



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



**EVALUACIÓN DE PÉPTIDOS BIOACTIVOS OBTENIDOS POR DIGESTIÓN *IN VITRO*
DE PROTEÍNAS DE *Pomacea flagellata***

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO EN ALIMENTOS

PRESENTA

TANIA CRISTELL JIMÉNEZ PÉREZ

DIRECTOR

DR. JUAN GUZMÁN CEFERINO

CODIRECTOR:

DRA. ANA PAULINA BARBA DE LA ROSA

VILLAHERMOSA, TABASCO, JUNIO 2026

Declaración de Autoría y Originalidad

En la Ciudad de Villahermosa, el día 27 del mes abril del año 2026, el que suscribe Tania Cristell Jiménez Pérez alumna del Programa de Licenciatura de Ingeniería en Alimentos con número de matrícula 192C22001, adscrito a la División Académica de Ciencias Agropecuarias, de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, como autora de la Tesis presentada para la obtención del título de Ingeniero en Alimentos y titulada "EVALUACIÓN DE PÉPTIDOS BIOACTIVOS OBTENIDOS POR DIGESTIÓN *IN VITRO* DE PROTEÍNAS DE *Pomacea flagellata*" dirigida por el Dr. Juan Guzmán Ceferino y codirigida por la Dra. Ana Paulina Barba de la Rosa.

DECLARO QUE:

La Tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la LEY FEDERAL DEL DERECHO DE AUTOR (Decreto por el que se reforman y adicionan diversas disposiciones de la Ley Federal del Derecho de Autor del 01 de Julio de 2020 regularizando y aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad o contenido de la Tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

Villahermosa, Tabasco a 27 de abril de 2026.



Tania Cristell Jiménez Pérez

Coordinación de Estudios Terminales

Asunto: Autorización de impresión
de Trabajo Recepcional.

Fecha: 14 de abril de 2026.

LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE CERTIFICACIÓN Y
TITULACIÓN DE LA UJAT.
P R E S E N T E

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del interesado(a), le informo que, con base en el artículo 113 del Reglamento de Titulación Vigente en esta Universidad, la Dirección a mi cargo **autoriza** a la **C. Tania Cristell Jiménez Pérez**, con matrícula **192C22001**, egresado(a) de la Licenciatura de **Ingeniería en Alimentos** de la División Académica de Ciencias Agropecuarias, **la impresión de su Trabajo Recepcional** bajo la modalidad de **Tesis**, titulado: **EVALUACIÓN DE PÉPTIDOS BIOACTIVOS OBTENIDOS POR DIGESTIÓN IN VITRO DE PROTEÍNAS DE Pomacea Flagellata.**

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE



M.V.Z. JORGE ALFREDO THOMAS TELLEZ
DIRECTOR

U.J.A.T.



DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS AGROPECUARIAS
SECCIÓN

C.c. Archivo

Carretera Villahermosa – Teapa Km. 25. R/A La Huasteca 2da Sección
Villahermosa, Tabasco, México. C.P. 86298
Tel (993) 358 15 00 ext. 6614 e-mail: terminales.daca@ujat.mx

www.ujat.mx

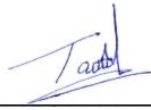
Carta de Cesión de Derechos

Villahermosa, Tabasco a 27 de abril de 2026.

Por medio de la presente manifestamos haber colaborado como AUTORA en la producción, creación y/o realización de la obra denominada "EVALUACIÓN DE PÉPTIDOS BIOACTIVOS OBTENIDOS POR DIGESTIÓN *IN VITRO* DE PROTEÍNAS DE *Pomacea flagellata*".

Con fundamento en el artículo 83 de la Ley Federal del Derecho de Autor y toda vez que, la creación y/o realización de la obra antes mencionada se realizó bajo la comisión de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; entendemos y aceptamos el alcance del artículo en mención, de que tenemos el derecho al reconocimiento como autores de la obra, y la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco mantendrá en un 100% la titularidad de los derechos patrimoniales por un período de 20 años sobre la obra en la que colaboramos, por lo anterior, cedemos el derecho patrimonial exclusivo en favor de la Universidad.

COLABORADORES



Tania Cristell Jiménez Pérez, Juan Guzmán Ceferino y Ana Paulina Barba de la Rosa

TESTIGOS



Laura Gabriela Qué Vázquez



Jair Sarrazaga Ramón

I. DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres, **Blanca Estela Pérez Martínez** y **Marcos Jiménez Méndez**. Mi madre, la persona que, tras muchos años de sacrificio, no solo en su trabajo sino en casa, me ha apoyado y guiado en mi vida privada y profesional. A mi padre, que en paz descansa y que en su tiempo de vida me enseñó tener amor por lo que haces y soportar las dificultades que se te presentan en la vida. Sé que estarías orgulloso de mí. Como hija, no puedo pedir más y solo puedo agradecer y expresarles el amor que les tengo en este trabajo.

A mi hermano, **Erick Alexander Jiménez Pérez** por ser mi compañero en nuestros trayectos académicos, pero más importante, de hermandad. Gracias por permitirme ser tu guía en la vida y por hacer las cosas que no quería hacer para tener más tiempo para estudiar y por estar ahí, aunque de latoso en ocasiones.

A mis abuelos, **María de los Santos Martínez Madrigal** y **Sebastián Pérez Arias**, quiénes me motivaron y todos los días me recordaban lo importante qué es estudiar y seguir aprendiendo en la vida, quiénes me acompañaron a lo largo de los años mientras estudiaba y me formaba como mujer y como estudiante. Los atesoro en mi corazón.

A mi segunda familia, mi tía **María Guadalupe Pérez Martínez** y su esposo **Johnny Jerónimo González**. A mi tía *Lupita*, quién me enseñó todo lo que ella sabía: su conocimiento, sus valores, la forma correcta de hacer las cosas, muchas gracias por todo. No tengo palabras para agradecer todo lo que has hecho por mí desde que nací. También en este apartado quiero agradecer a mi tío *Johnny*, por haberme enseñado a amar y conquistar las matemáticas y por haberme presionado para producir resultados de excelencia. Gracias por todo: sus regaños, su cariño y todo el tiempo y esfuerzo invertidos en mí.

Quiero agradecer a mi casi otra familia: a mis tíos **Teresa Pérez Santos** y **Sebastián Pérez Martínez** y a mi prima **Karina Lizbeth Pérez Pérez**. A ustedes, quienes fueron el refugio al que acudía cuando no sabía qué hacer a lo largo de mi vida y quiénes me ayudaron a enfrentar dificultades en la vida, en la escuela y las oportunidades que se me presentaron. Debo agradecer también los regaños y consejos que vinieron de mi tía *Tere*.

y prima *Kari*. A mi tío le agradezco, por haberme llevado a la universidad durante toda mi vida escolar. Por último, gracias, por acompañarme, aconsejarme y haberme permitido ser parte de su familia.

A los maestros que marcaron mi camino profesional, **Dr. Juan Guzmán Ceferino**, por tenerme fe. También debo culparlo por sugerirme hacer tesis, pero he de admitir que el trabajo final fue satisfactorio. Quiero agradecerle por enseñarme sus técnicas de análisis, por acompañarme a hacer cada parte de mis experimentos. Debo mencionar en esta parte a la maestra **Ana María Díaz Rodríguez**, por todo el conocimiento que me regaló en sus clases, enseñarme también técnicas de laboratorio, por darme consejo académico cuando lo necesitaba y por fomentar la iniciativa en el emprendimiento, que es en lo que estoy incursionando. Asimismo, quiero agradecer al **Dr. Pedro García Alamilla** y **Dra. Areli Carrera Lanestosa**, junto los chicos de su laboratorio, por abrirme las puertas y enseñarme una parte del conocimiento que poseen y por los consejos que me dieron.

A mis compañeros y amigos más íntimos, **Laura Gabriela Qué Vázquez** y **Jair Sarrazaga Ramón**, quiénes estudiaron conmigo durante toda la carrera. Nos divertimos, estudiamos, hicimos todo juntos. Diversas circunstancias nos juntaron y lograron que fuésemos el mejor equipo. A *Gaby* quien siempre organizaba las tardes para hacer video llamadas y estudiar, así como las salidas una vez terminadas las materias. A *Jair*, quien siempre estuvo dispuesto a apoyarnos y hacernos reír con sus ocurrencias, cuya presencia estuvo siempre.

A quiénes no mencioné, pero estuvieron presente en mi vida, les agradezco su amor y apoyo incondicionales.

II. ÍNDICE GENERAL

I.	DEDICATORIA.....	ii
II.	ÍNDICE GENERAL.....	vii
III.	ÍNDICE DE TABLAS.....	x
IV.	ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
V.	RESUMEN.....	xii
VI.	ABSTRACT.....	xiv
VII.	INTRODUCCIÓN.....	1
VIII.	MARCO TEÓRICO.....	2
8.1.	<i>Pomacea flagellata</i>	2
8.1.1.	Origen y distribución.....	2
8.1.2.	Taxonomía.....	3
8.1.3.	Valor nutritivo.....	4
8.2.	Péptidos bioactivos.....	5
8.2.1.	Propiedades.....	5
8.2.1.1	Actividad antioxidante.....	5
8.2.1.2	Actividad antihiper glucémica por α -amilasa.....	8
8.2.1.3	Inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE).....	9
8.2.1.4	Actividad hemolítica.....	9
8.2.1.5	Índice de hidrofobicidad.....	10
8.2.1.6	Carga bioactiva.....	10
8.3.	Obtención de péptidos bioactivos.....	11
8.3.1.	Hidrólisis enzimática <i>in vitro</i>	12
8.3.2.	Fermentaciones microbianas.....	12
8.3.3.	Síntesis química.....	13
IX.	JUSTIFICACIÓN.....	14
X.	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	15
XI.	HIPÓTESIS.....	16
XII.	OBJETIVOS.....	17

XIII. METODOLOGÍA	18
13.1. Métodos	18
13.1.1. Recolección de muestra.....	18
13.1.2. Extracción de la proteína	19
13.1.3. Digestión <i>in vitro</i>	19
13.1.4. Grado de hidrólisis TNBS.....	20
13.2. Determinación de propiedades bioactivas.....	21
13.2.1. Actividad antioxidante	21
13.2.1.1 DPPH	21
13.2.1.2 ABTS	21
13.2.1.3 FRAP	21
13.2.2. Determinación de actividad antihiper glucémica por α -amilasa	21
13.2.3. Determinación de la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE) .	22
13.2.4. Determinación de actividad hemolítica.....	23
13.2.5. Determinación del índice de hidrofobicidad	23
13.2.6. Determinación de carga bioactiva.....	24
13.3. Análisis estadístico.....	24
XIV. RESULTADOS	25
14.1. Grado de hidrólisis TNBS.....	25
14.2. Péptidos generados durante las fases de digestión <i>in vitro</i> de proteína de <i>Pomacea flagellata</i>	26
14.3. Actividad antioxidante	27
14.3.1. DPPH.....	27
14.3.2. ABTS.....	28
14.3.3. FRAP	29
14.4. Actividad antihiper glucémica.....	31
14.5. Inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE).....	32
14.6. Actividad hemolítica	33
14.7. Índice de hidrofobicidad	33
14.8. Carga bioactiva	34
XV. DISCUSIÓN	36

15.1. Grado de hidrólisis	36
15.2. Actividad antioxidante	38
15.2.1. DPPH	38
15.2.2. ABTS.....	39
15.2.3. FRAP	39
15.3. Determinación de actividad antihiper glucémica por α -amilasa.....	40
15.4. Determinación de la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE)	41
15.5. Determinación de actividad hemolítica.....	41
15.6. Determinación del índice de hidrofobicidad.....	42
15.7. Determinación de carga bioactiva	44
XVI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	45
XVII. REFERENCIAS.....	47
XVIII. ANEXOS	55
18.1. Abreviaturas	55

III. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Contenido nutrimental de <i>Pomacea flagellata</i> , <i>Nucella lapillus</i> y <i>Helix aspersa</i> (g/100 g en base seca).....	4
Tabla 2. Concentración ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) de péptidos generados en los diferentes tiempos de cada fase.....	26
Tabla 3. Índice de hidrofobicidad de <i>Dosidicus gigas</i> a diferentes concentraciones y pHs.....	43

IV.ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de <i>P. flagellata</i> en México.	2
Figura 2. Estructura básica de los caracoles.	3
Figura 3. Concha de <i>P. flagellata</i>	4
Figura 4. Mecanismo antioxidante de péptidos bioactivos.	7
Figura 5. Mecanismos de acción de péptidos antioxidantes	7
Figura 6. Mecanismos cinéticos de inhibición de péptidos inhibidores de α -amilasa.	8
Figura 7. Metodología empleada para el análisis de <i>P. flagellata</i>	18
Figura 8. Grado de hidrólisis de las fases simuladas de <i>P. flagellata</i>	25
Figura 9. Péptidos generados por <i>P. flagellata</i> en la digestión <i>in vitro</i>	27
Figura 10. Capacidad antioxidante de DPPH de los péptidos <i>P. flagellata</i> en las fases simuladas.	28
Figura 11. Captura del radical ABTS de los péptidos de <i>P. flagellata</i>	29
Figura 12. Capacidad de reducción del ion Fe (III) a Fe (II) de los péptidos de <i>P. flagellata</i>	30
Figura 13. Inhibición de la enzima α -amilasa de los péptidos obtenidos en la digestión <i>in vitro</i>	31
Figura 14. Actividad inhibitoria de la enzima acetilcolinesterasa de los péptidos de <i>P. flagellata</i>	32
Figura 15. Índice de hidrofobicidad de las fases de la digestión <i>in vitro</i> de <i>P. flagellata</i>	33
Figura 16. Capacidad de carga de curcumina de los péptidos obtenidos por digestión <i>in vitro</i> de <i>P. flagellata</i>	35
Figura 17. Capacidad de carga de quercetina de los péptidos obtenidos por digestión <i>in vitro</i> de <i>P. flagellata</i>	35

V. RESUMEN

El objetivo de la investigación fue evaluar la digestión *in vitro* de proteína extraída del caracol *Pomacea flagellata* para determinar sus propiedades bioactivas. Las muestras fueron recolectadas, depuradas y procesadas para extraer la proteína mediante punto isoeléctrico, que posteriormente fue sometida a digestión simulada en fases oral, gástrica e intestinal. Se midió el grado de hidrólisis (TNBS), la liberación de péptidos, actividad antioxidante (DPPH, ABTS, FRAP), actividad antihiper glucémica (inhibición de α -amilasa), inhibición de acetilcolinesterasa (AChE), actividad hemolítica, índice de hidrofobicidad y capacidad de carga bioactiva (curcumina y quercetina). Los resultados mostraron que la hidrólisis proteica fue mínima en la fase oral, aumentó moderadamente en la gástrica (máx. 8% a 120 min) y alcanzó valores estables de 37–39% en la intestinal. La liberación de péptidos fue máxima en la fase intestinal ($\sim 900 \mu\text{g}/\mu\text{L}$), significativamente mayor que en la gástrica ($\sim 250 \mu\text{g}/\mu\text{L}$) y nula en la oral. En antioxidantes, el ensayo ABTS presentó la mayor actividad (97–100% en la fase intestinal), seguido de DPPH (máx. 44% a 30 min intestinal) y FRAP (máx. $51 \mu\text{M ET}/\mu\text{g}$ a 30 min intestinal). La inhibición de α -amilasa fue más alta en la fase intestinal (93% a 60 min), mientras que la inhibición de AChE se detectó en todas las fases (máx. 57% en fase gástrica). No se observó actividad hemolítica en ninguna fase. El índice de hidrofobicidad fue mayor en la fase intestinal (176 a los 120 min), sugiriendo alta interacción con membranas. La carga bioactiva mostró afinidad por curcumina y quercetina, con mayores valores en fases gástrica e intestinal. En conclusión, los péptidos generados durante la digestión de *P. flagellata* presentan notables propiedades antioxidantes, antihiper glucémica y actividad inhibidora de acetilcolinesterasa con potencial en el manejo de trastornos neurodegenerativos, sin

toxicidad hemolítica, lo que sugiere su potencial aplicación nutracéutica y terapéutica, aunque se recomienda evaluar su seguridad por la alta hidrofobicidad observada.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

VI.ABSTRACT

The objective of the research was to evaluate the *in vitro* digestion of protein extracted from the snail *Pomacea flagellata* to determine its bioactive properties. Samples were collected, depurated, and processed to extract the protein through isoelectric point precipitation, which was then subjected to simulated digestion in oral, gastric, and intestinal phases. The degree of hydrolysis (TNBS), peptide release, antioxidant activity (DPPH, ABTS, FRAP), antihyperglycemic activity (α -amylase inhibition), acetylcholinesterase (AChE) inhibition, hemolytic activity, hydrophobicity index, and bioactive loading capacity (curcumin and quercetin) were measured. Results showed that protein hydrolysis was minimal in the oral phase, increased moderately in the gastric phase (max. 8% at 120 min), and reached stable values of 37–39% in the intestinal phase. Peptide release was highest in the intestinal phase ($\sim 900 \mu\text{g}/\mu\text{L}$), significantly greater than in the gastric ($\sim 250 \mu\text{g}/\mu\text{L}$) and absent in the oral phase. Regarding antioxidants, the ABTS assay showed the highest activity (97–100% in the intestinal phase), followed by DPPH (max. 44% at 30 min intestinal) and FRAP (max. $51 \mu\text{M ET}/\mu\text{g}$ at 30 min intestinal). α -Amylase inhibition was highest in the intestinal phase (93% at 60 min), while AChE inhibition was detected in all phases (max. 57% in the gastric phase). No hemolytic activity was observed in any phase. The hydrophobicity index was highest in the intestinal phase (176 at 120 min), suggesting high interaction with membranes. Bioactive loading showed affinity for curcumin and quercetin, with higher values in gastric and intestinal phases. In conclusion, peptides generated during *P. flagellata* digestion exhibit notable antioxidant, antihyperglycemic, and acetylcholinesterase inhibitory activity with potential in the management of neurodegenerative disorders, without hemolytic toxicity, suggesting their

potential nutraceutical and therapeutic application; however, safety evaluation is recommended due to the high hydrophobicity observed.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

VII. INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas que más ha afectado a la sociedad mexicana en los últimos años es la creciente incidencia de Enfermedades No Transmisibles (ENT). Las ENT con más repercusión a nivel nacional son las enfermedades cardiovasculares, la diabetes *mellitus* y el cáncer (INEGI, 2023). En la situación actual, surge la necesidad de combatirlas y uno de los enfoques para mitigar su incidencia es la prevención (Secretaría de Salud, 2022).

Actualmente existen diversos métodos para evitar la aparición de ENT, uno de ellos es el consumo de péptidos bioactivos (PB) de diversas fuentes alimentarias por medio de suplementos. Estos PB pueden ser de origen vegetal como la soja, maíz, trigo, arroz, cebada y girasol; y animal, siendo las de la leche y productos lácteos las de mayor interés junto con la de huevo, carne y músculo de pescado (Mulero et al., 2011). Existe evidencia científica de que los PB tienen efectos fisiológicos beneficiosos, debido a que son capaces de influir en la salud, ayudando a reducir el riesgo de aparición de ciertas enfermedades crónicas (Bao y Wu, 2021; Luis et al., 2016). A pesar de lo anterior, no existen a nivel internacional estándares de consumo para PB, sin embargo, su uso se justifica por estudios *in vitro* e *in vivo* de los efectos que estos tienen (Baquero, et al., 2025).

Los caracoles son un alimento que ha sido consumido por el ser humano desde la antigüedad, sirviendo como una fuente de proteínas de fácil acceso. *Pomacea flagellata* es una especie de caracol, también conocida por el nombre de "tote" o "caracol de río". Este caracol es una especie endémica del estado de Tabasco. De esta especie se conocen datos sobre su información nutrimental, en la que destaca su alto contenido de proteínas. Sin embargo, no existe información sobre la actividad biológica que podría existir de la hidrólisis de sus proteínas (De Jesús-Navarrete y Tun, 2016; Ramírez-Muñoz et al., 2021; Vázquez-Silva et al., 2011).

Por lo antes expuesto, este trabajo consistió en evaluar la potencial bioactividad de los péptidos obtenidos de la hidrólisis de *P. flagellata*.

VIII. MARCO TEÓRICO

8.1. *Pomacea flagellata*

8.1.1. Origen y distribución

Los caracoles de género *Pomacea* son originarios del continente americano. Cuenta con 17 especies vivas. Esta familia se encuentra distribuida desde el sur de Estados Unidos hasta Argentina. También se ha encontrado otras especies de esta familia en India, Sri Lanka, Tailandia y en Egipto, extendiéndose hacia el interior del continente (Vázquez-Silva et al., 2011).

En México se puede hallar dos especies: *Pomacea flagellata* y *Pomacea patula catemacensis*. La especie *P. flagellata* se puede encontrar en los estados de Veracruz, Tabasco, Campeche, Yucatán y Chiapas, como se ilustra en la Figura 1. Esta también es conocida por distintos nombres como “caracol manzana”, “tote”, “caracol de río”, “caracol de pantano”. En el estado de Chiapas se le conoce como “tango” y en Veracruz, “tegogolo” (Ramírez-Muñoz et al., 2021; Vázquez-Silva et al., 2011).



Figura 1. Distribución de *P. flagellata* en México.

Nota. Adaptación con datos obtenidos de Vázquez-Silva et al., (2011).

8.1.2. Taxonomía

El género *Pomacea* pertenece a la Familia *Ampullariidae*, caracterizada por contener caracoles anfibios con un pie móvil muy carnoso. Los caracoles presentan tres estructuras básicas: la concha, el opérculo y la masa visceral, representado en la Figura 2. El nombre del género deriva del griego *Poma* el cual significa manzana. Este género se caracteriza por comprender especies con conchas globosas, en forma de “manzana” y con aberturas ovales amplias, como se muestra en la Figura 3. Las conchas están formadas principalmente de calcio y variarán en tamaño dependiendo de la especie. El color de las conchas puede ser de color amarillo hasta marrón. Debido a que cuentan con branquias, los caracoles pueden encontrarse sumergidos en agua (Pissia et al., 2021; Vázquez-Silva et al., 2011).

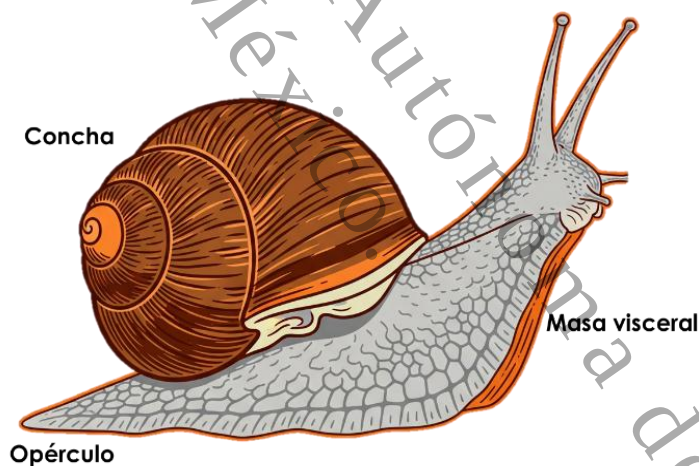


Figura 2. Estructura básica de los caracoles.

Nota. Imagen generada con GeminiAI, (2025).



Figura 3. Concha de *P. flagellata*.

Nota. Adaptado de “MRyRR0277 *Pomacea flagellata*” por Martha Reguero y Arnulfo Rodríguez, (s.f.), (<https://bdi.conabio.gob.mx/fotoweb/archives/5037-Colecci%C3%B3n-Zool%C3%B3gica/Animales/Invertebrados/MRyRR0277%20Pomacea%20flagellata.jpg.info>) CC-BY-NC-ND.

8.1.3. Valor nutritivo

De *P. flagellata* existe información relacionada a su contenido nutrimental, de la cual destaca su alto contenido de proteína. Con 72.7%, *P. flagellata* solo es superado en contenido proteico por el caracol marino *Nucella lapillus* y por el terrestre *Helix aspersa*, tal como se ve en la Tabla 1 (Ramírez-Muñoz et al., 2021).

Tabla 1.

Contenido nutrimental de Pomacea flagellata, Nucella lapillus y Helix aspersa (g/100 g en base seca).

Especie	Humedad (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Cenizas (%)
<i>P. flagellata</i>	88.6	72.7	1.8	8.9
<i>Nucella lapillus</i>	73.7	82.3	8.5	8.0
<i>Helix aspersa</i>	82.5	73.5	3.3	6.1

Nota. Adaptación de datos de Ramírez-Muñoz, et al., (2021).

8.2. Péptidos bioactivos

Existen diversas definiciones para péptidos bioactivos (PB). Este término se refiere a péptidos formados por aminoácidos naturales que presentan diversas combinaciones y secuencias lineales o circulares, y que suelen estar compuestos por entre 2 y 20 residuos de aminoácidos. También se han reportado PB con una longitud de más de 50 residuos de aminoácidos. Los PB han captado el interés de diversos sectores, ya que se pueden utilizar como productos nutricionales y alimentos funcionales, y son considerados seguros para el consumo humano (Bao y Wu, 2021; Ye et al., 2022).

Los PB pueden atravesar el epitelio intestinal y llegar a tejidos periféricos vía circulación sistémica, pudiendo ejercer funciones específicas a nivel local, en el tracto gastrointestinal y a nivel sistémico. Los PB influyen en el metabolismo de las células y funcionar como vasorreguladores, factores de crecimiento, inductores hormonales y neurotransmisores (Mulero et al., 2011).

8.2.1. Propiedades

Los PB presentan distintos tipos de actividad biofuncional pero se destaca principalmente la actividad antioxidante.

8.2.1.1 Actividad antioxidante

Los radicales libres son moléculas que se generan de manera constante en las células y que normalmente son neutralizados por los sistemas antioxidantes naturales del cuerpo. De forma normal, los seres vivos pueden producir y eliminar radicales libres debido a la degradación que ocurre durante el catabolismo en los ciclos metabólicos. Cuando se acumulan radicales libres conduce a la oxidación, provocando daños en los tejidos, la alteración de las rutas metabólicas, en los genes y aumentando la posibilidad de adquirir enfermedades como el cáncer, diabetes y trastornos en el sistema nervioso (Lorenzo et al., 2018)

Los organismos producen moléculas con efecto antioxidante. Existen diversas sustancias consideradas antioxidantes, entre ellas está la catalasa (CAT), el glutatión (GPH), la familia de enzimas glutatión peroxidasa (GPx), la glutatión-S-transferasa (GST) y la superóxido dismutasa (SOD). El consumo de antioxidantes exógenos podría ayudar

previniendo el daño por la oxidación cuando los oxidantes son menores a la cantidad de sustancias que generan radicales libres (Mulero, et al., 2011).

Los mecanismos de acción de los péptidos con actividad antioxidante son la eliminación de radicales libres, la quelación de iones metálicos y la inhibición de la peroxidación lipídica, dependiendo del tipo reacción que presenten para eliminar la oxidación celular, como se ilustra en la Figura 4. El mecanismo de acción por eliminación de radicales libres consiste en eliminar las especies reactivas de oxígeno/nitrógeno (ROS), además de otros radicales como el anión superóxido ($O_2^{\cdot -}$) y el radical hidroxilo ($OH^{\cdot}$), esta eliminación consiste en la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) y la transferencia de un solo electrón (SET). Por otro lado, la quelación de metales presenta actividad cuando el desequilibrio iónico de metales favorece la generación de radicales libres mediada por metales, lo que promueve modificaciones en las bases nitrogenadas del ADN e incrementa la peroxidación de lípidos. Su actividad se calcula midiendo capacidad para quelar Fe^{2+} y Cu^{2+} , evitando la reacción con el oxígeno molecular o para mantener la valencia de la molécula. La peroxidación lipídica es la oxidación degradativa de lípidos, en específico, ácidos grasos insaturados, iniciada por radicales libres y que tienden a propagarse por reacción en cadena. Los péptidos antioxidantes actúan directamente contra la peroxidación interrumpiendo la cadena propagativa y evitando que se generen ROS. Esta información se resume en la Figura 5 (Zhu, et al., 2022).

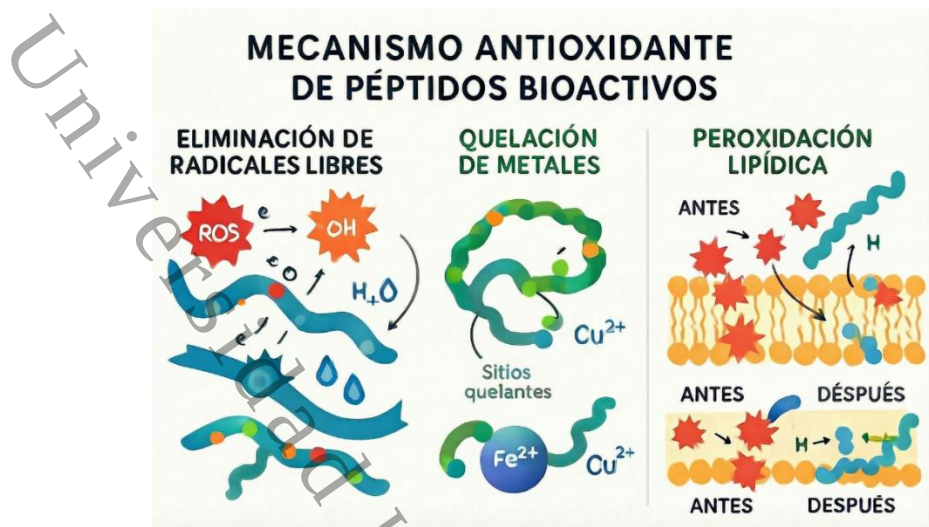


Figura 4. Mecanismo antioxidante de péptidos bioactivos.

Nota. Imagen generada con ManusIA, (2025) y adaptada de los datos de datos de Zhu, Y., et al., (2022).

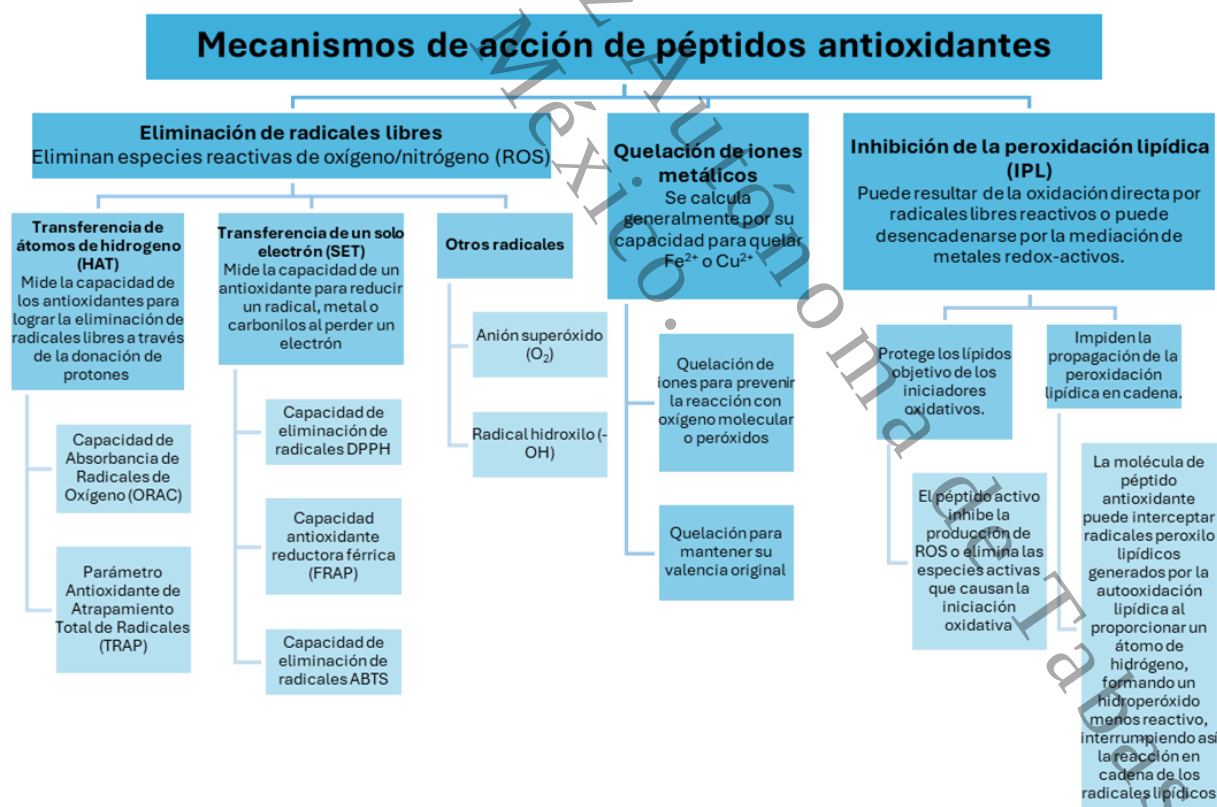


Figura 5. Mecanismos de acción de péptidos antioxidantes.

Nota. Adaptación de datos de Zhu, Y., et al., (2022).

8.2.1.2 Actividad antihiper glucémica por α -amilasa

La diabetes *mellitus* es una condición metabólica que se caracteriza por niveles elevados de glucosa en sangre de manera crónica, originada por la interacción entre factores genéticos y hábitos de vida poco saludables. Aunque existen diversos fármacos sintéticos efectivos para gestionar esta hiperglucemia, es común que los pacientes diabéticos experimenten efectos secundarios. Por ello, hay una creciente necesidad de nuevos tratamientos que puedan controlar este desorden metabólico con menor incidencia de efectos adversos en la salud (de Paulo Farias, et al, 2021).

La α -amilasa, una enzima digestiva segregada por las glándulas salivales y pancreáticas, descompone los enlaces glicosídicos α -1,4 presentes en carbohidratos complejos, ya sean lineales o ramificados, transformándolos en oligosacáridos. Su función principal radica en la digestión del almidón, y restringir su actividad contribuirá a disminuir los picos de glucosa en la hiperglucemia después de las comidas (Berraquero-García et al, 2023).

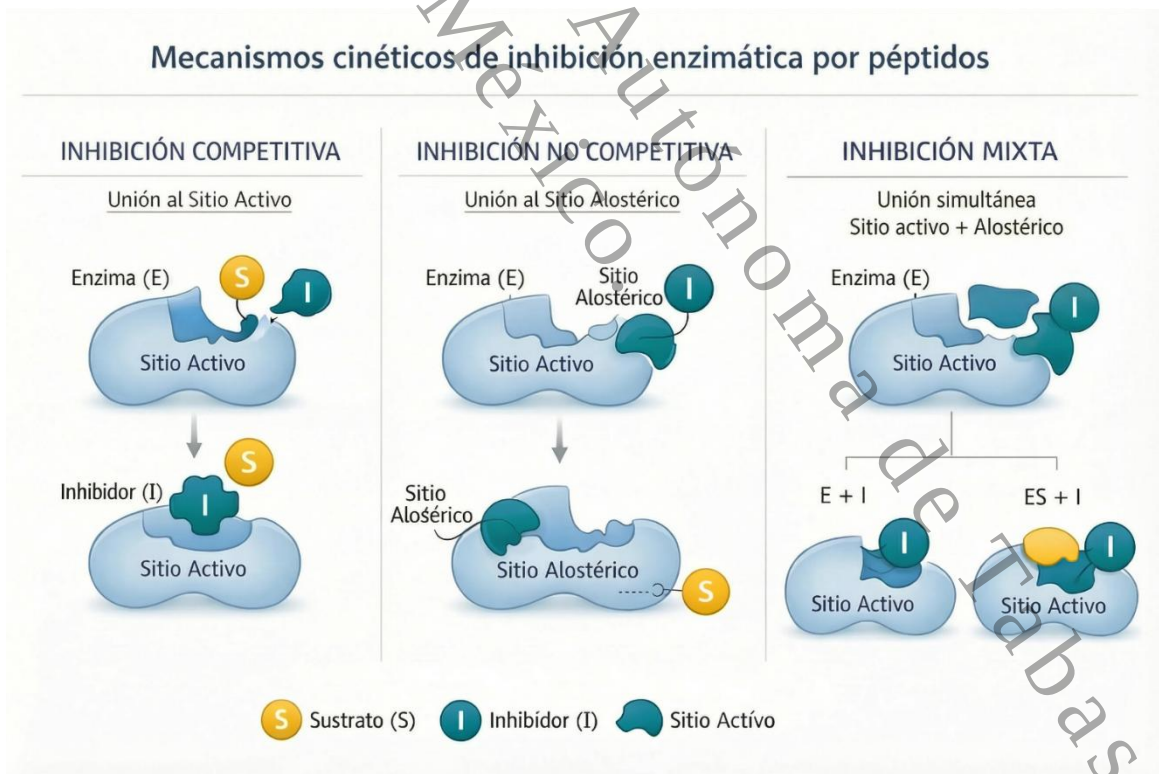


Figura 6. Mecanismos cinéticos de inhibición de péptidos inhibidores de α -amilasa.

Nota. Imagen generada con ManusIA, (2025) y adaptada de Hamadou, (2025).

Las enzimas y los péptidos bioactivos pueden actuar sobre la α -amilasa y α -glucosidasa intestinales, que hidrolizan polisacáridos complejos en azúcares simples de fácil absorción. La inhibición ocurre por mecanismos competitivos, no competitivos o mixtos según su estructura y la afinidad de unión del péptido como se muestra en la Figura 6 (Hamadou, 2025).

8.2.1.3 Inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE)

La enzima acetilcolinesterasa (AChE) es responsable principalmente de descomponer la acetilcolina (ACh), así como algunos otros ésteres de colina que actúan como neurotransmisores. La ACh se encuentra en varios puntos del sistema nervioso y tiene un papel crucial en la actividad cortical, el flujo sanguíneo cerebral, la cognición, el aprendizaje, las actividades relacionadas con las tareas y la memoria, entre otros (Dai et al., 2022).

Durante la transmisión normal de señales entre neuronas, la ACh se libera en la hendidura sináptica y se une a receptores específicos en la membrana de la célula receptora. La AChE, también presente en esa membrana, interrumpe esta señal hidrolizando la ACh. La colina resultante se recoge de nuevo por la neurona emisora, y se sintetiza nueva ACh mediante un proceso enzimático. Cuando se inhibe la AChE, la ACh se acumula en la hendidura sináptica, lo que provoca cambios en la neurotransmisión. Los inhibidores de la AChE que se hidrolizan en horas (inhibidores reversibles) se han utilizado con fines médicos en el tratamiento de una variedad de trastornos del sistema nervioso central, en particular la enfermedad de Alzheimer (Masondo et al., 2019).

Los péptidos bioactivos han demostrado potencial para inhibir la AChE de forma más selectiva y segura, disminuyendo los efectos secundarios que poseen medicamentos sintéticos, tal como el donepezilo, rivastigmina y galantamina (Asen et al., 2022).

8.2.1.4 Actividad hemolítica

La hemólisis se define como la degradación prematura de los glóbulos rojos antes de alcanzar su vida útil normal de 120 días. La actividad hemolítica es la capacidad de una

sustancia para romper los glóbulos rojos. Los glóbulos rojos son las células sanguíneas que transportan oxígeno a los tejidos del cuerpo. Cuando se lisan los glóbulos rojos, se libera la hemoglobina, una proteína que transporta el oxígeno (Delvasto-Núñez et al., 2021).

Diversas enfermedades se identifican por un recambio excesivo de glóbulos rojos, como la hemólisis, ya sea como causa principal en trastornos genéticos relacionados con la hemoglobina, alteraciones en las membranas celulares o déficits enzimáticos, o como una consecuencia adquirida vinculada a transfusiones, infecciones, enfermedades autoinmunes y estrés mecánico (Vallelian et al., 2022).

La citotoxicidad de nuevos compuestos debe ser evaluada para interactuar con sistemas biológicos humanos *in vivo*. Un paso inicial para este tipo de evaluaciones suele consistir en medir el grado de daño que el compuesto causa a la membrana de los eritrocitos, llevando a la liberación del contenido intracelular (Sæbø et al., 2023).

8.2.1.5 Índice de hidrofobicidad

La interacción hidrofóbica en las proteínas desempeña un papel fundamental en la configuración y solidez de las estructuras proteicas naturales. Este fenómeno se manifiesta como una atracción entre moléculas que carecen de afinidad por el agua cuando se encuentran en un entorno acuoso. La naturaleza hidrofóbica o hidrofílica de las cadenas laterales de los aminoácidos juega un rol fundamental en definir la naturaleza de las interacciones entre péptidos y proteínas (Cserhati y Szögyi, 1995; Schmidtchen et al., 2014).

Las proteínas son cadenas de aminoácidos que tienen áreas hidrófobas, hidrófilas y con carga iónica. El índice de hidrofobicidad indica la propensión de una molécula a evitar el contacto con el agua y se determina por su solubilidad en un disolvente orgánico (Bergfreund, et al., 2021)

La hidrólisis de proteínas puede modificar la hidrofobicidad de su superficie al exponer regiones hidrofóbicas que normalmente se encuentran dentro de la estructura compacta de las proteínas (Moghadam et al., 2020).

8.2.1.6 Carga bioactiva

En décadas recientes, se ha generado interés en la integración de compuestos bioactivos a los suplementos alimenticios. Sin embargo, los compuestos suelen presentar baja solubilidad acuosa y poca estabilidad, las cuales reducen su eficacia. Las proteínas y los aminoácidos destacan por sus propiedades ya que resuelven las limitaciones actuales, demostrando su potencial en el transporte de moléculas. Los grupos funcionales de cadena lateral proporcionan sitios para acoplamiento de compuestos bioactivos (Wang, et al., 2025).

La carga bioactiva se refiere a la capacidad de las proteínas y sus fragmentos obtenidos mediante hidrólisis para unir o alojar compuestos bioactivos. Los fragmentos de proteínas obtenidos por hidrólisis tienen una mejor habilidad para unirse a compuestos bioactivos en comparación con la proteína nativa. Esto se vuelve aún más efectivo a medida que se incrementa el tiempo de hidrólisis. Esta mejora se debe a que tienen más áreas hidrofóbicas en su superficie. Compuestos bioactivos como la curcumina y la quercetina son moléculas que prefieren unirse a las partes hidrofóbicas (Moghadam et al., 2020).

8.3. Obtención de péptidos bioactivos

Se han desarrollado diferentes procesos para producir estos PB, que incluyen métodos como la síntesis química, fermentaciones microbianas, la hidrólisis enzimática *in vivo* o *in vitro*, e incluso combinaciones de estas técnicas. La forma más común de producir PB es a través de la hidrólisis enzimática de moléculas de proteína completas. Además de los microorganismos vivos, también se han utilizado enzimas proteolíticas de fuentes bacterianas y fúngicas para generar PB a partir de diversas proteínas (Hernández-Ledesma et al., 2011).

El uso de proteinasas de calidad alimentaria derivadas de microbios disponibles comercialmente para hidrolizar las proteínas alimentarias es ventajoso ya que estas enzimas son económicas y seguras, y los rendimientos del producto son muy altos (Martínez-Medina et al., 2019).

8.3.1. Hidrólisis enzimática *in vitro*

La hidrólisis enzimática es un proceso controlado, suave y de alta especificidad. Se controlan factores como el pH, temperatura y la concentración de sustrato. Es el método más común para producir PB (Ulug et al., 2021).

La digestión en el cuerpo humano es un proceso esencial que tiene como objetivo reducir el tamaño de los alimentos y transformarlos en nutrientes asimilables por las células del cuerpo. Los ensayos de digestión *in vitro* (DIV) replican las condiciones fisiológicas de la digestión *in vivo* que ocurre en el organismo. Este método es ampliamente utilizado debido a su rapidez, bajo costo y capacidad de reproducibilidad. Los ensayos de DIV permite obtener información sobre la bioaccesibilidad, la biodisponibilidad y la digestibilidad (Madalena et al., 2022).

La DIV se basa en los conocimientos actuales de la fisiología humana relacionados con el funcionamiento del sistema digestivo. Por lo general, se simulan las etapas oral, gástrica e intestinal del proceso digestivo, y en menor medida se reproduce la fermentación bacteriana. No obstante, existe la limitación de los eventos que ocurren durante la digestión no pueden ser reproducidos completamente, debido a las complejas interacciones alimento-organismo. Además, se deben considerar los factores de la edad, género, estado de salud, enfermedades y genética. Asimismo, se regulan otros parámetros como la concentración y composición de las enzimas, temperatura, el pH y los tiempos de incubación y agitación mecánica (González, 2016).

8.3.2. Fermentaciones microbianas.

Otro de los métodos para formar PB es mediante el uso de microorganismos. La fermentación es un antiguo método de conservación de alimentos en el que se pueden formar PB. Los productos fermentados generalmente se producen mediante fermentación natural y controlada de bacterias del ácido láctico. La fermentación es un método económico, sin embargo, el rendimiento es bajo y el método no es selectivo. Algunas de las cepas utilizadas son las *Lactiplantibacillus plantarum* (anteriormente *Lactobacillus plantarum*) en leche entera de bovino. Además, otros estudios también apoyan el uso de

diferentes bacterias ácido-lácticas como *L. helveticus*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei* y *L. casei* para inducir la liberación de péptidos (Lorenzo et al., 2018).

En otros estudios se han obtenido péptidos de *Bacillus subtilis* en carne de sardina, bienio cebra, gobio y raya. También se han obtenido PB a partir de desechos de camarón mediante fermentación de *Pediococcus acidolactici*. Básicamente, para obtener PB por este medio, es relevante considerar la materia prima, la especie y cepa de los microorganismos (Ulug et al., 2021)

8.3.3. Síntesis química.

La hidrólisis química presenta las ventajas de ser sencilla y barata en comparación con los otros métodos. Se utilizan ácidos o alcalinos para romper los enlaces peptídicos y producir péptidos y aminoácidos libres. Este método tiene sus desventajas, como que la dificultad para controlar la hidrólisis, obteniendo diversos compuestos químicos. También, el uso de disolventes y las condiciones extremas de pH y temperatura disminuye las cualidades nutricionales y baja bioactividad. La hidrólisis alcalina de las proteínas alimentarias forma derivados del aminoácido lisinoalanina, que es altamente indeseable en los alimentos (Ulug et al., 2021).

IX.JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades No Transmisibles afectan a gran parte de la población en el país, afectando el estilo de vida de miles de personas al año. Muchas de estas enfermedades pueden prevenirse con un estilo de vida activo y una alimentación balanceada. Los péptidos bioactivos plantean una alternativa para prevenir el desarrollo de estas enfermedades. No obstante, la mayoría de los estudios realizados se han centrado en la búsqueda de péptidos en fuentes tradicionales, tales como lácteos o soya, dejando de lado a los alimentos no convencionales.

P. flagellata es una especie de caracol de agua dulce consumida en zonas muy específicas del estado de Tabasco. Generalmente es posible encontrarlo en los ríos del estado y su producción para consumo está limitada a pequeña escala. Esta especie poco aprovechada se considera una fuente potencial de péptidos bioactivos.

Si bien existe literatura relacionada a su morfología, enfermedades parasitarias y su producción en cautiverio; es poca la investigación relacionada a la carne y sus efectos en el ser humano, limitándose a análisis bromatológico, microbiológico y su uso en la cocina gourmet. Dada la información anterior, es importante determinar las propiedades bioactivas de la carne de *P. flagellata* y recabar datos sobre su uso potencial en la prevención de ENT por medio de una digestión *in vitro*, técnica seleccionada por su selectividad y rapidez.

La información recabada aportará información sobre los beneficios de su consumo y su incorporación en la dieta tabasqueña en la prevención de enfermedades, así como a el aumento en la escala de producción de este molusco. Por ende, el objetivo de esta investigación es evaluar las propiedades bioactivas de los péptidos obtenidos por digestión *in vitro* de la carne de *P. flagellata*

X. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿La proteína de *Pomacea flagellata* tiene propiedades bioactivas al ser sometidos a una digestión *in vitro*?

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

XI.HIPÓTESIS

El efecto bioactivo de los péptidos obtenidos por digestión *in vitro* de la proteína de *P. flagellata* tienen además del potencial antioxidante y antihiper glucémica, la capacidad de inhibir la enzima acetilcolinesterasa.

XII. OBJETIVOS

General

- Evaluar las propiedades bioactivas de los péptidos obtenidos por digestión *in vitro* de proteína de *P. flagellata*.

Específicos

- Determinar el grado de hidrólisis durante las fases de simulación de la digestión *in vitro* de proteína de *P. flagellata*.
- Evaluar la actividad antioxidante, antihiper glucémica e inhibición de la acetilcolinesterasa de los péptidos obtenidos en la simulación de la digestión *in vitro*.
- Determinar la actividad hemolítica, el índice de hidrofobicidad y la carga bioactiva de los péptidos obtenidos en las fases de digestión.

XIII. METODOLOGÍA

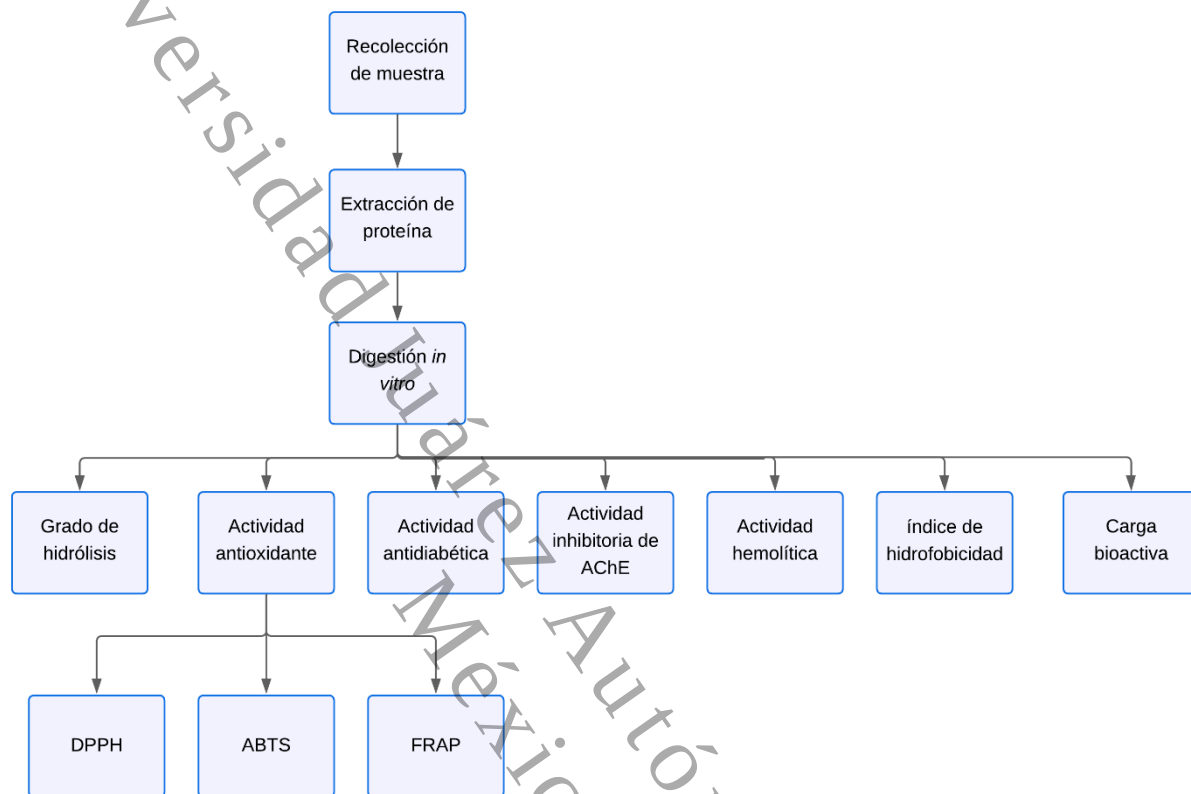


Figura 7. Metodología empleada para el análisis de *P. flagellata*.

13.1. Métodos

La metodología seguida se muestra en la Figura 7.

13.1.1. Recolección de muestra

Las muestras se obtuvieron de la División Académica Multidisciplinaria de los Ríos de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, ubicada en Tenosique. Una vez obtenidas las muestras de los caracoles, fueron depuradas en agua purificada (8 y 12 días) sin darles alimento y posteriormente se separaron de su concha y eviscerados para obtener el músculo (750 g). El músculo obtenido fue lavado con agua purificada abundante y

después escaldado a 85°C durante 10 minutos (562.5 g) con el propósito de inactivar enzimas endógenas. La cantidad de muestra inicial se redujo un 25%.

Los músculos escaldados se enfriaron a temperatura ambiente, luego almacenados a temperatura de refrigeración (4-6°C) y posteriormente congelados (-18°C) para su transporte a la División Académica de Ciencias Agropecuarias para ser analizadas.

13.1.2. Extracción de la proteína

La muestra congelada (565 g) a -18°C se liofilizó durante 120 h a -50°C y a una presión de 0.5 mbar en una LEMONECH LM-HFD-4. Luego, la muestra fue sometida a una reducción en el tamaño de partículas por medio de molienda en un molino Hamilton Beach 80350R y desgrasado con hexano, en una relación soluto-solvente 1:6 y se aplicó agitación orbital a 300 rpm en un BIGBill Digital, ThermoLyne, durante 90 min. El hexano residual fue eliminado por evaporación expuesto al ambiente. Finalmente, se aplicaron lavados con metanol frío. La proteína se dejó por 1 h a temperatura de refrigeración para eliminar el solvente residual.

13.1.3. Digestión *in vitro*

La proteína previamente extraída fue digerida *in vitro*, siguiendo la metodología de González et al. (2021) para simular las condiciones oral, gástrica e intestinal. Se realizaron dos tomas de muestra en la fase oral en los minutos 0 y 2, respectivamente, mientras que en la fase gástrica e intestinal fueron hechas 5 tomas de muestras en los minutos 0, 30, 60, 90 y 120.

En la fase oral se simuló el líquido salival (KCl 15.1 mmol/L, KH_2PO_4 3.7 mmol/L, NaHCO_3 13.6 mmol/L, $\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$ 0.15 mmol/L, $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ 0.06 mmol/L, y HCl 1.1 mmol/L; $\text{CaCl}_2 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2$ a una concentración de 1.5 mmol/L y de enzima α -amilasa (para obtener una actividad de 75 U/mL). Las muestras fueron incubadas por 2 min a 37 °C con agitación a 80 rpm en un baño seco JOANLAB, DB100.

La fase gástrica fue simulada mediando la adición de líquido gástrico simulado, compuesto por KCl 6.9 mmol/L, KH_2PO_4 0.9 mmol/L, NaHCO_3 25 mmol/L, NaCl 47.2 mmol/L, $\text{MgCl}_2 \cdot (\text{H}_2\text{O})_6$ 0.1 mmol/L, $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ 0.5 mmol/L y HCl 15.6 mmol/L; por $\text{CaCl}_2 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2$ a 0.15 mmol/L y una solución de pepsina porcina con una actividad de 2

000 U/mL. El valor del pH se ajustó a 3.0 con 1 mol/L de HCl. Las muestras se incubaron en un baño de agua con agitación a 37°C durante 2 h.

La fase intestinal fue simulada por medio de la emulación del líquido intestinal elaborado con KCl 6.8 mmol/L, KH₂PO₄ 0.8 mmol/L, NaHCO₃ 85 mmol/L, NaCl 38.4 mmol/L, MgCl₂·(H₂O)₆ 0.33 mmol/L y HCl 8.4 mmol/L); con CaCl₂·(H₂O)₂ a una concentración de 0.6 mmol/L, una solución de pancreatina con una actividad de 100 U/mL y una solución de bilis de 10 mmol/L. El valor del pH se ajustó a 7.0. Las muestras fueron incubadas a 37°C durante 2 h y con agitación. Al finalizar el tiempo se inhibió la actividad enzimática al someterla en un baño a 100°C y se congeló la muestra líquida hasta su análisis correspondiente.

13.1.4. Grado de hidrólisis TNBS

El grado de hidrólisis de la muestra hidrolizada se obtuvo mediante la metodología de González et al. (2021); una muestra de cada fase de la digestión *in vitro* (DIV) fue diluida en NaHCO₃ a pH 8.5. Luego se añadió ácido sulfónico 2,4,6-trinitrobenceno (TNBSA) al 0.1% y fue incubado a 37°C durante 2 h. Después se añadió dodecilsulfato sódico (SDS) al 10% y HCl 1 mol/L a las muestras y se midió la absorbancia a 335 nm en un espectrofotómetro VELAB, VE5100UV. El grado de hidrólisis fue calculado como el porcentaje de enlaces peptídicos rotos respecto al total, empleando la siguiente ecuación:

$$HD(\%) = \left(\frac{h_{\text{muestra}}}{h_{\text{total}}} \right) \times 100$$

Donde:

- h_{muestra} es el número de enlaces peptídicos rotos en la muestra después de cada fase de digestión *in vitro*
- h_{total} es el número total de enlaces peptídicos en la muestra después de la fase intestinal.

13.2. Determinación de propiedades bioactivas

13.2.1. Actividad antioxidante

13.2.1.1 DPPH

Este análisis se realizó de acuerdo con López-Pedrouso et al. (2021), para obtener la capacidad de captura del radical DPPH se mezcló 1 mL de la muestra diluida (3 mg/mL) con 1 mL de DPPH a 0.1 mmol/L en etanol al 95%. Tras una intensa agitación, la mezcla se dejó reposar en oscuridad durante 10 min y fue centrifugada a 10 000 g durante 5 min para separar los componentes insolubles. Se leyó la absorbancia de la muestra en el espectrofotómetro a 517 nm y se expresaron en % de captura.

13.2.1.2 ABTS

La metodología ABTS se realizó según el método de López-Pedrouso et al. (2021). Una vez elaborada la solución ABTS el procedimiento consistió en mezclar 970 μ L de la solución de ABTS con 30 μ L de la solución de proteína (3 mg/mL) y su incubación durante 10 minutos. Después se midió la absorbancia a 734 nm y se presentaron los resultados en % de captura.

13.2.1.3 FRAP

Esta determinación se realizó con base en la metodología descrita por López-Pedrouso et al. (2020), el reactivo FRAP se preparó combinando un tampón acetato 0.3 M a pH 3.6, 2,4,6-tripiridil-s-triazina a 10 mM en HCl 40 mM y $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ a 20 mM, en una proporción de 10:1:1 (v:v:v). Se mezclaron 870 μ L de esta solución FRAP con 30 μ L de muestra. Seguidamente se incubó durante 20 minutos a 37°C en la oscuridad, y la absorbancia fue medida a 593 nm. Los resultados se expresaron en μ M equivalente ET/ μ g.

13.2.2. Determinación de actividad antihiper glucémica por α -amilasa

El ensayo de actividad antihiper glucémica fue realizado según el método de Ying-Yuan y Chen (2016). Se incubaron 100 μ L de muestra con 500 μ L de tampón fosfato de sodio 0.02 M (pH 6.9, en NaCl 6 mM) que contenían una solución de α -amilasa a 0.5 mg/mL. Después, se añadieron 500 μ L de una solución de almidón al 1% en un tampón de fosfato

de sodio 0.02 M (pH 6.9 con NaCl 6 mM) a cada tubo. La mezcla resultante se incubó a 25 °C durante 10 min, y se detuvo la reacción agregando 1.0 mL de reactivo de ácido dinitrosalicílico. En seguida, la mezcla se calentó en un baño de agua hirviendo durante 5 minutos y luego se enfrió a temperatura ambiente. Posteriormente, se diluyó la mezcla añadiendo 10 mL de agua destilada y se midió su absorbancia a 540 nm. Los resultados se expresaron en porcentaje según la siguiente ecuación:

$$\text{Inhibición (\%)} = \left(\frac{AC^+ - AC^- - (AS - AB)}{AC^+ - AC^-} \right) \times 100$$

Donde:

AC⁺ es la absorbancia cuando la enzima actúa sin interferencia.

AC⁻ es la absorbancia cuando la enzima no actúa.

AS es la absorbancia cuando la enzima actúa en presencia de muestra.

AB es la absorbancia del blanco.

13.2.3. Determinación de la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE)

El ensayo de inhibición de la AChE se realizó siguiendo la metodología Faraone, et al (2019), la cual se basa en la reacción descrita por Ellman. Se incubaron 40 µL de enzima AChE (0.10 U/mL) y 40 µL de ioduro de acetilcolina 15 mM en una solución PBS 0.1 M a pH 8.0. A esta mezcla se le añadieron 40 µL de la muestra. Luego fueron agregados 40 µL ácido 5,5'-ditiobis (ácido 2-nitrobenceno-sulfónico (DTNB) a 3 mM en PBS. la incubación se realizó a 37°C por 20 minutos. Seguidamente las muestras fueron medidas en el espectrofotómetro a 412 nm. Como control positivo de inhibición se utilizó el fármaco donepecilo a 10 µM en PBS, empleado en el tratamiento de Alzheimer y Parkinson, mientras que como control negativo se utilizó PBS. Los resultados se expresaron en porcentaje según la siguiente ecuación:

$$\text{Inhibición (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Abs de la muestra}}{\text{Abs de control}} \right) \times 100$$

13.2.4. Determinación de actividad hemolítica

En el ensayo de actividad hemolítica se siguió la metodología empleada por López-Nahuatt et al. (2020). Se empleó sangre humana obtenida de adultos sanos y no fumadores a través de una punción en la vena del brazo, recolectada en tubos heparinizados. Se evaluó cada etapa de la digestión. El procedimiento consistió en agregar solución Alsever (2% de glucosa, 0.8% de citrato de sodio, 0.42% de cloruro de sodio, 0.055% ácido cítrico) a los péptidos de cada fase de la digestión y los eritrocitos en cada tubo de ensayo, evitando dañar las células. Luego, se incubó la mezcla a 37°C durante 60 min en un baño de agua. Después, se centrifugaron los tubos a 3 000 g durante 4 min a temperatura ambiente y se tomó 1 mL del sobrenadante para su lectura en un espectrofotómetro a 415 nm. Los resultados se expresaron en porcentaje de hemólisis usando la siguiente ecuación:

$$\text{Hemólisis (\%)} = \left(\frac{\text{Muestra} - \text{control negativo}}{\text{control positivo} - \text{control negativo}} \right) \times 100$$

Donde:

Muestra es la absorbancia de la muestra.

Control negativo es la absorbancia del control negativo.

Control positivo es la absorbancia del control positivo.

13.2.5. Determinación del índice de hidrofobicidad

El índice de hidrofobicidad fue determinado siguiendo la metodología de Mudgil et al. (2020). El cambio de la hidrofobicidad causado por la digestión *in vitro* se evaluó usando 1-anilino-naftaleno-8-sulfonato (ANS) como agente de fluorescencia. Se prepararon distintas concentraciones de las muestras entre 0.01 – 0.2 BSA E/mL mediante dilución con agua destilada a pH 8.0 (ajustado con NaOH 1.0 M). Posteriormente, se mezclaron

4 mL de cada muestra con 20 µL de solución ANS (8 mM) y se incubaron en la oscuridad durante 10 minutos. La intensidad de fluorescencia de estas combinaciones se midió con longitudes de onda de excitación y emisión de 390 y 470 nm, respectivamente, usando una abertura de 10 nm. Luego, se generó una figura representando la intensidad de fluorescencia en relación con la concentración de proteínas, utilizando la pendiente inicial como indicador de la hidrofobicidad de la superficie.

13.2.6. Determinación de carga bioactiva

La metodología empleada para este ensayo fue la descrita por Moghadam et al. (2020) para determinar la carga bioactiva. Se dispersó curcumina o quercetina en etanol absoluto y luego se adicionó una concentración final de 0.5 mg/mL a las soluciones de proteína hidrolizada (1:10, curcumina o quercetina: muestra). Las mezclas se agitaron durante 12 h a 25 °C en la oscuridad.

Las mezclas fueron centrifugadas a 1 500 g por 10 minutos para eliminar la curcumina o quercetina descargada. El sobrenadante se mezcló con etanol absoluto para extraer la curcumina cargada. La concentración de curcumina cargada se determinó usando un espectrofotómetro y una curva estándar etanólica de curcumina (0.1 a 10 µm/mL) y quercetina (1 a 20 µm/mL) por separado. Las absorbancias fueron leídas a 420 y 365 nm, respectivamente.

La cantidad de carga bioactiva se calculó usando la siguiente ecuación:

$$\text{Cantidad de carga } (\mu\text{g}/\text{mg}) = \frac{\text{Cantidad cargada de curcumina o quercetina}}{\text{Cantidad total de contenido de proteína}}$$

13.3. Análisis estadístico

Para el análisis de los resultados se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) de un solo factor con un nivel de confianza del $\alpha=0.05$. Cuando se encontraron diferencias estadísticas significativas se aplicó la prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$). Los datos fueron procesados mediante el software GraphPad Prism 8.0.

XIV. RESULTADOS

14.1. Grado de hidrólisis TNBS

En la Figura 8, se muestra el grado de hidrólisis (GH) obtenido durante la fase oral (FO), la fase gástrica (FG) y la fase intestinal (FI), revelando un nulo grado de hidrólisis en la fase oral con respecto a las fases subsiguientes, lo cual es consistente con la limitada acción de las enzimas salivales sobre las proteínas. En la Tabla 2, se muestran las concentraciones de péptidos generados por cada fase en diferentes tiempos. Este resultado evidencia que el procesamiento enzimático en esta etapa es insuficiente para generar una hidrólisis proteica significativa. Por otra parte, durante la fase gástrica se presentaron valores de GH entre 2 y 8%, es decir, de rompimiento de enlaces, alcanzando su valor máximo en el minuto 120 ($p > 0.05$). En contraste, la fase intestinal presentó valores estadísticamente iguales, a partir del minuto 30 con un GH de 38%, sin que se presentaran diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los tiempos de la digestión en la misma fase diferentes al minuto cero.

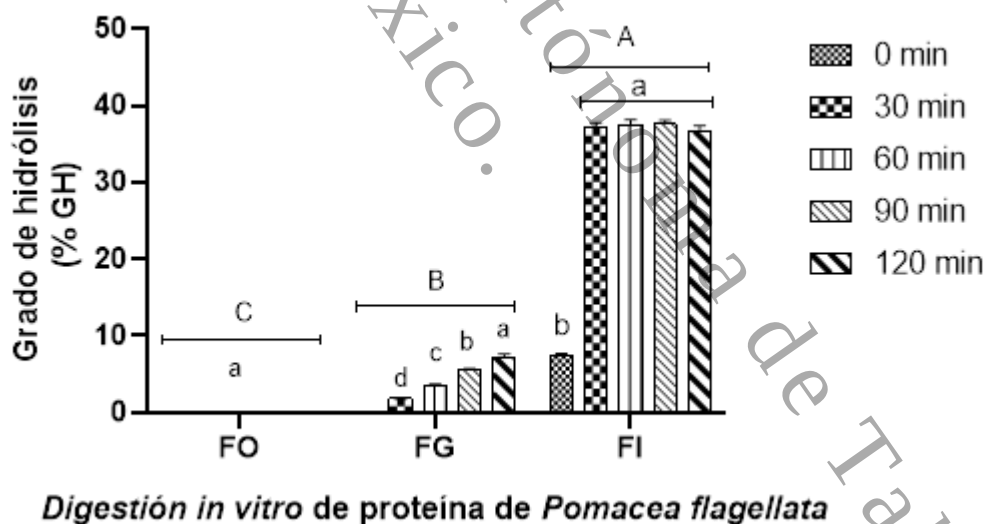


Figura 8. Grado de hidrólisis de las fases simuladas de *P. flagellata*.

Nota. Las letras mayúsculas indican diferencia entre fases y las minúsculas, diferencias entre tiempos de una misma fase. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

Tabla 2.
Concentración ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) de péptidos generados en los diferentes tiempos de cada fase.

Fase/Tiempo (min)	0	30	60	90	120
FO	0.00	-	-	-	-
FG	0.00	35.98 $\pm$ 0.68	70.71 $\pm$ 2.52	112.98 $\pm$ 0.67	145.28 $\pm$ 7.15
FI	149.53 $\pm$ 3.04	742.37 $\pm$ 14.28	750.14 $\pm$ 12.82	752.03 $\pm$ 9.70	734.85 $\pm$ 13.30

Nota. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

14.2. Péptidos generados durante las fases de digestión *in vitro* de proteína de *Pomacea flagellata*

En la Figura 9 muestra la evolución de la liberación de péptidos ($\mu\text{g}/\mu\text{L}$) durante la digestión de la proteína de *Pomacea flagellata*, evaluada de las tres fases fisiológicas simuladas: oral (FO), gástrica (FG) e intestinal (FI). Los resultados revelan una clara diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la liberación de péptidos entre fases, teniendo mayor dependencia del tiempo en la fase intestinal ($p \leq 0.05$).

Durante la FO, no se detectó una liberación significativa de péptidos, independientemente del tiempo. Esto es consistente con la limitada actividad proteolítica en esta etapa del proceso digestivo *in vitro*.

En la FG, se observó un aumento significativo ($p < 0.05$) en la liberación de péptidos con respecto al tiempo. A los 30 min se libera una cantidad baja, que aumenta significativamente ($p \leq 0.05$) a los 60 y 90 min, alcanzando un máximo a los 120 min ($\sim 250 \mu\text{g}/\mu\text{L}$). Este comportamiento se relaciona con la acción de la pepsina en medio ácido, que favorece la hidrólisis de enlaces peptídicos, particularmente en residuos aromáticos e hidrofóbicos (Vreeke, et al., 2023).

En la FI, se evidenció la mayor liberación de péptidos, con valores cercanos a $900 \mu\text{g}/\mu\text{L}$ desde los 30 min hasta los 120 min, sin diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre estos tiempos. Este resultado sugiere que la actividad de las enzimas pancreáticas actúa de

manera rápida en la fase intestinal debido a que la proteína de *P. flagellata* ya ha sufrido cambios en su estructura debido a su interacción con las condiciones ácidas de pH, enzimas y temperatura de la fase gástrica, generando una rápida liberación de péptidos en las primeras etapas entre 0 y 30 minutos (Santos-Sánchez, et al., 2024).

La comparación entre fases, indica que la fase intestinal tuvo una liberación significativamente mayor ($p \leq 0.05$) que la fase gástrica y esta, a su vez, más alta que la fase oral, lo que refleja la progresión fisiológica natural del proceso digestivo.

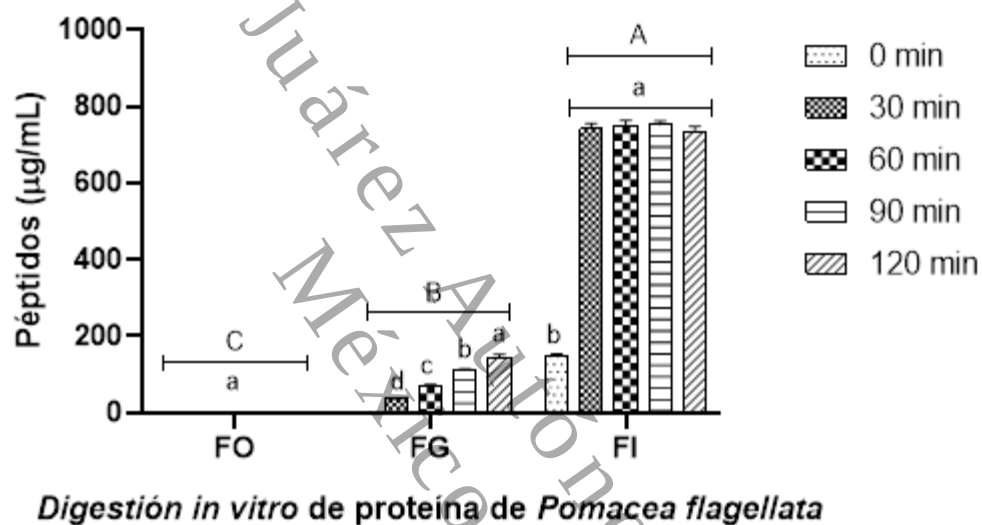


Figura 9. Péptidos generados por *P. flagellata* en la digestión *in vitro*.

Nota. Las letras mayúsculas indican diferencia entre fases y las minúsculas, diferencias entre tiempos de una misma fase. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

14.3. Actividad antioxidante

14.3.1. DPPH

La Figura 10 muestra un efecto significativo ($p \leq 0.05$) de actividad antioxidante en las tres etapas de la digestión, con mayor evidencia en la fase intestinal. En la FO, la mayor captura de radical fue de 32% al minuto cero y luego disminuyó hasta 13% a los 60 min.

La FI alcanzó a los 30 minutos una captura de radical DPPH del 44% y cayó al 8% a los 120 min.

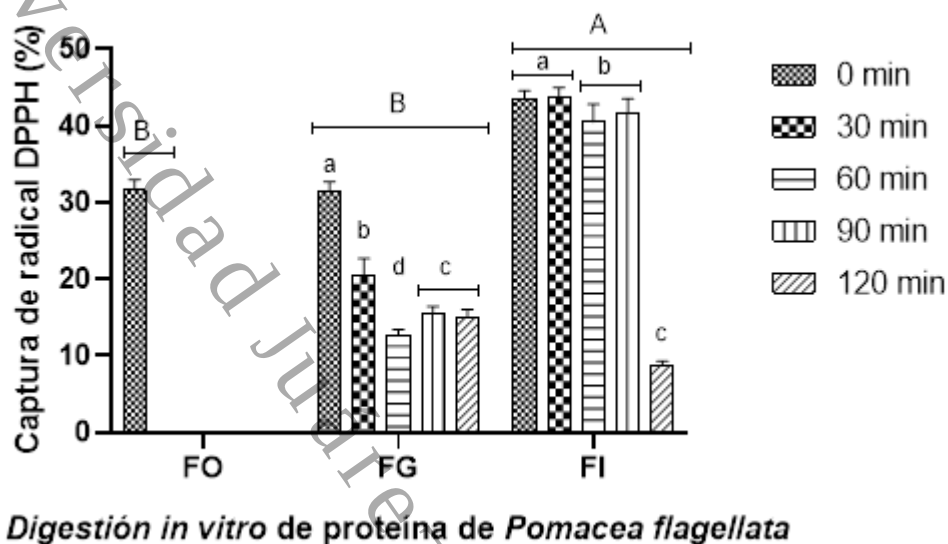


Figura 10. Capacidad antioxidante de DPPH de los péptidos *P. flagellata* en las fases simuladas.

Nota. Las letras mayúsculas indican diferencia entre fases y las minúsculas, diferencias entre tiempos de una misma fase. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

14.3.2. ABTS

En la Figura 11, se muestran los resultados obtenidos del ensayo ABTS. Se observó efecto significativo ($p \leq 0.05$) entre fases de digestión, donde el mayor efecto se presentó en la fase intestinal. Durante la fase oral en el minuto 0 se presentó una captura del 20% del radical ABTS. Por otro lado, en la fase gástrica se presentaron valores oscilantes entre 55 y 70%, siendo el valor más alto correspondiente al minuto 90 y el más bajo al minuto cero. Por último, en la fase intestinal se presentaron valores de absorción entre el 99%, sin diferencias significativas en todos los tiempos.

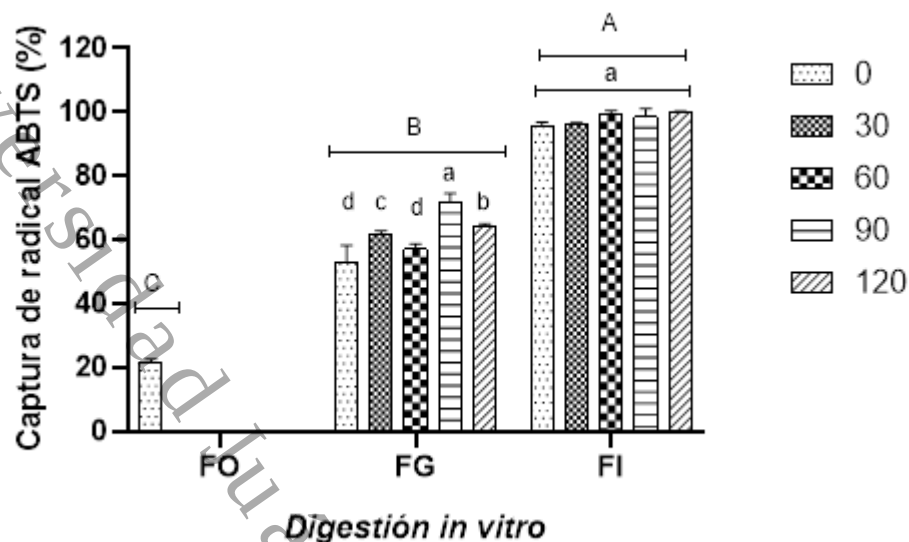
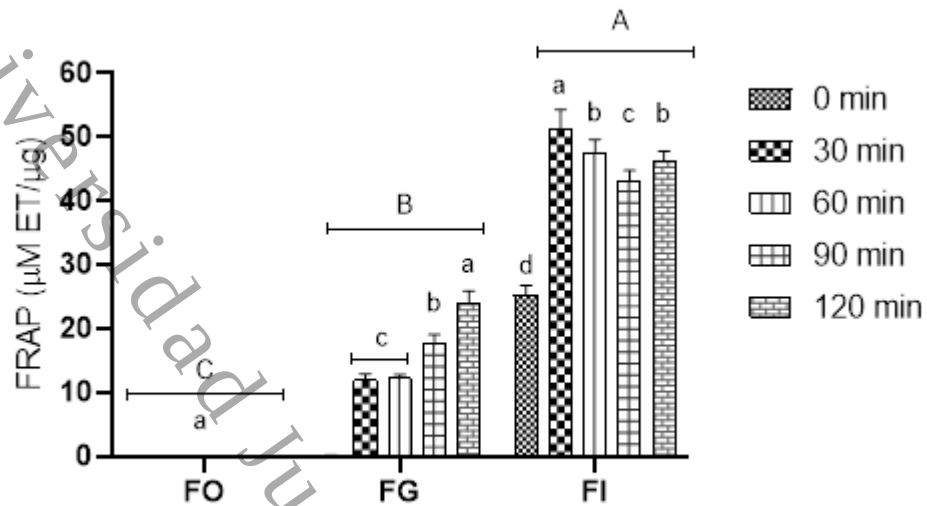


Figura 11. Captura del radical ABTS de los péptidos de *P. flagellata*.

Nota. Las letras mayúsculas indican diferencia entre fases y las minúsculas, diferencias entre tiempos de una misma fase. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

14.3.3. FRAP

Tal como se muestra en la Figura 12, en la digestión *in vitro* se presentó actividad de reducción de hierro en las fases gástrica e intestinal. En la fase gástrica se alcanzaron valores de 26 $\mu\text{M ET}/\mu\text{g}$ a los 120 minutos y un valor mínimo de 13 $\mu\text{M ET}/\mu\text{g}$ en el minuto 30. Por su parte, la fase intestinal presentó valores mayores a la FG. El nivel más alto de actividad se presentó a los 30 minutos y alcanzó un valor de 51 $\mu\text{M ET}/\mu\text{g}$ mientras que el dato más bajo se presentó al inicio de la fase con 28 $\mu\text{M ET}/\mu\text{g}$.



Digestión in vitro de proteína de *Pomacea flagellata*

Figura 12. Capacidad de reducción del ion Fe (III) a Fe (II) de los péptidos de *P. flagellata*.

Nota. Las letras mayúsculas indican diferencia entre fases y las minúsculas, diferencias entre tiempos de una misma fase. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

14.4. Actividad antihiperglucémica

Como se observa en la Figura 13, se presentó actividad de inhibición de la α -amilasa en las tres fases de digestión *in vitro*. Entre las fases se observó diferencia significativa ($p \leq 0.05$) En la fase oral se presentó en el minuto cero una actividad inhibitoria de α -amilasa 72%. Por otro lado, en la fase gástrica se registraron valores con diferencias significativas ($p \leq 0.05$) de actividad de inhibición de α -amilasa en todos los tiempos, siendo el dato más alto de 76% en el minuto 0 y el menor de 28% a los 120 minutos. A su vez, en la fase intestinal se presentó actividad significativa ($p \leq 0.05$) entre los 0 y 30 minutos, siendo el menor la actividad en el minuto 0, con 29% mientras que los valores mayores (91%) se registraron a partir de los 60 minutos sin diferencias significativas.

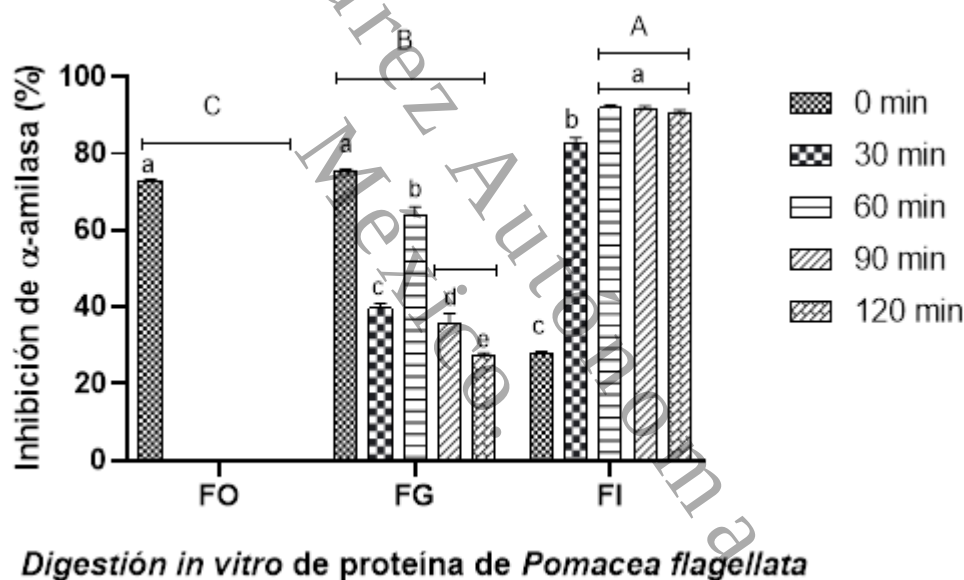


Figura 13. Inhibición de la enzima α -amilasa de los péptidos obtenidos en la digestión *in vitro*.

Nota. Las letras mayúsculas indican diferencia entre fases y las minúsculas, diferencias entre tiempos de una misma fase. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

14.5. Inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE)

La inhibición de enzima acetilcolinesterasa se presentó en todas las fases simuladas con valores significativos ($p \leq 0.05$), como se aprecia en la Figura 14.

En la Figura 14 se aprecia que no existe cambios significativos entre FO y FG. Mientras que, si existe diferencia significativa en la FI con respecto a las otras dos fases.

En la fase oral se presentó al inicio de la reacción con una inhibición del 55%. Por su parte, en la fase gástrica se presentó una inhibición mínima de 53% en el minuto cero y una máxima de 57% a los 90 minutos. No hubo diferencia estadística entre la FO y FG. Por último, en la fase intestinal hubo una disminución significativa ($p \leq 0.05$) del efecto inhibidor.

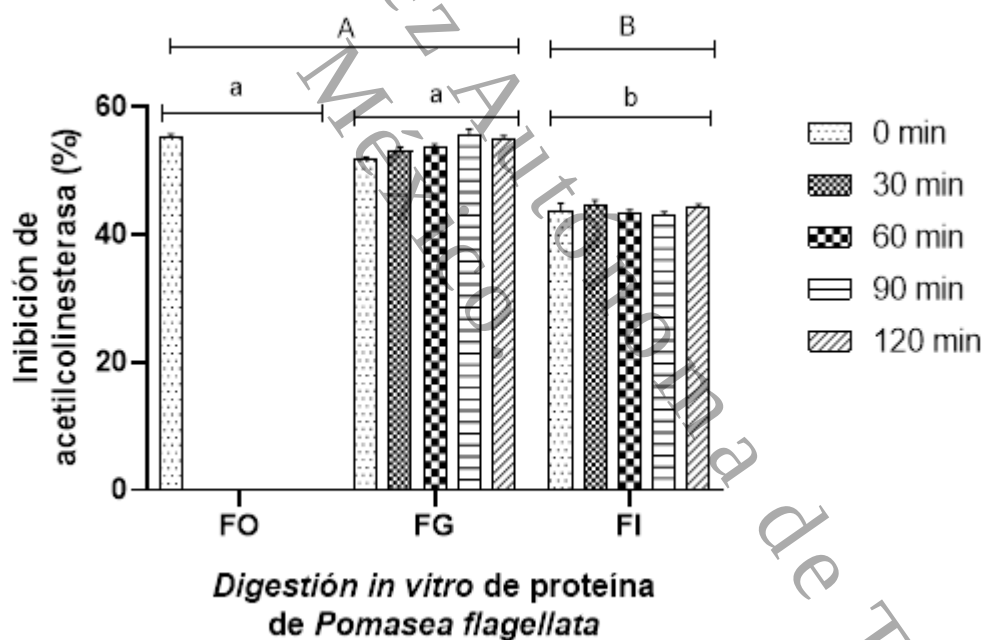


Figura 14. Actividad inhibitoria de la enzima acetilcolinesterasa de los péptidos de *P. flagellata*.

Nota. Las letras mayúsculas indican diferencia entre fases y las minúsculas, diferencias entre tiempos de una misma fase. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

14.6. Actividad hemolítica

Para las condiciones dadas, los péptidos carecen de actividad hemolítica en las tres fases de la digestión *in vitro*, pues los valores no superaron el 2% de la lisis de los eritrocitos.

14.7. Índice de hidrofobicidad

Como se observa en la Figura 15, se obtuvieron resultados significativos ($p \leq 0.05$) para la hidrofobicidad de los péptidos, se constató diferencias ($p \leq 0.05$) entre fases y entre los tiempos de cada una. La fase oral presentó un índice de 92 en el minuto cero de la digestión. Mientras tanto, la fase gástrica presentó un valor mínimo de 23 en el minuto 60 y un valor máximo de 62 a los 90 minutos. En contraste, la fase intestinal mostró resultados elevados, con un valor mínimo de 65 al minuto cero, de 138 a los 90 minutos y un máximo de 176 a los 120 minutos.

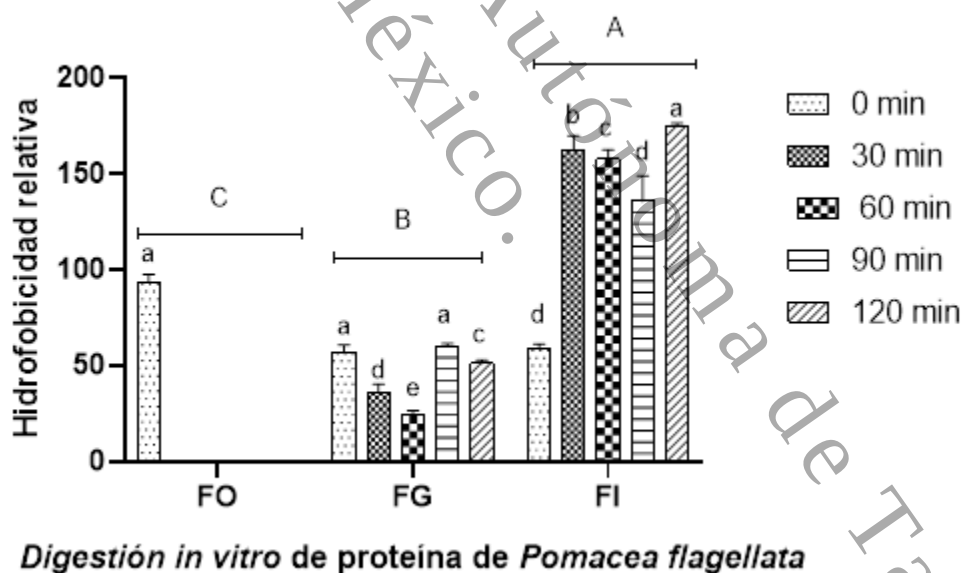


Figura 15. Índice de hidrofobicidad de las fases de la digestión *in vitro* de *P. flagellata*.

Nota. Las letras mayúsculas indican diferencia entre fases y las minúsculas, diferencias entre tiempos de una misma fase. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

14.8. Carga bioactiva

A los péptidos obtenidos se les evaluó su capacidad para incorporar la curcumina y quercetina como compuestos bioactivos. Como se ve en las Figuras 16 y 17, esta capacidad se presentó de manera significativa ($p \leq 0.05$) principalmente en las fases gástrica e intestinal. Para la fase oral, se presentó una carga bioactiva de curcumina de 2.1 $\mu\text{g}/\text{mg}$ en el tiempo cero mientras que para la quercetina en el mismo tiempo se registró una carga de 4.3 $\mu\text{g}/\text{mg}$.

En la FG se presentó un aumento significativo en el tiempo de la carga bioactiva comparado con la FI ($p \leq 0.05$). Para la curcumina, en la FG se obtuvo un valor de carga de 3.4 $\mu\text{g}/\text{mg}$ a los 90 min y un valor de 2.4 $\mu\text{g}/\text{mg}$ a los 60 min. En la quercetina (Figura 17), se presentó el comportamiento opuesto, ya que el valor de carga fue de 4.6 $\mu\text{g}/\text{mg}$ en el tiempo cero y el mínimo de 3.2 $\mu\text{g}/\text{mg}$ a los 120 minutos de la FG.

Por último, en la fase intestinal para la curcumina se obtuvo el valor mínimo de 1.5 $\mu\text{g}/\text{mg}$ en el tiempo 90 y un máximo de 3.3 $\mu\text{g}/\text{mg}$ a los 120 min. Por su parte, la quercetina obtuvo un valor de carga de 2.9 $\mu\text{g}/\text{mg}$ en el tiempo cero y un máximo de 6.1 $\mu\text{g}/\text{mg}$ a los 60 min.

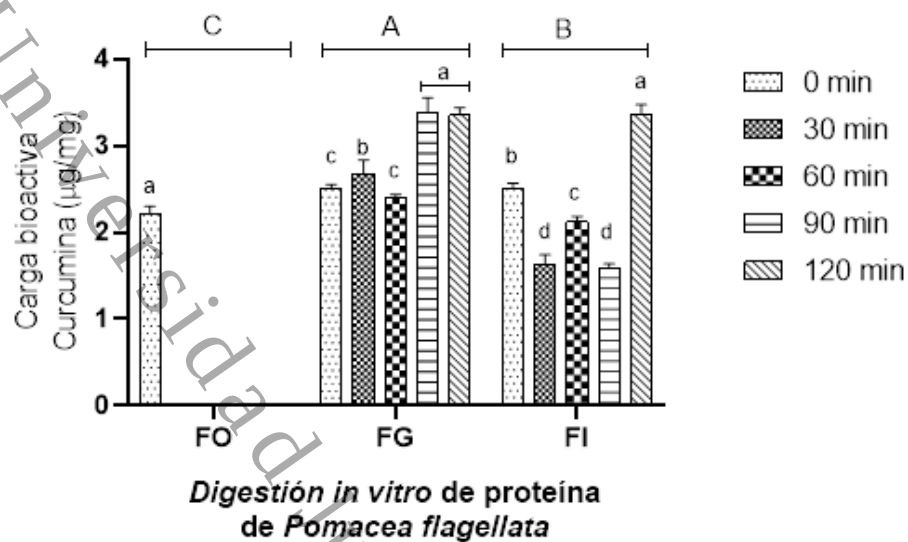


Figura 17. Capacidad de carga de curcumina de los péptidos obtenidos por digestión *in vitro* de *P. flagellata*.

Nota. Las letras mayúsculas indican diferencia entre fases y las minúsculas, diferencias entre tiempos de una misma fase. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

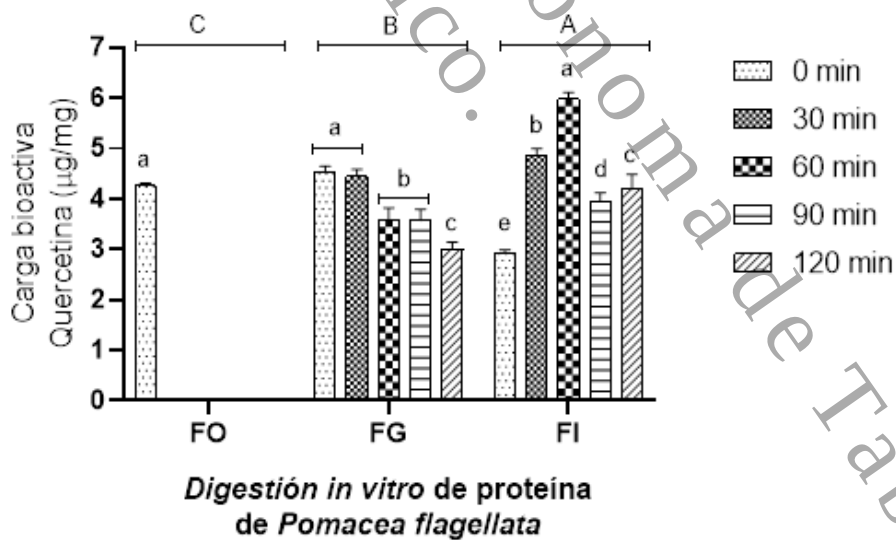


Figura 16. Capacidad de carga de quercetina de los péptidos obtenidos por digestión *in vitro* de *P. flagellata*.

Nota. Las letras mayúsculas indican diferencia entre fases y las minúsculas, diferencias entre tiempos de una misma fase. Los valores representan el promedio de tres repeticiones $\pm$ DS.

XV. DISCUSIÓN

15.1. Grado de hidrólisis

En esta investigación los resultados del GH, en las fases simuladas fue de 0% para la fase oral (FO), del 8% para la fase gástrica (FG) y del 38% para la fase intestinal. Estos resultados comparados con la investigación de Putra et al. (2018) sobre caracterización de propiedades fisicoquímicas del caracol manzana *Pomacea canaliculata* afectadas por diferentes proteasas. En esta la pulpa de carne del caracol se trató con dos enzimas: alcalasa y papaína en sus temperaturas óptimas en agitación. Al terminar encontró un grado de hidrólisis de 88.18 y 72.96%, respectivamente. Los resultados obtenidos por Putra et al. (2018) mostraron ser superiores a los obtenidos en esta investigación ya que se trabajó con la enzima en sus condiciones óptimas, lo que permitió que tenga mayor actividad sobre el sustrato con el que reacciona, que concuerda con el comportamiento documentado por Mora y Toldrá (2023). Esta situación no sucede con este trabajo, en donde la hidrólisis se asemeja a lo que sucede durante el proceso de digestión.

Por otro lado, González et al. (2021), realizó una digestión *in vitro* de un concentrado proteico del hongo *Pleurotus ostreatus*. Las condiciones de la digestión *in vitro* fueron las mismas empleadas en este trabajo. El grado de hidrólisis alcanzado por el hongo fue de $16.5 \pm 2.5 \%$ y $20.3 \pm 3.1 \%$ en la digestión gástrica. Por otro lado, en la fase intestinal se alcanzó un grado de hidrólisis de $76.2 \pm 1.3 \%$ y al final de la fase intestinal fue del 100 % para el concentrado proteico. Comparado con este trabajo, mostró un comportamiento con mayor grado de hidrólisis, diferencias que se deben a la naturaleza y composición de las proteínas trabajadas.

Es evidente que en una digestión *in vitro*, el grado de hidrólisis se verá afectado por diversos factores como el tipo y concentración de enzima, afectando los sustratos y la velocidad de reacción, de igual forma se verá afectada por las condiciones de temperatura a las que se realiza el experimento y el pH empleado, como indica Santos-Sánchez et al. (2024). En los resultados presentados se evidencia el nulo grado de hidrólisis presentado en la fase oral debido a que la enzima y el sustrato no son los adecuados: enzima α -amilasa y proteína. Mientras tanto, en la fase gástrica debido a la presencia de pepsina porcina mostró un pequeño incremento, limitado por las

condiciones simuladas, dado que el pH óptimo de la pepsina es de 1.5 a 2.0, como sugiere la literatura de Heda et al. (2023) y el simulado en este trabajo fue de 3.0. Por último, se dieron las condiciones ideales de pH enzima-sustrato en la fase intestinal ya que la pancreatina presentó un elevado grado de hidrólisis debido a que el pH de 7 empleado es el idóneo para la pancreatina, enzima reconocida por su amplia gama de sitios de escisión de proteínas, facilitando la hidrólisis como sugiere Serena-Romero et al. (2023).

Con respecto a los péptidos generados por hidrolisis enzimática por Chen et al. (1995), mostraron que péptidos antioxidantes derivados de proteínas de suero presentaban mayor eficacia cuando se genera un GH entre 20-40%, lo cual coincide con los valores del 38% encontrado en esta investigación.

Por su parte, la evidencia en el trabajo Udenigwe y Aluko (2012), indica que un GH moderado (20-40%) es óptimo para obtener péptidos con bioactividad, ya que GH más altos pueden romper excesivamente los péptidos activos.

Según lo reportado en el trabajo de Chen et al. (1995), se ha demostrado que el tipo de aminoácidos liberados durante la hidrólisis (como tirosina, triptófano, histidina y fenilalanina) influye de manera significativa en la capacidad antioxidante de los péptidos, tanto por su capacidad de neutralizar radicales libres como por la estabilización de especies reactivas del oxígeno. Esto resalta la importancia no solo del porcentaje de hidrólisis, sino también de la composición específica de los péptidos generados.

Por tanto, puede considerarse que un hidrolizado proteico con un GH del 36% y una concentración de 720 mg/L de péptidos bioactivos es una fuente potencialmente efectiva de compuestos con actividad antioxidante, lo que sugiere aplicaciones potenciales en la formulación de ingredientes funcionales o nutraceuticos derivados de proteínas de caracol.

15.2. Actividad antioxidante

15.2.1. DPPH

En este trabajo los valores superiores de captura de radical DPPH fueron encontrados en la fase intestinal, con valor del 44% entre los primeros 30 minutos. En un trabajo de Raynova et al. (2015), donde se evalúa la actividad antioxidante de subproductos del caracol *Helix aspersa* y emplearon los siguientes métodos para evaluar la actividad antioxidante: DPPH, ABTS y FRAP. Encontraron que la actividad inhibitoria del radical DPPH fue de 59.54%, que fue superior a la fase intestinal en este trabajo. Estas diferencias están relacionadas alguna característica estructural de los péptidos, como su masa molecular, composiciones de aminoácidos, secuencias e hidrofobicidades como se sugiere en la literatura de Zou et al. (2016).

Rocha Camargo et al. (2020) realizaron un estudio de actividad antioxidante en hidrolizados proteicos de *Micropogonias furnieri* y *Paralichthys brasiliensis*. Encontraron que con las enzimas alcalasa y Protamex® valores de inhibición del radical DPPH de 28% con alcalasa y de 30% con Protamex, mientras que *Paralichthys brasiliensis* presentó un porcentaje del 25% con alcalasa y 24% con Protamex. Estas diferencias en los resultados se deben a la metodología empleada, ya que los péptidos de esta investigación al haber pasado por una hidrólisis previa en la fase gástrica, han sufrido cambios en su estructura y por ende, presentan más zonas con actividad antioxidante, lo que está en concordancia con las investigaciones de Zou et al. (2016).

Otra especie de caracol reportada de *Neptune Volute* por Li et al. (2021), donde para comprender las funciones nutricionales y proteicas se realizaron análisis en su carne, haciendo uso de métodos proteómicos y de digestión *in vitro* con pepsina y tripsina. Se reportó que los péptidos de esta especie presentaron una tasa de eliminación de DPPH del 23.28%, tras pasar por un proceso de digestión debido a la presencia de aminoácidos aromáticos, tal como la fenilalanina y ácidos presentes que contribuyeron a evitar la oxidación. De acuerdo con Li et al. (2021), las sales biliares simuladas posiblemente ayudan a estabilizar los péptidos, manteniendo así mayor inhibición en el tiempo. Este estudio presentó una inhibición menor a la obtenida en este trabajo, se presume que esto

se debe a la diferencia en los métodos utilizados, a las enzimas con las que se trabajó y al centrifugado posterior.

15.2.2. ABTS

En el ensayo ABTS de este trabajo en la fase intestinal se obtuvo un porcentaje de inhibición del radical de 99% durante toda la fase intestinal. En otros trabajos, como el de Kostadinova et al. (2018) sobre el moco de caracol de jardín *Cornu aspersum* evaluó la actividad antioxidante de fracciones peptídicas de distintos pesos moleculares: <5 kDa, <10 kDa, <20 kDa y 10-30 kDa con este método. Obtuvo una actividad antioxidante de 82.42 % en la fracción con un peso molecular <5 kDa. Kostadinova et al. (2018) sugirió que el bajo peso molecular de los aminoácidos libres y péptidos es responsable de la alta actividad antioxidante, hallazgo que explicaría la inhibición del 99% de este trabajo, dado que la proteína habría sido previamente hidrolizada en la fase gástrica y habría liberado péptidos con un bajo peso molecular.

En otro trabajo como el de Raynova et al. (2015), que trabajaron con el caracol *Helix aspersa*, la actividad inhibitoria del ensayo ABTS fue de 62.31 %, cuyas cifras se sitúan por debajo de los valores reportados en esta investigación. Raynova et al. (2015) sugieren que la diferencia puede deberse a que la estructura del radical impide la interacción con antioxidantes de alto peso molecular.

15.2.3. FRAP

Como se mencionó anteriormente en el trabajo de Raynova et al. (2015), quienes trabajaron con *Helix aspersa*, encontraron para el ensayo FRAP el valor de 3.68 $\mu\text{M ET/g}$ de proteína, valores muy inferiores a los obtenidos en la fase intestinal de este trabajo (51 $\mu\text{M ET/}\mu\text{g}$). Estas diferencias se deben principalmente a los métodos para purificar las proteínas empleados en ambos trabajos, al pH trabajado y a que se realizó una digestión *in vitro*, proceso no realizado para *H. aspersa*. Raynova et al. (2015) suponen que la diferencia en los resultados se debe al mecanismo de transferencia de electrones que usa el método FRAP y a la especificidad de este. Otros autores como Sadowska-

Bartosz y Bartosz (2022) recalcan que el método FRAP por sí tiene una cinética de reacción lenta, lo que podría explicar el valor de 51 $\mu\text{M ET/ } \mu\text{g}$ al tener la proteína previamente hidrolizada en la fase gástrica por 2 horas y posteriormente en la fase intestinal. Por último, resaltan que el complejo Fe (III) en el TPTZ presenta mayor afinidad hacia la fase acuosa.

15.3. Determinación de actividad antihiper glucémica por α -amilasa

Chelladurai y Chinnachamy (2018) en su artículo, estudiaron las propiedades inhibitorias de la α -amilasa de los extractos acuosos del tallo de *Salacia oblonga* a distintas concentraciones: 10, 20, 40, 60, 80 y 100 mg/mL. El método para realizar este ensayo fue el método estándar, el DNS, mismo que se realizó para esta investigación. Además, se utilizó como estándar el fármaco sintético acarbosa con una capacidad de inhibir la enzima α -amilasa. Los resultados obtenidos por Chelladurai y Chinnachamy (2018) muestran un porcentaje de inhibición de $59.46 \pm 0.04 \%$. Los resultados de esta investigación son superiores a los obtenidos en la fase intestinal con un 91%, se presume que existen diferencias dada la naturaleza proteica de la muestra trabajada, y la hidrólisis enzimática realizada con pancreatina. Otros autores como Yan et al. (2019) atribuyen una mayor inhibición debido a diferencias en las propiedades estructurales, incluida la composición de aminoácidos, la hidrofobicidad y la posición en las regiones N y C terminales de la α -amilasa.

En otro estudio, realizado por Islam et al. (2021), estudiaron la actividad antihiper glucémica de los hidrolizados de proteína de la tortuga galápagos chino *Chinemys reevesi*, la hidrólisis se realizó con cuatro enzimas diferentes en sus condiciones óptimas: alcalasa, tripsina, bromelina y Flavourzyme. La mayor inhibición de la α -amilasa (76.89 %) se registró al utilizar hidrolizados obtenidos con bromelina y Flavourzyme. En este trabajo *P. flagellata* presentó resultados superiores con 91% para la fase intestinal, que podría deberse a su estructura, como sugiere Islam et al. (2021), ya que los péptidos poseen aminoácidos de cadena ramificada y residuos catiónicos que tienen preferencia por enlazarse con α -amilasa.

15.4. Determinación de la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE)

Nuria et al. (2020) realizaron una investigación sobre la actividad inhibitoria de la enzima acetilcolinesterasa de 13 verduras consumidas en etnias sundanesas y javanesas. Las especies trabajadas fueron: amaranto rojo, papaya, ensaladilla, pepino, jengibre antorcha, guaje, berro, aralia Ming, albahaca, frijol común, chayote, árbol colibrí y frijol largo. Los resultados mostraron que cuatro vegetales no presentaron actividad inhibitoria: pepino, chayote, árbol colibrí y el frijol largo. Nuria et al. (2020) menciona que la actividad inhibitoria parece tener relación con la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides con efectos antioxidantes y neuroprotectores. De los vegetales que, si presentaron actividad inhibitoria, el vegetal que obtuvo el resultado más bajo fue el del frijol común con 8.9 % de inhibición a 1 000 µg/mL, mientras que el porcentaje más alto obtenido a la misma concentración fue el de la albahaca con 55.1%, seguido por la ensaladilla con 55.0%. En general, los resultados obtenidos por Nuria et al. (2020) son más bajos que los encontrados en esta investigación en la fase gástrica con un 57%, posiblemente debido a que solo se analizaron extractos etanólicos y no un hidrolizado.

Por otro lado, Ferreira et al. (2020), investigaron la actividad inhibitoria de AChE en extractos de etanol-agua del corcho y dorso de *Quercus suber* y encontraron que la actividad inhibitoria de la AChE en los extractos fue de 62% para el dorso a una concentración de 0.5 mg/mL mientras que la de los extractos del corcho fue del 49% a 1 mg/mL y que además existe una relación entre la concentración y la actividad inhibitoria. Es posible notar que la actividad inhibitoria de AChE del hidrolizado de *P. flagellata* es superior a aquellos extractos vegetales dado que no han pasado por el proceso de hidrolisis y han sufrido cambios por influencia de factores como la temperatura, el pH y la actividad enzimática.

15.5. Determinación de actividad hemolítica

López-Nahuatt et al. (2020) realizaron un estudio con cálices de jamaica y su uso potencial uso como aditivo alimentario. Los extractos acuosos de siete variedades de

jamaica fueron analizados y se le determinó su actividad hemolítica. Los resultados obtenidos mostraron que el grado de hemólisis del extracto de jamaica a 6 000 µg TPC/mL fue de 10.8% mientras que, a las concentraciones de 1 000, 8 000 y 10 000 µg TPC/mL los extractos de Nayarit mostraron porcentajes superiores, siendo estos de 12.7, 10.3 y 0.3%, respectivamente. López-Nahuatt et al. (2020) encontró que el porcentaje de hemólisis fue directamente proporcional a la concentración del extracto. Estos resultados dan pauta para entender la razón del bajo porcentaje de hemólisis obtenido en este trabajo, lo que sugiere la seguridad de la proteína para el consumo humano, así como fuente potencial de péptidos con bioactividad que son aplicables a la industria alimentaria.

El bajo porcentaje de hemólisis en este trabajo puede tener origen en la estructura del péptido, ya que esta afecta la hidrofobicidad y anfipaticidad que interactúan con las membranas celulares. Si bien al ser hidrolizadas las proteínas, debería verse incrementada la hidrofobicidad y la hemólisis, tal como indica Hollman et al., (2016). Este no fue el caso para los péptidos de *P. flagellata*, lo que sugiere que las condiciones gástricas e intestinales regulan la composición estructural que limitan las interacciones péptido-membrana.

15.6. Determinación del índice de hidrofobicidad

Dihort (2013), en su trabajo sobre el calamar gigante *Dosidicus gigas*, con el que se realizaron concentrados proteicos presenta un análisis del índice de hidrofobicidad. Esto se comprobó a pH 6.0, 6.5 y 7.0 y a una concentración de 3% de NaCl en uno de los geles elaborados. Los resultados de Dihort se presentan en la Tabla 3, resultados inferiores a los obtenidos en la fase intestinal de esta investigación, que presentó una hidrofobicidad relativa con un valor de 176 a los 120 minutos. El resultado obtenido fue posiblemente influenciado por el pH, como sugiere Dihort (2013), y debido a que no pasa por un proceso de hidrólisis.

Tabla 3.
Índice de hidrofobicidad de *Dosidicus gigas* a diferentes concentraciones y pHs.

Concentración de proteína (%)	pH	índice de hidrofobicidad (intensidad de fluorescencia)
0.02	6.0	69
	6.5	66
	7.0	65
0.03	6.0	94
	6.5	64
	7.0	67
0.05	6.0	105
	6.5	69
	7.0	69
0.06	6.0	90
	6.5	75
	7.0	67

Nota: Adaptación de Dihort (2013).

Arceo (2022) en su trabajo de investigación trabajó con las propiedades de gelificación de una mezcla de aislados proteicos vegetales a partir de chícharo y frijol común. La hidrofobicidad fue evaluada a pH 7. Arceo (2022) encontró que el aislado proteico de chícharo presentó un mayor valor de hidrofobicidad (83) en comparación con el frijol (con valor de 50). También sugiere una relación inversa entre la solubilidad proteica y la hidrofobicidad, debido a que el pH influencia la estructura de las proteínas haciendo que queden más expuestas las zonas hidrófobas. Esta información concuerda con los valores encontrados en la fase intestinal del experimento, dado que existe un aumento en las zonas hidrófobas expuestas debido a la acción enzimática de la fase gástrica e intestinal, permitiendo que el marcador ANS se fije.

Moghadam et al. (2020), hidrolizaron la proteína de la nuez persa (*Juglans regia* L.) con tripsina. El cambio en la hidrofobicidad fue evaluado empleando ANS como sonda fluorescente. Se encontró que la hidrofobicidad en el tiempo 0 de hidrólisis obtuvo un valor de 13, a los 15 minutos fue de 21, a los 30 y 60 minutos de 22 y a los 120 minutos fue de 24, siendo esta última la mayor. De igual forma, Moghadam et al. (2020) sugiere que la hidrólisis de proteínas es capaz de modificar la hidrofobicidad ya que al hacer la

ruptura enzimática expone las áreas hidrófobas en el interior de las proteínas, tal como sucede en esta investigación en las fases gástrica e intestinal.

15.7. Determinación de carga bioactiva

En este trabajo se obtuvieron resultados de carga para curcumina de 3.4 $\mu\text{g}/\text{mg}$ en la fase gástrica a los 90 min y de 6.1 $\mu\text{g}/\text{mg}$ para quercetina en la fase intestinal a los 60 min. Comparado con otros trabajos, como el de Moghadam et al. (2020), que trabajaron con nuez persa (*Juglans regia* L.) con tripsina obtuvieron un valor de 4.0 $\mu\text{g}/\text{mg}$ para curcumina a los 120 min y de 10.6 $\mu\text{g}/\text{mg}$ para quercetina al mismo tiempo de hidrólisis. Moghadam et al. (2020) afirma que la capacidad de cargar compuestos bioactivos aumenta con el tiempo de hidrólisis y que está relacionada a su hidrofobicidad superficial. La diferencia con los resultados de Moghadam et al. (2020) y los de este trabajo pueden deberse a que ambas enzimas trabajadas actúan en diferentes sitios de la proteína, mientras que el trabajo de referencia solo trabaja con una. Además, puede tener origen debido a la composición de aminoácidos en su estructura.

XVI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Considerando los resultados obtenidos durante la digestión *in vitro* de la proteína de *Pomacea flagellata*, se concluye que el proceso favorece de manera progresiva la generación de péptidos con propiedades relevantes, siendo la fase intestinal en la que se refleja la mayor actividad de los parámetros que se evaluaron.

El grado de hidrólisis obtuvo mayor incremento en la fase intestinal a partir de los 30 min y se mantuvo hasta los 120 min, lo cual indica que la ruptura de enlaces péptidos ocurre tempranamente en esta fase y en consecuencia se confirma que esta etapa fue determinante para la generación masiva de péptidos, los cuales poseen mayores efectos antioxidante por los tres métodos evaluados.

La actividad antihiper glucémica, se observó en las tres fases, sin embargo, se destacó en la intestinal, lo cual indica que los péptidos con mayor porcentaje de inhibición de alfa amilasa, se obtienen de los 60 a los 120 min independientemente de la concentración.

Respecto a la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa, las tres fases presentan actividad, particularmente en la fase gástrica y con valores que no superan el 60 %, esto indica que, con concentraciones menores de péptidos de *P. flagellata* se obtiene mayor inhibición de la acetilcolinesterasa.

La evaluación de actividad hemolítica demostró que los péptidos obtenidos carecen de efecto hemolítico, lo que respalda su inocuidad biológica.

Todo lo anterior, se respalda con el índice de hidrofobicidad, el cual fue notable en la fase intestinal, y que alcanzó un valor máximo a los 120 min, lo que sugiere una mayor exposición de residuos hidrofóbicos conforme avanza la digestión.

La capacidad de carga bioactiva de los péptidos con la curcumina aumenta con el tiempo en la fase gástrica, y en la fase intestinal la carga disminuyó. Y para el caso de la carga bioactiva con la quercetina, la actividad varió con el tiempo, lo que indica que los péptidos generados en esta fase poseen mayor afinidad por compuestos fenólicos.

Finalmente, con lo anterior se demuestra que con la proteína de *P. flagellata* se han generado péptidos bioactivos que tienen las propiedades previamente planteadas en esta

investigación y que, además de la actividad antioxidante y antihiper glucémica, también presentaron la capacidad de inhibir la enzima acetilcolinesterasa,

Se recomienda la caracterización estructural de los péptidos bioactivos de la fase intestinal mediante HPLC, para identificar la o las secuencias responsables de las actividades evaluadas.

Es conveniente evaluar la actividad que los péptidos pueden tener sobre líneas celulares, la actividad antihipertensiva, antiinflamatoria, inmunomoduladora, entre otras.

De igual forma, se recomienda optimizar las condiciones de simulación de la digestión para tener la garantía de generar péptidos de mayor índice de hidrofobicidad y en consecuencia de mayor bioactividad.

Finalmente, después de evaluar lo anterior, aplicar los péptidos generados en matrices alimentarias o en el desarrollo de suplementos o complementos alimenticios.

XVII. REFERENCIAS

- Arceo, A. (2022). "Propiedades de gelificación de una mezcla de aislados proteicos vegetales con contenido de aminoácidos para cubrir los requerimientos de adultos mayores" [tesis de maestría]. Universidad Autónoma de Querétaro. Repositorio Institucional.
- Asen, N., Okagu, O., Udenigwe, C. y Aluko, R. (2022). *In vitro inhibition of acetylcholinesterase activity by yellow field pea (Pisum sativum) protein-derived peptides as revealed by kinetics and molecular docking*. Frontiers in Nutrition. Volume 9. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1021893>
- Bao, X., y Wu, J. (2021). *Impact of food-derived bioactive peptides on gut function and health*. Food Research International, 147. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110485>
- Baquero, P., Salinas, V., Sandoval, G. y Barreno, M. (2025). *Efecto de los péptidos bioactivos derivados de alimentos andinos inhibidores de la ECA en el control de la presión arterial: una revisión sistemática*. Revista REG, Vol. 4 N°(2). p. 1038 – 1053. DOI:10.70577/reg.v4i2.135
- Bergfreund, J., Bertsch, P., y Fischer, P. (2021). *Effect of the hydrophobic phase on interfacial phenomena of surfactants, proteins, and particles at fluid interfaces*. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 56, 101509.
- Berraquero-García, C., Rivero-Pino, F., Ospina, J., Pérez-Gálvez, R., Espejo-Carpio, F., Guadix, A., y Guadix, E. (2023). *Activity, structural features and in silico digestion of antidiabetic peptides*. Food Bioscience, 102954.
- Chelladurai, G. R. M. y Chinnachamy, C. (2018). *Alpha amylase and Alpha glucosidase inhibitory effects of aqueous stem extract of Salacia oblonga and its GC-MS análisis*. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences Sci. 2018; 54 (1):e17151. <http://dx.doi.org/10.1590/s2175-97902018000117151>
- Chen, H. M., Muramoto, K., Yamauchi, F., Fujimoto, K., & Nokihara, K. (1995). Antioxidative properties of histidine-containing peptides designed from peptide

- fragments found in the digests of a soybean protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(3), 574–578.
- Cudennec, B., Violle, N., Chataigné, G., Drevet, P., Bisson, J. F., Dhulster, P. y Ravallec, R. (2016). *Evidence for an antihypertensive effect of a land snail (Helix aspersa) by-product hydrolysate—Identification of involved peptides*. *Journal of functional foods*, 22, 602-611.
- Cserhati, T., y Szögyi, M. (1995). *Role of Hydrophobic and Hydrophilic Forces in Peptide-Protein Interaction: New Advances*. En *Peptides* (Vol. 16, Número I).
- Dai, R., Sun, Y., Su, R., y Gao, H. (2022). *Anti-Alzheimer's disease potential of traditional chinese medicinal herbs as inhibitors of BACE1 and AChE enzymes*. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 154, 113576.
- de Jesús-Navarrete, A., y Tun, B. G. (2016). *Caracterización de la ovoposición del caracol Pomacea flagellata (Say, 1827) bajo condiciones experimentales*. *Revista Peruana de Biología*, 23(3), 287–292. <https://doi.org/10.15381/rpb.v23i3.12863>
- de Paulo Farias, D., de Araujo, F., Neri-Numa, I. y Pastore, G. (2021). *Antidiabetic potential of dietary polyphenols: A mechanistic review*. *Food Research International*, 145, 110383.
- Delvasto-Núñez, L., Jongerius, I., y Zeerleder, S. (2021). *It takes two to thrombosis: Hemolysis and complement*. En *Blood Reviews* (Vol. 50). Churchill Livingstone. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2021.100834>
- Dihort, G. (2013). Efecto del pH y concentración de NaCl sobre las propiedades gelificantes de un concentrado proteico de calamar gigante (*Dosidicus gigas*) [tesis de maestría, Universidad de Sonora]. URL: <http://repositorioinstitucional.uson.mx/handle/20.500.12984/155>
- Faraone, I., Rai, DK, Russo, D., Chiummiento, L., Fernandez, E., Choudhary, A. y Milella, L. (2019). *Antioxidant, Antidiabetic, and Anticholinesterase Activities and Phytochemical Profile of Azorella glabra Wedd.* *Plants*, 8(8), 265. <https://doi.org/10.3390/plants8080265>

- Ferreira, J., Santos, S. y Pereira, H. (2020). In Vitro Screening for Acetylcholinesterase Inhibition and Antioxidant Activity of Quercus suber Cork and Corkback Extracts, Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2020, 3825629, 8 pages, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/3825629>
- González, A., Nobre, C., Simões, L., Cruz, M., Loredó, A., Rodríguez-Jasso, R. y Belmares, R. (2021). *Evaluation of functional and nutritional potential of a protein concentrate from Pleurotus ostreatus mushroom*. Food Chemistry, 346, 128884.
- González, R. (2016). Digestión de alimentos: Tendencias en los modelos de digestión in vitro. Revista Doctorado UMH, 2(2), p5-p5.
- Hamadou, M. (2025). Bioactive peptides and metabolic health: a mechanistic review of the impact on insulin sensitivity, lipid profiles, and inflammation. Elsevier Vol. 5. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.afres.2025.101056>
- Heda, R., Toro, F. y Tombazzi, C. (2023). *Fisiología, Pepsina*. StatPearls <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537005/>
- Hernández-Ledesma, B., Del Mar Contreras, M., y Recio, I. (2011). *Antihypertensive peptides: Production, bioavailability and incorporation into foods*. Advances in Colloid and Interface Science, 165(1), 23–35. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2010.11.001>
- Hollman, A., Martínez, M., Noguera, M. Augusto, M., Disalvo, A., Santos, N., Semorile, L. y Maffía, P. (2016). Role of amphipathicity and hydrophobicity in the balance between hemolysis and peptide–membrane interactions of three related antimicrobial peptides. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. Volume 141, (1) 528-536. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2016.02.003>
- INEGI. (2023). *ESTADÍSTICAS DE DEFUNCIONES REGISTRADAS (EDR) 2022 (PRELIMINAR 1)*.
- Islam, M. S.; Hongxin, W.; Admassu, H.; Mahdi, A.A.; Ma, C. y An Wei, F. (2021). *In vitro Antioxidant, Cytotoxic and Antidiabetic Activities of Protein Hydrolysates Prepared*

- from Chinese Pond Turtle (*Chinemys reevesii*). Food Technology & Biotechnology. 2021;59 (3) 360-375. <https://doi.org/10.17113/ftb.59.03.21.7087>
- Kostadinova, N., Voynikov, Y., Dolashki, A., Krumova, E., Abrashev, R., Kowalewski, D., Stevanovic, S., Velkova, L., Velikova, R. y Dolashka, P. (2018). *Antioxidative screening of fractions from the mucus of garden snail Cornu aspersum*. Bulgarian Chemical Communications, Volume 50, Special Issue C (176 – 183) 2018 176
- Li, Gaoshang; Hu, Lingping; Hu Zhiheng; Li, Youran; Yuan, Chunhong; Takaki, Koichi y Hu, Yaqin. (2021). *Nutrition and protein function, properties (structure, rheology, thermal stability) analysis of Neptune volute based on proteomics and in vitro digestion/cells model*. Food Bioscience, 43, 101321.
- López-Nahuatt, G., Sumaya-Martínez, M., Jiménez-Ruiz, E., Sánchez-Herrera, L., Bautista-Rosales, P., Medina-Carrillo, R., Guzmán-Ceferino, J. (2020) *Hemolytic, antimicrobial and antioxidant activity of aqueous extracts of calyx from roselle*. Revista Bio Ciencias 7, e995: <https://doi.org/10.15741/revbio.07.e995>
- López-Pedrouso, M., Lorenzo, J., Borrajo, P. y Franco, D. (2021). *In search of antioxidant peptides from porcine liver hydrolysates using analytical and peptidomic approach*. Antioxidants, 11(1), 27.
- Lorenzo, J., Munekata, P., Gómez, B., Barba, F., Mora, L., Pérez-Santaescolástica, C., Y Toldrá, F. (2018). *Bioactive peptides as natural antioxidants in food products – A review*. En Trends in Food Science and Technology (Vol. 79, pp. 136–147). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.003>
- Luis, D., Gutiérrez, V., Carlos, J., y Gonzales, Z. (2016). *Péptidos bioactivos: pequeños gigantes en salud*. En Rev. Soc. Peruana Med. Interna (Vol. 29, Número 4).
- Madalena, D., Fernandes, J. M., Avelar, Z., Gonçalves, R. F., Ramos, Ó. L., Vicente, A. A., y Pinheiro, A. C. (2022). Emerging challenges in assessing bio-based nanosystems' behaviour under in vitro digestion focused on food applications—A critical view and future perspectives. Food Research International, 157, 111417.

- Maldonado, A. y Jorrín, J. (2001). 16. *Electroforesis desnaturalizante en geles de poliacrilamida. Análisis de proteínas de hojas de Arabidopsis thaliana.*
- Martínez-Medina, G., Prado-Barragán, A., Martínez-Hernández, J., Ruíz, H., Rodríguez, R., Contreras-Esquivel, J., y Aguilar, C. (2019). *Péptidos Bio-funcionales: bioactividad, producción y aplicaciones.* Bio-functional peptides: bioactivity, production and applications.
- Masondo, N., Stafford, G., Aremu, A., y Makunga, N. (2019). *Acetylcholinesterase inhibitors from southern African plants: An overview of ethnobotanical, pharmacological potential and phytochemical research including and beyond Alzheimer's disease treatment.* En *South African Journal of Botany* (Vol. 120, pp. 39–64). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.09.011>
- Moghadam, M., Salami, M., Mohammadian, M., Emam-Djomeh, Z., Jahanbani, R., y Moosavi-Movahedi, A. (2020). *Physicochemical and bio-functional properties of walnut proteins as affected by trypsin-mediated hydrolysis.* Food Bioscience. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100611>
- Mora, L. y Toldrá, F. (2023). *Advanced enzymatic hydrolysis of food proteins for the production of bioactive peptides.* Current Opinion in Food Science. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2022.100973>
- Mudgil, P., Kilari, B., Kamal, H., Olalere, O., FitzGerald, R., Gan, C., y Maqsood, S. (2020). *Multifunctional bioactive peptides derived from quinoa protein hydrolysates: Inhibition of α -glucosidase, dipeptidyl peptidase-IV and angiotensin I converting enzymes.* Journal of Cereal Science, 96, 103130.
- Mulero, J., Zafrilla, P., Martínez-Cachá, A., Leal, M., y Abellán, J. (2011). *Péptidos bioactivos.* En *Clinica e Investigacion en Arteriosclerosis* (Vol. 23, Número 5, pp. 219–227). <https://doi.org/10.1016/j.arteri.2011.04.004>
- Nuria, M. C., Suganda, A. G., Sukandar, E. Y. y Insanu, M. (2020). *Acetylcholinesterase: Inhibitory activity of some Indonesian vegetables and fraction of selected plants.* Journal of Applied Pharmaceutical Science Vol. 10(1), pp 101-107.

- Pissia, M., Matsakidou, A., y Kiosseoglou, V. (2021). *Raw materials from snails for food preparation*. En *Future Foods* (Vol. 3). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100034>
- Putra, S. N. K. M., Ishak, N. H., y Sarbon, N. M. (2018). *Preparation and characterization of physicochemical properties of golden apple snail (Pomacea canaliculata) protein hydrolysate as affected by different proteases*. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 13, 123-128.
- Ramírez-Muñoz, E., Centeno-Zúñiga, M., Pascual-Cornelio, H., Maldonado-Enríquez, E., Hernández-Ortiz, M., Guzmán-Ceferino, J., May-Gutiérrez, M., y Cuenca-Soria, C. (2021). *Elaboración de un escabeche a base de carne del caracol dulceacuícola Pomacea flagellata (Mesogastropoda: Ampullariidae), Tabasco, México Preparation of marinade with Pomacea flagellata (Mesogastropoda: Ampullariidae) pickled snail meat from Tabasco, Mexico*. <http://orcid.org/0000-0002-3640-4811>;
- Raynoa, Y., Marchev, A., Doumanova, L. Pavlov, A. y Idakieva, K. (2015). *Antioxidant Activity of Helix aspersa maxima (Gastropod) Hemocyanin*. *Acta Microbiológica Bulgarica*. Volumen 31 (2), 127-131.
- Rocha Camargo, Tavani; Ramos, Patricia; Monserrat, José M.; Prentice, Carlos.; Fernandes, Célio J. C.; Zambuzzi, William F. y Valenti, Wagner C. (2020). *Biological activities of the protein hydrolysate obtained from two fishes common in the fisheries bycatch*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128361>
- Rodríguez, A., Zunino, M., y Dambolena, J. (2018). *Optimización de ensayos de inhibición de acetilcolinesterasa en Sitophilus zeamais (Mots.)*. *Revista De La Facultad De Ciencias Exactas, Físicas Y Naturales*, 5(1), 51.
- Sæbø, I., Bjørås M., Franzyk, H., Helgesen, E. y Booth J. (2023). *Optimization of the Hemolysis Assay for the Assessment of Cytotoxicity*. *International Journal of Molecular Science*. [10.3390/ijms24032914](https://doi.org/10.3390/ijms24032914)
- Sadowska-Bartosch, I. y Bartosz, G. (2022). *Evaluation of The Antioxidant Capacity of Food Products: Methods, Applications and Limitations*. *Processes*, 10(10), 2031. <https://doi.org/10.3390/pr10102031>

- Santos-Sánchez, G., Miralles, B., Brodkorb, A., Dupont, D., Egger, L. y Recio, I. (2024). *Current Advances for in vitro protein digestibility*. Frontier. <https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1404538>
- Schmidtchen, A., Pasupuleti, M., y Malmsten, M. (2014). *Effect of hydrophobic modifications in antimicrobial peptides*. En *Advances in Colloid and Interface Science* (Vol. 205, pp. 265–274). <https://doi.org/10.1016/j.cis.2013.06.009>
- Secretaría de Salud. (2022). *PANORAMA EPIDEMIOLÓGICO DE LAS ENFERMEDADES NO TRANSMISIBLES EN MÉXICO, CIERRE 2021*.
- Serena-Romero, G., Ignot-Gutiérrez, A., Conde-Rivas, O., Lima-Silva, M., Martínez, A., Guajardo, F. y Cruz-Huerta, E. (). *Impact of In Vitro Digestion on the Digestibility, Amino Acid Release, and Antioxidant Activity of Amaranth (Amaranthus cruentus L.) and Cañihua (Chenopodium pallidicaule Aellen) Proteins in Caco-2 and HepG2 Cells*. *Antioxidants* 2023, 12(12), 2075; <https://doi.org/10.3390/antiox12122075>
- Udenigwe, C. C., & Aluko, R. E. (2012). Food protein-derived bioactive peptides: production, processing, and potential health benefits. *Journal of Food Science*, 77(1), R11–R24.
- Ulug, S. K., Jahandideh, F., y Wu, J. (2021). *Novel technologies for the production of bioactive peptides*. En *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 108, pp. 27–39). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.12.002>
- Vallelian, F., Buehler, P. W., y Schaer, D. J. (2022). *Hemolysis, free hemoglobin toxicity, and scavenger protein therapeutics*. http://ashpublications.org/blood/article-pdf/140/17/1837/2052037/blood_bld-2022-015596-c-main.pdf
- Vázquez-Silva, G., Castro-Barrera, T., Castro-Mejía, J., Germán, Y., y Mendoza-Martínez, D. (2011). *Los caracoles del género Pomacea (Perry, 1810) y su importancia ecológica y socioeconómica*.
- Vreeke, G., Vincken, J. y Wierenga, P. (2023). *Quantitative peptide release kinetics to describe the effect of pH on pepsin preference*. *Science Direct*. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2023.10.021>

- Wang, D., Liu, Y., Ren, L., Jiang, Y., Meng, Y., Ma, R., Wang, S., Li, X., Cui, F., Li, T. y Li, J. (2025). *Research progress on preparation, loading, and application of nanogels to protect food bioactive ingredients*. Science Direct. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2025.102690>
- Wen, C., Zhang, J., Zhang, H., Duan, Y., y Ma, H. (2020). *Plant protein-derived antioxidant peptides: Isolation, identification, mechanism of action and application in food systems: A review*. En Trends in Food Science and Technology (Vol. 105, pp. 308–322). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.019>
- Yan, J., Zhao, J., Yang, R. y Zhao, W. (2019). *Bioactive peptides with antidiabetic properties: a review*. International Journal of Food Science and Technology, Volume 54, 1909–1919. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14090>
- Ye, H., Tao, X., Zhang, W., Chen, Y., Yu, Q., y Xie, J. (2022). *Food-derived bioactive peptides: production, biological activities, opportunities and challenges*. En Journal of Future Foods (Vol. 2, Número 4, pp. 294–306). Beijing Academy of Food Sciences. <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.08.002>
- Ying-Yuan, N. y Chen, 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.
- Zhu, Y., Lao, F., Pan, X. y Wu, J. (2022). *Food Protein-Derived Antioxidant Peptides: Molecular Mechanism, Stability and Bioavailability*. Biomolecules, 12(11), 1622. <https://doi.org/10.3390/biom12111622>
- Zou, T., He, T., Li, H., Tang, H. y Xia, E. (2016). *The Structure-Activity Relationship of the Antioxidant Peptides from Natural Proteins*. Molecules 12;21(1):72. doi:[10.3390/molecules21010072](https://doi.org/10.3390/molecules21010072)

XVIII. ANEXOS

18.1. Abreviaturas

ACh: Acetilcolina

AChE: enzima acetilcolinesterasa

AThChI: Sustrato de sales de yodo

CAT: Catalasa

DIV: Digestión *in vitro*

ENT: Enfermedades No Transmisibles

g: Gravedad

GPx: Glutation peroxidasa

GST: Glutation-S-transferasa

PB: Péptidos bioactivos

SOD: Superóxido dismutasa

TNBS: ácido 2,4,6, trinitrobencenosulfónico

TANIA CRISTELL JIMÉNEZ PÉREZ

**EVALUACIÓN DE PÉPTIDOS BIOACTIVOS OBTENIDOS POR
DIGESTIÓN IN VITRO DE PROTEÍNAS DE *Pomacea flagellata***



Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid::3117-578431831

Fecha de entrega

14 abr 2026, 10:11 a.m. GMT-6

Fecha de descarga

14 abr 2026, 10:14 a.m. GMT-6

Nombre del archivo

Tesis Tania Cristell Jimenez Perez 2da Rev..docx

Tamaño del archivo

13.2 MB

67 páginas

13.948 palabras

76.852 caracteres

U.J.A.T



DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS AGROPECUARIAS
JEFATURA DE ESTUDIOS TERMINALES

2% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Coincidencias menores (menos de 20 palabras)

Fuentes principales

- 2%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 0%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional	
Título de Tesis:	Evaluación de péptidos bioactivos obtenidos por digestión <i>in vitro</i> de proteínas de <i>Pomacea flagellata</i>
Autor de la Tesis:	Tania Cristell Jiménez Pérez
ORCID:	https://orcid.org/0009-0006-4221-8309
Resumen de la Tesis:	El objetivo de la investigación fue evaluar la digestión <i>in vitro</i> de proteína extraída del caracol <i>Pomacea flagellata</i> para determinar sus propiedades bioactivas. Las muestras fueron recolectadas, depuradas y procesadas para extraer la proteína mediante punto isoelectrico, que posteriormente fue sometida a digestión simulada en fases oral, gástrica e intestinal. Se midió el grado de hidrólisis (TNBS), la liberación de péptidos, actividad antioxidante (DPPH, ABTS, FRAP), actividad antihiper glucémica (inhibición de α-amilasa), inhibición de acetilcolinesterasa (AChE), actividad hemolítica, índice de hidrofobicidad y capacidad de carga bioactiva (curcumina y quercetina). Los resultados mostraron que la hidrólisis proteica fue mínima en la fase oral, aumentó moderadamente en la gástrica (máx. 8% a 120 min) y alcanzó valores estables de 37–39% en la intestinal. La liberación de péptidos fue máxima en la fase intestinal (~900 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$), significativamente mayor que en la gástrica (~250 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) y nula en la oral. En antioxidantes, el ensayo ABTS presentó la mayor actividad (97–100% en la fase intestinal), seguido de DPPH (máx. 44% a 30 min intestinal) y FRAP (máx. 51 $\mu\text{M ET}/\mu\text{g}$ a 30 min intestinal). La inhibición de α-amilasa fue más alta en la fase intestinal (93% a 60 min), mientras que la inhibición de AChE se detectó en todas las fases (máx. 57% en fase gástrica). No se observó actividad hemolítica en ninguna fase. El índice de hidrofobicidad fue mayor en la fase intestinal (176 a los 120 min), sugiriendo alta interacción con membranas. La carga bioactiva mostró afinidad por curcumina y quercetina, con mayores valores en fases gástrica e intestinal. En conclusión, los péptidos generados durante la digestión de

	<i>P. flagellata</i> presentan notables propiedades antioxidantes, antihiper glucémica y actividad inhibidora de acetilcolinesterasa con potencial en el manejo de trastornos neurodegenerativos, sin toxicidad hemolítica, lo que sugiere su potencial aplicación nutracéutica y terapéutica, aunque se recomienda evaluar su seguridad por la alta hidrofobicidad observada.
Palabras claves de la Tesis:	Péptidos bioactivos, DIV, carga bioactiva, FRAP, actividad antihiper glucémica,
Referencias citadas:	Asen, N., Okagu, O., Udenigwe, C. y Aluko, R. (2022). <i>In vitro inhibition of acetylcholinesterase activity by yellow field pea (Pisum sativum) protein-derived peptides as revealed by kinetics and molecular docking</i>. Frontiers in Nutrition. Volume 9. DOI: https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1021893 Bao, X., y Wu, J. (2021). <i>Impact of food-derived bioactive peptides on gut function and health</i>. Food Research International, 147. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110485 Zhu, Y., Lao, F., Pan, X. y Wu, J. (2022). <i>Food Protein-Derived Antioxidant Peptides: Molecular Mechanism, Stability and Bioavailability</i>. Biomolecules, 12(11), 1622. https://doi.org/10.3390/biom12111622 Zou, T., He, T., Li, H., Tang, H. y Xia, E. (2016). <i>The Structure-Activity Relationship of the Antioxidant Peptides from Natural Proteins</i>. Molecules 12;21(1):72. doi:10.3390/molecules21010072