener un impacto sobre patologías involucradas con los procesos de inflamación y estrés oxidativo. La evidencia científica acumulada indica que, el uso de hidrolizados proteínicos, derivados de las semillas de frijol, es adecuado para el desarrollo de aditivos bioactivos, productos nutracéuticos y alimentos funcionales, ya que se ha demostrado que son, además de efectivos, seguros.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Tecnológico Nacional de México por el financiamiento otorgado al proyecto con clave 16886.23-PD.

DECLARACIÓN DE INTERESES

Los autores declararon no tener conflicto de interés alguno.

REFERENCIAS

- Acquah, C., Dzuovor, C. K. O., Tosh, S., & Agyei, D. (2022). Anti-diabetic effects of bioactive peptides: recent advances and clinical implications. *Critical reviews in food science and nutrition*, 62(8), 2158-2171. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1851168>
- ADA, American Diabetes Association (2020). 9. Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes—2020. *Diabetes Care*, 43(Supplement_1), S98-S110. <https://doi.org/10.2337/dc20-S009>
- ADA, American Diabetes Association (2021). 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes—2021. *Diabetes Care*, 44(Supplement_1), S15-S33. <https://doi.org/10.2337/dc21-S002>
- Adamson, N. J., & Reynolds, E. C. (1996). Characterization of casein phosphopeptides prepared using alcalase: Determination of enzyme specificity.

Enzyme and microbial technology, 19(3), 202-207. [https://doi.org/10.1016/0141-0229\(95\)00232-4](https://doi.org/10.1016/0141-0229(95)00232-4)

Aguilar, J. G. dos, S., Granato-Cason, V., & de Castro, R. J. S. (2019). Improving antioxidant activity of black bean protein by hydrolysis with protease combinations. *International Journal of food science & technology*, 54(1), 34-41. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13898>

Ahamad, J., Ali, F., Sayed, M. A., Ahmad, J., & No-llet, L. M. L. (2022). Basic Principles and Fundamental Aspects of Mass Spectrometry. In L. Nollet & R. Winkler (Eds.), *Mass spectrometry in food analysis* (pp. 3-17). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003091226-2>

Akbarian, M., Khani, A., Eghbaltpour, S., & Uversky, V. N. (2022). Bioactive Peptides: Synthesis, Sources, Applications, and Proposed Mechanisms of Action. *International Journal of molecular sciences*, 23(3), 1445-1474. <https://doi.org/10.3390/ijms23031445>

Akilloğlu, H. G. & Karakaya, S. (2009). Effects of heat treatment and in vitro digestion on the Angiotensin converting enzyme inhibitory activity of some legume species. *European food research and technology*, 229(6), 915-921. <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1133-x>

Alidoost, S., Maleki, M., & Poursaghari, H. (2021). Identifying drivers and factors affecting behavioral risk factors of noncommunicable diseases: A scoping review. *Journal of education and health promotion*, 10, 398-406. https://doi.org/10.4103/jehp.jehp_1379_20

Al-Ruwaih, N., Ahmed, J., Mulla, M. F., & Arfat, Y. A. (2019). High-pressure assisted enzymatic proteolysis of kidney beans protein isolates and characterization of hydrolysates by functional, structural, rheological and antioxidant properties. *LWT*, 100, 231-236. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.074>

Antony, P. & Vijayan, R. (2021). Bioactive Peptides as Potential Nutraceuticals for Diabetes Therapy: A Comprehensive Review. *International journal of molecular sciences*, 22(16), 9059. <https://doi.org/10.3390/ijms22169059>

Aondona, M. M., Ikya, J. K., Ukeyima, M. T., Gborigo, T. J. A., Aluko, R. E., & Girgih, A. T. (2021). *In vitro* antioxidant and antihypertensive properties of sesame seed enzymatic protein hydrolysate and ultrafiltration peptide fractions. *Journal of food biochemistry*, 45(1), e13587-e13599. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13587>

Ariza-Ortega, T. D. J., Zenón-Briones, E. Y., Castrejón-Flores, J. L., Yáñez-Fernández, J., Gómez-Gómez, Y. D. L. M., & Oliver-Salvador, M. D. C. (2014). Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory, antimicrobial, and antioxidant effect of bioactive peptides obtained from different varieties of common beans (*Phaseolus vulgaris* L.) with in vivo antihypertensive activity in spontaneously hyper-tensive rats. *European food research and technology*, 239(5). <https://doi.org/10.1007/s00217-014-2271-3>

Babini, E., Tagliazucchi, D., Martini, S., Dei-Più, L., & Gianotti, A. (2017). LC-ESI-QTOF-MS identification of novel antioxidant peptides obtained by enzymatic and microbial hydrolysis of vegetable proteins. *Food chemistry*, 228, 186-196. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.143>

Baker, M. T., Lu, P., Parrella, J. A., & Leggette, H. R. (2022). Consumer Acceptance toward Functional Foods: A Scoping Review. *International Journal of environmental research and public health*, 19(3), 1217. <https://doi.org/10.3390/ijerph19031217>

Balasubramaniam, V. M., Martínez-Monteagudo, S. I., & Gupta, R. (2015). Principles and Application of High Pressure-Based Technologies in the Food Industry. *Annual review of food science and technology*, 6(1), 435-462. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022814-015539>

Barati, M., Javanmardi, F., Mousavi Jazayeri, S. M. H., Jabbari, M., Rahmani, J., Barati, F., Nickho, H., Davoodi, S. H., Roshanravan, N., & Mousavi Khaneghah, A. (2020). Techniques, perspectives, and challenges of bioactive peptide generation: A comprehensive systematic review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(4), 1488-1520. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12578>

Barredo-Vacchelli, G. R., Giudicessi, S. L., Martínez-Ceron, M. C., Cascone, O., & Camperi, S. A. (2021). Peptide Affinity Chromatography Applied to Therapeutic Antibodies Purification. *International journal of peptide research and therapeutics*, 27(4), 2905-2921. <https://doi.org/10.1007/s10989-021-10299-5>

Bessada, S. M. F., Barreira, J. C. M., & Oliveira, M. B. P. P. (2019). Pulses and food security: Dietary protein, digestibility, bioactive and functional properties. *Trends in food science & technology*, 93, 53-68. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.08.022>

Betancur-Ancona, D., Sosa-Espinoza, T., Ruiz-Ruiz, J., Segura-Campos, M., & Chel-Guerrero, L. (2014).

Enzymatic hydrolysis of hard-to-cook bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein concentrates and its effects on biological and functional properties. *International journal of food science and technology*, 49(1), 2-8. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12267>

Bhandari, D., Rafiq, S., Gat, Y., Gat, P., Waghmare, R., & Kumar, V. (2020). A Review on Bioactive Peptides: Physiological Functions, Bioavailability and Safety. *International journal of peptide research and therapeutics*, 26(1), 139-150. <https://doi.org/10.1007/s10989-019-09823-5>

Bitocchi, E., Nanni, L., Bellucci, E., Rossi, M., Giardini, A., Zeuli, P. S., Logozzo, G., Stougaard, J., McClean, P., Attene, G., & Papa, R. (2012). Meso-american origin of the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) is revealed by sequence data. *Proceedings of the national academy of sciences*, 109(14), E788-E796. <https://doi.org/10.1073/pnas.1108973109>

Carrasco-Castilla, J., Hernández-Álvarez, A. J., Jiménez-Martínez, C., Jacinto-Hernández, C., Alaiz, M., Girón-Calle, J., Vioque, J., & Dávila-Ortiz, G. (2012). Antioxidant and metal chelating activities of peptide fractions from phaseolin and bean protein hydrolysates. *Food chemistry*, 135(3), 1789-1795. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.06.016>

Castañeda-Pérez, E., Jiménez-Morales, K., Quintal-Novelo, C., Moo-Puc, R., Chel-Guerrero, L., & Betancur-Ancona, D. (2019). Enzymatic protein hydrolysates and ultrafiltered peptide fractions from Cowpea *Vigna unguiculata* L bean with in vitro antidiabetic potential. *Journal of the iranian chemical society*, 16(8), 1773-1781. <https://doi.org/10.1007/s13738-019-01651-0>

Chel-Guerrero, L., Domínguez-Magaña, M., Martínez-Ayala, A., Dávila-Ortiz, G., & Betancur-Ancona, D. (2012). Lima Bean (<i>Phaseolus lunatus</i>) Protein Hydrolysates with ACE-I Inhibitory Activity. *Food and nutrition sciences*, 03(04), 511-521. <https://doi.org/10.4236/fns.2012.34072>

Choudhary, N., Anjali, Gupta, M., Shafi, S., Jan, S., Hamid-Mir, A., Singh, B., & Rouf-Mir, R. (2022). Molecular diversity and nutriment studies of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) from the two hot-spots of Western Himalayas of Jammu and Kashmir. *Crop & pasture science*, 73(3), 249-262. <https://doi.org/10.1071/CP21347>

Cruz-Casas, D. E., Aguilar, C. N., Ascacio-Valdés, J. A., Rodríguez-Herrera, R., Chávez-González, M. L., & Flores-Gallegos, A. C. (2021). Enzymatic hy-

drolysis and microbial fermentation: The most favorable biotechnological methods for the release of bioactive peptides. *Food chemistry: molecular sciences*, 3, 100047-100058. <https://doi.org/10.1016/j.fochms.2021.100047>

Das, S. & Hati, S. (2022). Food derived ACE inhibitory peptides: science to application. In D. Bagchi & S. E. Ohia (Eds.), *Nutrition and Functional Foods in Boosting Digestion, Metabolism and Immune Health* (pp. 39-54). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821232-5.00006-9>

De-Souza-Rocha, T., Hernandez, L. M. R., Mojica, L., Johnson, M. H., Chang, Y. K., & González-de-Mejía, E. (2015). Germination of *Phaseolus vulgaris* and alcalase hydrolysis of its proteins produced bioactive peptides capable of improving markers related to type-2 diabetes in vitro. *Food research international*, 76(P1), 150-159. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.041>

De-Vuyst, L. & Leroy, F. (2007). Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Production, Purification, and Food Applications. *Microbial physiology*, 13(4), 194-199. <https://doi.org/10.1159/000104752>

De-Fátima-Garcia, B., de-Barros, M., & de-Souza-Rocha, T. (2021). Bioactive peptides from beans with the potential to decrease the risk of developing noncommunicable chronic diseases. *Critical reviews in food science and nutrition*, 61(12), 2003-2021. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1768047>

Evangelho, J. A., Vanier, N. L., Pinto, V. Z., Berrios, J. J. D., Dias, A. R. G., & Zavareze, E. R. (2017). Black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein hydrolysates: Physicochemical and functional properties. *Food chemistry*, 214, 460-467. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.046>

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations (2022). FAOSTAT. CROPS. [En línea]. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>. Fecha de consulta: 22 de enero de 2024.

Freytag, G. F. & Debouck, D. G. (2002). Taxonomy, distribution, and ecology of the genus *Phaseolus* (Leguminosae-Papilionoideae) in North America, Mexico and Central America. [En línea]. Disponible en: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:130456466>. Fecha de consulta: 22 de enero de 2024.

García-Mora, P., Frias, J., Peñas, E., Zieliński, H., Giménez-Bastida, J. A., Wiczowski, W., Zielińska,

- D., & Martínez-Villaluenga, C. (2015). Simultaneous release of peptides and phenolics with antioxidant, ACE-inhibitory and anti-inflammatory activities from pinto bean (*Phaseolus vulgaris* L. var. pinto) proteins by subtilisins. *Journal of functional foods*, 18, 319-332. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.07.010>
- Gharibzahedi, S. M. T., Smith, B., & Altintas, Z. (2024). Bioactive and health-promoting properties of enzymatic hydrolysates of legume proteins: a review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 64(9), 2548-2578
- Goldstein, N. & Reifen, R. (2022). The potential of legume-derived proteins in the food industry. *Grain & oil science and technology*, 5(4), 167-178. <https://doi.org/10.1016/j.gaost.2022.06.002>
- Gomes, M. J. C., Lima, S. L. S., Alves, N. E. G., Assis, A., Moreira, M. E. C., Toledo, R. C. L., Rosa, C. O. B., Teixeira, O. R., Bassinello, P. Z., de-Mejía, E. G., & Martino, H. S. D. (2020). Common bean protein hydrolysate modulates lipid metabolism and prevents endothelial dysfunction in BALB/c mice fed an atherogenic diet. *Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases*, 30(1), 141-150. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2019.07.020>
- Granato, D., Barba, F. J., Bursać-Kovačević, D., Lorenzo, J. M., Cruz, A. G., & Putnik, P. (2020). Functional Foods: Product Development, Technological Trends, Efficacy Testing, and Safety. *Annual review of food science and technology*, 11(1), 93-118. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032519-051708>
- Grdeń, P. & Jakubczyk, A. (2023). Health benefits of legume seeds. *Journal of the science of food and agriculture*, 103(11), 5213-5220. <https://doi.org/10.1002/jsfa.12585>
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of toxicology*, 94(3), 651-715. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>
- Hernández-Corroto, E., Plaza, M., Marina, M. L., & García, M. C. (2020). Sustainable extraction of proteins and bioactive substances from pomegranate peel (*Punica granatum* L.) using pressurized liquids and deep eutectic solvents. *Innovative food science & emerging technologies*, 60, 102314-102324. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102314>
- Herrera-Hernández, I. M., Sánchez, E., Ramírez-Estrada, C. A., Anchondo-Páez, J. C., & Pérez-Álvarez, S. (2023). Supply of essential and nonessential amino acids, proteins, antioxidants, iron and zinc from the main varieties of beans consumed in Mexico and their potential for biofortification. *Notulae scientia biologicae*, 15(4), 11733. <https://doi.org/10.55779/nsb15411733>
- Hu, K., Huang, H., Li, H., Wei, Y., & Yao, C. (2023). Legume-Derived Bioactive Peptides in Type 2 Diabetes: Opportunities and Challenges. *Nutrients*, 15(5), 1096. <https://doi.org/10.3390/nu15051096>
- IDF, International Diabetes Federation (2021). IDF Diabetes Atlas (Tenth edition). International Diabetes Federation. [En línea]. Disponible en: <https://diabetesatlas.org/atlas/tenth-edition/>. Fecha de consulta: 22 de enero de 2024.
- Jakubczyk, A., Karaś, M., Złotek, U., & Szymanowska, U. (2017). Identification of potential inhibitory peptides of enzymes involved in the metabolic syndrome obtained by simulated gastrointestinal digestion of fermented bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. *Food research international*, 100, 489-496. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.046>
- Jogi, N., Yathisha, U. G., Bhat, I., & Mamatha, B. S. (2022). Antihypertensive activity of orally consumed ACE-I inhibitory peptides. *Critical reviews in food science and nutrition*, 62(32), 8986-8999. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1938508>
- Karami, Z. & Duangmal, K. (2023). Health Promoting and Functional Activities of Peptides from Vigna Bean and Common Bean Hydrolysates: Process to Increase Activities and Challenges. *Food reviews international*, 39(9), 6537-6567. <https://doi.org/10.1080/87559129.2022.2122988>
- Kaur, N. (2018). Solid-phase synthesis of sulfur containing heterocycles. *Journal of sulfur chemistry*, 39(5), 544-577. <https://doi.org/10.1080/17415993.2018.1457673>
- Kent, S. B. H. (2019). Novel protein science enabled by total chemical synthesis. *Protein science*, 28(2), 313-328. <https://doi.org/10.1002/pro.3533>
- Li, T., Shi, C., Zhou, C., Sun, X., Ang, Y., Dong, X., Huang, M., & Zhou, G. (2020). Purification and characterization of novel antioxidant peptides from duck breast protein hydrolysates. *LWT*, 125, 109215-109227. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109215>
- Lin, X., Xu, Y., Pan, X., Xu, J., Ding, Y., Sun, X., Song, X., Ren, Y., & Shan, P. F. (2020). Global, regional, and national burden and trend of diabetes in 195 countries and territories: an analysis from 1990 to 2025. *Scientific reports*, 10(1), 14790. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71908-9>

- Lorenzo, J. M., Munekata, P. E. S., Gómez, B., Barba, F. J., Mora, L., Pérez-Santaescolástica, C., & Toldrá, F. (2018). Bioactive peptides as natural antioxidants in food products – A review. *Trends in food science & technology*, 79, 136-147. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.003>
- Luna-Vital, D. A., González-de-Mejía, E., Dia, V. P., & Loarca-Piña, G. (2014). Peptides in common bean fractions inhibit human colorectal cancer cells. *Food chemistry*, 157, 347-355. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.050>
- Maestri, E., Pavlicevic, M., Montorsi, M., & Marmiroli, N. (2019). Meta-Analysis for Correlating Structure of Bioactive Peptides in Foods of Animal Origin with Regard to Effect and Stability. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 18(1), 3-30. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12402>
- Marciniak, A., Suwal, S., Naderi, N., Pouliot, Y., & Doyen, A. (2018). Enhancing enzymatic hydrolysis of food proteins and production of bioactive peptides using high hydrostatic pressure technology. *Trends in food science & technology*, 80, 187-198. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.08.013>
- McClements, D. J. & Grossmann, L. (2021). The science of plant-based foods: Constructing next-generation meat, fish, milk, and egg analogs. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 20(4), 4049-4100. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12771>
- Miklas, P. N., Kelly, J. D., & Cichy, K. A. (2022). Dry Bean Breeding and Production Technologies. In M. Siddiq & M. A. Uebersax (Eds.), *Dry Beans and Pulses* (pp. 29-56). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119776802.ch2>
- Mojica, L., Chen, K., & de-Mejía, E. G. (2015). Impact of Commercial Precooking of Common Bean (*Phaseolus vulgaris*) on the Generation of Peptides, After Pepsin-Pancreatin Hydrolysis, Capable to Inhibit Dipeptidyl Peptidase-IV. *Journal of food science*, 80(1). <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12726>
- Mojica, L. & de-Mejía, E. G. (2015). Characterization and Comparison of Protein and Peptide Profiles and their Biological Activities of Improved Common Bean Cultivars (*Phaseolus vulgaris* L.) from Mexico and Brazil. *Plant foods for human nutrition*, 70(2), 105-112. <https://doi.org/10.1007/s11130-015-0477-6>
- Mojica, L. & de-Mejía, E. G. (2016). Optimization of enzymatic production of antidiabetic peptides from black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins, their characterization and biological potential. *Food and function*, 7(2). <https://doi.org/10.1039/c5fo01204j>
- Mojica, L., de-Mejía, E. G., Menjivar, M., & Granados-Silvestre, M. Á. (2016). Antidiabetic Effect of Black Bean Peptides through Reduction of Glucose Absorption and Modulation of SGLT1, GLUT2 and DPP-IV in *in vitro* and *in vivo* Models. *The FASEB journal*, 30(S1). https://doi.org/10.1096/fasebj.30.1_supplement.125.6
- Mojica, L., Luna-Vital, D. A., & González-de-Mejía, E. (2017). Characterization of peptides from common bean protein isolates and their potential to inhibit markers of type-2 diabetes, hypertension and oxidative stress. *Journal of the science of food and agriculture*, 97(8), 2401-2410. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8053>
- Montoya, C. A., Lallès, J. P., Beebe, S., & Leterme, P. (2010). Phaseolin diversity as a possible strategy to improve the nutritional value of common beans (*Phaseolus vulgaris*). *Food research international*, 43(2), 443-449. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.040>
- Mora, L. & Toldrá, F. (2021). Methodologies for peptidomics: Identification and quantification. In F. Toldrá & J. Wu (Eds.), *Biologically Active Peptides* (pp. 87-102). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821389-6.00010-8>
- Moreno-Valdespino, C. A., Luna-Vital, D., Camacho-Ruiz, R. M., & Mojica, L. (2020). Bioactive proteins and phytochemicals from legumes: Mechanisms of action preventing obesity and type-2 diabetes. *Food research international*, 130, 108905. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108905>
- Mourtas, S., Athanasopoulos, V., Gatos, D., & Barlos, K. (2023). Solid-Phase Synthesis of 2-Benzothiazolyl and 2-(Aminophenyl)benzothiazolyl Amino Acids and Peptides. *Molecules*, 28(14), 5412-5431. <https://doi.org/10.3390/molecules28145412>
- Mudgil, P., Baby, B., Ngoh, Y. Y., Kamal, H., Vijayan, R., Gan, C. Y., & Maqsood, S. (2019). Molecular binding mechanism and identification of novel anti-hypertensive and anti-inflammatory bioactive peptides from camel milk protein hydrolysates. *LWT*, 112, 108193-108204. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.091>

- Mullins, A. P. & Arjmandi, B. H. (2021). Health Benefits of Plant-Based Nutrition: Focus on Beans in Cardiometabolic Diseases. *Nutrients*, 13(2), 519. <https://doi.org/10.3390/nu13020519>
- Naeem, M., Malik, M. I., Umar, T., Ashraf, S., & Ahmad, A. (2022). A Comprehensive Review About Bioactive Peptides: Sources to Future Perspective. *International journal of peptide research and therapeutics*, 28(6), 155-175. <https://doi.org/10.1007/s10989-022-10465-3>
- Ngoh, Y. Y. & Gan, C. Y. (2016). Enzyme-assisted extraction and identification of antioxidative and α -amylase inhibitory peptides from Pinto beans (*Phaseolus vulgaris* cv. Pinto). *Food chemistry*, 190, 331-337. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.05.120>
- Ngoh, Y. Y. & Gan, C. Y. (2018). Identification of Pinto bean peptides with inhibitory effects on α -amylase and angiotensin converting enzyme (ACE) activities using an integrated bioinformatics-assisted approach. *Food chemistry*, 267, 124-131. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.04.166>
- Obiro, W. C., Zhang, T., & Jiang, B. (2008). The nutraceutical role of the *Phaseolus vulgaris* α -amylase inhibitor. *British journal of nutrition*, 100(1), 1-12. <https://doi.org/10.1017/S0007114508879135>
- Ohara, A., Cason, V. G., Nishide, T. G., Miranda-de-Matos, F., & de-Castro, R. J. S. (2021). Improving the antioxidant and antidiabetic properties of common bean proteins by enzymatic hydrolysis using a blend of proteases. *Biocatalysis and biotransformation*, 39(2), 100-108. <https://doi.org/10.1080/10242422.2020.1789114>
- Olagunju, A. I., Omoba, O. S., Enujiugha, V. N., Alashi, A. M., & Aluko, R. E. (2018). Pigeon pea enzymatic protein hydrolysates and ultrafiltration peptide fractions as potential sources of antioxidant peptides: An *in vitro* study. *LWT*, 97, 269-278. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.07.003>
- Osborne, T. B. (1924). The vegetable proteins. Longmans, Green and Company.
- Oseguera-Toledo, M. E., Gonzalez-de-Mejia, E., & Amaya-Llano, S. L. (2015). Hard-to-cook bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins hydrolyzed by alcalase and bromelain produced bioactive peptide fractions that inhibit targets of type-2 diabetes and oxidative stress. *Food research international*, 76, 839-851. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.046>
- Ozawa, A., Cai, Y., & Lindberg, I. (2007). Production of bioactive peptides in an *in vitro* system. *Analytical biochemistry*, 366(2), 182-189. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2007.04.020>
- Peighambardoust, S. H., Karami, Z., Pateiro, M., & Lorenzo, J. M. (2021). A Review on Health-Promoting, Biological, and Functional Aspects of Bioactive Peptides in Food Applications. *Biomolecules*, 11(5), 631-651. <https://doi.org/10.3390/biom11050631>
- Piovesana, S., Capriotti, A. L., Cavaliere, C., La Barbera, G., Montone, C. M., Zenezini Chiozzi, R., & Laganà, A. (2018). Recent trends and analytical challenges in plant bioactive peptide separation, identification and validation. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410(15), 3425-3444. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-0852-x>
- Piovesana, S., Capriotti, A. L., Cavaliere, C., La Barbera, G., Montone, C. M., Zenezini-Chiozzi, R., & Laganà, A. (2019). Sensitive untargeted identification of short hydrophilic peptides by high performance liquid chromatography on porous graphitic carbon coupled to high resolution mass spectrometry. *Journal of chromatography A*, 1590, 73-79. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.12.066>
- Polanco-Lugo, E., Dávila-Ortiz, G., Betancur-Ancona, D. A., & Chel-Guerrero, L. A. (2014). Effects of sequential enzymatic hydrolysis on structural, bioactive and functional properties of *Phaseolus lunatus* protein isolate. *Food science and technology*, 34(3), 441-448. <https://doi.org/10.1590/1678-457x.6349>
- Porch, T., Beaver, J., Debouck, D., Jackson, S., Kelly, J., & Dempewolf, H. (2013). Use of Wild Relatives and Closely Related Species to Adapt Common Bean to Climate Change. *Agronomy*, 3(2), 433-461. <https://doi.org/10.3390/agronomy3020433>
- Rahmi, A. & Arcot, J. (2023). *In Vitro* Assessment Methods for Antidiabetic Peptides from Legumes: A Review. *Foods*, 12(3), 631. <https://doi.org/10.3390/foods12030631>
- Rogalinski, T., Herrmann, S., & Brunner, G. (2005). Production of amino acids from bovine serum albumin by continuous sub-critical water hydrolysis. *The journal of supercritical fluids*, 36(1), 49-58. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2005.03.001>
- Roy, M., Sarker, A., Azad, M. A. K., Shaheb, M. R., & Hoque, M. M. (2020). Evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of dark red kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) protein hydrolysates. *Journal of food measurement and characterization*, 14(1),

- 303-313. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00292-4>
- Rui, X., Boye, J. I., Simpson, B. K., & Prasher, S. O. (2012). Angiotensin I-converting enzyme inhibitory properties of *Phaseolus vulgaris* bean hydrolysates: Effects of different thermal and enzymatic digestion treatments. *Food research international*, 49 (2), 739-746. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.09.025>
- Rui, X., Boye, J. I., Simpson, B. K., & Prasher, S. O. (2013). Purification and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides of small red bean (*Phaseolus vulgaris*) hydrolysates. *Journal of functional foods*, 5(3), 1116-1124. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.03.008>
- Ruiz-Ruiz, J., Davila-Ortiz, G., Chel-Guerrero, L., & Betancur-Ancona, D. (2013). Angiotensin i-converting enzyme inhibitory and antioxidant peptide fractions from hard-to-cook bean enzymatic hydrolysates. *Journal of food biochemistry*, 37(1), 26-35. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2011.00594.x>
- Saad, A. M., Osman, A. O. M., Mohamed, A. S., & Ramadan, M. F. (2020). Enzymatic Hydrolysis of *Phaseolus vulgaris* Protein Isolate: Characterization of Hydrolysates and Effect on the Quality of Minced Beef During Cold Storage. *International journal of peptide research and therapeutics*, 26(1), 5 67-577. <https://doi.org/10.1007/s10989-019-09863-x>
- Sánchez, A. & Vázquez, A. (2017). Bioactive peptides: A review. *Food quality and safety*, 1(1), 29-46. <https://doi.org/10.1093/fqs/fyx006>
- Shabir, I., Dash, K. K., Dar, A. H., Pandey, V. K., Fayaz, U., Srivastava, S., & Nisha, R. (2023). Carbon footprints evaluation for sustainable food processing system development: A comprehensive review. *Future Foods*, 7, 100215. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2023.100215>
- Siddiq, M., Uebersax, M. A., & Siddiq, F. (2022). Global Production, Trade, Processing and Nutritional Profile of Dry Beans and Other Pulses. In M. Siddiq & M. A. Uebersax (Eds.), *Dry Beans and Pulses* (pp. 1-28). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781119776802.ch1>
- Su, L., Shi, Y., Yan, M., Xi, Y., & Su, X. (2015). Anticancer bioactive peptides suppress human colorectal tumor cell growth and induce apoptosis via modulating the PARP-p53-Mcl-1 signaling pathway. *Acta pharmacologica sinica*, 36(12), 1514-1519. <https://doi.org/10.1038/aps.2015.80>
- Su, Y., Chen, S., Liu, S., Wang, Y., Chen, X., Xu, M., Cai, S., Pan, N., Qiao, K., Chen, B., Yang, S., & Liu, Z. (2023). Affinity Purification and Molecular Characterization of Angiotensin-Converting Enzyme (ACE)-Inhibitory Peptides from *Takifugu flavidus*. *Marine drugs*, 21(10), 522-536. <https://doi.org/10.3390/md21100522>
- Tacias-Pascacio, V. G., Morellon-Sterling, R., Siar, E. H., Tavano, O., Berenguer-Murcia, Á., & Fernandez-Lafuente, R. (2020). Use of Alcalase in the production of bioactive peptides: A review. *International journal of biological macromolecules*, 165, 2143-2196. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.060>
- Tak, Y., Kaur, M., Amarowicz, R., Bhatia, S. & Gautam, C. (2021). Pulse Derived Bioactive Peptides as Novel Nutraceuticals: A Review. *International journal of peptide research and therapeutics*, 27(3), 2057-2068. <https://doi.org/10.1007/s10989-021-10234-8>
- Tawalbeh, D., Al-U'datt, M. H., Wan-Ahmad, W. A. N., Ahmad, F., & Sarbon, N. M. (2023). Recent Advances in In Vitro and In Vivo Studies of Antioxidant, ACE-Inhibitory and Anti-Inflammatory Peptides from Legume Protein Hydrolysates. *Molecules*, 28(6), 2423-2446. <https://doi.org/10.3390/molecules28062423>
- Torrucó-Uco, J., Chel-Guerrero, L., Martínez-Ayala, A., Dávila-Ortiz, G., & Betancur-Ancona, D. (2009). Angiotensin-I converting enzyme inhibitory and antioxidant activities of protein hydrolysates from *Phaseolus lunatus* and *Phaseolus vulgaris* seeds. *LWT*, 42(10), 1597-1604. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.06.006>
- Udeh, C., Ifie, I., Akpodiete, J., & Malomo, S. (2021). Kidney bean protein products as potential antioxidative and antihypertensive alternatives for non-pharmacological inhibition of angiotensin-converting enzymes. *Scientific African*, 11, e00693-e00715. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2021.e00693>
- Ulug, S. K., Jahandideh, F., & Wu, J. (2021). Novel technologies for the production of bioactive peptides. *Trends in food science & technology*, 108, 27-39. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.12.002>
- Uttara, B., Singh, A., Zamboni, P., & Mahajan, R. (2009). Oxidative Stress and Neurodegenerative Diseases: A Review of Upstream and Downstream Antioxidant Therapeutic Options. *Current neuropharmacology*, 7(1), 65-74. <https://doi.org/10.2174/157015909787602823>

- Valdez-Ortiz, A., Fuentes-Gutiérrez, C. I., Germán-Báez, L. J., Gutiérrez-Dorado, R., & Medina-Godoy, S. (2012). Protein hydrolysates obtained from Azufrado (sulphur yellow) beans (*Phaseolus vulgaris*): Nutritional, ACE-inhibitory and antioxidative characterization. *LWT*, 46(1), 91-96. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.10.021>
- Valencia-Mejía, E., Batista, K. A., Fernández, J. J. A., & Fernandes, K. F. (2019). Antihyperglycemic and hypoglycemic activity of naturally occurring peptides and protein hydrolysates from easy-to-cook and hard-to-cook beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food research international*, 121, 238-246. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.03.043>
- Vignesh, A., Amal, T. C., Sarvalingam, A., & Vasanth, K. (2024). A review on the influence of nutraceuticals and functional foods on health. *Food chemistry advances*, 5, 100749. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2024.100749>
- Wang, Y. & Wang, J. (2020). Modelling and prediction of global non-communicable diseases. *BMC public health*, 20(1), 822. <https://doi.org/10.1186/s12889-020-08890-4>
- Wei, H., Xiao, Y., Tong, Y., Chen, Y., Luo, X., Wang, Y., Jin, P., Ma, C., Fu, Z., Guo, H., Zhao, X., & Li, Y. (2019). Therapeutic effect of angelica and its compound formulas for hypertension and the complications: Evidence mapping. *Phytomedicine*, 59, 152767-152794. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.11.027>
- Wen, C., Zhang, J., Zhang, H., Duan, Y., & Ma, H. (2020). Plant protein-derived antioxidant peptides: Isolation, identification, mechanism of action and application in food systems: A review. *Trends in food science & technology*, 105, 308-322. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.019>
- WHO, World health statistics (2023). World Health Statistics 2023: Monitoring Health for the SDGs, Sustainable Development Goals. World Health Organization. [En línea]. Disponible en: https://reliefweb.int/report/world/world-health-statistics-2023-monitoring-health-sdgs-sustainable-development-goals?gad_source=1&gclid=CjwKCAiAlcyuBhBnEiwAOGZ2S-9HCWFC6XncrPKW5OLUHDQ38OXeAKLAdOeJgqlZPscHTBQ1xUIBHB0CCSIQAvD_BwE Fecha de consulta: 22 de enero de 2024..
- Xiang, L., Qiu, Z., Zhao, R., Zheng, Z., & Qiao, X. (2023). Advancement and prospects of production, transport, functional activity and structure-activity relationship of food-derived angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides. *Critical reviews in food science and nutrition*, 63(10), 1437-1463. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1964433>
- Yang, F., Chen, X., Huang, M., Yang, Q., Cai, X., Chen, X., Du, M., Huang, J., & Wang, S. (2021). Molecular characteristics and structure-activity relationships of food-derived bioactive peptides. *Journal of integrative agriculture*, 20(9), 2313-2332. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(20\)63463-3](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(20)63463-3)
- Yuan, H., Luo, Z., Ban, Z., Reiter, R. J., Ma, Q., Liang, Z., Yang, M., Li, X., & Li, L. (2022). Bioactive peptides of plant origin: distribution, functionality, and evidence of benefits in food and health. *Food & function*, 13(6), 3133-3158. <https://doi.org/10.1039/D1FO04077D>
- Zamyatnin, A. A. (2018). Structural-functional diversity of the natural oligopeptides. *Progress in Biophysics and molecular biology*, 133, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2017.09.024>
- Zheng, Z., Li, J., Li, J., Sun, H., & Liu, Y. (2019). Physicochemical and antioxidative characteristics of black bean protein hydrolysates obtained from different enzymes. *Food hydrocolloids*, 97, 105222-105235. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105222>
- Zhu, F., Cao, J., Song, Y., Yu, P., & Su, E. (2023). Plant Protein-Derived Active Peptides: A Comprehensive Review. *Journal of agricultural and food chemistry*, 71(51), 20479-20499. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c06882>