



Universidad Autónoma de Sinaloa
Facultad de Ciencias Químicas Biológicas
Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos

TESIS

**Evaluación de la actividad antioxidante e hipoglucemiante
in vivo de hidrolizados de maíz (*Zea mays* L.) con alto
contenido en aceite**

Que presenta

LBG. Jenifer Mariana Soto Lozoya

Para obtener el Grado de

MAESTRA EN CIENCIA

Y

TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Directores

Dra. Gabriela López Angulo

Dr. José Ángel López Valenzuela

Culiacán, Sinaloa, Noviembre de 2024



Dirección General de Bibliotecas
Ciudad Universitaria
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57
dgbuas@uas.edu.mx

UAS-Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buelna

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial
Compartir Igual, 4.0 Internacional



La presente investigación se realizó en los Laboratorios de Bioquímica y Biología Molecular de Plantas, Laboratorio de Proteómica y Metabolómica y Laboratorio de Productos Naturales de la Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa, bajo la dirección del Dr. José Ángel López Valenzuela y la Dra. Gabriela López Angulo. Como asesor participó la Dra. Nancy Yareli Salazar Salas. La BG. Jenifer Mariana Soto Lozoya recibió beca de estudios de Maestría del Consejo Nacional de Humanidades Ciencia y Tecnología (CONAHCYT).

AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma de Sinaloa** y a la **Facultad de Ciencias Químico-Biológicas** que a través del **Posgrado en Ciencia y Tecnología de Alimentos** me permitió culminar mi formación como Maestra en Ciencia y Tecnología de Alimentos.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)**, por la beca otorgada para la realización de este proyecto.

A mis directores de tesis, el **Dr. José Ángel López Valenzuela** y la **Dra. Gabriela López Ángulo** por guiarme en este proyecto y brindarme todo lo necesario para que este proyecto se realizara, fue un honor ser su alumna de maestría.

A los laboratorios de **Bioquímica y Biología Molecular de Plantas, Proteómica y Metabolómica, Química de Productos Naturales**, por permitirme realizar todas las pruebas requeridas en este proyecto.

A la **Dra. Karen Virginia Pineda Hidalgo** y la **Dra. Nancy Yareli Salazar** por siempre brindarme su confianza y siempre estar en disposición de ayudarme en cualquier cosa.

A la **Dra. Jeanett Chávez Ontiveros** por siempre estar presente brindándome su apoyo y confianza.

A mis compañeros de laboratorio **Gamaliel, Edwin, Dayan, Carmen** por compartir tantos buenos momentos en el día a día. En especial quiero agradecer a **Alicia**, por todas sus enseñanzas, paciencia, confianza y amistad, por convertirse en una luz en mi camino y guiarme en este proyecto.

A mis compañeros de maestría, en especial a **Alejandra**, por tantos momentos de alegría y aprendizajes que nos tocó compartir juntas.

A **Maritza**, por sus enseñanzas y paciencia, en especial el apoyo en la realización de los experimentos, ya que fuiste una pieza clave en ellos.

Quiero agradecer a **Jaime**, que siempre está apoyándome y ayudándome a buscar caminos cuando me siento perdida, gracias por tu paciencia y cariño.

Finalmente, agradezco a **mi familia: mis hermanos y mi mamá**, porque sé que están ahí para mí siempre que lo necesite. A mi **papá**, que, aunque ya no está a mi lado sé que está feliz por este logro, gracias por siempre apoyarme y creer en mí.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	v
ÍNDICE DE CUADROS	vii
I. RESUMEN	1
ABSTRACT	4
II. INTRODUCCIÓN	7
III. REVISIÓN DE LITERATURA	9
A GENERALIDADES DEL MAÍZ	9
1 Origen y taxonomía	9
2 Características botánicas	11
3 Estadísticas de producción	13
4 Estructura del grano y composición química	13
B MAÍZ CON ALTO CONTENIDO DE ACEITE	21
1 Generalidades	21
C ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DE PÉPTIDOS	24
1 Actividad antioxidante	25
2 Actividad hipoglucémica	32
IV. JUSTIFICACIÓN	34
V. HIPÓTESIS	36
VI. OBJETIVOS	37
A OBJETIVO GENERAL	37
B OBJETIVOS ESPECÍFICOS	37
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	38
A MATERIALES	38
1 Granos	38
2 Animales de laboratorio	38
B MÉTODOS	39
1 Extracción de las fracciones de proteínas	39
2 Cuantificación de proteínas	39
3 Elaboración de hidrolizados proteínicos	40
a Hidrólisis con alcalasa	40

b Hidrólisis con pepsina-pancreatina	41
3 Caracterización del perfil de péptidos	42
a SDS-PAGE	42
b HPLC-MS/MS	42
4 Evaluación de la actividad antioxidante <i>in vitro</i>	43
a Método ABTS	43
b Método DPPH	44
c Método ORAC	44
5 Actividad antioxidante <i>in vivo</i>	45
a Diseño experimental	45
b Inducción de daño hepático	45
c Sacrificio y recolección de las muestras de los animales	46
d Determinación de enzimas séricas	46
e Determinación de malondialdehído (MDA) como marcador de estrés oxidativo	47
f Determinación de glutatión (GSH) en hígado	48
g Análisis histopatológico	49
6 Actividad hipoglucemiante y antihiperoglucemiante <i>in vivo</i>	49
a Actividad inhibitoria de α -glucosidasa	49
b Actividad hipoglucémica	50
c Actividad antihiperoglucémica	50
7 Análisis estadístico	51
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	52
A CARACTERIZACIÓN DE LOS HIDROLIZADOS DE ALBÚMINAS DE MAÍZ	52
1 Grado de hidrólisis	52
2 Perfil de péptidos de los hidrolizados de albúminas de maíz	55
ACA y comercial	
a Perfil electroforético	55
b Perfil cromatográfico	57
C ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	61
1 Actividad antioxidante <i>in vitro</i>	61

a ABTS	61
b DPPH	63
c ORAC	65
2 Actividad antioxidante <i>in vivo</i>	67
a Efecto del tratamiento con los hidrolizados en los niveles séricos de AST, ALT y FA en ratones BALB-c	68
b Efecto del tratamiento con los hidrolizados sobre la concentración de MDA y GSH	72
c Evaluación histopatológica de muestras de hígado de ratón después de inducir daño hepático con APAP	75
C ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE Y ANTIHIPERGLUCEMIANTE <i>IN VIVO</i>	79
1 Actividad inhibitoria de α -glucosidasa	79
2 Actividad hipoglucémica y antihiperoglucémica	82
VIII. CONCLUSIONES	89
IX. BIBLIOGRAFÍA	91
X. ABREVIATURAS	104
XI. APÉNDICES	106
A. APÉNDICE 1. Perfil de péptidos del hidrolizado con alcalasa del maíz ACA	106
B. APÉNDICE 2. Perfil de péptidos del hidrolizado con pepsina-pancreatina del maíz ACA	111
C. APÉNDICE 3. Perfil de péptidos del hidrolizado con alcalasa del maíz comercial SUN	122
D. APÉNDICE 4. Perfil de péptidos del hidrolizado con pepsina-pancreatina del maíz comercial SUN	124

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig.		Pág.
1	Planta de maíz	12
2	Grano de maíz	16
3	Grado de hidrolisis por el método de pH de albúminas de maíz ACA y maíz comercial SUN tratado con alcalasa.	53
4	Grado de hidrolisis por el método TBNS de albúminas de maíz ACA y maíz comercial SUN tratado con alcalasa y pepsina-pancreatina	54
5	Perfil electroforético de fracciones de prolaminas e hidrolizados de maíz ACA y comercial SUN	56
6	Cromatogramas de UPLC-DAD de hidrolizados de albúminas de maíz ACA obtenidos con alcalasa y pepsina-pancreatina	58
7	Cromatogramas de UPLC-DAD de hidrolizados de albúminas de maíz comercial obtenidos con alcalasa y pepsina-pancreatina	59
8	Identificación por espectrometría de masas del péptido IGGID	60
9	Efecto de la administración oral de hidrolizados de albúminas de maíz ACA sobre los niveles séricos de AST, ALT y fosfatasa alcalina (FA) en tejido hepático de ratones BALB-c con daño hepatotóxico agudo inducido	69
10	Efecto de la administración oral de hidrolizados de albúminas de maíz ACA sobre los marcadores de estrés oxidativo malondialdehido (MDA) y glutatión (GSH) en tejido hepático de ratones BALB-c con daño hepatotóxico agudo inducido	74
11	Efecto de la administración oral de hidrolizados de albúminas de Maíz ACA y comercial SUN sobre la morfología hepática de ratones BALB-c con daño hepatotóxico agudo inducido con paracetamol	76
12	Efecto hipoglucémico de hidrolizados de albúminas de maíz ACA y maíz comercial SUN obtenidos con alcalasa (100 mg/kg p.c.) y	83

pepsina-pancreatina (100 mg/kg p.c.) en ratones normoglucémicos.

- 13 Efecto antihiperoglucémico de hidrolizados de albúminas de maíz ACA obtenidos con alcalasa (200 mg/kg p.c.) y pepsina-pancreatina (200 mg/kg p.c.) en ratones normoglucémicos después de la administración de sacarosa 86

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pág.
1	Taxonomía del maíz	10
2	Producción de maíz nivel mundial	14
3	Producción de maíz en México	15
4	Composición química aproximada de las principales partes del grano de maíz	18
5	Distribución de contenido proteico en el grano de maíz	20
6	Péptidos de maíz con actividad <i>in vitro</i>	26
7	Péptidos de maíz con actividad <i>in vivo</i>	28
8	Actividad antioxidante por el método ABTS de hidrolizados de albúminas de maíz ACA y maíz comercial SUN tratados con alcalasa y pepsina-pancreatina	62
9	Actividad antioxidante por el método DPPH de hidrolizados de albúminas de maíz ACA y maíz comercial SUN tratados con alcalasa y pepsina-pancreatina	64
10	Actividad antioxidante por el método ORAC de hidrolizados de albúminas de maíz ACA y maíz comercial SUN tratados con alcalasa y pepsina-pancreatina	66
11	Actividad inhibitoria de α -glucosidasa de hidrolizados de albúminas de maíz ACA y maíz comercial SUN	81

I. RESUMEN

El maíz (*Zea mays* L.) es un cereal importante en la alimentación humana debido a su contenido de nutrientes y compuestos bioactivos que proporcionan beneficios para la salud. Sin embargo, el aumento en la demanda de este cereal por el sector industrial y pecuario requiere el desarrollo de maíces especializados. Por ello, el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) ha establecido programas de mejoramiento genético para aumentar el contenido de lípidos en el grano de maíz, desarrollando líneas y cruzas de maíz blanco y amarillo con alto contenido de aceite (ACA). Estos materiales se han desarrollado principalmente con base en características agronómicas, por lo que es importante investigar sus propiedades nutricionales y nutracéuticas para identificar componentes que puedan contrarrestar el estrés oxidativo y de esta manera prevenir o tratar padecimientos crónico-degenerativos como la diabetes. El objetivo de la presente investigación fue determinar la actividad antioxidante e hipoglucemiante *in vivo* de hidrolizados de albúminas de maíz ACA. Se utilizó una craza de maíz ACA (CML451/CML486 x PAN133) cuyo hidrolizado de albúminas con alcalasa mostró buenos resultados *in vitro*, así como el híbrido comercial Sunrice (SUN) como referencia. Se extrajo la fracción albúminas y se obtuvieron hidrolizados mediante el uso de alcalasa (HA) y pepsina-pancreatina (HPP). A los hidrolizados se les midió el grado de hidrólisis y se les determinó el perfil de péptidos mediante cromatografía líquida de ultra resolución acoplada a espectrometría de masas (UPLC-MS). Se evaluó la capacidad antioxidante *in vitro* de los hidrolizados por los métodos ABTS, DPPH y ORAC, así como la actividad inhibitoria de α -glucosidasa. Para las pruebas *in vivo* se utilizaron ratones BALB-c. Se

evaluó la actividad antioxidante ante el daño hepático inducido con acetaminofén (300 mg/kg de peso corporal, p.c.). Se administraron vía intragástrica dosis de 100 mg/kg p.c./día de los hidrolizados y el control silimarina durante siete días; se midieron transaminasas hepáticas (AST, ALT y FA), glutatión (GSH) total, malondialdehído (MDA) y se realizó análisis histopatológico. Finalmente se evaluó la actividad hipoglucemiante (100 mg/kg p.c.) y antihiperoglucemiante (200 mg/kg p.c.) en ratones normoglucémicos utilizando como controles positivos glibenclamida y acarbosa (10 mg/kg), respectivamente. El grado de hidrólisis (180 min) de los HA fue de 7.5% en el maíz ACA y 4.86% en el híbrido comercial SUN, mientras que en los HPP fue de 13.1% y 9.6%, respectivamente. Esto correspondió con el número de péptidos observados, maíz ACA con 177 en HA y 413 en HPP, maíz comercial con 54 en HA y 136 en HPP. En el maíz ACA se generó un mayor número de péptidos <1000 Da con respecto al maíz comercial en ambos hidrolizados. En la actividad antioxidante por ABTS (1 mg/mL), la inhibición del radical de los HPP de maíz ACA (59%) e híbrido comercial (56%) fue mayor que la de los HA (45% y 39%), lo cual correspondió con un mayor número de péptidos con actividad antioxidante predicha en dichos hidrolizados. En el método DPPH (5 mg/mL) se observó una inhibición de 57% a 59%, sin mostrar diferencias significativas entre los hidrolizados. En ORAC (1 mg/mL), la actividad de los HPP (201.55-208.03 $\mu\text{mol ET/g H}$) fue ligeramente mayor que la de los HA (189.65-194.03 $\mu\text{mol ET/g H}$). En la actividad antioxidante *in vivo*, el HPP del maíz comercial fue el único que previno el aumento de las enzimas AST, ALT y FA. Por otro lado, tres de los hidrolizados disminuyeron significativamente los niveles de MDA con respecto al control dañado (APAP), con valores similares a los del control positivo silimarina en el caso del HPP del maíz comercial y HA del maíz ACA. Los niveles de GSH fueron

superiores en el grupo control silimarina y en HA del maíz ACA con respecto al grupo APAP. La mayor hepatoprotección en el análisis histopatológico, soportado por los resultados bioquímicos se registró con los tratamientos HPP del maíz comercial y el HA del maíz ACA. La inhibición de α -glucosidasa a 66 mg/mL varió entre 47.03% y 64.62%, siendo mayor en los HPP y en el maíz ACA con respecto al comercial. En la prueba hipoglucémica, el nivel de glucosa en los ratones tratados con los hidrolizados (100 mg/kg p.c.) disminuyó de manera gradual, mostrando un efecto significativamente mayor al del control negativo pero menor al del control positivo glibenclamida (10 mg/kg p.c.). En la actividad antihiperoglucémica únicamente el HPP del maíz comercial mostró diferencia significativa con respecto al control negativo después de 90 y 120 min. Esta investigación demostró la actividad antioxidante, hipoglucemiante y antihiperoglucemiante de hidrolizados de albúminas de maíz, lo cual sugiere su potencial en la prevención/tratamiento de padecimientos humanos asociados con estrés oxidativo y enfermedades crónico-degenerativas como la diabetes.

ABSTRACT

Corn (*Zea mays* L.) is an important cereal in the human diet due to its content of nutrients and bioactive compounds that provide health benefits. However, the increasing demand for this cereal by industry and livestock requires the development of specialized corn. For this reason, the National Institute for Forestry, Agriculture and Livestock Research (INIFAP) has established breeding programs to increase the lipid content in the corn grain, developing lines and crosses of white and yellow corn with high oil content (HOC). These materials have been developed mainly based on agronomic characteristics, so it is important to investigate their nutritional and nutraceutical properties to identify components that can counteract or prevent chronic-degenerative conditions such as oxidative stress and diabetes. The aim of this research was to determine the *in vivo* antioxidant and hypoglycemic activity of albumin hydrolysates from HOC. A HOC cross (CML451/CML486 x PAN133) whose albumin hydrolyzate (alcalase) showed good *in vitro* results was used, as well as the commercial hybrid Sunrice (SUN) as reference. The albumin fraction was extracted and hydrolysates were obtained by using alcalase (HA) and pepsin-pancreatin (HPP). The hydrolysates were analyzed for degree of hydrolysis and the peptide profile was determined using ultra-performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry (UPLC-MS). The *in vitro* antioxidant capacity of the hydrolysates was evaluated by the ABTS, DPPH and ORAC methods, as well as the α -glucosidase inhibitory activity. Six-week-old BALB-c mice were used for *in vivo* tests. The antioxidant activity was evaluated against liver damage induced with acetaminophen (300 mg/kg body weight, b.w.). Daily doses of 100 mg/kg b.w. of the hydrolysates and

the control silymarin were administered intragastrically for seven days; liver transaminases (AST, ALT and ALP), total glutathione (GSH), and malondialdehyde (MDA) were measured and histopathological analysis was performed. Finally, the hypoglycemic (100 mg/kg b.w.) and antihyperglycemic (200 mg/kg b.w.) activity was evaluated in normoglycemic mice using glibenclamide and acarbose (10 mg/kg) as positive controls, respectively. The degree of hydrolysis (180 min) of HA was 7.5% in HOC and 4.86% in the commercial hybrid, while in the HPP the values were 13.1% and 9.6%, respectively. This corresponded with the number of peptides observed, HOC corn with 177 in HA and 413 in HPP, commercial hybrid with 54 in HA and 136 in HPP. In HOC corn, a higher number of peptides <1000 Da were produced in both hydrolysates compared to the commercial hybrid. In the antioxidant activity by ABTS (1 mg/mL), the radical inhibition by the HPP from HOC (59%) and the commercial hybrid (56%) was higher than that from the HA (45% and 39%), which corresponded with the higher number of peptides with predicted antioxidant activity in HPP hydrolysates. DPPH (5 mg/mL) inhibition values varied from 57 to 59%, with no significant differences between the hydrolysates. In the ORAC method (1 mg/mL), the HPP showed a higher activity (201.55-208.03 $\mu\text{mol ET/g H}$) than the HA (189.65-194.03 $\mu\text{mol ET/g H}$). In the *in vivo* antioxidant activity, only the HPP from the commercial hybrid prevented the increase in AST, ALT and ALP enzymes. On the other hand, three of the hydrolysates decreased significantly the levels of MDA with respect to the damaged control (APAP), with similar values to those of the positive control silymarin in the case of the HPP from the commercial hybrid and the HA from HOC. GSH levels were higher in the control group silymarin and HA from HOC compared to the APAP group. Histopathological analysis revealed that the HPP from the commercial hybrid and the HA from HOC show

the greater hepatoprotection, which was supported by the biochemical analyses. The inhibition of α -glucosidase at 66 mg/mL varied between 47.03 and 64.62%, being higher in the HPP and the HOC with respect to the commercial hybrid. In the hypoglycemic test, the glucose level in mice treated with the hydrolysates (100 mg/kg b.w.) decreased gradually, showing a significantly higher effect than that of the negative control, but less than that of the positive control glibenclamide (10 mg/kg b.w.). In the antihyperglycemic activity, only the HPP from the commercial hybrid showed significant differences with respect to the negative control after 90 and 120 min. This research demonstrated the antioxidant, hypoglycemic and antihyperglycemic activity of corn albumin hydrolysates, suggesting their potential use to prevent/treat human health conditions associated with oxidative stress and chronic degenerative diseases such as diabetes.

II. INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L.) es el cereal más importante y con mayor área de cultivo a nivel mundial, ya que además de su uso en la alimentación humana y animal también tiene una amplia gama de usos industriales. México ocupa el octavo lugar mundial en producción de maíz (FAOSTAT 2023), mientras que a nivel nacional el estado de Sinaloa es el principal productor de este cereal (SADER-SIAP 2023). El maíz es fuente de carbohidratos, proteínas y aceite, así como de compuestos bioactivos como carotenoides y fenólicos (Serna-Saldivar 2019).

A través de diversos programas de mejoramiento genético se han obtenido variantes de maíz con mejores perfiles de proteínas, almidón y aceite, siendo catalogados como maíces especializados (Preciado-Ortiz y col 2013; Singh y col 2014). Entre ellos se encuentran los maíces con alto contenido de aceite (ACA), caracterizados por presentar una concentración de aceite en el grano igual o mayor a 6% (Lambert 2001), lo cual va acompañado de un aumento en la concentración de ácidos grasos esenciales poliinsaturados. También se ha observado que los maíces ACA presentan un aumento de proteínas y aminoácidos esenciales como consecuencia del incremento en el tamaño del germen (Dudley y col 2007). Sin embargo, los maíces ACA se han usado principalmente como alimento en el sector pecuario debido a su mayor rendimiento energético (Lambert 2001), por lo que es necesario demostrar que los maíces ACA podrían tener un impacto positivo en la salud humana.

En décadas recientes, se han incrementado los estudios de actividad biológica de hidrolizados proteicos de diferentes fuentes vegetales, incluyendo el maíz. Entre las

actividades biológicas reportadas para hidrolizados de proteínas se encuentra la actividad antioxidante, hipoglucemiante, anticancerígena y antimicrobiana, entre otras, lo que podría impactar positivamente en la salud humana (Clare y Swaisgood 2000; Li y col 2019). Sin embargo, existen pocos reportes de este tipo en maíces ACA. Recientemente, Rivera-Atondo (2023) demostró la actividad antioxidante y el potencial inhibitorio de la enzima α -glucosidasa *in vitro* de hidrolizados de albúminas de maíces ACA, destacando la cruza CML451/CML486 x PAN133 que presentó valores significativamente más altos de porcentaje de inhibición de α -glucosidasa. Sin embargo, se requieren estudios en modelos animales para probar el efecto de los péptidos *in vivo* y encaminar su uso como parte de suplementos alimenticios. Por ello, el objetivo del presente estudio fue evaluar la actividad antioxidante e hipoglucemiante de hidrolizados de albúminas de maíz ACA en modelo murino.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

A Generalidades del maíz

1 Origen y taxonomía

El maíz (*Zea mays* L.) es una planta nativa de América y se ha propuesto que su ancestro es el teosinte anual mexicano (Kato Yamakake y col 2009). El maíz se domesticó en Mesoamérica y posteriormente se distribuyó en todo el continente. Aunque no hay una fecha exacta de la domesticación del maíz, para los indígenas mexicanos esta planta significa 10 mil años de cultura (Asturias 2004). Posterior a su domesticación, se empleó como base en la alimentación de todas las etnias que se encontraban asentadas en el territorio mesoamericano, siendo hasta la fecha una fuente importante en la alimentación humana gracias a sus diferentes formas de consumo (López Mazón y col 2012).

El maíz pertenece a la familia Poaceae (gramíneas) que comprende más de 600 géneros (**Cuadro 1**). El teosinte y las especies del género *Tripsacum*, conocidas como arrocillo o maicillo, son los parientes silvestres de *Zea mays*. Estas especies son clasificadas como del Nuevo Mundo, porque su centro de origen está en América (Acosta 2009; Kato Yamakake y col 2009). *Zea mays* es la única especie cultivada y de gran importancia económica (Paliwal 2001).

Cuadro 1. Taxonomía del Maíz.

Categoría	Ejemplo
Reino:	Plantae
Subdivisión:	Magnoliophyta (angiosperma)
Clase:	Liliopsida (monocotiledonia)
Subclase:	Commelinidae
Orden:	Poales
Familia:	Poaceae
Tribu:	Andropogoneae
Subtribu:	Tripsacinae
Género:	<i>Zea</i>
Especie:	<i>Zea mays</i>

CONABIO (2009)

2 Características botánicas

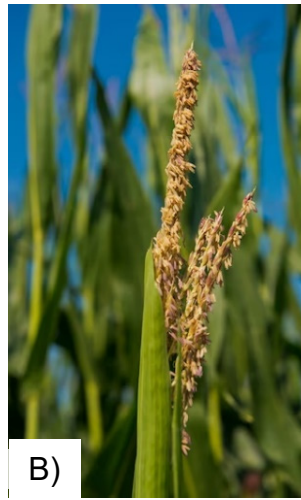
El maíz es una planta anual y monoica unisexual con flores femeninas y masculinas bien diferenciadas. Consta de un tallo recto con nudos de donde nacen sus características hojas alargadas (**Figura 1**). En el extremo terminal se encuentra la inflorescencia masculina, también conocida como panícula (espiga); esta consta de un eje central (raquis) y ramas laterales. Cada florecilla de la panícula presenta tres estambres donde se desarrollan los granos de polen (Paliwal 2001; Kato Yamakake y col 2009).

Por otro lado, las estructuras femeninas de la planta, conocidas como mazorcas, se ubican en las yemas axilares de las hojas y tienen la forma de espigas cilíndricas. Las mazorcas están compuestas por un raquis central, también llamado olote, donde se insertan las espiguillas en pares. Cada espiguilla contiene dos flores pistiladas: una fértil y otra que no se desarrolla, denominada abortiva. Estas flores se organizan en filas paralelas en la espiga. En promedio, la inflorescencia del maíz puede producir entre 400 y 1000 granos, los cuales están dispuestos en alrededor de ocho a 24 hileras por mazorca. Cada grano es considerado un fruto individual conocido como carióspside, el cual se encuentra conectado al tallo cilíndrico u olote (Paliwal 2001).

El maíz es una planta alógama, lo que significa que para que se produzca la fecundación, el polen debe provenir de una flor diferente a la que contiene el óvulo. Además, es una planta anemófila, lo que implica que su polinización se produce por medio del viento y puede tener lugar mediante la polinización abierta, lo que la hace susceptible a la fertilización cruzada. La mayoría de los granos de polen del maíz pueden viajar de 100 a 1,000 metros.



A)



B)



C)

Figura 1. Planta de maíz. (A) Parte de la planta con mazorca, hojas, espiga y tallo. (B) Inflorescencia masculina (C) Inflorescencia femenina.

3 Estadísticas de producción

El maíz ocupa el primer lugar en la producción mundial de cereales, seguido de arroz y el trigo (FAOSTAT 2023). En el año 2022 se reportó una producción mundial de maíz de 1,163,497,383 toneladas. Estados Unidos de América es el líder y aporta cerca del 30% de la producción mundial (**Cuadro 2**). México se ubicó en el sexto lugar, con una producción de 26,625,694 toneladas (**Cuadro 3**), siendo Sinaloa el líder de producción nacional con aproximadamente un 20% de la producción total, seguido de Jalisco (14%) y Estado de México (7%) (SADER-SIAP 2023).

4 Estructura del grano y composición química

El grano de maíz presenta cuatro partes principales: pedicelo, pericarpio, endospermo y germen o embrión (**Figura 2**). El pericarpio es una capa de células fibrosas que representa el 5.3% del peso del grano y está cubierta por la cutícula, una capa cerosa impermeable que recubre al grano. El endospermo es aproximadamente el 83% del peso del grano y presenta un alto contenido de almidón, por lo que se considera el segundo tejido de reserva del grano; la capa exterior del endospermo o aleurona contiene células con gránulos ricos en proteínas y minerales, así como pigmentos que hacen que los granos de ciertos genotipos presenten un color azul, negro o púrpura.

Cuadro 2. Producción mundial de maíz en el año 2023.

País	Producción (Ton)
Estados Unidos de América	348,750,930
China continental	277,203,000
Brazil	109,420,717
Argentina	59,037,179
India	33,729,540
México	26,625,694
Ucrania	26,186,930
Indonesia	23,564,000
Sudáfrica	16,137,000
Otros	242,842,393
Total	1,163,497,383

FAOSTAT (2023)

Cuadro 3. Producción de maíz en México (2023).

Estado	Producción (Ton)
Sinaloa	6,656,330.77
Jalisco	3,498,653.21
Michoacán	1,905,197.66
México	1,811,192.21
Guanajuato	1,762,462.60
Chihuahua	1,601,890.40
Guerrero	1,425,672.34
Veracruz	1,343,227.67
Chiapas	1,327,894.58
Puebla	1,139,813.56
Otros	4,153,358.83

SADER-SIAP (2023)

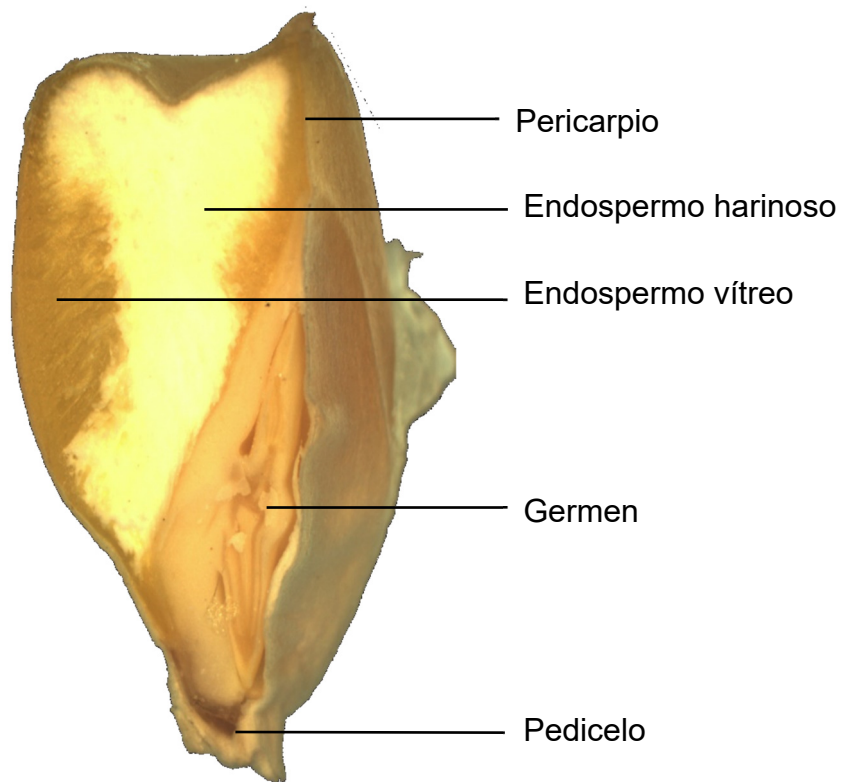


Figura 2. Grano de maíz.

Cortesía de Joao T. Leiva (Departamento de Ciencia de Plantas de la Universidad de Arizona).

El germen representa el 11.5% del peso del grano maduro y es considerado el primer tejido de reserva de nutrientes que son utilizados durante la germinación, además de almacenar la mayoría de los lípidos del grano de maíz. El pedicelo es la continuación del pericarpio y permite la unión del grano con el olote (Eckhoff y col 2003).

El **Cuadro 4** muestra la composición promedio de las principales estructuras del grano de maíz, la cual puede verse influenciada por varios factores, entre ellos el genotipo y las condiciones de cultivo. El almidón es el polisacárido de reserva mayoritario del grano (72-73%) y el principal responsable de su valor nutricional y económico. Se acumula principalmente en las células del endospermo en forma de gránulos. Está formado por amilosa, un homopolisacárido de glucosa de cadena lineal unidas por enlaces glucosídicos α -1,4, así como por amilopectina, un homopolisacárido de glucosa que se distingue de la amilosa por poseer ramificaciones en su estructura debido a la presencia de enlaces glucosídicos α -1,6. El gránulo de almidón de un maíz normal contiene aproximadamente 27% de amilosa y 73% de amilopectina (FAO 1993).

Las proteínas son el segundo componente mayoritario del grano de maíz y representan en promedio un 10.3% de su peso (**Cuadro 4**). Una de las clasificaciones más antiguas de las proteínas de reserva se basa en su solubilidad (Osborne y Clapp 1908): albúminas (solubles en agua), globulinas (solubles en soluciones alcalinas), prolaminas (soluble en alcohol) y glutaminas (solubles en condiciones ácidas o alcalinas).

Cuadro 4. Composición química aproximada de las principales partes del grano de maíz (%).

Componente	Grano	Pericarpio	Endospermo	Germen	Pedicelo
Almidón	71.5	7.3	86.4	8.2	5.3
Proteína	10.3	3.7	9.4	18.8	9.1
Lípidos	4.8	1.0	0.8	34.5	3.8
Azúcares	2.0	0.3	0.6	10.8	1.6
Cenizas	1.4	0.8	0.3	10.1	1.6

FAO (1993)

Las proteínas más abundantes en el endospermo del grano de maíz son las prolaminas o zeínas con 70-80% del total, mientras que las albúminas y globulinas se encuentran principalmente en el germen (**Cuadro 5**) (Glover y Mertz 1987). Debido a que las zeínas son las proteínas mayoritarias del endospermo, una clasificación más sencilla divide a las proteínas totales en zeínas y no-zeínas (Hamaker y Larkins, 2002). Las no-zeínas son un grupo heterogéneo de proteínas, las cuales forman parte del citoplasma y de la pared celular, presentando varias funciones metabólicas, estructurales y de transporte en las células del endospermo, pero que ocupan una menor proporción en el endospermo del maíz normal. Las prolaminas o zeínas, que se almacenan en los cuerpos proteínicos y son solubles en etanol, se subdividen en α , β , γ y δ , y se diferencian por su peso molecular y ubicación en el cuerpo proteínico (Hunter y col 2002). Por otro lado, las albúminas y glutelinas se encuentran principalmente en el germen y se consideran proteínas biológicamente activas, ya que regulan el metabolismo de la semilla (Chanvrier y col 2005).

En relación con los demás componentes químicos del maíz, los lípidos representan el 4.8% del peso del grano y están contenidos principalmente en el germen (**Cuadro 4**). Los ácidos grasos insaturados oleico y linoleico (esencial en la nutrición humana), representan la mayoría del total de los lípidos (30-60%). Los ácidos grasos saturados como el palmítico, esteárico y mirístico se encuentran en pequeñas cantidades en comparación con los ácidos grasos insaturados (Paredes y col 2013).

Cuadro 5. Contenido de las diferentes fracciones de proteínas en el grano de maíz.

Fracción proteica	Germen (%)	Endospermo (%)
Prolaminas (zeínas)	5.7	43.8
Albúminas	54	28
Globulinas	0.9	1.9
Glutelinas	39.4	26.3

Glover y Mertz (1987)

El maíz amarillo contiene vitaminas liposolubles como β -caroteno o provitamina A y α -tocoferol o vitamina E, así como la mayoría de las vitaminas hidrosolubles. El contenido de niacina en el grano de maíz es muy alto en comparación con los requerimientos mínimos, pero no está presente en forma asimilable por el cuerpo humano. Sin embargo, técnicas de procesamiento del grano, como la nixtamalización, extrusión y tostado, hidrolizan la niacina permitiendo su liberación como ácido nicotínico y posterior asimilación (Paredes y col 2013).

El germen proporciona cerca del 78% de todos los minerales del grano, fósforo en forma de fitato de potasio y magnesio es el más abundante (~0.9% en el maíz común), encontrándose en su totalidad en el embrión (FAO 1993).

B MAÍZ CON ALTO CONTENIDO DE ACEITE

1 Generalidades

Por muchos años el mejoramiento genético del maíz se enfocó en aumentar el rendimiento sin considerar la calidad nutricional. Sin embargo, investigaciones recientes se han interesado en la manipulación genética con la finalidad de aumentar el valor nutrimental de este cereal, principalmente de la calidad y cantidad de almidón, así como del contenido de proteína y ácidos grasos (Preciado-Ortiz y col 2013; Singh y col 2014).

Diversos programas de mejoramiento genético en maíz han permitido generar maíces especializados o biofortificados, logrando aumentar diferentes compuestos nutraceuticos que contribuyen a prevenir e inclusive tratar enfermedades crónico degenerativas (Preciado-Ortiz y Vázquez-Carrillo 2022). Dentro de los maíces

especializados se encuentran los de alto contenido de aceite (ACA), éstos presentan una concentración de aceite en grano superior al 6% (Lambert 2001). En 1896, la Universidad de Illinois inició experimentos que se centraron en mejorar la calidad del grano de cereales mediante la selección a largo plazo de aceite y proteína de maíz. Lograron aumentar el contenido de aceite de 4.7 a 9.9% (Winter 1974). En 1946, la variedad Illinois High Oil se convirtió en la principal fuente de germoplasma para los primeros híbridos de maíz con alto contenido de aceite (Moose y col 2004).

El método Topcross, generado para la producción de maíz ACA a principios de la década de 1990, desempeñó un papel crucial en la expansión del mercado de este tipo de maíz. Esta tecnología consiste en mezclar semillas de un híbrido con esterilidad masculina y niveles normales de aceite con semillas de un polinizador fértil con alto contenido de aceite. El maíz generado a través de esta tecnología presenta una mayor concentración de aceite y proteínas, así como también de aminoácidos esenciales (Thomison y col 2003).

Los principales componentes en el grano de maíz son carbohidratos (almidón), proteínas y aceite. Los niveles de estos dos últimos componentes suelen presentar una correlación positiva, pero se relacionan inversamente con el contenido de carbohidratos. Esto implica que los maíces con mayores cantidades de aceite y menor proporción de carbohidratos tienen mayor contenido energético, ya que el aceite contiene aproximadamente 2.5 veces más calorías que los carbohidratos (Li 1997).

La concentración de aceite y proteínas en el grano de maíz está influenciada por el tamaño del germen, que es el compartimento que contiene la mayor cantidad de

ácidos grasos, por lo que un aumento en el tamaño de esta estructura se relaciona con una mayor concentración de aceite y proteínas (Dudley y col 2007). En el caso específico de los maíces ACA, se ha observado que el aumento en el tamaño del germen resulta en un aumento en la concentración de estos compuestos, incluyendo aminoácidos esenciales, como lisina (Lambert 2001). Además de la concentración de proteínas y aceite, también se ha observado un aumento importante en la concentración de compuestos nutraceuticos tales como tocoferoles y carotenoides, destacados por su actividad antioxidante (Singh y col 2014; Preciado-Ortíz y col 2018).

En México se desarrollaron cuatro poblaciones de maíz con alto contenido de aceite a través del programa de mejoramiento de maíz del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), para lo cual aplicaron la metodología de selección recurrente. En este programa se establecieron en campo razas de maíz blancas y amarillas de poblaciones adaptadas a ambientes subtropicales, así como también poblaciones mejoradas. En este estudio lograron aumentar el tamaño del germen y el contenido de aceite en un 19.6% (maíz blanco) y 58.8% (maíz amarillo), respecto al maíz normal (Preciado-Ortíz y col 2018).

En décadas recientes, el maíz ACA se ha empleado principalmente para la alimentación pecuaria, obteniendo mejores resultados que los registrados con maíces normales (Lambert 2001). Sin embargo, algunos estudios han evidenciado su potencial para ser utilizados en la alimentación humana. Por ejemplo, el uso de maíces ACA permitió la producción de tortillas con características funcionales similares a las obtenidas con maíces normales (Vázquez-Carrillo y col 2015). No obstante, es crucial expandir las investigaciones sobre las propiedades nutraceuticas de los maíces ACA

para incrementar su valor y fomentar su consumo, además de demostrar su potencial impacto positivo en la salud humana.

C ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DE PÉPTIDOS

Las proteínas son moléculas muy importantes en la dieta humana, ya que son esenciales como fuente de aminoácidos, siendo estos últimos necesarios para sintetizar proteínas funcionales y estructurales. Además de las funciones nutrimentales de las proteínas, numerosos estudios han demostrado que son una fuente importante de péptidos con actividades biológicas tales como antihipertensiva, antioxidante, hepatoprotectora, anticancerígena, hipoglucemiante, antimicrobiana, anticoagulante, hipocolesterolémica y antitumoral (Clare y Swaisgood 2000; Li y col 2019).

Los métodos o procesos de obtención de biopéptidos pueden ser por hidrólisis química, fermentación microbiana, producción recombinante e hidrólisis por enzimas proteolíticas, siendo este último el método más implementado para obtener péptidos con peso molecular pequeño y composición de aminoácidos específicos (Saadi y col 2015; Jin y col 2016; Akbarian y col 2022). Se emplean enzimas como pepsina, bromelina, tripsina, quimotripsina y papaína, en condiciones óptimas de pH y temperatura. Algunos de los péptidos bioactivos estudiados se producen principalmente empleando enzimas digestivas como pepsina y tripsina (Akbarian y col 2022), aunque se ha demostrado que la hidrólisis con alcalasa es un método eficaz para generar péptidos antioxidantes a partir de proteínas de origen vegetal (Liu y col 2015).

Péptidos obtenidos de las proteínas del grano de maíz y sus coproductos industriales han demostrado ejercer una amplia variedad de efectos biológicos *in vitro*

e *in vivo* (**Cuadros 6 y 7**). Algunas de las actividades más relevantes se describirán en las siguientes secciones. Sin embargo, se ha prestado poca atención a las posibles propiedades biológicas de las proteínas e hidrolizados obtenidos de granos enteros de maíces especializados (Ortiz-Martinez y col 2017). Recientemente, Rivera-Atondo (2023) demostró la actividad antioxidante e inhibitoria de α -glucosidasa *in vitro* de hidrolizados de fracciones proteicas de maíces ACA desarrollados por INIFAP.

1 Actividad antioxidante

El estrés oxidativo es definido como un estado en el que la oxidación supera a la actividad antioxidante, impactando negativamente en los sistemas biológicos. Los radicales libres se destacan entre todas las moléculas por presentar un electrón desapareado, por lo que son altamente reactivos y buscan moléculas para unirse a ellas, pudiendo llegar a desnaturalizar macromoléculas como lípidos, proteínas estructurales, hasta el ADN, lo que genera desde un malfuncionamiento hasta la muerte celular (Forman y Zhang 2021). Las especies reactivas de oxígeno más conocidas son el anión superóxido, peróxido de hidrogeno, oxígeno singulete, óxido nítrico, peroxinitrúto y radical hidroxilo, siendo este último uno de los más agresivos. Todas estas moléculas son el producto de un gran número de procesos bioquímicos normales en los seres vivos (Betteridge 2000; Yoshikawa y Naito 2002).

Cuadro 6. Péptidos de maíz con actividad biológica *in vitro*.

Fuente	Péptido	Efecto bioactivo	Referencia
Harina de gluten tratada con alcalasa	QQQPW	Actividad antioxidante (ABTS y DDPH)	Wang y col (2014)
Harina de gluten tratada con alcalasa	FPLEMMPF	Actividad antioxidante <i>in vitro</i>	Zheng y col (2006)
Harina de gluten tratada con alcalasa	LDYQ	Actividad antioxidante <i>in silico</i>	Xu y col (2004)
Harina de gluten tratada con alcalasa	GLLLPH	Actividad antioxidante (ABTS y DPPH).	Wang y col (2016)
Harina de gluten tratada con alcalasa, tripsina y flavourzima		Actividad antioxidante (ABTS) y antidiabética (inhibición DPP-IV, α -amilasa y glucosidasa)	Karimi y col (2020a)
Harina de gluten tratada con alcalasa	QQQPW	Actividad antioxidante (ABTS y DPPH)	Wang y col (2014)
Harina de gluten tratada con alcalasa	LPF, LLPF y FLPF	Actividad antioxidante (DPPH) e inhibición de peroxidación lipídica	Zhuang y col (2013)
Hidrolizados con alcalasa	-	Inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa <i>in vitro</i>	Félix-Medina y col (2023)
Hidrolizado con alcalasa-flavourzima		Inhibición DPP4 y ACE <i>in silico</i>	Sharma y col (2023)
Harina de gluten con alcalasa		Inhibición de ADH en células caco-2 <i>in vitro</i>	Wang y col (2024b)

Harina de gluten con alcalasa y flavourzima	Actividad antioxidante <i>in vitro</i> (ABTS y DPPH) e <i>in silico</i>	Yu y col (2023a)
Harina de gluten tratada con alcalasa	Actividad antioxidante <i>in vitro</i> (ABTS y ORAC)	Wang y col (2024a)

Cuadro 7. Péptidos de maíz con actividad biológica *in vivo*.

Fuente	Efecto bioactivo	Referencia
Hidrolizados de alcalasa, proteasa neutra	Hepatoprotector en ratones Kunming macho	Guo y col (2009)
Hidrolizados con alcalasa	Actividad inhibidora de la ACE en ratas hipertensas	Lin y col (2011)
Hidrolizados con alcalasa	Disminución de la concentración de alcohol en sangre en ratones Kunming macho	Ma y col (2012)
Hidrolizados con alcalasa, flavourzima y protamex	Incremento de actividad SOD y reducción de niveles MDA en ratones Kunming	Liu y col (2015)
Hidrolizados de la fracción zeínas con alcalasa	Aumentó las actividades de SOD, CAT y GSH en ratones macho	Yu y col (2023b)
Hidrolizados con alcalasa, flavourzima y protamex	Control de apetito, disminución de leptina y TG hepático en ratas SD macho.	Lee y col (2015)
Hidrolizados con pepsina pancreatina	Inhibición de ECA-I en ratones hembra Balb/c	Montoya-Rodríguez y col (2020)
Hidrolizados con alcalasa	Anticancerígena: Inducción de apoptosis en una línea celular HepG2. Reducción del crecimiento tumoral hepático <i>in vivo</i> .	Li y col (2013)
Hidrolizados con alcalasa	Anticancerígena, indujeron la apoptosis a las 24 h al aumentar la expresión de caspasa 3.	Díaz-Gómez y col (2018)
Hidrolizados obtenidos por fermentación con <i>Bacillus subtilis</i> MTCC5480	Antioxidante <i>in vivo</i> : aumento de concentración de SOD, catalasa,	Jiang y col (2020)

glutación peroxidasa y disminución de MDA

Hidrolizados con alcalasa, tripsina y flavourzima	Inhibición DPP-IV, amilasa y glucosidasa	Karimi y col (2020a)
Hidrolizado de zeína con papaína	Aumento de GLP-1 e inhibición de DPP-IV en ratas	Mochida y col (2010)

La sobreproducción o alta concentración de moléculas oxidantes generan un estado de estrés oxidativo, lo que conlleva al inicio y/o aumento de patologías como diabetes, cáncer, Alzheimer, cardiopatías, así como también un envejecimiento acelerado (Adom y Liu 2002). Afortunadamente las moléculas antioxidantes son capaces de neutralizar las reacciones oxidativas de los radicales libres.

Aunque el maíz es el cereal que contiene una mayor concentración de compuestos fenólicos que presentan una alta actividad antioxidante (Adom y Liu 2002), recientemente ha aumentado el interés por sus proteínas y péptidos ya que también presentan esta actividad. Se han identificado péptidos de maíz con capacidad antioxidante caracterizados por secuencia ricas en aminoácidos hidrofóbicos como leucina, alanina y fenilalanina (Zhou y col 2015).

La acción antioxidante de los hidrolizados de proteínas (péptidos) se debe a la combinación de varios procesos como la unión de iones metálicos, la eliminación de radicales libres, la prevención de la oxidación de lípidos y la eliminación de compuestos oxigenados (Nasri 2017). Se ha observado que la longitud de los péptidos es un factor importante en su actividad antioxidante, siendo mayor en péptidos compuestos por 2 a 10 aminoácidos. Además, su poder antioxidante también se relaciona con la naturaleza de los aminoácidos que lo componen, siendo mayor en aquellos con aminoácidos de carácter hidrofóbico. En particular, los residuos aromáticos pueden donar fácilmente protones a radicales deficientes en electrones y participar directamente en la actividad de captación de radicales (Nasri 2017).

Los aminoácidos Trp, Tyr, His, Leu, Pro y Cys exhiben actividades de eliminación de radicales y capacidad quelante de metales (Chen y col 1996). La proteína de maíz

contiene altas proporciones de aminoácidos hidrofóbicos como Leu (19.3–21.1 %), Ala (8,3–10,5 %), Ile (5,0–6,2 %) y Pro (9,0–10,5 %), por lo que puede ser una buena fuente de péptidos antioxidantes (Wang y col 2014).

Zhuang y col (2013) estudiaron tres péptidos de bajo peso molecular provenientes de maíz con las siguientes secuencias: Leu-Pro-Phe, Leu-Leu-Pro-Phe y Phe-Leu-Pro-Phe. Los tres biopéptidos exhibieron una buena actividad de eliminación de radicales libres y un efecto inhibitor de la peroxidación de lípidos (**Cuadro 6**).

Yu y col (2023b) reportaron buenos resultados antioxidantes y hepatoprotectores en modelo murino usando péptidos generados del tratamiento de la fracción de albúminas de harina de germen de maíz (AHGM) con la enzima proteasa neutra. Además, se reportó que la fracción peptídica < 1 kDa (PFA4) a una dosis de 800 mg/kg presentó la mejor actividad antioxidante en comparación con otras fracciones a diferentes dosis. El daño hepático inducido por alcohol se reflejó en un aumento en aspartato aminotransferasa hepática (AST), alanina aminotransferasa (ALT), malondialdehído (MDA) y triglicéridos (TG), así como una disminución de las moléculas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD) y glutatión (GSH). Sin embargo, la administración de PFA4 mostró el mayor aumento de SOD y glutatión (GSH) con un 84.02% y 193.22%, respectivamente, con respecto al grupo control. Además, se observó una disminución significativa de los niveles de MDA, menor peroxidación de lípidos y daño hepático, lo que apunta que la fracción PFA4 impactó positivamente en la actividad antioxidante y hepatoprotectora.

Por otro lado, Jiang y col (2020) evaluaron en ratas la actividad antioxidante de péptidos de harina de gluten de maíz generados por fermentación microbiana (*Bacillus subtilis* MTCC5480). Se observó un aumento en las concentraciones de T-SOD, CAT,

GSH-Px y T-AOC en suero e hígado de los grupos tratados con los péptidos, así como una menor concentración de MDA, lo que se relacionó con una menor acumulación de productos de la peroxidación de lípidos. La administración de péptidos de harina de gluten de maíz presentó una buena actividad antioxidante, por lo que fue capaz de moderar el estrés de las ratas expuestas a D-galactosa (inductor de estrés oxidativo).

2 Actividad hipoglucémica

La diabetes mellitus (DM) es el resultado de un conjunto de condiciones como trastornos autoinmunes, metabólicos y genéticos, donde todos ellos están asociadas a la hiperglucemia. La presencia de hiperglucemia prolongada o crónica puede generar complicaciones y daños en retina, riñón, vasos sanguíneos y nervios periféricos (Egan y Dinneen 2019). Existen diferentes tipos de DM, pero los principales son el tipo 1 o DM insulino dependiente, donde la hormona insulina no es producida por un mal funcionamiento de las células β pancreáticas, mientras que la DM2 es caracterizada como una patología progresiva, donde las células β pancreáticas van disminuyendo su actividad de producción de insulina y una disminución gradual de la sensibilidad por parte de los tejidos diana a la acción de esta hormona (Schuster y Duvuuri 2002).

Al ser una enfermedad crónica, la diabetes requiere un control médico continuo, así como una educación para el autocontrol del paciente, esto con la finalidad de prevenir complicaciones agudas y reducir el riesgo de complicaciones a largo plazo. En general, el objetivo del control de la DM2 es lograr mantener el nivel de glucosa en sangre dentro de lo normal. Diversos estudios han demostrado que mantener en control el nivel de glucemia limita, retrasa e incluso previene complicaciones de la diabetes (Shafiee y col 2012).

Dentro de los principales tratamientos para controlar la DM se encuentran la administración subcutánea de insulina y los fármacos orales. En cuanto a fármacos se cuenta con una gama amplia, donde resaltan las sulfonilureas, biguanidas, inhibidores de alfa-glucosidasa, meglitinidas y tiazolidinedionas (Santa Cruz y Zacarías Castillo 2002; Álvarez-Guisasola y col 2019). Estos tratamientos se centran en mantener la hipoglucemia, pero desafortunadamente la mayoría ocasiona efectos secundarios prominentes y con el tiempo tienden a perder la eficacia (Singhal y col 2014).

Una estrategia para el control de la diabetes consiste en disminuir la absorción de glucosa a través de la inhibición de la α -glucosidasa y la α -amilasa involucradas en la hidrólisis de carbohidratos. Los inhibidores de estas enzimas permiten disminuir la tasa de digestión del almidón y disacáridos a glucosa, así como la absorción de glucosa en el intestino delgado (Karimi y col 2020a). Entre los posibles inhibidores se encuentran los péptidos derivados de hidrolizados de proteínas vegetales. Karimi y col (2020a) evaluaron la actividad antidiabética de péptidos derivados del germen de maíz, comparando la capacidad de tres enzimas (alcalasa, flavourzima y tripsina) en la producción de los biopéptidos y su efecto. Los resultados más prometedores fueron obtenidos con los hidrolizados de alcalasa, generando un mayor nivel de inhibición de α -glucosidasa y α -amilasa. Estos efectos se relacionaron con un mayor grado de hidrólisis de alcalasa, la presencia de aminoácidos como prolina, ácido glutámico, glutamina, ácido aspártico, asparagina, leucina, lisina, glicina, así como también aminoácidos con grupos hidroxilo (serina, treonina y tirosina). Estos resultados pueden atribuirse a que la hidrólisis enzimática con alcalasa genera péptidos de menor tamaño, capaces de tener un acceso con mayor facilidad al sitio activo de la enzima y por ende inhibir su acción. En este

sentido, Rivera-Atondo (2023) demostró que hidrolizados de proteína de maíz ACA obtenidos por hidrólisis enzimática con alcalasa tienen una buena capacidad de inhibición de la enzima α -glucosidasa, reportando valores de 34.1-68.2% en la fracción albúminas, 20.3-58.6% en globulinas y 29.6-58.7% en prolaminas. En todos los casos la cruza CML451/CML486 x PAN133 fue la que presentó los mayores valores de inhibición de la enzima.

Ina y col (2016) realizaron un estudio en ratas Wistar macho, donde compararon el efecto inhibitor de la fracción albúminas provenientes de trigo y arroz en cuanto a la absorción y producción de glucosa e insulina. Los resultados obtenidos mostraron una menor concentración de insulina y glucosa en sangre, posterior a la ingesta de almidón, en los grupos tratados con albúmina de arroz (AR). Sin embargo, la inhibición de las α -amilasas *in vitro* por AR no fue satisfactoria para las enzimas que provenían de mamíferos, por lo que la inhibición o presencia de menor concentración de insulina y glucosa se puede relacionar con otras vías, donde posiblemente la AR actúa suprimiendo la absorción en intestino delgado de glucosa, a través de una acción similar a la de las fibras dietéticas. Por otro lado, la acción inhibitoria por albúmina de trigo si fue satisfactoria, con una inhibición de 98 y 90% aproximadamente para α -amilasa de páncreas porcino y humano, respectivamente.

IV. JUSTIFICACIÓN

El maíz es un cereal de gran importancia en el mundo debido a su contenido de nutrientes y compuestos bioactivos beneficiosos para la salud. Entre los maíces especializados se encuentran los de alto contenido de aceite (ACA), los cuales tienen más del 6% de aceite y un alto contenido de ácidos grasos esenciales poliinsaturados, así como un mayor contenido de proteínas y aminoácidos esenciales. Los esfuerzos para incorporar los maíces ACA a la producción comercial de México han sido infructuosos, sus beneficios aún no han sido explotados en su totalidad, por lo que es importante investigar sus propiedades nutracéuticas para darles mayor valor y promover su uso.

Los hidrolizados proteicos han sido asociados con actividades biológicas significativas, por lo que hay mucha información disponible sobre péptidos bioactivos obtenidos de diversas variedades de maíz, los cuales han demostrado beneficios para la salud humana y potencial para reducir el riesgo de enfermedades crónico-degenerativas. Sin embargo, existen pocos reportes de este tipo en maíces ACA. Recientemente nuestro grupo de trabajo demostró la actividad antioxidante y el potencial antidiabético *in vitro* de hidrolizados de albúminas de maíces ACA, pero se requieren estudios en modelos animales para probar el efecto de los péptidos *in vivo*.

Por lo tanto, esta investigación tuvo como finalidad demostrar la efectividad antioxidante, hipoglucemiante y antihiperoglucemiante de hidrolizados de albúminas provenientes de maíz con alto contenido de aceite en ratones BALB-c, generando evidencia sobre su potencial actividad en humanos. Los hallazgos del estudio servirán como base para el desarrollo de suplementos alimenticios o fitofármacos destinados a tratar diversas enfermedades crónicas.

V. HIPÓTESIS

Los hidrolizados de albúminas de maíz ACA, obtenidos con alcalasa y pepsina-pancreatina, poseen actividad antioxidante, hipoglucemiante y antihiperoglucemiante en ratones BALB-c superior a la de un maíz normal.

VI. OBJETIVOS

A OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antioxidante, hipoglucemiante y antihiperoglucemiante de hidrolizados de albúminas de maíz ACA en ratones BALB-c.

B OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1 Caracterizar el perfil de hidrolizados de albúminas de maíz ACA obtenidos con alcalasa y pepsina-pancreatina.
- 2 Determinar la actividad antioxidante *in vitro* e *in vivo* de los hidrolizados de albúminas de maíz ACA.
- 3 Evaluar la actividad hipoglucemiante y antihiperoglucemiante en modelo murino de los hidrolizados de albúminas de maíz ACA.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A MATERIALES

1 Granos

Se utilizó una cruza experimental de maíz con alto contenido en aceite (ACA) CML451/CML486 x PAN133 y el híbrido de maíz comercial Sunrice (SUN) (Genetiks) como referencia. Estos materiales fueron proporcionados por el MC. Luis Peinado Fuentes y fueron cultivados bajo condiciones de riego en el campo experimental Valle del Fuerte del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), durante el ciclo otoño-invierno 2021-2022, utilizando las condiciones establecidas en la agenda técnica agrícola de Sinaloa (INIFAP 2017).

2 Animales de laboratorio

Para los ensayos *in vivo* se utilizaron ratones BALB-c (BIOINVERT SA de CV, México) mantenidos en el bioterio de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Los animales fueron alojados en cajas de acrílico en un cuarto con temperatura controlada ($24 \pm 1^\circ\text{C}$), ciclos de luz/oscuridad de 12 h, y libre acceso a agua potable y alimento para roedores (Nutricubos, Purina). La investigación se realizó de conformidad con la Norma Oficial Mexicana NOM062-ZOO-1999.

B MÉTODOS

1 Extracción de las fracciones de proteínas

Granos maduros de maíz se molieron con un molino de bolas MM40 (Retsch, Haan, Alemania) para obtener harina, la cual fue posteriormente desgrasada con hexano (1:10 p/v). La fracción de albúminas se extrajo usando la metodología propuesta por Ortiz-Martinez y col (2017) con algunas modificaciones. La harina se mezcló con agua desionizada (1:20 p/v), se agitó durante 20 s en un agitador oscilatorio (Varimix, Thermolyne, Dubuque, IA) y se incubó a 25 °C por 2 h con agitación a 500 rpm (Labnet International Inc., Edison, Nueva Jersey). Posteriormente la mezcla se centrifugó (15,000 g / 20 min, 4 °C) y se recuperó el sobrenadante para su liofilización (25EL, VirTis Co., Gardiner, NY, EUA). El liofilizado obtenido se lavó secuencialmente con metanol (200 mL) y acetona (200 mL); entre cada lavado se realizó una centrifugación (4,000 g / 10 min, 4 °C), se descartaron los sobrenadantes y finalmente se dejó secar la pastilla hasta evaporar la acetona.

2 Cuantificación de proteínas

La concentración de albúminas se determinó colorimétricamente utilizando el método del ácido bicinconínico (BCA) (Brown y col 1989). Este método consiste en la reducción del ion Cu^{+2} a Cu^{+} en presencia de proteínas a pH elevado generando un complejo de tinción color púrpura, con un máximo de absorción a 550 nm. La concentración de proteínas se estimó a partir de una curva de calibración obtenida con albúmina de suero bovino (BSA) como proteína estándar (2-10 mg/mL). Se tomaron 5 μL de proteína (10 mg/mL) y se mezclaron con 200 μL de ácido bicinconínico (BCA), la mezcla se incubó a

37 °C/30 min y finalmente se realizó una lectura a 550 nm en un lector de placas (Synergy HTX, BioTek Instruments, EUA).

3 Elaboración de hidrolizados proteínicos

a Hidrólisis con alcalasa

Se siguió la metodología de Ortiz-Martinez y col (2017). La pastilla de albúminas (1 g) se resuspendió en agua desionizada estéril (10 mL, pH 8) y se colocó en baño María a 90 °C por 15 min para desnaturalizar la proteína y mejorar la disponibilidad de los sitios de corte de la enzima. Después de enfriar la muestra a temperatura ambiente se ajustó el pH a 8.0, se adicionó la enzima alcalasa (0.5 UA/g de proteína) y la hidrólisis se llevó a cabo durante 180 min a 55 °C. Posteriormente se inactivó la enzima a 80 °C durante 10 min, se enfrió la muestra a temperatura ambiente por 10 min y se centrifugó a 5,000 g/10 min a 4 °C. El sobrenadante recuperado se pasó secuencialmente a través de filtros de membrana (0.45 µm) (Gelman, 4408) y filtros para centrifuga con membrana de 10 kDa para eliminar restos de proteínas sin hidrolizar. El filtrado recuperado se liofilizó y se almacenó a -20 °C hasta su posterior uso. El grado de hidrólisis se calculó con la ecuación de (Adler-Nissen 1986):

$$GH\% = \left[\frac{(B * Nb)}{MP} \right] \left(\frac{1}{\alpha} \right) \left(\frac{1}{h_{tot}} \right) 100$$

$$\alpha = (10 \text{ pH-pK}) / (1 + 10 \text{ pH-pK})$$

La *B* corresponde al volumen (mL) de NaOH gastado para mantener constante el pH durante la proteólisis. *Nb* es la normalidad del NaOH, *MP* es el contenido de proteína (g), *h_{tot}* es el número total de enlaces peptídicos del sustrato, el cual se asume es 7.22 mmol/

g de proteína, y α es el grado de disociación de los grupos α -NH₂ estimado de los valores de pH y pK .

b Hidrólisis con pepsina-pancreatina

La hidrólisis secuencial con pepsina-pancreatina se realizó siguiendo la metodología de Acevedo Martínez y Gonzalez de Mejia (2021) con las modificaciones de Ramírez y col (2021). Se utilizó una relación enzima-sustrato de 1:20 tanto de pepsina (3200 U/mL) (P6887, Sigma-Aldrich) como de pancreatina (4xUSP) (P7545, Sigma-Aldrich). Se colocó 1 g de albúminas en agitación constante con solución de pepsina (20 mL de HCl 0.01 M, pepsina; pH 2) a 37 °C por 90 min; después, se ajustó el pH a 8 con NaOH 1 M. Para la segunda incubación se añadió la solución de pancreatina (7.5 mL de buffer de fosfatos, pancreatina; pH 8) y se agitó por 90 min a 37 °C. Las enzimas se inactivaron por incubación a 80 °C durante 10 min, la muestra se dejó enfriar a temperatura ambiente por 10 min, se centrifugó (5,000 g/10 min, 4°C), el sobrenadante se recuperó y se pasó a través de filtros PVDF (0.45 μ m). Finalmente, el filtrado se pasó por filtros de centrifuga con membrana de 10 kDa para eliminar restos de proteínas sin hidrolizar. El filtrado recuperado se liofilizó y se almacenó a -20 °C hasta su posterior uso.

El grado de hidrólisis se calculó a partir de los grupos amino libres resultantes de la reacción con ácido 2,4,6-trinitrobenzenosulfónico (TNBS) de acuerdo con la metodología de Adler-Nissen (1986). Se mezclaron 50 μ L de muestra (tomada a los 30, 60, 90, 120, 150 y 180 min de hidrólisis) con 400 μ L de SDS 1% y se colocaron en baño maría a 75 °C por 15 min, posteriormente se transfirieron 50 μ L de muestra preparada (muestra+SDS) a otro tubo con 400 μ L de buffer de fosfato de sodio (0.2 M, pH 8.2). Se agregaron 400 μ L de solución de TNBS 1%, se agitó en vórtex y se colocó en baño María

a 50 °C por 60 min, protegiendo la muestra de la luz con papel aluminio. La reacción se detuvo con 800 µL de HCl 0.1 N y se midió la absorbancia a 340 nm. Se utilizó como estándar una curva de leucina de 0 a 5 mM. El grado de hidrólisis (GH) se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{GH (\%)} = (\text{h}/\text{htot}) 100$$

Donde h es la concentración de grupos aminos formados durante la hidrólisis en mmol/g de proteína y htot se asumió que es 7.22 mmol/ g de proteína de acuerdo con Kou y col (2013).

3 Caracterización del perfil de péptidos

a SDS-PAGE

La fracción de albúminas y los hidrolizados se separaron mediante SDS-PAGE según Laemmli (1970). Las muestras (15 µg) se mezclaron con amortiguador de carga y se separaron en un gel de poliacrilamida al 12.5% a 100 V con un sistema de electroforesis SG-170 (CBS Scientific, San Diego, CA, EUA). El gel se tiñó con Coomassie Blue R250 (Sigma-Aldrich) y se destiñó con una solución de metanol: agua: ácido acético (40:50:10). La imagen fue adquirida con un sistema Chemidoc XRS (BioRad, Hercules, CA, EUA).

b HPLC-MS/MS

Los hidrolizados de alcalasa y pepsina-pancreatina se resuspendieron en agua grado HPLC (pH 8) (150 mg/mL) y posteriormente se inyectaron 15 µL de muestra en un equipo UPLC-DAD modelo ACCELA (Thermo Scientific, San José, CA, EUA) para su separación en una columna Luna C18 (150 × 4.6 mm × 5 µm) (Phenomenex, Inc, EUA). Se utilizaron

como fases móviles agua-ácido fórmico (1%) (A) y acetonitrilo (B) a un flujo de 0.2 mL/min y el siguiente gradiente: 0-20 min, 95.5-96% A; 20-68 min, 96-80% A; 68-115 min, 80-52% A; 115-120 min, 52-100% A. La detección se realizó a 257 y 280 nm. Los péptidos se identificaron en un espectrómetro de masas LTQ-XL (Thermo Scientific) utilizando una fuente de ionización por electro-asperjado (ESI) operando en modo positivo con voltaje de 35 V y temperatura del capilar 300 °C.

La adquisición de los espectros de masas se realizó con el programa Xcalibur 2.1 (Thermo Scientific) en un rango m/z de 50–2000 y los iones más intensos se fragmentaron mediante disociación inducida por colisión (CID). Los datos se analizaron con el programa Proteome Discoverer 1.2 usando el algoritmo SEQUEST y una base de datos referenciada (UNIPROT, proteoma de *Z. mays*, ID: UP000007305). Las actividades predichas de los péptidos se obtuvieron de la base de datos BIOPEP (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>).

4 Evaluación de la actividad antioxidante *in vitro*

a Método ABTS

Se utilizó el método de Re y col (1999) con algunas modificaciones para microplaca. Se tomaron 20 μL de hidrolizado (1 mg/mL) y se mezclaron con 180 μL de la solución del radical ABTS^{•+} que presentó una absorbancia de 1.4 ± 0.1 a 734 nm. La mezcla se dejó reaccionar 10 min a 37 °C en la oscuridad y posteriormente se registró el cambio en la absorbancia a 734 nm (Synergy HTX, BioTek Instruments, EUA) respecto a la referencia del reactivo (radical más solvente). La reacción produce cambio en la coloración de azul a verde.

b Método DPPH

La actividad anti-radical DPPH de las muestras se determinó utilizando la metodología descrita por Brand-Williams y col (1995) con modificaciones para microplaca. La reacción cambia el color de púrpura a amarillo. Se utilizó una solución DPPH (150 μ M) disuelta en metanol. Se tomaron 100 μ L de cada hidrolizado (5 mg/mL) y se mezclaron con 100 μ L de la solución DPPH. Después de 30 min de incubación a temperatura ambiente se midió la absorbancia a 515 nm.

c Método ORAC

El ensayo ORAC mide la capacidad de un antioxidante de inhibir, mediante un mecanismo de transferencia de hidrógenos, la oxidación de la fluoresceína inducida por los radicales peroxilo generados por AAPH (2,2'-azobis dihidrocloruro) (Takatsuka y col 2021).

Los hidrolizados (1 mg/mL) se diluyeron (1:2) con PBS (75 mM, pH 7.4). En microplacas oscuras de 96 pozos con fondo plano se agregaron 25 μ L de la muestra, 25 μ L de PBS (blanco) o 25 μ L de Trolox (25 - 125 μ M) (curva estándar). La placa se colocó en un equipo de lectura de fluorescencia (Synergy 2 SL, Biotek Instruments, EUA.) donde se agregaron automáticamente 200 μ L de fluoresceína (0.96 μ M) y 75 μ L de AAPH (95.8 mM) a cada pozo. La intensidad de fluorescencia (485 nm (ex)/525 nm (em)) se midió por un periodo de 75 min (37 °C) en intervalos de 1 min (Huang y col., 2002). La capacidad antioxidante se obtuvo calculando la diferencia entre la disminución en la intensidad de fluorescencia de la muestra y del control Trolox, comparando las áreas bajo la curva generada por el equipo.

En los tres métodos se utilizó una curva de calibración de Trolox (0 - 200 µg/mL) y los resultados fueron expresados como micromoles equivalentes de Trolox por gramo de hidrolizado (µmol ET/ g).

5 Actividad antioxidante *in vivo*

a Diseño experimental

La evaluación de la actividad antioxidante *in vivo* se realizó en ratones BALB-c machos de seis semanas de edad, con un peso promedio entre 25-35 g. Se formaron siete grupos (n=6): grupo A, control sano (solución salina fisiológica SS, 10 mL/kg p.c.); grupo B, control APAP (SS, 10 mL/kg p.c.); grupo C, control positivo (silimarina, 100 mg/kg p.c.); grupo D, hidrolizado de albúminas de maíz comercial con alcalasa (100 mg/kg p.c.); grupo E, hidrolizado de albúminas de maíz comercial con pepsina-pancreatina (100 mg/kg p.c.); grupo F, hidrolizado de albúminas de maíz ACA (CML451/CML486 x PAN133) con alcalasa (100 mg/kg p.c.); grupo G, hidrolizado de albúminas de maíz ACA (CML451/CML486 x PAN133) con pepsina-pancreatina (100 mg/kg p.c). Las dosis se administraron vía intragástrica diariamente durante siete días (Papackova y col 2018).

b Inducción de daño hepático

El séptimo día del experimento, los ratones se sometieron a ayuno de 2 h para luego administrar la última dosis de tratamiento. Dos horas después de administrar los tratamientos, a los ratones de los grupos B-G se les indujo daño hepático por inyección intraperitoneal del oxidante APAP (300 mg/kg p.c., 300 mg/10 mL H₂O a 55 °C) y al grupo sin daño (A) se le inyectó SS (10 mL/kg p.c.). Posterior al daño, los ratones tuvieron

acceso a agua y alimento a libre demanda. Los ratones se sacrificaron 12 h después de la aplicación de APAP con previo ayuno de 6 h.

c Sacrificio y recolección de las muestras de los animales

Los ratones se anestesiaron en una cámara de cristal utilizando éter etílico y se les extrajo sangre por punción cardiaca, posteriormente se diseccionaron para obtener el hígado. La sangre se centrifugó a 4,000 g/10 min y se colectó el suero para el análisis de perfil hepático. El hígado se pesó y se dividió en dos partes, una de ellas se colocó en formalina (37%) para posterior análisis histopatológico y la otra se congeló a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ para la determinación de malondialdehído (MDA) y glutatión (GSH).

d Determinación de enzimas séricas

La actividad de las enzimas séricas fosfatasa alcalina (FA), aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT) se determinó usando kits comerciales (Elitech Group, Francia) siguiendo las indicaciones del fabricante.

La determinación de FA se realizó en microplaca de 96 pozos con fondo plano. En cada pozo se colocaron 5 μL de suero y 100 μL de reactivo de trabajo (reactivo A + reactivo B, relación 4:1). La microplaca se agitó por 3 s a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ y luego se midió la absorbancia (405 nm) después de 1 y 3 min (Synergy HTX, Bio Tek, EUA). El cambio de absorbancia por minuto ($\Delta\text{A}/\text{min}$) se empleó para determinar la actividad enzimática mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Actividad (U/L)} = \Delta\text{A}/\text{min} * 2187$$

La actividad de las enzimas séricas AST y ALT se realizó en microplaca de 96 pozos con fondo plano, colocando en cada pozo 5 μL de suero y 100 μL de reactivo de trabajo

(reactivo A + reactivo B, relación 4:1). La microplaca se agitó por 3 s a 37 °C y se midió la absorbancia a 340 nm después de 1 y 3 min (Synergy HTX, Bio Tek, EUA). El cambio de absorbancia por minuto ($\Delta A/\text{min}$) se empleó para determinar la actividad enzimática de AST y ALT:

$$\text{Actividad (U/L)} = \Delta A/\text{min} \times 3333$$

e Determinación de malondialdehído (MDA) como marcador de estrés oxidativo

La concentración de MDA se determinó utilizando un kit comercial para ensayo colorimétrico/fluorométrico de peroxidación de lípidos (Catálogo K739-100, Biovision). El ensayo se basa en la reacción de MDA con ácido tiobarbitúrico (TBA) para generar el aducto MDA-TBA que se cuantifica colorimétricamente a 532 nm.

El tejido hepático (50 mg) se colocó en un microtubo y se homogenizó en frío con 150 μL de buffer de lisis de MDA (con 1.5 μL de BHT). La mezcla se centrifugó (13,000 g/10 min) y se recuperó el sobrenadante. Para la cuantificación se preparó una curva estándar empleando una solución stock de MDA 2 mM y diluciones de 0 a 30 nmol/pozo. Posteriormente, en tubos de 1.5 mL se colocaron 100 μL de sobrenadante o dilución estándar y 300 μL de TBA para generar el aducto MDA-TBA. Los viales se incubaron a 95 °C por 60 min, se enfriaron en hielo (10 min), se centrifugaron (13,000 g/3 min) y se recuperó el sobrenadante. En una microplaca de 96 pozos de fondo plano se colocaron 100 μL de cada muestra e inmediatamente se midió la absorbancia a 532 nm utilizando un lector de microplacas (Synergy HTX, BioTek, EUA). Los resultados se reportaron como nanomoles de MDA por mg de tejido hepático (nmol/mg) y se calculó con la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración (nmol/mg)} = (A/\text{mg}) * 4 * D$$

Donde A es la cantidad de MDA en la muestra, calculada con la curva estándar, mg es la cantidad de muestra utilizada, 4 es el factor de corrección y D es el factor de dilución en caso de ser necesario.

f Determinación de glutatión (GSH) en hígado

El glutatión (GSH) se cuantificó con un kit comercial (CS0260-1KT Sigma-Aldrich). El método se basa en el sistema de reciclaje de glutatión por el ácido 5,5'- ditio-bis-(2-nitrobenzoico) (DTNB) y glutatión reductasa, de esta manera el glutatión oxidado (GSSG) en la muestra es reducido. El DTNB y el GSH reaccionan para generar ácido 2-nitro-5-tiobenzoico que presenta un color amarillo que se mide a 412 nm (Tipple y Rogers 2012). Una muestra de 100 mg de hígado se mezcló con 500 μ L de ácido sulfosalicílico al 5% (SSA) y se homogenizó en frío en un microtubo. La muestra se mantuvo en frío por 10 min, se centrifugó a 10,000 g/10 min y se recuperó el sobrenadante. Los sobrenadantes del grupo control se diluyeron 20 veces (1:20) y las muestras 10 veces (1:10) con SSA al 5%. La cuantificación se realizó preparando una curva de calibración, empleando una solución stock de GSH 100 μ M y diluciones de 3.125 a 100 μ M. En una microplaca se colocaron 10 μ L de las muestras diluidas o dilución estándar y 150 μ L de mezcla de trabajo (DTNB + glutatión reductasa + buffer), la mezcla se dejó reposar 5 min a temperatura ambiente en oscuridad y se le agregaron 50 μ L de NADPH, dejando reposar nuevamente 5 min bajo las mismas condiciones y luego se midió la absorbancia a 412 nm en un lector de microplaca (Synergy HTX, BioTek EUA La concentración de GSH (nmol de GSH/ mg de tejido hepático) se determinó con la curva de calibración.

g Análisis histopatológico

Para la preparación de las muestras, los fragmentos de hígado se fijaron en una solución amortiguadora de formalina: formaldehído al 37%, 100 mL/L; NaH₂PO₄·H₂O, 4 g/L, Na₂HPO₄, 6.5 g/L, pH= 7.4. Las muestras de tejido fueron cortadas (0.5 cm × 2.0 cm), deshidratadas y embebidas en parafina (Leica Paraplast). Posteriormente se obtuvieron muestras con un grosor de 5-7 μm con la ayuda de un micrótopo (Leica RM2125 RTS). Los cortes fueron colocados en un portaobjetos y posteriormente se tiñeron con hematoxilina-eosina. Las muestras teñidas fueron selladas con medio de montaje (Entellan New Merk Millipore) para su preservación. La observación histológica se realizó en un microscopio óptico Primo Star (Carl Zeiss, Alemania) a 10X y 40X. La evaluación del grado de daño se realizó con base en el sistema de puntuación histológica por lesión hepática inducida por paracetamol (Muhammad-Azam y col 2019). Se tomaron fotografías de láminas representativas.

6 Actividad hipoglucemiante y antihiperoglucemiante *in vivo*

a Actividad inhibitoria de α-glucosidasa

Se siguió la metodología de Lopez-Angulo y col (2014) que evalúa de manera indirecta la actividad de la enzima α-glucosidasa. La enzima libera *p*-nitrofenol cuando hidroliza el enlace alfa del compuesto *p*-nitrofenil-α-D-glucopiranosido. Una unidad de la enzima libera 1 μmol/min de *p*-nitrofenol cuyo máximo de absorción es a 405 nm, por lo que a mayor inhibición de la enzima, menor es la concentración de *p*-nitrofenol encontrada. En el ensayo se mezclaron 50 μL de muestra (200 mg/mL) con 100 μL de la solución de α-glucosidasa (1 U/mL) y la mezcla se incubó durante 10 min a 25 °C. Posteriormente, se agregaron 50 μL de *p*-nitrofenil-α-D-glucopiranosido (5 mM), la

mezcla se incubó 10 min y finalmente se midió su absorbancia a 405 nm. Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición.

$$\% \text{ Inhibición} = 100 * [1 - (\text{Abs de muestra}/\text{Abs de control})]$$

b Actividad hipoglucémica

Se evaluó en ratones BALB-c machos normoglucémicos siguiendo la metodología de Kifle y col (2020) con algunas modificaciones. Se formaron seis grupos (n = 6): grupo I, control negativo (solución salina); grupo II, control positivo (glibenclamida 10 mg/kg p.c.); grupo III, hidrolizado con alcalasa de albúminas de maíz comercial (100 mg/kg p.c.); grupo IV, hidrolizado pepsina-pancreatina de albúminas de maíz comercial (100 mg/kg p.c.); grupo V, hidrolizado con alcalasa de albúminas de maíz ACA (100 mg/kg p.c.); grupo VI, hidrolizado con pepsina-pancreatina de albúminas de maíz ACA (100 mg/kg p.c.) El nivel de glucosa basal se midió después de 4 h de ayuno; inmediatamente, los tratamientos se administraron por vía oral y se midieron los niveles de glucosa cada hora durante 5 h. La sangre se obtuvo mediante punción en la cola y la glucosa se midió con un glucómetro (Accu-Chek® Roche, México). Los niveles de glucosa se expresaron como mg/dL de sangre.

c Actividad antihiperoglucémica

La prueba de tolerancia oral a la glucosa se realizó siguiendo la metodología de Mohamed Sham Shihabudeen y col (2011) con algunas modificaciones. Se formaron seis grupos (n = 6) de ratones BALB-c: grupo I, control negativo (solución salina); grupo II, control positivo (acarbosea 10 mg/kg p.v.); grupo III, hidrolizado con alcalasa de albúminas de maíz comercial (200 mg/kg p.c.); grupo IV, hidrolizado con alcalasa de albúminas de

maíz ACA (200 mg/kg p.c.); grupo V, hidrolizado con pepsina-pancreatina de albúminas de maíz comercial (200 mg/kg p.c.); grupo VI, hidrolizado con pepsina-pancreatina de albúminas de maíz ACA (200 mg/kg p.c.). La glucosa basal se determinó después de 4 h de ayuno y los tratamientos se administraron por vía oral inmediatamente después. Media hora después, los ratones recibieron sacarosa (2 g/kg p.c.) y se midieron los niveles de glucosa después de 30, 60, 90 y 120 min. La sangre se obtuvo mediante punción en la cola y la glucosa se midió con un glucómetro (Accu-Chek®). Los niveles de glucosa se expresaron en mg/dL de sangre.

7 Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como la media y desviación estándar. Se utilizó un diseño bifactorial para pruebas antioxidantes y α -glucosidasa. En el análisis de las actividades hipo y antihiper glucémica se realizó un ANOVA de medidas repetidas. Se utilizó una comparación de medias por la prueba de Fisher con un nivel de significancia del 5%. Todos los análisis se realizaron con el programa Statgraphics Centurion 16.1 (StatPoint Technologies, Inc., Warrenton VA, EUA).

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A CARACTERIZACIÓN DE LOS HIDROLIZADOS DE ALBÚMINAS DE MAÍZ

1 Grado de hidrólisis

En la hidrólisis de las proteínas se utilizan enzimas de diferentes fuentes, generando cada una de ellas diferentes grados de hidrólisis (GH). El GH es definido como la relación porcentual entre el número de enlaces peptídicos escindidos (h) y el número total de enlaces disponibles para la hidrólisis proteolítica (h_{total}) (Sbroggio y col 2016).

El aumento en el GH de proteínas contribuye a incrementar el número y biodisponibilidad de péptidos bioactivos, los cuales se han relacionado con múltiples beneficios para la salud que van más allá de su valor nutricional básico (Wang y col 2016). El tratamiento con alcalasa de la fracción de albúminas del maíz comercial SUN y el maíz ACA durante 180 min resultó en un GH de 12% por el método de pH, teniendo un comportamiento asintótico y sin diferencias significativas entre ambos maíces (**Figura 3**). Por otro lado, los resultados de GH obtenidos por el método de TNBS fueron significativamente diferentes entre los hidrolizados, donde los obtenidos con pepsina-pancreatina en ambos maíces presentaron los mayores valores después de los 180 min de tratamiento (**Figura 4**). Además, el GH del maíz ACA (13.1%) fue significativamente mayor que el del comercial SUN (9.6%).

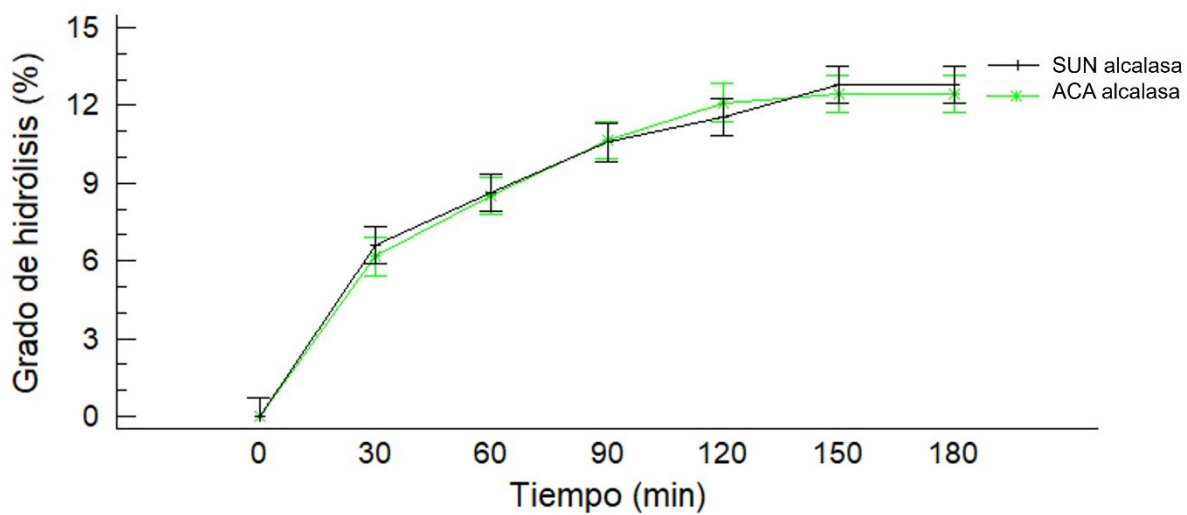


Figura 3. Grado de hidrólisis por el método de pH de albúminas de maíz ACA y maíz comercial SUN tratadas con alcalasa. Los datos se expresan como la media \pm LSD. Letras diferentes indican diferencia significativa entre los hidrolizados en cada uno de los tiempos evaluados con base en la prueba de Fisher, $p \leq 0.05$.

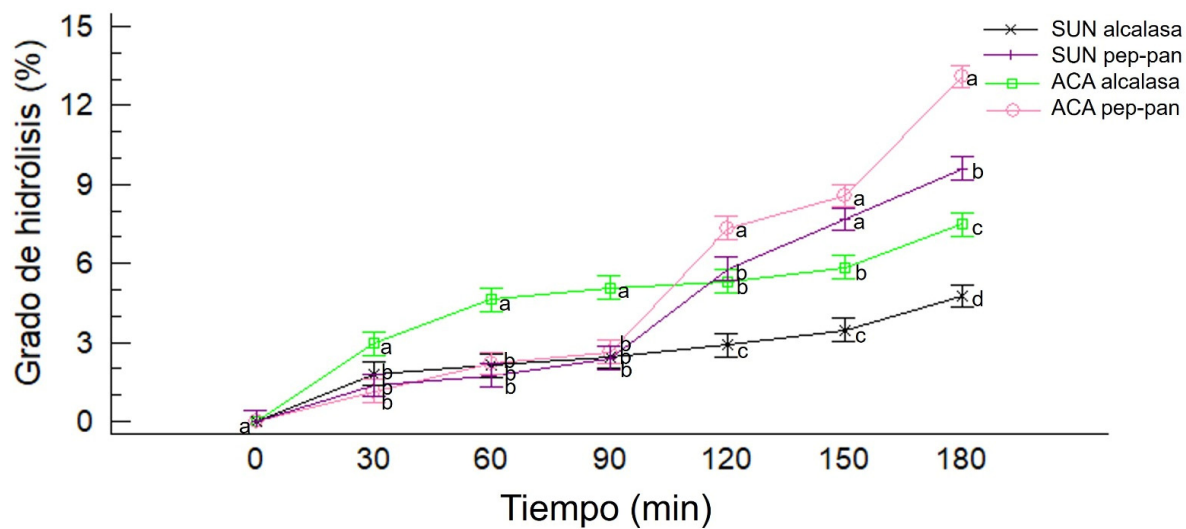


Figura 4. Grado de hidrólisis por el método TNBS de albúminas de maíz ACA y maíz comercial Sunrice (SUN) con alcalasa y pepsina-pancreatina. Los datos se expresan como la media \pm LSD. Letras diferentes indican diferencia significativa entre los hidrolizados en cada uno de los tiempos evaluados con base en la prueba de Fisher ($p \leq 0.05$).

Los resultados de GH obtenidos para los HA son menores a lo reportado por Karimi y col (2020a), quienes hidrolizaron proteína de germen de maíz con alcalasa y obtuvieron un valor de $17.5 \pm 0.2\%$ por el método de pH. Por otro lado, Jin y col (2016) hidrolizaron harina de gluten de maíz con alcalasa y de manera secuencial con alcalasa-flavourzima y flavourzima-alcalasa, reportando GH de 17.82, 21.02 y 12.31%, respectivamente. El mayor GH obtenido por estos autores al utilizar de forma secuencial alcalasa y flavourzima se puede atribuir a que alcalasa es una endopeptidasa y flavourzima una combinación de endo y exopeptidasa. Este comportamiento puede compararse con el obtenido en el presente estudio durante la hidrólisis secuencial con pepsina-pancreatina.

2 Perfil de péptidos de los hidrolizados de albúminas de maíz ACA y comercial

a Perfil electroforético

La separación por SDS-PAGE de la fracción de albúminas e hidrolizados de los maíces ACA y comercial se muestra en la **Figura 5**. La fracción de albúminas en ambos maíces presentó rangos de peso molecular de 10 a 50 kDa (carriles 2 y 7) y el perfil observado en ambos maíces fue similar. En relación con los hidrolizados sin pasar por filtros de centrifuga, los HA de ambos maíces (carriles 3 y 8) presentaron algunas bandas con pesos moleculares menores o iguales a 10 kDa, mientras que los HPP de ambos maíces (carriles 5 y 10) se obtuvieron bandas con pesos moleculares entre 10 y 15 kDa. Una vez que los hidrolizados se pasaron por los filtros con membrana de 10 kDa no se observaron bandas en el gel (carriles 4, 6, 9 y 11).

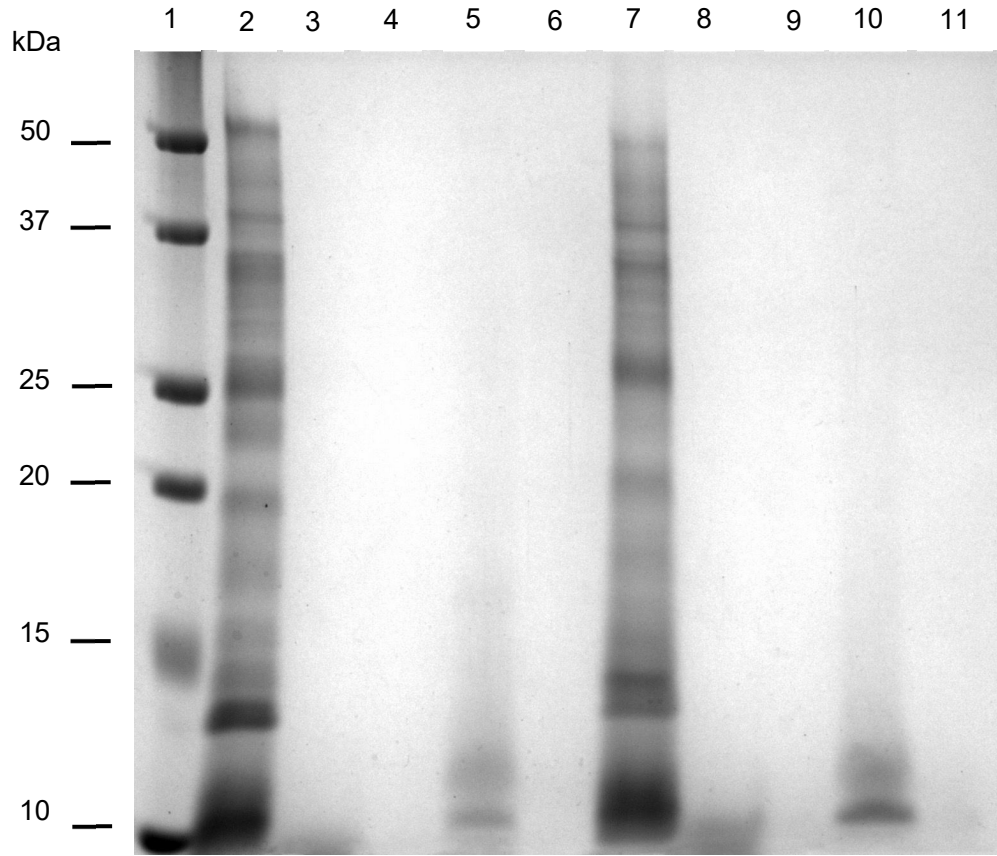


Figura 5. Perfil electroforético de fracciones de prolaminas e hidrolizados de maíz ACA y comercial SUN. Carril 1, marcador de peso molecular (kDa); carril 2, fracción albúminas maíz ACA; carril 3, hidrolizado con alcalasa ACA; carril 4, hidrolizado con alcalasa ACA (≤ 10 kDa); carril 5, hidrolizado con pep-pan ACA; carril 6, hidrolizado con pep-pan ACA (≤ 10 kDa); carril 7, fracción albúminas maíz SUN; carril 8, hidrolizado con alcalasa SUN; carril 9, hidrolizado con alcalasa SUN (≤ 10 kDa); carril 10, hidrolizado con pep-pan SUN; carril 11, hidrolizado con pep-pan SUN (≤ 10 kDa).

b Perfil cromatográfico

En las **Figuras 6 y 7** se muestra la separación cromatográfica de los hidrolizados obtenidos con alcalasa (**A**) y pepsina pancreatina (**B**) de maíz ACA y maíz comercial, respectivamente. En el maíz ACA se observaron 20 picos cromatográficos en el HA y 22 en el HPP, mientras en el maíz comercial se observaron 12 picos cromatográficos en el HA y 20 en el HPP, los cuales están conformados por más de un péptido y cuyas identidades se muestran en los **Apéndices 1, 2, 3 y 4**. En el HA del maíz ACA se observaron 177 péptidos, mientras que en el HPP se identificaron 413 péptidos. En el maíz comercial se observaron 54 péptidos en el HA, mientras que en el HPP se detectaron 136 péptidos. Todos los péptidos presentaron actividades biológicas predichas importantes (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>), donde destaca la actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina (I-ACE), antioxidante e inhibitoria de la enzima dipeptidil peptidasa IV (I-DPPIV) y α -glucosidasa. El número de péptidos obtenidos presentó una buena correspondencia con el grado de hidrólisis obtenido por el método de TNBS.

En la **Figura 8** se muestra un ejemplo de la identificación de péptidos mediante espectrometría de masas en tándem (MS/MS). A partir del análisis de las masas de los péptidos o huella peptídica (MS) (**Figura 8A**) se seleccionó y fragmentó el ion con $m/z = 474.25$ (**Figura 8B**), se identificaron pérdidas y fragmentos correspondientes a los aminoácidos isoleucina (I), glicina (G) y ácido aspártico (D) para determinar que corresponde al péptido IGGID. Este análisis se realizó para cada uno de los péptidos. Además, se identificó que el péptido IGGID corresponde a la proteína RNA helicasa identificada con el ID: A0A3L6DEZ9.

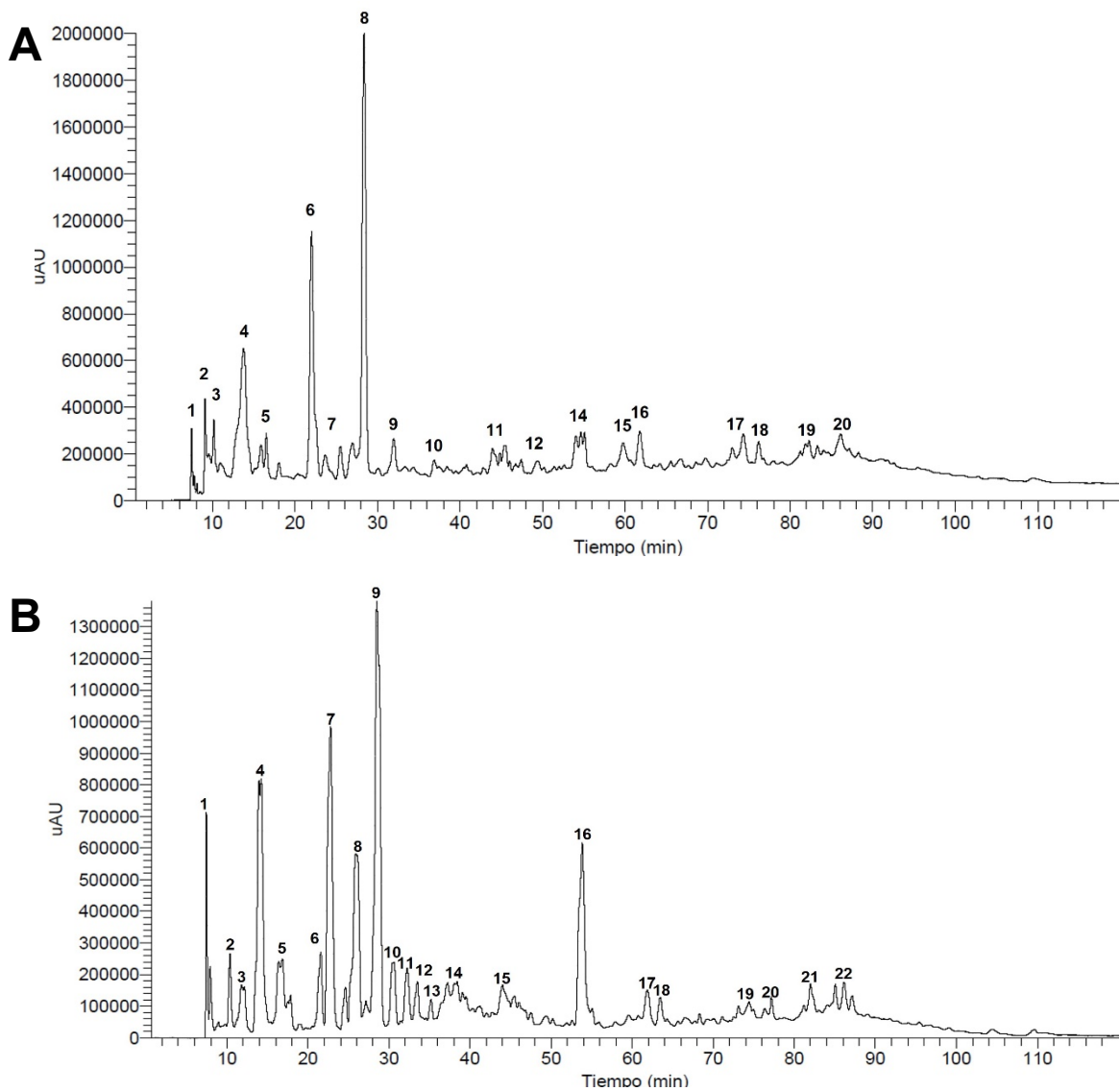


Figura 6. Cromatogramas de UPLC-DAD de hidrolizados de albúminas de maíz ACA obtenidos con alcalasa (A) y pepsina-pancreatina (B). La identidad de los péptidos se indica en los apéndices 1 y 2, respectivamente.

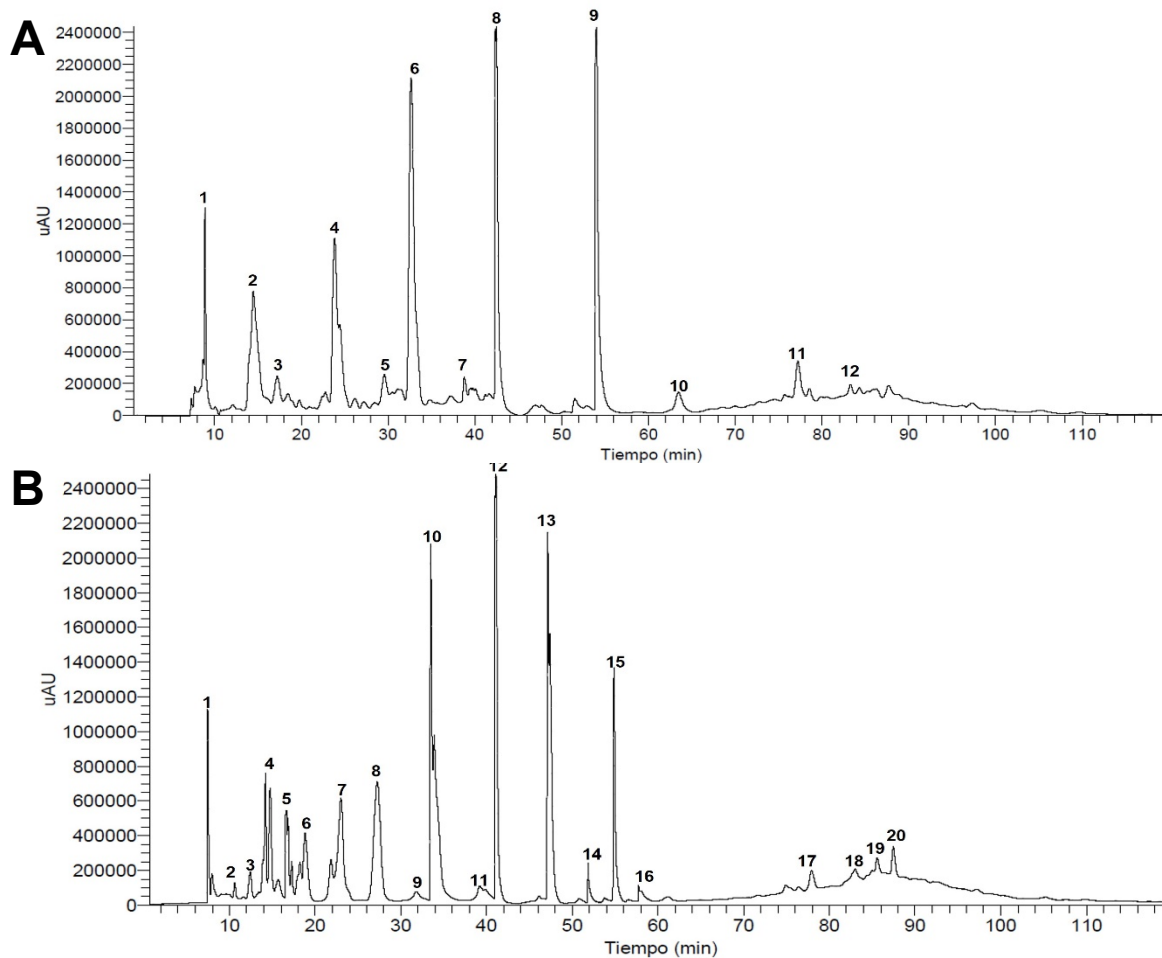


Figura 7. Cromatogramas de UPLC-DAD de hidrolizados de albúminas de maíz comercial obtenidos con alcalasa (A) y pepsina-pancreatina (B). La identidad de los péptidos se indica en los apéndices 3 y 4, respectivamente.

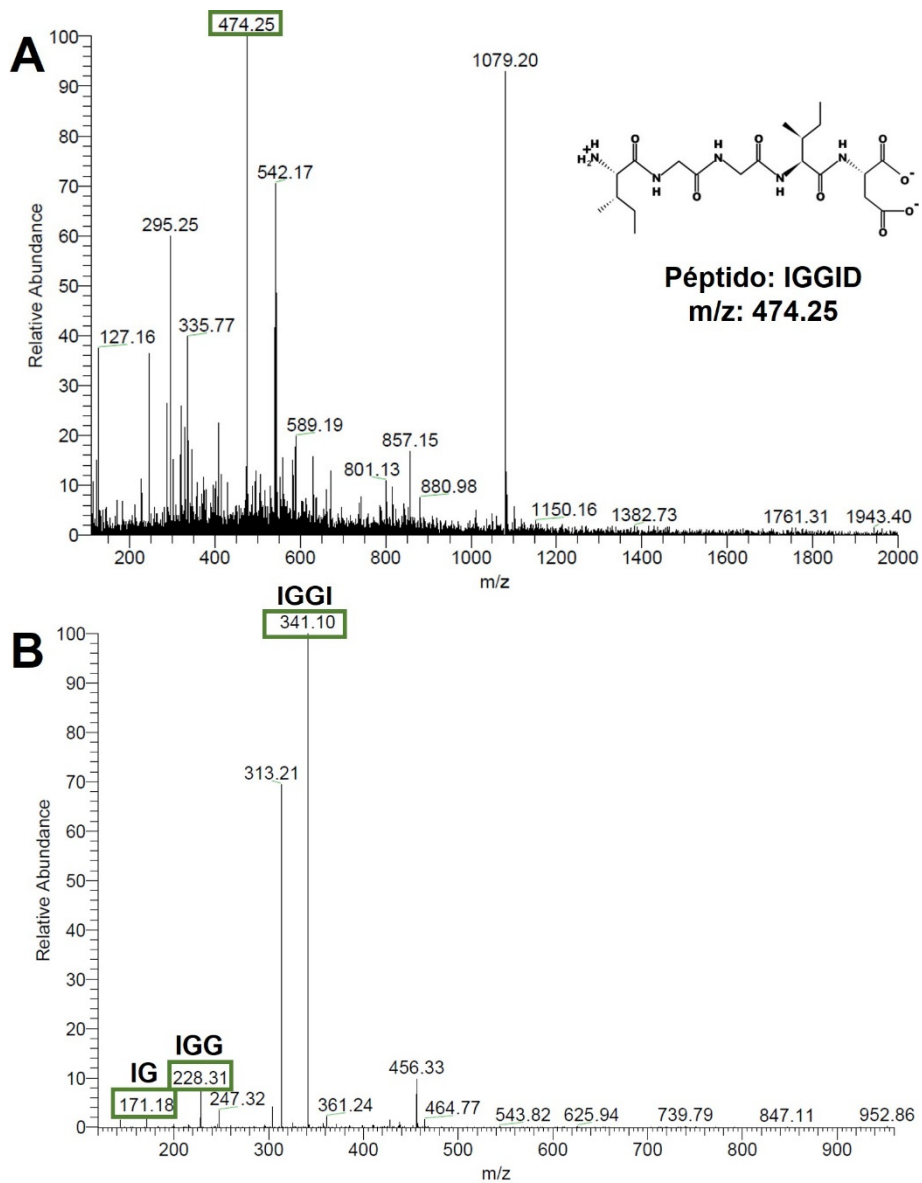


Figura 8. Identificación por espectrometría de masas del péptido IGGID (péptido 187, HPP maíz ACA, apéndice 2). A) Huella peptídica indicando el ion molecular ($m/z = 474.25$) seleccionado para disociación inducida por colisión. B) Espectro de MS/MS obtenido de la disociación del ion molecular con $m/z = 474.25$ Da $[M + H^+]$.

C ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

1 Actividad antioxidante *in vitro*

a ABTS

En el **Cuadro 8** se muestra la actividad antioxidante (AAox) de los HA e HPP de albúminas de maíz ACA y maíz comercial SUN evaluados por ABTS (1 mg/mL). El HPP del maíz ACA mostró la AAox más alta (59%), siendo también el hidrolizado que mostró el mayor GH y número de péptidos, seguido del HPP del maíz comercial SUN (56%). Los HA mostraron menores porcentajes de inhibición del radical ABTS (45% maíz ACA, 39% maíz comercial SUN) (**Cuadro 8**). Los resultados del HA del maíz ACA son superiores a lo reportado por Félix-Medina y col (2023) en HA de zeínas y no-zeínas de maíz comercial evaluados a 1 mg/mL por ABTS (38.24% no-zeínas, 33.58% zeínas), aunque el valor obtenido para el HA del híbrido SUN es similar al obtenido por estos autores para las no-zeínas, una fracción que incluye albúminas, globulinas y glutelinas. Los mayores valores obtenidos en el maíz ACA pudieran asociarse con el incremento de las fracciones albúminas y globulinas mayormente presentes en el germen, la cuales suelen tener varios aminoácidos con buena actividad antioxidante. Por otro lado, Tang y col (2010) evaluaron hidrolizados de zeínas obtenidos con alcalasa (1 mg/mL), reportando un porcentaje de inhibición del radical ABTS de 64.3%, valor superior al encontrado en los HA del presente estudio. Esta discrepancia podría asociarse al genotipo de maíz y a los diferentes GH obtenidos bajo las condiciones utilizadas.

Los resultados de AAox por ABTS corresponden con el GH obtenido con TNBS. Esto sugiere que al aumentar el GH se pudieron haber expuesto los residuos de aminoácidos y reaccionar con los radicales libres. Además, se ha reportado que la

Cuadro 8. Actividad antioxidante por el método ABTS de hidrolizados de albúminas de maíz ACA y maíz comercial SUN tratados con alcalasa y pepsina-pancreatina.

Maíz	% inhibición ($\mu\text{mol ET/ g H}$)	
	HA	HPP
SUN	$39.45 \pm 0.81^{\text{Bb}}$ (217.27 ± 4.45)	$55.91 \pm 1.73^{\text{Ab}}$ (307.54 ± 9.50)
ACA	$45.10 \pm 1.20^{\text{Ba}}$ (248.29 ± 6.57)	$59.37 \pm 0.86^{\text{Aa}}$ (326.51 ± 4.71)

HA: hidrolizados con alcalasa, HPP: hidrolizados con pepsina-pancreatina. Los hidrolizados fueron evaluados a 1 mg/mL. Letras mayúsculas diferentes en la misma fila indican diferencia significativa entre el tipo de hidrolizado y letras minúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias entre los maíces (Fisher, $p \leq 0.05$).

presencia de cisteína en las secuencias de péptidos favorece la inactivación del radical ABTS ya que dona el hidrógeno tiol (SH), esta información concuerda con lo aquí reportado, ya que los HPP de ambos maíces tuvieron mayor contenido de cisteína en las secuencias reportadas (**Apéndices 1, 2, 3 y 4**) y a su vez mayores porcentajes de inhibición del radical ABTS (Zou y col 2016). También se ha reportado una alta proporción de aminoácidos hidrofóbicos en péptidos con alta AAox. Sin embargo, el exceso de aminoácidos hidrofobos significa una baja solubilidad, lo que induce una baja actividad por ABTS (Zou y col 2016). El análisis de los péptidos en el HA del maíz comercial mostró un 48% de aminoácidos hidrofóbicos en las secuencias de péptidos identificadas, lo cual podría explicar la menor AAox del HA por ABTS.

b DPPH

La AAox de los hidrolizados obtenida por DPPH a 5 mg/mL se muestra en el **Cuadro 9**. La actividad no se vio influenciada por el tipo de enzima o maíz, ya que los hidrolizados mostraron porcentajes de inhibición de 57 a 59%, sin mostrar diferencias significativas entre ellos. Estos resultados son superiores a lo reportado por Tang y col (2010) para zeínas hidrolizadas con alcalasa y evaluadas a 10 mg/mL por el mismo método. Asimismo, Jin y col (2016) evaluaron por el método DPPH hidrolizados de harina de gluten de maíz (5 mg/mL) obtenidos con alcalasa, flavourzima e hidrólisis secuencial alcalasa-flavourzima. El porcentaje de inhibición reportado por estos autores para el HA (46.55%) es inferior a lo aquí obtenido para el hidrolizado con la misma enzima, mientras que el valor obtenido de la hidrólisis secuencial alcalasa-flavourzima (76.64%) es superior al encontrado en el presente estudio para los HPP.

Cuadro 9. Actividad antioxidante por el método DPPH de hidrolizados de albúminas de maíz ACA y maíz comercial SUN tratados con alcalasa y pepsina-pancreatina.

Maíz	% inhibición ($\mu\text{mol ET/ g H}$)	
	HA	HPP
SUN	$59.05 \pm 0.68^{\text{Aa}}$ (7.67 ± 0.09)	$56.92 \pm 3.95^{\text{Aa}}$ (7.40 ± 0.51)
ACA	$59.36 \pm 0.60^{\text{Aa}}$ (7.71 ± 0.08)	$59.80 \pm 0.68^{\text{Aa}}$ (7.77 ± 0.09)

HA: hidrolizados con alcalasa, HPP: hidrolizados con pepsina-pancreatina. Los hidrolizados fueron evaluados a 5 mg de proteína soluble/mL. Letras mayúsculas diferentes en la misma fila indican diferencia significativa entre el tipo de hidrolizado y letras minúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias entre los maíces (Fisher, $p \leq 0.05$).

Estas diferencias podrían atribuirse al tipo de enzima y la composición de aminoácidos de las fracciones. Por ejemplo, se ha demostrado que los aminoácidos aromáticos (Trp, Tyr y Phe) y la histidina tienen alta AAox sobre radicales libres (Sánchez-Mendoza y col 2017), pero las zeínas son deficientes en lisina y triptófano, mientras que las albúminas son ricas en estos aminoácidos.

Félix-Medina y col (2023) reportan porcentajes de inhibición del radical DPPH de 30.74% para no-zeínas y 26.75% para zeínas hidrolizadas con alcalasa (1 mg/mL), valores que podrían considerarse superiores a lo obtenido en el presente estudio tomando en cuenta que los hidrolizados se evaluaron a una mayor concentración (5 mg/mL).

No se observaron diferencias de AAox entre los hidrolizados obtenidos con alcalasa y pepsina-pancreatina de ambos maíces, lo cual puede deberse al contenido similar de histidina que poseen, ya que se ha reportado que la presencia de este aminoácido contribuye significativamente a la actividad de eliminación de radicales DPPH, debido a la alta capacidad de donación de protones de su anillo imidazol (Sánchez-Mendoza y col 2017).

c ORAC

La AAox por el método ORAC se muestra en el **Cuadro 10**. El tipo de maíz empleado para la hidrólisis no afectó la actividad evaluada, mientras que el tipo de enzima sí tuvo un efecto significativo en la AAox. La actividad de los HPP de ambos maíces (201.55-208.03 $\mu\text{mol ET/g H}$) fue significativamente mayor que los de alcalasa (189.65-194.03 $\mu\text{mol ET/g H}$). Estos resultados son comparables a los reportados por

Cuadro 10. Actividad antioxidante por el método ORAC de hidrolizados de albúminas de maíz ACA y maíz comercial SUN tratados con alcalasa y pepsina-pancreatina.

Maíz	μmol ET/ g H	
	HA	HPP
SUN	194.03 ± 5.82 ^{Ba}	208.03 ± 4.41 ^{Aa}
ACA	189.65 ± 2.63 ^{Ba}	201.55 ± 8.97 ^{Aa}

HA: hidrolizados con alcalasa, HPP: hidrolizados con pepsina-pancreatina. Los hidrolizados fueron evaluados a 1 mg de proteína soluble/mL. Letras mayúsculas diferentes en la misma fila indican diferencia significativa entre el tipo de hidrolizado y letras minúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias entre los maíces (Fisher, $p \leq 0.05$).

Zhou y col (2012), quienes evaluaron la AAox por ORAC en hidrolizados de un concentrado de proteínas de maíz comercial obtenidos con tres proteasas (proteasa neutra, validasa y proteasa alcalina) y observaron un rango de actividad de 65.6 a 191.4 $\mu\text{mol ET/g}$, alcanzando valores similares a los obtenidos en el presente estudio para HA. Los autores reportaron que las fracciones de hidrolizados <10 kDa presentaron mayor AAox con respecto a los >10 kDa. Por otro lado, Chen y col (2023) evaluaron proteína de arroz hidrolizada con alcalasa y realizaron fraccionamiento por peso molecular (<1 kDa, 1–10 kDa, >10 kDa). Los autores reportaron que la fracción 1-10 kDa (0.1 mg/mL) presentó la mayor actividad antioxidante por el método ORAC (774 $\mu\text{mol ET/g}$), siendo estos resultados mayores que los obtenidos en el presente estudio.

El contenido de aminoácidos que transfieren protones (ácido aspártico y ácido glutámico) debido a la presencia de grupos carboxilo fue superior en el HPP del maíz comercial SUN, lo que concuerda con la mayor actividad observada en este estudio.

Además, la AAox por ABTS y ORAC de los HPP fue superior a la de los HA de ambos maíces, lo que demuestra que el uso de enzimas con diferentes sitios de acción puede generar una mayor diversidad de péptidos con actividades biológicas diferentes.

2 Actividad antioxidante *in vivo*

Los hidrolizados del maíz ACA y comercial fueron evaluados como posibles agentes hepatoprotectores contra el daño inducido con el fármaco acetaminofén (APAP, 300 mg/kg p.c). El efecto hepatoprotector se estableció al determinar la concentración sérica de AST, ALT, FA y marcadores relacionados con el estrés oxidativo en hígado (MDA y GSH) (Papackova y col 2018).

El acetaminofén (APAP) es uno de los fármacos con actividad antipirética y analgésica más empleado en la actualidad. En cuanto a su metabolismo, una vez ingerido aproximadamente el 90% del APAP es directamente glucuronizado o sulfatado para su excreción en orina. El 10% restante es metabolizado por enzimas citocromo P450 (CYP), específicamente CYP2E1, donde se forma el metabolito reactivo *N*-acetil-*p*-benzoquinona imina (NAPQI), el cual se conjuga rápidamente con glutatión hepatocelular (GSH). El conjugado es excretado ya sea por la bilis o sangre (Jaeschke y col 2019).

El acetaminofén es un medicamento usado ampliamente, pero el uso de dosis elevadas o el tratamiento prolongado genera toxicidad hepática, esto debido a que las reacciones de conjugación son insuficientes para su eliminación, lo que a su vez disminuye el GSH y aumenta la concentración de NAPQI (Rotundo y Pysopoulos 2020). En este contexto, la disminución de GSH en mitocondrias y citosol de los hepatocitos conlleva a un incremento de radicales libres y del estrés oxidativo, activando la apertura de poros mitocondriales, así como la destrucción del potencial de membrana, deteniendo la síntesis de ATP. Esto finaliza en descomposición del ADN y apoptosis celular, dando como resultado inflamación aguda del hígado (Rotundo y Pysopoulos 2020).

a Efecto del tratamiento con los hidrolizados en los niveles séricos de AST, ALT y FA en ratones BALB-c

Los resultados obtenidos en la evaluación de las enzimas AST y ALT muestran que su concentración en el grupo control es casi indetectable, lo que sugiere integridad hepática sin signos de daño (**Figura 9A y 9B**). En cuanto al grupo tratado con APAP,

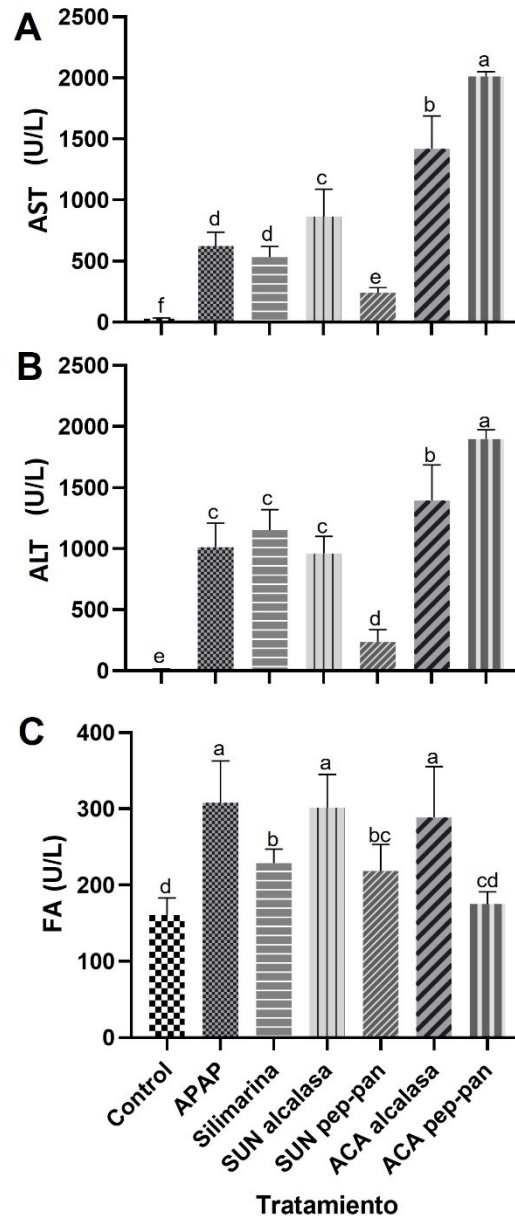


Figura 9. Efecto de la administración oral de hidrolizados de albúminas de maíz ACA sobre los niveles séricos de AST (**A**) ALT (**B**) y fosfatasa alcalina (FA) (**C**) en tejido hepático de ratones BALB-c con daño hepatotóxico agudo. El tratamiento con los hidrolizados (100 mg/kg) se administró durante 7 días. Se indujo daño hepático con *N*-acetil-*p*-aminofenol (APAP) (300 mg/kg). Control sin daño (control). Los resultados se expresan como la media \pm DE (n=5). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos por la prueba de Fisher ($p \leq 0.05$).

se observa un aumento de ambas enzimas (AST y ALT), siendo mayor en ALT, evidenciando un posible daño hepático. El grupo tratado con el control positivo silimarina mostró un comportamiento similar al grupo APAP en ambas enzimas, sin mostrar diferencias significativas entre ellos, lo que sugiere que no hubo un efecto hepatoprotector de la silimarina como se esperaba. En lo que respecta a los tratamientos con los hidrolizados, solo el grupo tratado con pepsina-pancreatina del maíz comercial SUN mostró una disminución significativa de AST y ALT con respecto al grupo APAP, sugiriendo que presenta un efecto hepatoprotector. Los otros hidrolizados presentaron un aumento de estas enzimas con respecto al control APAP y por lo tanto no mostraron un efecto benéfico.

Yu y col (2023b) evaluaron la actividad hepatoprotectora de péptidos (<1kDa) de albúmina de harina de germen de maíz en ratones. Los autores administraron los péptidos durante 30 días en diferentes grupos y dosis (200, 400 y 800 mg/kg p.c.), observando una disminución dosis-dependiente de la que la concentración de ALT y AST, con valores de AST de 96.25 y 88.95 U/g proteína para los grupos tratados con 400 y 800 mg/kg p.c, respectivamente, mientras que los valores de ALT fueron de 31.58 y 26.42 U/g proteína, respectivamente. Las discrepancias entre los resultados de estos autores y los obtenidos en el presente estudio pudieran atribuirse principalmente a que ellos utilizaron dosis de 2 a 8 veces más altas y un tiempo mucho más largo.

Liang y col (2020) evaluaron la actividad antioxidante de péptidos de moringa en células hepáticas de Chang oxidadas con H₂O₂ donde estudiaron una fracción que contenía 11 dipéptidos, de los cuales dos mostraron la mejor capacidad hepatoprotectora (SF y QY). La concentración de ALT y AST disminuyó al aumentar la dosis (100, 300 y 500 µM). Los autores relacionaron la composición de los dipéptidos con la actividad

mostrada, atribuyendo la capacidad antioxidante y hepatoprotectora a la presencia del aminoácido aromático fenilalanina en SF y al aminoácido hidrofóbico tirosina en QY.

Los resultados obtenidos en el presente estudio podrían atribuirse a la presencia de péptidos con aminoácidos aromáticos en su secuencia. En el HPP del maíz comercial SUN el 21% de los péptidos identificados contiene fenilalanina, el 27% tirosina y el 8% triptófano, porcentajes superiores con respecto al resto de los hidrolizados (**Apéndices 1, 2 y 3**).

Por otro lado, las fosfatasas alcalinas conforman una amplia familia de enzimas glicoproteínas presentes en las membranas celulares, cuya principal función es eliminar parte del fosfato de las fosfoproteínas, fosfolípidos, ácidos nucleicos y otras moléculas orgánicas, para lo cual es necesario un pH alcalino para su función óptima (Ferrè y col 2019; Aranda 2022). Estas enzimas son producidas principalmente en hígado y huesos, pero es posible encontrarlas también en intestinos, placenta y riñones. Sin embargo, niveles altos de estas enzimas se relacionan con padecimientos óseos o disfunciones hepáticas, principalmente (Ferrè y col 2019).

En el análisis de FA (**Figura 9C**), los niveles más bajos se encontraron en el grupo control, lo que se relaciona con una integridad hepática normal. El grupo APAP muestra un aumento significativo, respecto al grupo control, lo que se relaciona con el posible daño hepático inducido por el fármaco. En cuanto al grupo tratado con silimarina, este presentó una disminución significativa en la concentración de FA con respecto al grupo APAP, lo que se podría relacionar con un menor daño hepático. Los grupos tratados con hidrolizados de alcalasa de ambos maíces (SUN y ACA) mostraron niveles de FA similares a los del grupo APAP, lo que sugiere que estos hidrolizados no tuvieron un efecto

hepatoprotector. Por otro lado, el grupo tratado con HPP del maíz comercial presentó niveles de FA similares a los del control positivo silimarina, mientras que el grupo tratado con el HPP del maíz ACA mostró un valor de FA similar al del control sin daño, sugiriendo un buen efecto hepatoprotector.

El comportamiento anteriormente mencionado es similar al reportado por Navarro-Leyva y col (2023), quienes evaluaron la actividad hepatoprotectora de hidrolizados de garbanzo obtenidos por hidrólisis con alcalasa y pepsina-pancreatina. Estos autores encontraron que tanto el grupo tratado con el HA como el tratado con el HPP presentaron concentraciones finales de fosfatasa alcalina similares al control sin daño.

b Efecto del tratamiento con los hidrolizados sobre la concentración de MDA y GSH

Los lípidos y en especial los ácidos grasos poliinsaturados son biomoléculas que pueden verse gravemente afectadas por el estrés oxidativo. Este proceso se debe a la capacidad de los radicales libres para desencadenar la peroxidación lipídica. Durante este proceso, tanto los hidroperóxidos lipídicos como los radicales peroxilo pueden experimentar cambios como la ciclación y la escisión, dando lugar a productos secundarios como el malondialdehído (MDA). Por consiguiente, el MDA se convierte en un biomarcador crucial para detectar la presencia de estrés oxidativo a nivel celular (Cordiano y col 2023).

El análisis de MDA indica que los ratones del grupo tratado con APAP aumentaron significativamente la concentración de este compuesto en el hígado con respecto a los del grupo control tratados con solución salina, lo que indica el daño oxidativo inducido por el acetaminofén (**Figura 10A**). El tratamiento con silimarina redujo significativamente la concentración de MDA en comparación con el grupo APAP, lo que evidencia su efecto

hepatoprotector, presentando una concentración de MDA incluso menor que el grupo control sin daño. Los tratamientos que mostraron un mejor efecto en la disminución de MDA fueron el HPP de maíz comercial y el HA del maíz ACA, generando valores similares al obtenido con silimarina. El tratamiento con HPP de ACA alcanzó valores similares al control sano, lo que concuerda con lo observado *in vitro* y podría relacionarse con su mayor número de péptidos, de los cuales el 50% fue menor a 1000 Da (Apéndice 2).

La insuficiencia hepática generada por daño inducido por el fármaco acetaminofén es producida por el metabolito reactivo NAPQI, siendo el glutatión el encargado de eliminarlo. El GSH hepático interacciona con el NAPQI, siendo un paso de gran importancia para contrarrestar el estrés producido por este, evitando la toxicidad hepática de APAP. Por esta razón se decidió medir los niveles de glutatión hepático posterior a una sobredosis de acetaminofén (Du y col 2016).

En cuanto a los resultados obtenidos en la evaluación de GSH hepático (**Figura 10B**), el grupo control sin daño presentó la concentración más alta, valor que disminuyó a poco menos de la mitad después del tratamiento con APAP, indicando su efecto hepatotóxico. El grupo tratado con el control positivo silimarina presentó un pequeño aumento de GSH, alcanzando un valor significativamente mayor que el del grupo APAP. Los HA SUN y HPP ACA tuvieron un comportamiento similar a silimarina, y solo el HA del maíz ACA logró aumentar significativamente los niveles de GSH con respecto al grupo control APAP y silimarina.

Los resultados observados en algunos hidrolizados son similares a los obtenidos por Liu y col (2015), quienes evaluaron MDA y GSH en ratones kunming tratados con hidrolizados de harina de gluten de maíz (< 1.2 kDa) obtenidos por hidrólisis enzimática

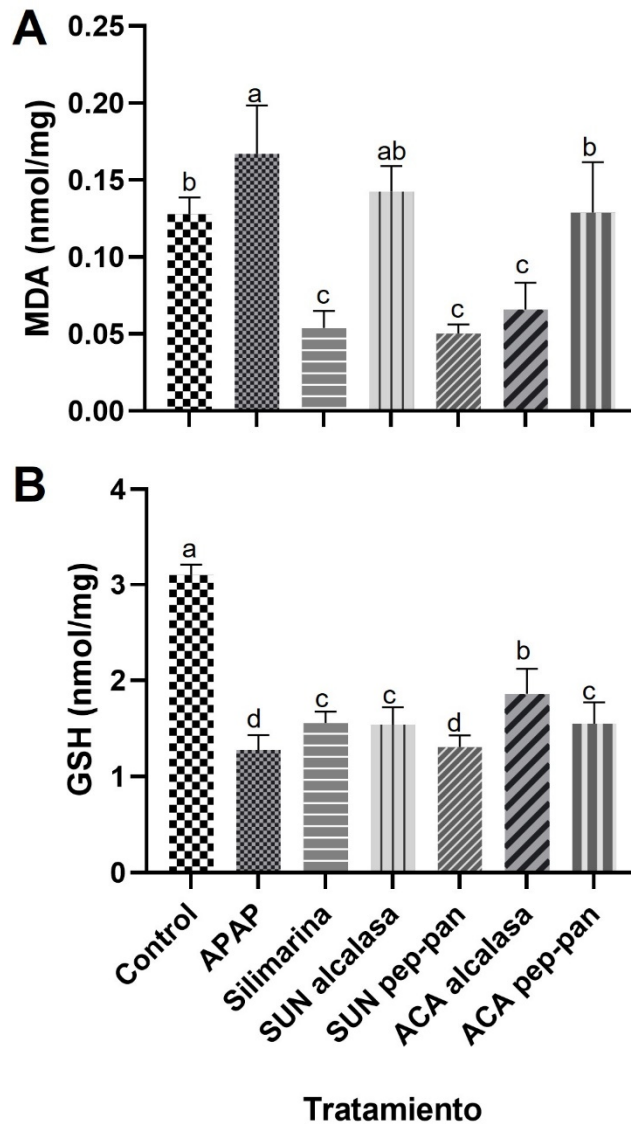


Figura 10. Efecto de la administración oral de hidrolizados de albúminas de maíz ACA sobre marcadores de estrés oxidativo en tejido hepático de ratones BALB-c con daño hepatotóxico agudo. **(A)** Malondialdehido (MDA); **(B)** glutatión (GSH). El tratamiento con los hidrolizados (100 mg/kg) se administró durante 7 días. Se indujo daño hepático con *N*-acetil-*p*-aminofenol (APAP) (300 mg/kg). Control sin daño (control). Los resultados se expresan como la media \pm DE (n=5). Letras diferentes indican diferencia significativa entre tratamientos por la prueba de Fisher ($p \leq 0.05$).

secuencial alcalasa-protamex. Se emplearon dosis de 300, 700 y 1000 mg/kg p.c. administrados vía intragástrica. Se observó un aumento significativo de GSH y una disminución de MDA, teniendo que el grupo tratado con 300 mg/kg presentó un aumento de 1.28 veces de GSH en tejido hepático y una disminución de 34% de MDA en plasma respecto al control.

Por otro lado, Yu y col (2023b) evaluaron el efecto hepatoprotector de péptidos de albúmina de harina de germen de maíz en ratones con daño hepático inducido por alcohol. Los hidrolizados se prepararon con neutrasa y se obtuvieron fracciones de diferentes pesos moleculares (APF1 > 3kDa, APF2<3 kDa, APF3 1 a 3 kDa, APF4 <1 kDa), donde la fracción APF4 presentó mejor actividad *in vitro* y fue seleccionada para la evaluación *in vivo* a diferentes concentraciones (200, 400 y 800 mg/kg p.c). Después de 30 días de tratamiento, los resultados mostraron que la concentración de GSH fue dosis dependiente y mayor al grupo control (tratado con alcohol); el grupo tratado con 800 mg/kg p.c. presentó mayor concentración de GSH. Respecto a la concentración de MDA, el grupo tratado con 800 mg/kg p.c. presentó los menores niveles de MDA respecto el grupo control alcohólico y grupo tratado con GSH, sin presentar diferencias significativas con el grupo sano.

c Evaluación histopatológica de muestras de hígado de ratón después de inducir daño hepático con APAP

En la **Figura 11** se observan secciones de tejido hepático de ratones con y sin daño hepático inducido con APAP. La histología del grupo control (**Figura 11A**) muestra integridad celular y arquitectura lobulillar normal. Por el contrario, el grupo daño muestra características evidentes de la acción del APAP, ya que se observa necrosis, inflamación

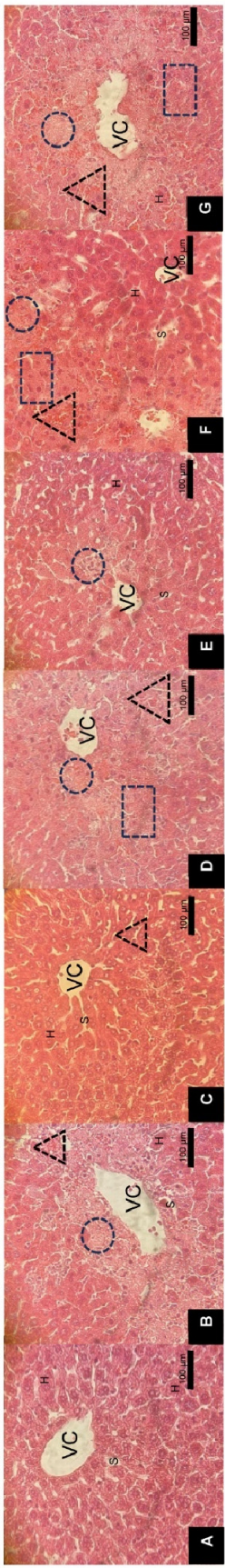


Figura 11. Efecto de la administración oral de hidrolizados de albúminas de maíz ACA y comercial SUN sobre la morfología hepática de ratones BALB-c con daño hepatotóxico agudo inducido con paracetamol (APAP). Se realizó la tinción de las muestras de tejido hepático con hematoxilina y eosina, posteriormente se observaron con microscopio óptico a 40 X. Grupo control sano (A), daño (B), silimarina (C), hidrolizado alcalasa maíz comercial (D), hidrolizado pepsina-pancreatina maíz comercial (E), hidrolizado alcalasa maíz ACA (F), hidrolizado pepsina-pancreatina maíz ACA (G). VC, vena central; H, hepatocitos; S, sinusoides; círculo, necrosis; triángulo, infiltración de glóbulos rojos; rectángulo, inflamación.

activa en vena central, y congestión evidente del espacio sinusoidal, así como también extravasación de sangre (**Figura 11B**). La histología muestra el efecto protector del control positivo silimarina, la **Figura 11C** muestra inflamación hepatocelular e infiltración de glóbulos rojos mínima.

La histología del grupo tratado con el HA del maíz comercial (**Figura 11D**) muestra daño alrededor de las venas centrales, inflamación y congestión celular, así como infiltración de glóbulos rojos en sinusoides. El grupo tratado con el HPP del maíz comercial SUN muestra zonas con células hepáticas normales, ligera infiltración de glóbulos rojos, pero sin perder la estructura lobulillar; sin embargo, presenta zonas con hepatocitos apoptóticos agrupados (**Figura 11E**). Por otro lado, la histología del grupo tratado con el HA del maíz ACA, presenta necrosis de hepatocitos, inflamación, congestión sinusoidal, así como también deformación de las venas centrales (**Figura 11F**). Por último, el grupo tratado con el HPP del maíz ACA muestra necrosis alrededor de venas centrales sin deformación, inflamación e infiltración sinusoidal de glóbulos rojos (**Figura 11G**).

En general, los resultados histopatológicos muestran claramente que el mayor efecto hepatoprotector se registró con HPP SUN. Los otros tratamientos registraron daños muy claros, pero se observa cierto efecto protector en el tratamiento con HA ACA. Estos resultados son consistentes con los análisis bioquímicos al registrarse menores niveles de AST, ALT y MDA en el tratamiento con HPP SUN, mientras que en el tratamiento con HA ACA se registraron los menores valores de MDA y el mayor contenido de GSH. Lo anterior también corresponde con lo obtenido en los perfiles de péptidos, ya que los hidrolizados HPP SUN y HA ACA tuvieron los mayores porcentajes de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina y triptófano) y prolina; este último aminoácido se ha

demostrado que tiene la capacidad de capturar ROS intracelulares e inhibir la apoptosis mediada por ROS en hongos (Chen y Dickman 2005), actividad que podría explicar la inhibición de la apoptosis del hepatocito por el péptido de maíz QLLPF (Ma y col 2015).

El resultado con HPP SUN fue similar a lo reportado por Navarro-Leyva y col (2023) para hidrolizados de albúminas de garbanzo obtenidos con alcalasa y pepsina-pancreatina evaluados en ratones BALB-c. El grupo control mostró arquitectura normal de tejido, sin daño aparente, mientras que el grupo daño presentó lesiones en tejido (necrosis e infiltración de glóbulos rojos). El grupo tratado con el HPP fue el que mostró menos daño del tejido hepático respecto al grupo tratado con el hidrolizado de alcalasa, pero no mantuvo totalmente la integridad celular.

Por otro lado, Kawakami y col (2017) evaluaron histologías de hígados de ratones ICR tratados con hidrolizados de lías de sake (HLS) obtenidos con Denazyme AP. Un grupo sin daño tratado con el HLS (700 mg/kg) mantuvo una arquitectura lobulillar y estructura celular normal, similar al grupo control, mientras que el grupo control daño (APAP, 700 mg/kg) mostró múltiples áreas con inflamación y necrosis hepatocelular, distribuido por todo el parénquima, así como infiltración de células inflamatorias. Comparativamente, el grupo pretratado con el HLS (7 días) antes de la administración de APAP, mostró menor daño hepático indicando la capacidad hepatoprotectora del HLS contra el daño por estrés oxidativo inducido por APAP. Estos resultados son similares a lo observado en las histologías de los grupos tratados con HPP de ambos maíces en el presente estudio.

El daño observado en las histologías puede estar relacionado con el agotamiento de GSH, molécula encargada de contrarrestar el estrés desencadenado por NAPQI, el

subproducto tóxico del fármaco acetaminofén una vez que es metabolizado por CYP2E1. Una sobredosis de APAP puede llevar a una sobreproducción de NAPQI, para lo cual, la concentración de GSH se vuelve insuficiente para contrarrestar su daño, lo que conlleva una producción de aductos con proteínas mitocondriales, induciendo un estrés oxidativo mitocondrial, lo que da inicio a la activación de una cascada de quinasas MAP, resultando en la fosforilación y activación de JNK. La traslocación de JNK a la membrana mitocondrial externa, así como también la unión de la misma a Sab, provoca la inhibición de la cadena respiratoria mitocondrial. El siguiente paso es que el superóxido derivado de las mitocondrias provoca un cambio en la permeabilidad de la membrana mitocondrial, resultado en la liberación de proteínas mitocondriales, tales como la endonucleasa G y el factor inductor de apoptosis. Cuando estos últimos se traslocan al núcleo celular, provocan la fragmentación del ADN, resultando en una necrosis del hepatocito y del tejido mismo (Hanawa y col 2008; Jaeschke y col 2019).

C ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE Y ANTIHIPERGLUCEMIANTE *IN VIVO*

1 α -Glucosidasa

Se han identificado péptidos bioactivos derivados de cereales que poseen la capacidad de inhibir enzimas clave involucradas en el metabolismo de carbohidratos, como la α -glucosidasa. Esta enzima desempeña un papel clave en la digestión de carbohidratos complejos en el intestino delgado, y su inhibición puede resultar en una disminución significativa de la glucosa postprandial (Lu y col 2023; Liu y col 2024) .

Los hidrolizados obtenidos en el presente estudio mostraron buena capacidad de inhibición de la enzima α -glucosidasa. Los HPP mostraron mayor efecto inhibitorio que

los HA, destacando el HPP del maíz ACA (64.62%). De los HA, destacó el del maíz ACA (58.79%) (**Cuadro 11**). Karimi y col (2020a) evaluaron péptidos derivados del germen de maíz obtenidos con tres enzimas (alcalasa, flavourzima y tripsina) reportando porcentajes de inhibición de 12.8 a 37.1% a 20 mg/mL, resultados que son comparables a los del presente estudio si se toma en cuenta que los hidrolizados se evaluaron 66.6 mg/mL.

La actividad inhibidora de los péptidos puede verse influenciada por la composición de los residuos de aminoácidos. Mirzaee y col (2023) evaluaron la actividad inhibitoria de α -glucosidasa de hidrolizados de proteínas de maíz (CPH), soya (SPH) y mezclas de estas proteínas (SPH30:CPH70; SPH70:CPH30), observando una mayor actividad en los hidrolizados de soya (SPH, SPH70:CPH30) con respecto a los de maíz, resultado que asociaron con un mayor número de péptidos pequeños. Además, los autores relacionaron una mayor actividad inhibitoria de la α -glucosidasa a la presencia de aminoácidos básicos (lisina y arginina) al final de las cadenas peptídicas y aminoácidos con grupos hidroxilo (serina, treonina y tirosina), los cuales interaccionan con el sitio activo de la enzima.

Por otro lado, Suaste y col (2023) evaluaron la actividad inhibitoria de α -glucosidasa de hidrolizados de proteína de maíz de calidad proteínica (QPM) obtenidos con alcalasa, flavourzima e hidrólisis secuencial alcalasa-flavourzima, encontrando porcentajes de inhibición de la enzima entre 15.7% (alcalasa) y 64.3% (flavourzima) a una concentración de 107 mg/mL. Estos resultados son inferiores a lo reportado en el presente estudio para el caso de alcalasa, lo cual pudiera deberse al tipo de maíz y al método de obtención del concentrado proteico por precipitación isoelectrica, el cual incluye no solo albúminas sino otras fracciones proteicas que pudieran generar péptidos con menor actividad inhibitoria de α -glucosidasa.

Cuadro 11. Actividad inhibitoria de α -glucosidasa de hidrolizados de albúminas de maíz ACA y maíz comercial SUN.

Maíz	% Inhibición	
	Alcalasa	Pepsina-Pancreatina
SUN	47.03 \pm 0.19 ^{Bb}	56.60 \pm 0.68 ^{Ab}
ACA	58.79 \pm 1.59 ^{Ba}	64.62 \pm 1.66 ^{Aa}

Los hidrolizados se evaluaron a 66 mg/mL y los valores corresponden a la media \pm desviación estándar de tres mediciones independientes. Se empleó acarbosa (IC₅₀ 1.18 mg/mL) como control positivo. Letras mayúsculas diferentes en la misma fila indican diferencia significativa entre el tipo de hidrolizado y letras minúsculas diferentes en la misma columna indican diferencias entre los maíces (Fisher, $p \leq 0.05$).

El efecto de los hidrolizados se pudiera relacionar con las características de los péptidos obtenidos, ya que se ha demostrado que los péptidos que muestran mayor capacidad inhibitoria de la α -glucosidasa suelen ser pequeños, ricos en aminoácidos hidrofóbicos (leucina, isoleucina), aromáticos (triptófano, tirosina) y básicos (lisina, arginina) debido a que interactúan eficazmente con el sitio activo de la enzima, bloqueando su actividad y ayudando a reducir la digestión de carbohidratos, lo que resulta en un mejor control de los niveles de glucosa en sangre (Karimi y col 2020b; Berraquero-García y col 2023). Los resultados obtenidos en este estudio demuestran el potencial inhibitorio de la enzima α -glucosidasa de los hidrolizados producidos y se podría relacionar con la presencia de ciertos aminoácidos como leucina, triptófano y arginina. El contenido de estos aminoácidos en los perfiles de péptidos (Apéndices 1, 2, 3 y 4) mantuvo la tendencia: HPP ACA>HPP SUN>HA ACA>HA SUN. La presencia de estos aminoácidos muestra cierta asociación con el potencial inhibitorio de la enzima.

Debido a los resultados obtenidos en este estudio, fue importante realizar análisis *in vivo* para validar dicha actividad en un modelo murino y poder sugerir su uso como parte de suplementos alimenticios para el manejo de la diabetes.

2 Actividad hipoglucémica y antihiperoglucémica

La actividad hipoglucémica *in vivo* de los hidrolizados obtenidos con alcalasa y pepsina-pancreatina del maíz comercial SUN y maíz ACA se muestra en la **Figura 12**. Los niveles de glucosa basal de los grupos (113-131mg/dL) estuvieron en el rango reportado como normal para ratones BALB-c (75-128 mg/dL) (Santos y col 2016). El nivel de glucosa en los ratones tratados con los hidrolizados (100 mg/kg p.c.) disminuyó de manera gradual, mostrando un efecto significativamente mayor al del control negativo

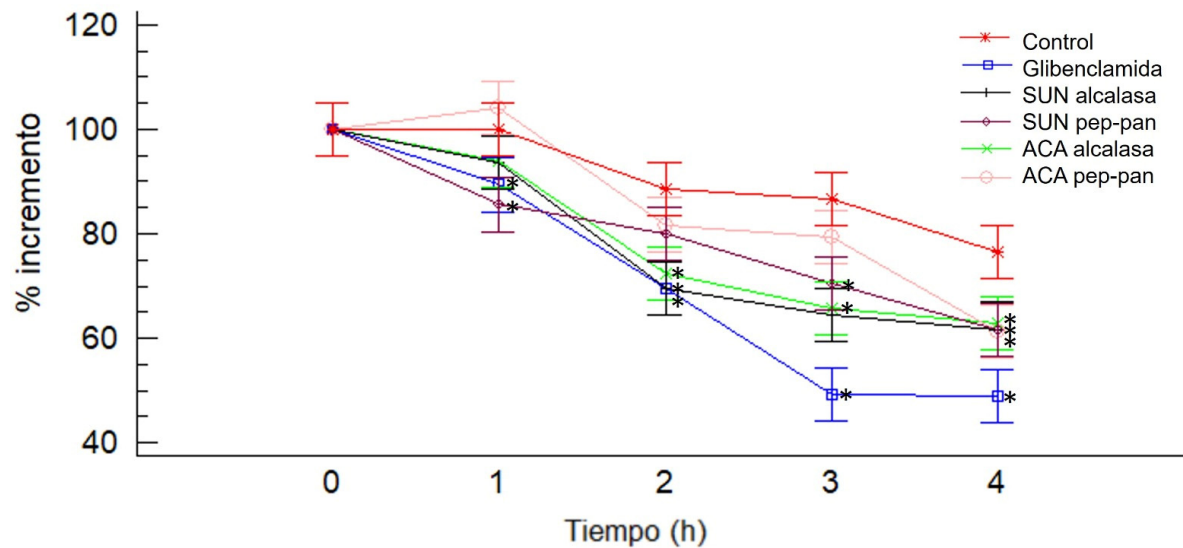


Figura 12. Efecto hipoglucémico de hidrolizados de albúminas de maíz ACA y maíz comercial SUN obtenidos con alcalasa (100 mg/kg p.c.) y pepsina-pancreatina (100 mg/kg p.c.) en ratones normoglucémicos. Se utilizó glibenclámido como control positivo (10 mg/kg p.c.). Los datos se expresan como la media \pm LSD (n = 6). *Indica diferencia significativa con respecto al control negativo ($p \leq 0.05$).

pero menor al del control positivo glibenclamida (10 mg/kg p.c.). Después de dos horas, los HA de ambos maíces fueron más efectivos para reducir los niveles de glucosa, pero después de cuatro horas no hubo diferencias entre los cuatro hidrolizados. A pesar de que los hidrolizados tuvieron un efecto menor que glibenclamida, los resultados sugieren que mejoran la capacidad de los tejidos para metabolizar la glucosa. Resultados comparables fueron obtenidos por Valencia-Mejía y col (2019) quienes evaluaron mediante una prueba hipoglucémica hidrolizados de frijol elaborados con pepsina-pancreatina, mostrando que las fracciones peptídicas evaluadas tuvieron la capacidad de disminuir los niveles de glucosa en forma similar a la glibenclamida, manteniendo un nivel de glucosa basal. Por lo que se propuso que las fracciones peptídicas tienen potencial para ser utilizados en alimentos funcionales o preparaciones farmacéuticas para la prevención y/o tratamiento de la DM2. Asimismo, Navarro-Leyva y col (2023) demostraron que hidrolizados de albúminas de garbanzo obtenidos por hidrólisis con alcalasa y con pepsina-pancreatina (100 mg/kg p.c.) ejercen efectos hipoglucémicos similares a glibenclamida (10 mg/kg p.c.) en ratones normoglucémicos.

Los hidrolizados de maíces ACA y SUN tienen un hipoglucémico que podría asociarse a una mejora en la cascada de señalización de la insulina y por lo tanto una mayor liberación de la hormona (Valencia-Mejía y col 2019). Por su parte, la glibenclamida es una sulfonilurea que probablemente interactúa con los receptores de las células beta o interfiere con los canales de potasio sensibles a ATP de las células beta pancreáticas, lo que aumenta la secreción de insulina o pudiera aumentar la sensibilidad de los receptores de insulina existentes (Zhou y col 2019). Sin embargo, se requieren más estudios

bioquímicos y moleculares para determinar las rutas involucradas en el efecto hipoglucémico de los hidrolizados.

Por otro lado, los objetivos del tratamiento de la diabetes tipo 2 son prevenir o retrasar las complicaciones y mantener la calidad de vida, para ello se requiere controlar la hiperglucemia (Davies y col 2018). Una prueba que permite imitar los niveles de glucosa en sangre en un estado posprandial es la prueba de tolerancia a la glucosa, además de proporcionar información sobre la capacidad de eliminar una carga de glucosa para emplearse con fines diagnósticos (Holt y col 2022).

En la **Figura 13** se muestran los resultados de la actividad antihiperglucémica de los hidrolizados evaluados a 200 mg/kg p.c. en ratones normoglucémicos. Todos los grupos presentaron el pico hiperglucémico a los 30 min después de la carga de sacarosa (2 g/kg p.c.), registrándose una disminución significativa para el tratamiento con acarbosa (10 mg/kg p.c.) y un aumento significativo para el HPP del maíz ACA. A partir de los 60 min, los tratamientos control negativo y HPP del maíz ACA tuvieron un comportamiento similar. A los 60 min, los HA del maíz comercial SUN y maíz ACA, así como el HPP del maíz comercial mostraron diferencia significativa con respecto al control negativo y un efecto similar a acarbosa. Sin embargo, después de 90 y 120 min únicamente el HPP del maíz comercial mostró diferencia significativa con respecto al control negativo. Lo anterior podría deberse por una parte a las enzimas empleadas en el proceso de hidrólisis, ya que la combinación de pepsina y pancreatina genera péptidos que podrían tener composición, secuencia y características estructurales específicas que favorecen la inhibición de enzimas participantes en el metabolismo de carbohidratos. La prueba de tolerancia a la glucosa simula los niveles de glucosa en un estado postprandial y provee

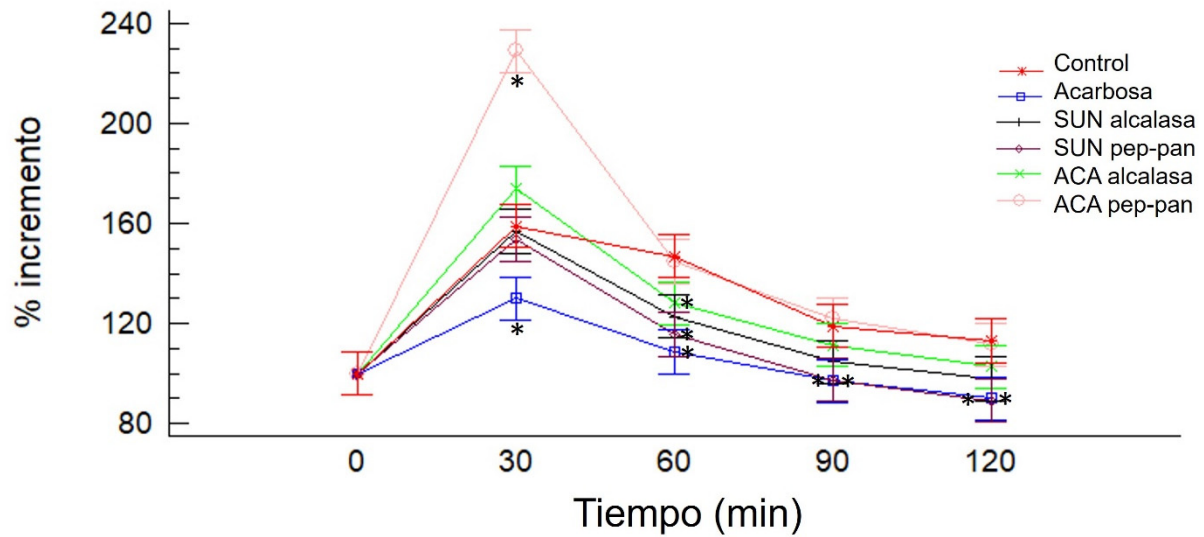


Figura 13. Efecto antihiper glucémico de hidrolizados de albúminas de maíz ACA obtenidos con alcalasa (200 mg/kg p.c.) y pepsina-pancreatina (200 mg/kg p.c.) en ratones normoglucémicos después de la administración de sacarosa. Se utilizó acarbosa como control positivo (10 mg/kg p.c.). Los datos se expresan como la media \pm LSD (n = 6). *Indica diferencia significativa con respecto al control negativo ($p \leq 0.05$).

información valiosa acerca de la actividad antihiper glucémica. Los resultados obtenidos pueden compararse con lo reportado por Higuchi y col (2013) quienes evaluaron un hidrolizado de zeína de maíz mediante una prueba de tolerancia a la glucosa. Los autores demostraron que la administración oral del hidrolizado de zeína (2 g/kg) suprimió significativamente la respuesta glucémica acompañada de un aumento inmediato de los niveles plasmáticos de GLP-1 y GIP en ratas normales y diabéticas por su actividad liberadora de incretina, es decir, el efecto incretinotrópico.

Por otro lado, Valencia-Mejía y col (2019) evaluaron el efecto de hidrolizados de frijol fácil y difícil de cocinar en el modelo de tolerancia oral al almidón en ratas Wistar, demostrando que los hidrolizados tuvieron efectos similares al control e incluso una de las fracciones mostró un mejor desempeño que el control positivo acarbossa.

Navarro-Leyva y col (2023) evaluaron la actividad antihiper glucémica de hidrolizados de albúminas de garbanzo obtenidos con alcalasa y pepsina-pancreatina en ratones BALB-c normoglu cémicos. Solo los ratones tratados con el HPP (200 mg/kg de p.c.) mostraron actividad antihiper glucémica.

Recientemente, Liu y col (2024) estudiaron el efecto anti hiper glucémico *in vivo* de péptidos de salvado de arroz obtenidos por hidrólisis enzimática mediante una prueba de tolerancia oral a la maltosa en ratones ICR machos. La fracción peptídica 1-3 kDa (800 mg/kg p.c.) logró evitar los picos de glucosa causados por maltosa demostrando su potencial para reducir la glucosa postprandial. Sin embargo, el efecto reductor de la glucosa de la fracción peptídica evaluada fue inferior al de acarbossa. Estos resultados son similares a lo reportado en este estudio para el HPP del maíz comercial y esto se podría asociar con la capacidad de inhibición de la enzima α -glucosidasa y a su vez con

el contenido aminoacídico de la fracción de péptidos evaluada, ya que este hidrolizado presentó alto contenido de aminoácidos aromáticos (tirosina y triptófano), ácidos (aspártico y glutámico) y arginina.

VIII. CONCLUSIONES

1. Los hidrolizados de albúminas de maíz ACA y comercial SUN elaborados con pepsina-pancreatina presentaron los mayores grados de hidrólisis y se asoció con un mayor número de péptidos (413 maíz ACA, 136 maíz comercial SUN), destacando a su vez un mayor número de péptidos con actividades predichas de antioxidante e inhibitoria de α -glucosidasa y dipeptidil peptidasa IV.
2. Los hidrolizados con pepsina-pancreatina del maíz ACA y comercial SUN presentaron la mayor actividad antioxidante *in vitro* por el método ABTS, lo cual correspondió con el mayor grado de hidrólisis y número de péptidos predichos con actividad antioxidante en estos hidrolizados.
3. La mejor actividad antioxidante en ratones con daño hepatotóxico se obtuvo con los hidrolizados con pepsina-pancreatina del maíz comercial (SUN) y con alcalasa de albúminas de maíz ACA. El primero mostró los mejores resultados en las histologías y en los parámetros AST, ALT y MDA, mientras que el segundo mostró cierto efecto protector en la histología, así como menores niveles de malondialdehído (MDA) y mayores niveles de glutatión (GSH).
4. Los hidrolizados de albúminas de maíz ACA y comercial SUN mostraron efecto hipoglucémico mayor al control negativo pero menor al control positivo glibenclamida, sugiriendo que los hidrolizados mejoran la capacidad de los tejidos para metabolizar la glucosa.
5. Hidrolizados de albúminas de maíz ACA y comercial SUN redujeron la hiperglucemia postprandial después de 60 min, pero solo el hidrolizado de pepsina-pancreatina del maíz comercial SUN mostró actividad antihiperglucémica al final de la prueba de

tolerancia oral a la sacarosa, por lo que podría ser utilizado como alternativa para el tratamiento de la diabetes. Sin embargo, se requieren pruebas con modelos diabéticos para demostrar dicha actividad.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Acevedo Martínez KA, Gonzalez de Mejia E. 2021. Comparison of five chickpea varieties, optimization of hydrolysates production and evaluation of biomarkers for type 2 diabetes. *Food Research International* 147:110572. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110572>
- Acosta R. 2009. El cultivo del maíz, su origen y clasificación. *El maíz en Cuba. Cultivos Tropicales* 30(2):113-120.
- Adler-Nissen J. 1986. *Enzymic Hydrolysis of Food Proteins*. London: Elsevier Applied Science Publishers. 427 p.
- Adom KK, Liu RH. 2002. Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(21):6182-6187. <https://doi.org/10.1021/jf0205099>
- Akbarian M, Khani A, Eghbalpour S, Uversky VN. 2022. Bioactive peptides: synthesis, sources, applications, and proposed mechanisms of action. *International Journal of Molecular Sciences* 23(3):1445. <https://doi.org/10.3390/ijms23031445>
- Álvarez-Guisasola F, Orozco-Beltrán D, Cebrián-Cuenca AM, Ruiz Quintero MA, Angullo Martínez E, Ávila Lachica L, Ortega Millán C, Caride Miana E, Navarro-Pérez J, Sagredo Perez J, Barrot de la Puente J, Cos Claramunt FX. 2019. Manejo de la hiperglucemia con fármacos no insulínicos en pacientes adultos con diabetes tipo 2. *Atencion Primaria* 51(7):442-451. <https://doi.org/10.1016/j.aprim.2019.05.014>
- Aranda M, Di Carlo M. 2022. Alkaline phosphatase: general characteristics and serum determination. *Bioquímica Clínica Latinoamericana* 56:257-272.
- Asturias MA. 2004. Historia e importancia del maíz. En: Asturias MA, editor. *Maíz, de alimento sagrado a negocio del hambre*. Quito, Ecuador p. 9-23.
- Berraquero-García C, Rivero-Pino F, Ospina JL, Pérez-Gálvez R, Espejo-Carpio FJ, Guadix A, García-Moreno PJ, Guadix EM. 2023. Activity, structural features and in silico digestion of antidiabetic peptides. *Food Bioscience* 55:102954. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102954>
- Betteridge DJ. 2000. What is oxidative stress? *Metabolism* 49(2, Supplement 1):3-8. [https://doi.org/10.1016/S0026-0495\(00\)80077-3](https://doi.org/10.1016/S0026-0495(00)80077-3)

- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technology* 28(1):25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Brown RE, Jarvis KL, Hyland KJ. 1989. Protein measurement using bicinchoninic acid: elimination of interfering substances. *Analytical Biochemistry* 180(1):136-139. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(89\)90101-2](https://doi.org/10.1016/0003-2697(89)90101-2)
- Chanvrier H, Colonna P, Della Valle G, Lourdin D. 2005. Structure and mechanical behaviour of corn flour and starch–zein based materials in the glassy state. *Carbohydrate Polymers* 59(1):109-119. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.09.005>
- Chen C, Dickman MB. 2005. Proline suppresses apoptosis in the fungal pathogen *Colletotrichum trifolii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 102(9):3459-3464. <https://doi.org/10.1073/pnas.0407960102>
- Chen H-M, Muramoto K, Yamauchi F, Nokihara K. 1996. Antioxidant activity of designed peptides based on the antioxidative peptide isolated from digests of a soybean protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44(9):2619-2623. <https://doi.org/10.1021/jf950833m>
- Chen HJ, Dai FJ, Chen CY, Fan SL, Zheng JH, Chau CF, Lin YS, Chen CS. 2023. Effects of molecular weight fraction on antioxidation capacity of rice protein hydrolysates. *Scientific Reports* 13(1):3464. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-14314-7>
- Clare DA, Swaisgood HE. 2000. Bioactive milk peptides: a prospectus1. *Journal of Dairy Science* 83(6):1187-1195. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)74983-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74983-6)
- CONABIO. 2009. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Disponible en <https://www.gob.mx/conabio>. Consultado el 10 de enero de 2024.
- Cordiano R, Di Gioacchino M, Mangifesta R, Panzera C, Gangemi S, Minciullo PL. 2023. Malondialdehyde as a potential oxidative stress marker for allergy-oriented diseases: An update. *Molecules* 28(16):5979. <https://doi.org/10.3390/molecules28165979>
- Davies MJ, D'Alessio DA, Fradkin J, Kernan WN, Mathieu C, Mingrone G, Rossing P, Tsapas A, Wexler DJ, Buse JB. 2018. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes, 2018. A consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care* 41(12):2669-2701. <https://doi.org/10.2337/dci18-0033>

- Díaz-Gómez JL, Ortíz-Martínez M, Aguilar O, García-Lara S, Castorena-Torres F. 2018. Antioxidant activity of zein hydrolysates from *Zea* species and their cytotoxic effects in a hepatic cell culture. *Molecules* 23(2):312. <https://doi.org/10.3390/molecules23020312>
- Du K, Ramachandran A, Jaeschke H. 2016. Oxidative stress during acetaminophen hepatotoxicity: Sources, pathophysiological role and therapeutic potential. *Redox Biology* 10:148-156. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2016.10.001>
- Dudley J, Clark D, Rocheford T, LeDeaux J. 2007. Genetic Analysis of Corn Kernel Chemical Composition in the Random Mated 7 Generation of the Cross of Generations 70 of IHP × ILP. *Crop Science* 47. <https://doi.org/10.2135/cropsci2006.03.0207>
- Eckhoff SR, Paulsen MR, Yang SC. 2003. MAIZE. En: Caballero B, editor. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)*. Oxford: Academic Press. p. 3647-3653.
- Egan AM, Dinneen SF. 2019. What is diabetes? *Medicine* 47(1):1-4. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2018.10.002>
- FAO. 1993. El maíz en la nutrición humana. Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura. Disponible en <http://www.fao.org/3/T0395S/T0395S00.htm> Consultado el 15 de Agosto de 2023.
- FAOSTAT. 2023. Food and Agriculture Organization Statistical Database. Disponible en <http://faostat.fao.org>. Consultado el 02 de marzo de 2024.
- Félix-Medina JV, Sepúlveda-Haro AG, Quintero-Soto MF. 2023. Stability of antioxidant and hypoglycemic activities of peptide fractions of maize (*Zea mays* L.) under different processes. *Journal of Food Measurement and Characterization* 17(1):362-370. <https://doi.org/10.1007/s11694-022-01618-5>
- Ferrè S, Neyra JA, Moe OW. 2019. Calcium, Phosphate, and Magnesium Metabolism in Chronic Kidney Disease. En: Kimmel PL, Rosenberg ME, editores. *Chronic Renal Disease (Second Edition)*. London: Academic Press. p. 661-679.
- Forman HJ, Zhang H. 2021. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nature Reviews Drug Discovery* 20(9):689-709. <https://doi.org/10.1038/s41573-021-00233-1>

- Glover DV, Mertz ET. 1987. Corn. En: Olson RA, Frey KJ, editores. Nutritional quality of cereal grains: genetic and agronomic improvement. Madison: American Society for Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America. p. 183–336.
- Guo H, Sun J, He H, Yu G-C, Du J. 2009. Antihepatotoxic effect of corn peptides against Bacillus Calmette-Guerin/lipopolysaccharide-induced liver injury in mice. Food and Chemical Toxicology 47(10):2431-2435. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.06.041>
- Hanawa N, Shinohara M, Saberi B, Gaarde WA, Han D, Kaplowitz N. 2008. Role of JNK translocation to mitochondria leading to inhibition of mitochondria bioenergetics in acetaminophen-induced liver injury. Journal of Biological Chemistry 283(20):13565-13577. <https://doi.org/10.1074/jbc.M708916200>
- Higuchi N, Hira T, Yamada N, Hara H. 2013. Oral administration of corn zein hydrolysate stimulates GLP-1 and GIP secretion and improves glucose tolerance in male normal rats and goto-kakizaki rats. Endocrinology 154(9):3089-3098. <https://doi.org/10.1210/en.2012-2275>
- Holt EH, Lupsa B, Lee GS, Bassyouni H, Peery HE. 2022. The pancreatic islets. En: Holt EH, Lupsa B, Lee GS, Bassyouni H, Peery HE, editores. Goodman's Basic Medical Endocrinology (Fifth Edition). Amsterdam: Elsevier. p. 203-237.
- Hunter BG, Beatty MK, Singletary GW, Hamaker BR, Dilkes BP, Larkins BA, Jung R. 2002. Maize opaque endosperm mutations create extensive changes in patterns of gene expression [W]. The Plant Cell 14(10):2591-2612. <https://doi.org/10.1105/tpc.003905>
- Ina S, Ninomiya K, Mogi T, Hase A, Ando T, Matsukaze N, Ogihara J, Akao M, Kumagai H, Kumagai H. 2016. Rice (*Oryza sativa japonica*) albumin suppresses the elevation of blood glucose and plasma insulin levels after oral glucose loading. Journal of Agricultural and Food Chemistry 64(24):4882-4890. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00520>
- INIFAP. 2017. Agenda Técnica Agrícola de Sinaloa. Ciudad de México: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. 209 p.
- Jaeschke H, Duan L, Nguyen NT, Ramachandran A. 2019. Mitochondrial damage and biogenesis in acetaminophen-induced liver injury. Liver Research 3(3):150-156. <https://doi.org/10.1016/j.livres.2019.10.002>

- Jiang X, Cui Z, Wang L, Xu H, Zhang Y. 2020. Production of bioactive peptides from corn gluten meal by solid-state fermentation with *Bacillus subtilis* MTCC5480 and evaluation of its antioxidant capacity *in vivo*. Food Science and Technology 131:109767. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109767>
- Jin D-x, Liu X-l, Zheng X-q, Wang X-j, He J-f. 2016. Preparation of antioxidative corn protein hydrolysates, purification and evaluation of three novel corn antioxidant peptides. Food Chemistry 204:427-436. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.02.119>
- Karimi A, Azizi M, Ahmadi Gavlighi H. 2020a. Fractionation of hydrolysate from corn germ protein by ultrafiltration: *in vitro* antidiabetic and antioxidant activity. Food Science & Nutrition 8(5):2395-2405. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1529>
- Karimi A, Azizi M, Ahmadi Gavlighi H. 2020b. Fractionation of hydrolysate from corn germ protein by ultrafiltration: *In vitro* antidiabetic and antioxidant activity. Food Science & Nutrition 8. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1529>
- Kato Yamakake T, Mapes Sánchez C, Mera Ovando LM, Serratos Hernández JA, Bye Boettler RA. 2009. Origen y diversificación del maíz: una revisión analítica. Mexico DF.: Universidad Nacional Autónoma de México. 116 p.
- Kawakami K, Moritani C, Uraji M, Fujita A, Kawakami K, Hatanaka T, Suzaki E, Tsuboi S. 2017. Sake lees hydrolysate protects against acetaminophen-induced hepatotoxicity via activation of the Nrf2 antioxidant pathway. Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition 61(3):203-209. <https://doi.org/10.3164/jcfn.17-21>
- Kifle Z, Yesuf J, Atnafie S. 2020. Evaluation of *in vitro* and *in vivo* anti-diabetic, anti-hyperlipidemic and anti-oxidant activity of flower crude extract and solvent fractions of *Hagenia abyssinica* (Rosaceae). Journal of Experimental Pharmacology 12:151-167. <https://doi.org/10.2147/JEP.S249964>
- Kou X, Gao J, Xue Z, Zhang Z, Wang H, Wang X. 2013. Purification and identification of antioxidant peptides from chickpea (*Cicer arietinum* L.) albumin hydrolysates. Food Science and Technology 50(2):591-598. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.08.002>
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227(5259):680-685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>

- Lambert RJ. 2001. High-Oil Corn Hybrids. En: Hallauer AR, editor. Specialty Corns. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press. p. 131-155.
- Lee H, Lee HJ, Kim JY, Kwon O. 2015. Corn Gluten Hydrolysate Affects the Time-Course of Metabolic Changes Through Appetite Control in High-Fat Diet-Induced Obese Rats. *Molecules and Cells* 38(12):1044-1053. <https://doi.org/10.14348/molcells.2015.0107>
- Li G, Liu W, Wang Y, Jia F, Wang Y, Ma Y, Gu R, Lu J. 2019. Functions and applications of bioactive peptides from corn gluten meal. En: Toldrá F, editor. *Advances in Food and Nutrition Research*. Cambridge: Academic Press. p. 1-41.
- Li J-T, Zhang J-L, He H, Ma Z-L, Nie Z-K, Wang Z-Z, Xu X-G. 2013. Apoptosis in human hepatoma HepG2 cells induced by corn peptides and its anti-tumor efficacy in H22 tumor bearing mice. *Food and Chemical Toxicology* 51:297-305. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.09.038>
- Li J. 1997. Analysis of quality characters of maize germplasm resource. *Journal of Hebei Agricultural University* 20(1):12-16.
- Liang L-l, Cai S-y, Gao M, Chu X-m, Pan X-y, Gong K-K, Xiao C-w, Chen Y, Zhao Y-q, Wang B, Sun K-l. 2020. Purification of antioxidant peptides of *Moringa oleifera* seeds and their protective effects on H₂O₂ oxidative damaged Chang liver cells. *Journal of Functional Foods* 64:103698. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103698>
- Lin F, Chen L, Liang R, Zhang Z, Wang J, Cai M, Li Y. 2011. Pilot-scale production of low molecular weight peptides from corn wet milling byproducts and the antihypertensive effects *in vivo* and *in vitro*. *Food Chemistry* 124(3):801-807. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.06.099>
- Liu W, Ma R, Cui G, Wen Y, Li H, Wang J, Sun B. 2024. Rice bran peptide with α -glucosidase inhibition activity: Preparation, evaluation and molecular mechanism. *Journal of Cereal Science* 115:103837. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2023.103837>
- Liu X, Zheng X, Song Z, Liu X, Kopparapu Nk, Wang X, Zheng Y. 2015. Preparation of enzymatic pretreated corn gluten meal hydrolysate and *in vivo* evaluation of its antioxidant activity. *Journal of Functional Foods* 18:1147-1157. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.10.013>
- Lopez-Angulo G, Montes-Avila J, Diaz-Camacho S, Vega-Aviña R, Ahumada-Santos Y, Delgado-Vargas F. 2014. Chemical composition and antioxidant, α -glucosidase

- inhibitory and antibacterial activities of three *Echeveria* DC. species from Mexico. *Arabian Journal of Chemistry* 12(8):1964-1973. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.11.050>
- López Mazón SL, García Navarrete G, Ibarra Gutiérrez BN. 2012. El maíz (*Zea mays* L.) y la cultura maya. *Biotecnia* 14(3):3-8. <https://doi.org/10.18633/bt.v14i3.123>
- Lu H, Xie T, Wu Q, Hu Z, Luo Y, Luo F. 2023. Alpha-glucosidase inhibitory peptides: sources, preparations, identifications, and action mechanisms. *Nutrients* 15(19):4267. <https://doi.org/10.3390/nu15194267>
- Ma Z-L, Zhang W-J, Yu G-C, He H, Zhang Y. 2012. The primary structure identification of a corn peptide facilitating alcohol metabolism by HPLC–MS/MS. *Peptides* 37(1):138-143. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2012.07.004>
- Ma Z, Hou T, Shi W, Liu W, He H. 2015. Inhibition of hepatocyte apoptosis: An important mechanism of corn peptides attenuating liver injury induced by ethanol. *International Journal of Molecular Sciences* 16(9):22062-22080. <https://doi.org/10.3390/ijms160922062>
- Mirzaee H, Ahmadi Gavlighi H, Nikoo M, Udenigwe CC, Khodaiyan F. 2023. Relation of amino acid composition, hydrophobicity, and molecular weight with antidiabetic, antihypertensive, and antioxidant properties of mixtures of corn gluten and soy protein hydrolysates. *Food Science & Nutrition* 11(3):1257-1271. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3160>
- Mochida T, Hira T, Hara H. 2010. The corn protein, zein hydrolysate, administered into the ileum attenuates hyperglycemia via its dual action on glucagon-like peptide-1 secretion and dipeptidyl peptidase-IV activity in rats. *Endocrinology* 151(7):3095-3104. <https://doi.org/10.1210/en.2009-1510>
- Mohamed Sham Shihabudeen H, Hansi Priscilla D, Thirumurugan K. 2011. Cinnamon extract inhibits α -glucosidase activity and dampens postprandial glucose excursion in diabetic rats. *Nutrition & Metabolism* 8(1):46. <https://doi.org/10.1186/1743-7075-8-46>
- Montoya-Rodríguez A, Osuna-Gallardo E, Cabrera-Chávez F, Milán-Carrillo J, Reyes Moreno C, Milán-Noris E, Cuevas-Rodríguez E-O, Mora Rochin S. 2020. Evaluation of the *in vitro* and *in vivo* antihypertensive effect and antioxidant activity of blue corn

hydrolysates derived from wet-milling. *Biotecnia* 22:155-162.
<https://doi.org/10.18633/biotecnia.v22i2.1257>

Moose SP, Dudley JW, Rocheford TR. 2004. Maize selection passes the century mark: a unique resource for 21st century genomics. *Trends in Plant Science* 9(7):358-364.

Muhammad-Azam F, Nur-Fazila SH, Ain-Fatin R, Noordin MM, Yimer N. 2019. Histopathological changes of acetaminophen-induced liver injury and subsequent liver regeneration in BALB/C and ICR mice. *Veterinary World* 12(11):1682.
<https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.1682-1688>

Nasri M. 2017. Protein hydrolysates and biopeptides: Production, biological activities, and applications in foods and health benefits. A review. En: Toldrá F, editor. *Advances in Food and Nutrition Research*. Cambridge: Academic Press. p. 109-159.

Navarro-Leyva A, López-Angulo G, Delgado-Vargas F, López-Valenzuela J. 2023. Antioxidant, anti-inflammatory, hypoglycemic, and anti-hyperglycemic activity of chickpea protein hydrolysates evaluated in BALB-c mice. *Journal of Food Science* 88(10):4262-4274. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16744>

Ortiz-Martinez M, Otero-Papatheodorou JT, Serna-Saldívar SO, García-Lara S. 2017. Antioxidant activity and characterization of protein fractions and hydrolysates from normal and quality protein maize kernels. *Journal of Cereal Science* 76:85-91.
<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.05.021>

Osborne TB, Clapp S. 1908. Hydrolysis of the proteins of maize, *Zea mays*. *American Journal of Physiology* 20(4):477-493.

Paliwal RL. 2001. Introducción al maíz y su importancia. En: Paliwal RL, Granados G, Lafitte HR, Violic AD, Marathée JP, editores. *El maíz en los trópicos. Mejoramiento y producción*. Colección FAO: Producción y Protección Vegetal 28. p. 1-3.

Papackova Z, Heczko M, Dankova H, Sticova E, Lodererova A, Bartonova L, Poruba M, Cahova M. 2018. Silymarin prevents acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice. *PloS One* 13(1):e0191353. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0191353>

Paredes O, Guevara F, Bello L. 2013. *Los alimentos mágicos de las culturas indígenas mesoamericanas*. México, D.F.: Fondo de Cultura Económica. 197 p.

Preciado-Ortiz RE, García-Lara S, Ortiz-Islas S, Ortega-Corona A, Serna-Saldívar SO. 2013. Response of recurrent selection on yield, kernel oil content and fatty acid

- composition of subtropical maize populations. *Field Crops Research* 142:27-35. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2012.11.019>
- Preciado-Ortiz RE, Vázquez-Carrillo MG. 2022. Generación de maíces especializados para mejorar la salud y nutrición en México. *Avances en Ciencias e Ingenierías* 14(1). <https://doi.org/10.18272/aci.v14i1.2489>
- Preciado-Ortiz RE, Vázquez-Carrillo MG, Figueroa-Cárdenas JdD, Guzmán-Maldonado SH, Santiago-Ramos D, Topete-Betancourt A. 2018. Fatty acids and starch properties of high-oil maize hybrids during nixtamalization and tortilla-making process. *Journal of Cereal Science* 83:171-179. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.08.015>
- Ramírez K, Pineda-Hidalgo KV, Rochín-Medina JJ. 2021. Fermentation of spent coffee grounds by *Bacillus clausii* induces release of potentially bioactive peptides. *Food Science and Technology* 138:110685. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110685>
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26(9):1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rivera-Atondo M. 2023. Actividad antioxidante e inhibición de α -glucosidasa de hidrolizados de fracciones proteicas de maíz (*Zea mays* L.) con alto contenido en aceite. [Maestría]. Culiacán, Sinaloa, México: Universidad Autónoma de Sinaloa. 97 p.
- Rotundo L, Pysopoulos N. 2020. Liver injury induced by paracetamol and challenges associated with intentional and unintentional use. *World Journal of Hepatology* 12(4):125-136. <https://doi.org/10.4254/wjh.v12.i4.125>
- Saadi S, Saari N, Anwar F, Abdul Hamid A, Ghazali HM. 2015. Recent advances in food biopeptides: production, biological functionalities and therapeutic applications. *Biotechnology Advances* 33(1):80-116. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.12.003>
- SADER-SIAP. 2023. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. Disponible en <https://www.gob.mx/siap>. Consultado el 02 de mayo de 2022.

- Sánchez-Mendoza N, Dávila-Ortiz G, Jiménez-Martínez C. 2017. Péptidos con actividad antioxidante provenientes de fuentes animales y vegetales. En: Ramírez-Ortiz M, editor. Alimentos funcionales de hoy. Barcelona, España: OmniaScience. p. 117-142.
- Santa Cruz NM, Zacarías Castillo R. 2002. Tratamiento farmacológico para la diabetes mellitus. Revista del Hospital General "Dr. Manuel Gea González" 5(1-2):33-41.
- Santos EW, Oliveira DCd, Hastreiter A, Silva GBd, Beltran JSdO, Tsujita M, Crisma AR, Neves SMP, Fock RA, Borelli P. 2016. Hematological and biochemical reference values for C57BL/6, Swiss Webster and BALB/c mice. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science 53(2):138-145. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v53i2p138-145>
- Sbroggio MF, Montilha MS, Figueiredo VRGd, Georgetti SR, Kurozawa LE. 2016. Influence of the degree of hydrolysis and type of enzyme on antioxidant activity of okara protein hydrolysates. Food Science and Technology 36(2):375-381. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.000216>
- Schuster DP, Duvuuri V. 2002. Diabetes mellitus. Clinics in Podiatric Medicine and Surgery 19(1):79-107. [https://doi.org/10.1016/S0891-8422\(03\)00082-X](https://doi.org/10.1016/S0891-8422(03)00082-X)
- Serna-Saldivar SO. 2019. Corn: chemistry and technology. 3rd ed. Duxford, U.K.: Woodhead Publishing and AACC International Press. p. 690.
- Shafiee G, Mohajeri-Tehrani M, Pajouhi M, Larijani B. 2012. The importance of hypoglycemia in diabetic patients. Journal of Diabetes & Metabolic Disorders 11(1):17. <https://doi.org/10.1186/2251-6581-11-17>
- Sharma S, Pradhan R, Manickavasagan A, Tsopmo A, Thimmanagari M, Dutta A. 2023. Corn distillers solubles by two-step proteolytic hydrolysis as a new source of plant-based protein hydrolysates with ACE and DPP4 inhibition activities. Food Chemistry 401:134120. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134120>
- Singh N, Vasudev S, Yadava D, Chaudhary D, Prabhu K. 2014. Oil improvement in maize: potential and prospects. En: Chaudhary D, Kumar S, Langyan S, editores. Maize: nutrition dynamics and novel. Springer, New Delhi. p. 79.
- Singhal P, Kaushik G, Mathur P. 2014. Antidiabetic potential of commonly consumed legumes: A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 54(5):655-672. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.604141>

- Suaste N, Guerrero L, Betancur D, Zamora Bustillos R. 2023. Antioxidant and inhibitory activities of α -amylase, α -glucosidase and angiotensin-I of protein hydrolysates from “Sac-Beh” quality protein maize (QPM). *Emirates Journal of Food and Agriculture*. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2023.3107>
- Takatsuka M, Goto S, Kobayashi K, Otsuka Y, Shimada Y. 2021. Leading individual features of antioxidant systematically classified by the ORAC assay and its single electron transfer and hydrogen atom transfer reactivities; analyzing ALS therapeutic drug Edaravone. *BBA Advances* 1:100030. <https://doi.org/10.1016/j.bbadv.2021.100030>
- Tang X, He Z, Dai Y, Xiong YL, Xie M, Chen J. 2010. Peptide fractionation and free radical scavenging activity of zein hydrolysate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58(1):587-593. <https://doi.org/10.1021/jf9028656>
- Thomison PR, Geyer AB, Lotz LD, Siegrist HJ, Dobbels TL. 2003. TopCross high oil corn production: select grain quality attributes. *Agronomy Journal* 95:147-154. <https://doi.org/10.2134/agronj2003.0147>
- Tipple TE, Rogers LK. 2012. Methods for the determination of plasma or tissue glutathione levels. *Methods in Molecular Biology* 889:315-324. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-867-2_20
- Valencia-Mejía E, Batista KA, Fernández JJA, Fernandes KF. 2019. Antihyperglycemic and hypoglycemic activity of naturally occurring peptides and protein hydrolysates from easy-to-cook and hard-to-cook beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Food Research International* 121:238-246. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.03.043>
- Vázquez-Carrillo MG, Santiago-Ramos D, Gaytán-Martínez M, Morales-Sánchez E, Guerrero-Herrera MdJ. 2015. High oil content maize: physical, thermal and rheological properties of grain, masa, and tortillas. *Food Science and Technology* 60(1):156-161. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.07.043>
- Wang L, Ding L, Yu Z, Zhang T, Ma S, Liu J. 2016. Intracellular ROS scavenging and antioxidant enzyme regulating capacities of corn gluten meal-derived antioxidant peptides in HepG2 cells. *Food Research International* 90:33-41. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.023>

- Wang X-j, Zheng X-q, Kopparapu N-k, Cong W-s, Deng Y-p, Sun X-j, Liu X-l. 2014. Purification and evaluation of a novel antioxidant peptide from corn protein hydrolysate. *Process Biochemistry* 49(9):1562-1569. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2014.05.014>
- Wang X, Fu J, Bhullar KS, Chen B, Liu H, Zhang Y, Wang C, Liu C, Su D, Ma X, Qiao Y. 2024a. Identification, in silico selection, and mechanistic investigation of antioxidant peptides from corn gluten meal hydrolysate. *Food Chemistry* 446:138777. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.138777>
- Wang Z, Li G, Liu X. 2024b. Identification of corn peptides with alcohol dehydrogenase activating activity absorbed by caco-2 cell monolayers. *Molecules* 29(7):1523. <https://doi.org/10.3390/molecules29071523>
- Winter FL. 1974. The mean and variability as affected by continuous selection for composition in corn. En: Dudley JW, editor. *Seventy Generations of Selection for Oil and Protein in Maize*. Madison: Crop Science Society of America, Inc. p. 95-119.
- Yoshikawa T, Naito Y. 2002. What is oxidative stress? *Japan Medical Association Journal* 124(11):1549–1553.
- Yu X, Chen Y, Qi Z, Chen Q, Cao Y, Kong Q. 2023a. Preparation and identification of a novel peptide with high antioxidant activity from corn gluten meal. *Food Chemistry* 424:136389. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136389>
- Yu Y, Guan S, Feng M, Wang L, Gao F. 2023b. Hepatoprotective effect of albumin peptide fractions from corn germ meal against alcohol-induced acute liver injury in mice. *Foods* 12(6). <https://doi.org/10.3390/foods12061183>
- Zheng X-q, Li L-t, Liu X-l, Wang X-j, Lin J, Li D. 2006. Production of hydrolysate with antioxidative activity by enzymatic hydrolysis of extruded corn gluten. *Applied Microbiology and Biotechnology* 73(4):763-770. <https://doi.org/10.1007/s00253-006-0537-9>
- Zhou C, Hu J, Ma H, Yagoub AEA, Yu X, Owusu J, Ma H, Qin X. 2015. Antioxidant peptides from corn gluten meal: Orthogonal design evaluation. *Food Chemistry* 187:270-278. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.092>

- Zhou J, Kang X, Luo Y, Yuan Y, Wu Y, Wang M, Liu D. 2019. Glibenclamide-induced autophagy inhibits its insulin secretion-improving function in β cells. *International Journal of Endocrinology* 2019:1265175. <https://doi.org/10.1155/2019/1265175>
- Zhou K, Sun S, Canning C. 2012. Production and functional characterisation of antioxidative hydrolysates from corn protein via enzymatic hydrolysis and ultrafiltration. *Food Chemistry* 135(3):1192-1197. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.063>
- Zhuang H, Tang N, Yuan Y. 2013. Purification and identification of antioxidant peptides from corn gluten meal. *Journal of Functional Foods* 5(4):1810-1821. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.08.013>
- Zou TB, He TP, Li HB, Tang HW, Xia EQ. 2016. The structure-activity relationship of the antioxidant peptides from natural proteins. *Molecules* 21(1):72. <https://doi.org/10.3390/molecules21010072>

X. ABREVIATURAS

FAOSTAT	Organización para la Agricultura y la Alimentación
SADER	Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural
SIAP	Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera
INIFAP	Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias
ACA	Alto contenido en aceite
SUN	Sunrice
HA	Hidrolizado con alcalasa
HPP	Hidrolizado con pepsina-pancreatina
UPLC-MS	Cromatografía líquida de ultra rendimiento-espectrometría de masas
ABTS	Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidracilo
ORAC	Capacidad de absorción de radicales de oxígeno
AST	Aspartato aminotransferasa
ALT	Alanina aminotransferasa
FA	Fosfatasa alcalina
MDA	Malondialdehído
GSH	Glutati3n reducido
APAP	N-acetil-p-aminofenol
FAO	Organizaci3n de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentaci3n
ADN	Ácido desoxirribonucleico
DPP4	Dipeptidil peptidasa-4
ACE	Enzima convertidora de angiotensina
ADH	Alcohol deshidrogenasa
SOD	Super3xido dismutasa
CAT	Catalasa
TG	Triglic3ridos

ECA-I	Inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina
AHGM	Albúmina de harina de germen de maíz
DM	Diabetes mellitus
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
AR	Albúmina de arroz
BCA	Ácido bicinconánico
BSA	Albúmina de suero bovino
TNBS	Ácido trinitrobencenosulfónico
DH	Grado de hidrólisis
ESI	Electro-asperjado
CID	Disociación inducida por colisión
TBA	Ácido tiobarbitúrico
DTNB	Ácido 5,5'- ditio-bis-(2-nitrobenzoico)
NADPH	Nicotiamida-Adenina Dinucleotido fosfato
AAox	Actividad antioxidante
NAPQI	N -acetil-p-benzoquinona imina
ATP	Adenosín trifosfato
HLS	Hidrolizados de lías de sake
MAP	Proteínas activadas por mitógeno
JNK	Cinasas c-Jun N-terminal
CPH	Hidrolizados de proteínas de maíz
SPH	Hidrolizado de proteína de soya
QPM	Maíz de calidad proteínica
GIP	Polipéptido inhibidor gástrico

XI. APÉNDICES

APÉNDICE 1. Perfil de péptidos del hidrolizado con alcalasa del maíz ACA

Núm.	Péptido ¹	Núm.	Péptido ¹
1	HSV ²	21	AVNIHML ^{1, 3, 2, 4, 5, 13}
2	SSTS ^{1, 2}	22	LGNLHML ^{1, 2, 4}
3	PAGAG ^{1, 2}	23	VADLPGLI ^{1, 2, 5, 8, 9, 10, 14, 15, 16, 28}
4	ASSNVYI ^{1, 2, 3, 4, 10}	24	TALNHEI ^{1, 2, 7}
5	ASSSAAFL ^{1, 2, 3, 11, 19, 20}	25	AVLAAAHGAV ^{1, 2, 3, 4, 5, 10, 19, 20}
6	MNLVYGG ^{1, 2, 3, 4, 5, 24, 17}	26	ARLLGVHTPQAR ^{1, 2, 5, 6, 9, 11}
7	GTHVLIN ^{1, 2, 5}	27	LSVGGL ^{1, 2}
8	SAGHVGRADFL ^{1, 2, 3, 4, 7, 8}	28	LSRGL ^{1, 2, 9}
9	NTSYRDQVF ^{1, 2, 3, 10, 13, 22}	29	ISRGL ^{1, 2, 9}
10	MmVMRAVYN ^{1, 2, 3, 4, 10}	30	ERTGGKGL ^{1, 2}
11	VmDmRAVYGG ^{1, 2, 3, 4, 10, 17, 24}	31	DAGV ^{1, 2, 3, 7}
12	GLGRP ^{1, 2, 13, 22}	32	GVVS ^{1, 2}
13	GIGPR ^{1, 2, 3, 14, 15, 16}	33	IDDAAGHAQNGGGEPL ^{1, 2, 3, 4, 7, 9, 10, 11, 19, 20}
14	MQPR ^{1, 2, 3}	34	QKDNGHRASGEWH ^{1, 2, 3, 4, 8, 7}
15	IVDAN ^{1, 2, 3, 5, 7}	35	KKDNGHRASGEWH ^{1, 2, 3, 4, 7, 8}
16	LSAKL ¹	36	NPEAP ^{1, 3, 8, 10}
17	GIARNPGL ^{1, 2, 14, 15, 16, 28}	37	PNAEP ^{1, 7}
18	VAARNPGI ^{1, 2, 14, 15, 19, 20, 28}	38	DDDY ^{1, 7, 14}
19	NGLINGPI ^{1, 2, 5, 14, 15, 16}	39	IPAAL ^{1, 2, 10, 11, 19, 20}
20	AVLNMHI ^{1, 2, 5, 4, 13, 26}	40	KIRL ^{1, 2, 4, 12}

¹Péptidos secuenciados por UPLC-ESI-MS/MS. Las posibles actividades se obtuvieron de la base de datos BIOPEP (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>) y se le atribuye al péptido completo o a algún fragmento de él. Los aminoácidos se presentan en nomenclatura de una letra. Donde los superíndices indican las actividades biológicas: ¹ inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, ² inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, ³ inhibidor de la dipeptidil peptidasa III, ⁴ antioxidante, ⁵ estimulante de la captación de glucosa, ⁶ hipouricémico, ⁷ inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa, ⁸ inhibidor de α -glucosidasa, ⁹ inhibidor de lactocepina, ¹⁰ inhibidor de la enzima tripeptidil peptidasa II, ¹¹ inhibidor de la citosol alanil aminopeptidasa, ¹² inhibidor de renina, ¹³ neuropéptido, ¹⁴ regulador de la membrana mucosa del estómago, ¹⁵ antiamnésico, ¹⁶ antitrombótico, ¹⁷ inhibidor de la ligasa tubulina-tirosina, ¹⁸ inhibidor de leucociltransferasa, ¹⁹ antibacterial, ²⁰ hipotensivo, ²¹ anticáncer, ²² inhibidor de neurolisina, ²³ estimulante de sustancias vasoactivas, ²⁴ inmunoestimulante, ²⁵ tóxico, ²⁶ antiviral, ²⁷ hemolítico, ²⁸ inhibidor de PAM, ²⁹ antiinflamatorio, ³⁰ inhibidor de calpaína, ³¹ inhibidor de fosfatasa alcalina, ³² hipolipidémico, ³³ inhibidor de α -amilasa, ³⁴ opioide, ³⁵ péptido sintético, ³⁶ regulador de la fosfoglicerato cinasa, ³⁷ inhibidor de lipasa pancreática, ³⁸ inmunomodulador, ³⁹ inhibidor de alanina carboxipeptidasa, ⁴⁰ inhibidor de fosfolipasa A2, ⁴¹ inhibidor de la secreción de insulina, ⁴² antagonista de opioide.

A. APÉNDICE 1. Continuación

Núm.	Péptido ¹	Núm.	Péptido ¹
41	IKRL ^{1,2}	61	IPmWSATIT ^{1,2,8}
42	VGVV ^{1,2}	62	ADDDDA ^{1,2,3,7,8}
43	GILN ^{1,2,5,13}	63	ADGAEL ^{1,2,4,7,8}
44	PWN ^{2,4,35}	64	WGAEL ^{1,2,4,7,12}
45	SPVN ²	65	GEGAEL ^{1,2,3,4,7}
46	VAKV ^{2,10}	66	DAGAEL ^{1,2,3,4,7}
47	VAVK ^{1,2,10}	67	VVVV ^{2,21}
48	FSAV ^{1,2}	68	TPVV ^{1,2,6}
49	HPAV ^{1,2,3}	69	VVTP ^{1,2,6}
50	VNGG ^{1,2}	70	DSEDSNVRK ^{1,2}
51	VNN ²	71	cSDMGALVVGK ^{1,2,5}
52	SmGL ^{1,2}	72	DHVAQAPDVGQ ^{1,2,10,13}
53	xTx-	73	GTGSVTGASASGGQ ^{1,2,13}
54	TFmPMDMF ^{1,2,3,12}	74	STNVLmITGGQ ^{1,2,5,13}
55	TNGRNEDET ^{1,2,7}	75	mDSSAVKVVQG ^{1,2,4}
56	DESVLGAPFT ^{1,2,3,4,5,7,10}	76	YEVEVVDVNA ^{1,2,7,8,17}
57	TLTDEAAAPF ^{1,2,3,4,7,8,10,19,20}	77	cTDMNLVRK ^{1,2,5}
58	EAMVLKEDT ^{1,2,4,5,8}	78	DSKmAERVGG ^{1,2,3,7,13}
59	AELVNATNGF ^{1,2,3,4,5,7,10}	79	DHTIHMVRGAVPSPTS ^{1,2,3,6,18}
60	TIFYPTmF ^{1,2,4,6,8,20,33}	80	ELcIQAGVDLPEYPT ^{1,2,3,4,8,9,17}

¹Péptidos secuenciados por UPLC-ESI-MS/MS. Las posibles actividades se obtuvieron de la base de datos BIOPEP (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>) y se le atribuye al péptido completo o a algún fragmento de él. Los aminoácidos se presentan en nomenclatura de una letra. Donde los superíndices indican las actividades biológicas: ¹ inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, ² inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, ³ inhibidor de la dipeptidil peptidasa III, ⁴ antioxidante, ⁵ estimulante de la captación de glucosa, ⁶ hipouricémico, ⁷ inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa, ⁸ inhibidor de α -glucosidasa, ⁹ inhibidor de lactocepina, ¹⁰ inhibidor de la enzima tripeptidil peptidasa II, ¹¹ inhibidor de la citosol alanil aminopeptidasa, ¹² inhibidor de renina, ¹³ neuropéptido, ¹⁴ regulador de la membrana mucosa del estómago, ¹⁵ antiamnésico, ¹⁶ antitrombótico, ¹⁷ inhibidor de la ligasa tubulina-tirosina, ¹⁸ inhibidor de leucociltransferasa, ¹⁹ antibacterial, ²⁰ hipotensivo, ²¹ anticáncer, ²² inhibidor de neurolisina, ²³ estimulante de sustancias vasoactivas, ²⁴ inmunoestimulante, ²⁵ tóxico, ²⁶ antiviral, ²⁷ hemolítico, ²⁸ inhibidor de PAM, ²⁹ antiinflamatorio, ³⁰ inhibidor de calpaína, ³¹ inhibidor de fosfatasa alcalina, ³² hipolipidémico, ³³ inhibidor de α -amilasa, ³⁴ opioide, ³⁵ péptido sintético, ³⁶ regulador de la fosfoglicerato cinasa, ³⁷ inhibidor de lipasa pancreática, ³⁸ inmunomodulador, ³⁹ inhibidor de alanina carboxipeptidasa, ⁴⁰ inhibidor de fosfolipasa A2, ⁴¹ inhibidor de la secreción de insulina, ⁴² antagonista de opioide.

APÉNDICE 1. Continuación

Núm.	Péptido ¹	Núm.	Péptido ¹
81	PHDGLADGAVGVVRRAD ^{1, 2, 3, 4, 13, 19, 26, 27}	101	SQYMPEVVGRIGAAVQ ^{1, 2, 3, 4, 8, 10, 19, 20}
82	PSVAKNLYPPEKV ^{1, 2, 3, 4, 8, 10, 12}	102	TLAVPSSISLLQRG ^{1, 2, 3, 5, 6, 9, 11, 14, 18}
83	LESQcPGVVS _c ADVLA ^{1, 3, 2, 16, 5, 14, 8, 28}	103	NNRPSKRQSKQV ^{1, 2, 12, 13, 22}
84	AMmLSHmVWHESTI ^{1, 2, 4, 6, 7, 8}	104	VERNASSVGLPLSL ^{1, 2, 4, 8, 12, 14}
85	AcETPVLVEFWAPW ^{1, 2, 4, 5, 6, 8, 10, 12, 14, 12, 32}	105	DDNN ^{2, 7}
86	EGEmKTAAVDVKKPVS ^{1, 2, 3, 4, 7, 10, 19, 20}	106	DDDL ^{2, 7}
87	IPEScScRLHWLF ^{1, 2, 3, 4, 8}	107	ETDL ^{1, 2}
88	AMTTLSMVVKDSPPLD ^{1, 2, 3, 4, 6, 8, 9}	108	VIVVGAGIM ^{1, 2, 5}
89	DLGDDAANVDLEDDVE ^{1, 2, 3, 7, 8, 10, 11, 19, 20}	109	FDmLVDPVPAPYGPVAV ^{1, 2, 3, 5, 10, 13, 14, 15, 16, 24, 29, 9}
90	SKSPLccDGLANMHD ^{1, 2, 3, 4, 9, 13}	110	FVVL ^{1, 2, 5}
91	GLPI ^{1, 2}	111	MVDI ²
92	PTL ^{1, 2, 6}	112	DEDHE ^{2, 7}
93	SFPTSTNVVVVNY ^{1, 2, 6, 12, 21}	113	AVF ^{1, 2, 3, 22, 30}
94	DTNHSTNY ^{1, 2}	114	GGmL ^{1, 2}
95	TmSL ^{2, 5}	115	mSL ^{2, 36}
96	NNNF ^{1, 2}	116	ILI ^{1, 2, 5, 13}
97	YVNL ^{1, 2}	117	FSGQ ^{1, 13}
98	IGVI ^{1, 2}	118	YAGK ^{1, 2, 4, 11, 12, 17}
99	PTRV ^{1, 2, 6}	119	Msv ²
100	QSPKME _m IDS _L F ^{1, 2, 14}	120	GTVDE ^{1, 2, 7}

¹Péptidos secuenciados por UPLC-ESI-MS/MS. Las posibles actividades se obtuvieron de la base de datos BIOPEP (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>) y se le atribuye al péptido completo o a algún fragmento de él. Los aminoácidos se presentan en nomenclatura de una letra. Donde los superíndices indican las actividades biológicas: ¹ inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, ² inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, ³ inhibidor de la dipeptidil peptidasa III, ⁴ antioxidante, ⁵ estimulante de la captación de glucosa, ⁶ hipouricémico, ⁷ inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa, ⁸ inhibidor de α -glucosidasa, ⁹ inhibidor de lactocepina, ¹⁰ inhibidor de la enzima tripeptidil peptidasa II, ¹¹ inhibidor de la citosol alanil amino peptidasa, ¹² inhibidor de renina, ¹³ neuropéptido, ¹⁴ regulador de la membrana mucosa del estómago, ¹⁵ antiamnésico, ¹⁶ antitrombótico, ¹⁷ inhibidor de la ligasa tubulina-tirosina, ¹⁸ inhibidor de leucociltransferasa, ¹⁹ antibacterial, ²⁰ hipotensivo, ²¹ anticáncer, ²² inhibidor de neurolisina, ²³ estimulante de sustancias vasoactivas, ²⁴ inmunoestimulante, ²⁵ tóxico, ²⁶ antiviral, ²⁷ hemolítico, ²⁸ inhibidor de PAM, ²⁹ antiinflamatorio, ³⁰ inhibidor de calpaína, ³¹ inhibidor de fosfatasa alcalina, ³² hipolipidémico, ³³ inhibidor de α -amilasa, ³⁴ opioide, ³⁵ péptido sintético, ³⁶ regulador de la fosfoglicerato cinasa, ³⁷ inhibidor de lipasa pancreática, ³⁸ inmunomodulador, ³⁹ inhibidor de alanina carboxipeptidasa, ⁴⁰ inhibidor de fosfolipasa A2, ⁴¹ inhibidor de la secreción de insulina, ⁴² antagonista de opioide.

APÉNDICE 1. Continuación

Núm.	Péptido ¹	Núm.	Péptido ¹
121	PYVP ^{1, 2, 13, 29, 31}	141	EPPF ^{1, 2, 3, 8}
122	ImVP ^{1, 2}	142	VRLVLLHA ^{1, 2, 4, 5, 9, 11}
123	LFPV ^{1, 2}	143	TAGGGGGTFFGS ^{1, 2, 3, 12}
124	VDQN ²	144	DHSLVQDFLATI ^{1, 2, 3, 5, 7, 14}
125	FDDMN ^{1, 2, 7}	145	HPFVAQPQPQL ^{1, 2, 3, 9, 10}
126	VLPF ^{1, 2, 5, 9, 29}	146	INILPEIMVFLG ^{1, 2, 3, 4, 5, 8, 9, 10, 13, 22}
127	IVPF ^{1, 2, 3, 5, 9}	147	PKPEEPEVLGTY ^{1, 2, 3, 4, 5, 7}
128	MMPm ^{1, 2, 4}	148	MITAYVQHGHS ^{1, 2, 4, 12, 17}
129	FDDE ⁷	149	AmESGADEVAFES ^{1, 2, 7, 8, 10}
130	MMDE ^{1, 2, 4, 7}	150	QVLLPQQLPLLP ^{1, 2, 4, 5, 9, 11, 12}
131	AIPE ^{1, 2, 3, 8}	151	ARRAPEPRRLH ^{1, 2, 3, 10, 13, 18, 19, 26, 27}
132	SPII ^{2, 5}	152	LIKGPAVQVTYIG ^{1, 2, 3, 4, 5, 14, 15, 16}
133	FVPL ^{1, 2, 5, 9}	153	LLVPEK _m LDIAT ^{1, 2, 3, 5, 6, 8, 9, 11}
134	KSKL ^{1, 2}	154	LLVPEKNARYR ^{1, 2, 3, 4, 5, 8, 9, 11, 13}
135	VPFL ^{1, 2, 3}	155	VRTLLPLFSSLL ^{1, 2, 4, 9, 5, 14}
136	NVSHDScY ²	156	LLHADKKARPP ^{1, 3, 2, 5, 13, 4, 8}
137	KSLQ ^{1, 2, 5}	157	LELPVQPVHTLI ^{1, 2, 4, 5, 6, 9}
138	TINK ^{1, 2}	158	AmAYQVQPHVQA ^{1, 2, 4, 17}
139	EPMI ^{1, 2}	159	LPSRPQVSSQME ^{1, 2, 9, 13, 22}
140	DNQL ²	160	LDILPEPHNVIV ^{1, 2, 4, 5, 8, 9, 10, 13}

¹Péptidos secuenciados por UPLC-ESI-MS/MS. Las posibles actividades se obtuvieron de la base de datos BIOPEP (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>) y se le atribuye al péptido completo o a algún fragmento de él. Los aminoácidos se presentan en nomenclatura de una letra. Donde los superíndices indican las actividades biológicas: ¹ inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, ² inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, ³ inhibidor de la dipeptidil peptidasa III, ⁴ antioxidante, ⁵ estimulante de la captación de glucosa, ⁶ hipouricémico, ⁷ inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa, ⁸ inhibidor de α -glucosidasa, ⁹ inhibidor de lactocepina, ¹⁰ inhibidor de la enzima tripeptidil peptidasa II, ¹¹ inhibidor de la citosol alanil aminopeptidasa, ¹² inhibidor de renina, ¹³ neuropéptido, ¹⁴ regulador de la membrana mucosa del estómago, ¹⁵ antiamnésico, ¹⁶ antitrombótico, ¹⁷ inhibidor de la ligasa tubulina-tirosina, ¹⁸ inhibidor de leucociltransferasa, ¹⁹ antibacterial, ²⁰ hipotensivo, ²¹ anticáncer, ²² inhibidor de neurolisina, ²³ estimulante de sustancias vasoactivas, ²⁴ inmunoestimulante, ²⁵ tóxico, ²⁶ antiviral, ²⁷ hemolítico, ²⁸ inhibidor de PAM, ²⁹ antiinflamatorio, ³⁰ inhibidor de calpaína, ³¹ inhibidor de fosfatasa alcalina, ³² hipolipidémico, ³³ inhibidor de α -amilasa, ³⁴ opioide, ³⁵ péptido sintético, ³⁶ regulador de la fosfoglicerato cinasa, ³⁷ inhibidor de lipasa pancreática, ³⁸ inmunomodulador, ³⁹ inhibidor de alanina carboxipeptidasa, ⁴⁰ inhibidor de fosfolipasa A2, ⁴¹ inhibidor de la secreción de insulina, ⁴² antagonista de opioide.

APÉNDICE 1. Continuación

Núm.	Péptido ¹
161	IIIQIPEYKNK ^{1, 2, 5, 8, 10, 17, 21, 25}
162	AGQGTYTKTRLY ^{1, 2, 4, 12, 13}
163	PKEPEPEPEPIP ^{1, 2, 3, 8}
164	QRHEKKYDPSA ^{1, 2, 4, 7}
165	VTPRPGALMVNmG ^{1, 2, 14, 15, 16}
166	APGSPPATAGGGGGTFFG ^{1, 2, 3, 8, 10, 12, 14, 15, 22}
167	AEDHVKTSADGQT ^{1, 2, 7, 8, 13}
168	EmLTGMKPIEHG ^{1, 2, 4, 6, 7}
169	DHEAVKTIWYIP ^{1, 2, 4, 7, 8}
170	NIIIVQQKGFQA ^{1, 2, 3, 5, 10}
171	LVQIVQVLENFG ^{1, 2, 5, 22}
172	ELPLVQAGLGKAY ^{1, 2, 4, 5, 9, 12, 17}
173	PIKKIVQEmTR ^{1, 2, 4, 5}
174	VITL ^{2, 6}
175	IVTL ^{2, 5, 6}
176	LIAH ^{1, 2, 4, 5}
177	LGGTK ^{1, 2, 9}

¹Péptidos secuenciados por UPLC-ESI-MS/MS. Las posibles actividades se obtuvieron de la base de datos BIOPEP (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>) y se le atribuye al péptido completo o a algún fragmento de él. Los aminoácidos se presentan en nomenclatura de una letra. Donde los superíndices indican las actividades biológicas: ¹ inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, ² inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, ³ inhibidor de la dipeptidil peptidasa III, ⁴ antioxidante, ⁵ estimulante de la captación de glucosa, ⁶ hipouricémico, ⁷ inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa, ⁸ inhibidor de α -glucosidasa, ⁹ inhibidor de lactocepina, ¹⁰ inhibidor de la enzima tripeptidil peptidasa II, ¹¹ inhibidor de la citosol alanil aminopeptidasa, ¹² inhibidor de renina, ¹³ neuropéptido, ¹⁴ regulador de la membrana mucosa del estómago, ¹⁵ antiamnésico, ¹⁶ antitrombótico, ¹⁷ inhibidor de la ligasa tubulina-tirosina, ¹⁸ inhibidor de leucociltransferasa, ¹⁹ antibacterial, ²⁰ hipotensivo, ²¹ anticáncer, ²² inhibidor de neurolisina, ²³ estimulante de sustancias vasoactivas, ²⁴ inmunoestimulante, ²⁵ tóxico, ²⁶ antiviral, ²⁷ hemolítico, ²⁸ inhibidor de PAM, ²⁹ antiinflamatorio, ³⁰ inhibidor de calpaína, ³¹ inhibidor de fosfatasa alcalina, ³² hipolipidémico, ³³ inhibidor de α -amilasa, ³⁴ opioide, ³⁵ péptido sintético, ³⁶ regulador de la fosfoglicerato cinasa, ³⁷ inhibidor de lipasa pancreática, ³⁸ inmunomodulador, ³⁹ inhibidor de alanina carboxipeptidasa, ⁴⁰ inhibidor de fosfolipasa A2, ⁴¹ inhibidor de la secreción de insulina, ⁴² antagonista de opioide.

B. APÉNDICE 2. Perfil de péptidos del hidrolizado con pepsina-pancreatina del maíz ACA

Núm.	Péptido ¹	Núm.	Péptido ¹
1	YVGG ^{1,2}	21	PSSI ²
2	FND ²	22	EEGGA ^{1,2,7,11,23}
3	NmPN ²	23	MALK ^{2,4}
4	DGSVN ^{1,2}	24	GTSI ^{1,2}
5	NMIN ²	25	ISSA-
6	EAT ^{1,2,8}	26	ISAS ²
7	IDE ⁷	27	GAVS ^{1,2}
8	DNGA ^{1,2}	28	AGVS ^{1,2}
9	SYmH ^{1,2}	29	KEG ^{1,2}
10	NNTE ^{1,2}	30	LPHAGPVALVVHV ^{1,2,4,5,9,10,15,16}
11	NGGTE ^{1,2}	31	EAVKKGKI ^{1,2,8}
12	GGKE ^{1,2,33}	32	EAVQRKAA ^{1,2,3,4,8,10,11,19,20}
13	LAKGG ^{1,2,3}	33	EAVKLTVL ^{1,2,4,5,6,8}
14	NSNT ²	34	EAVGALILS ^{1,2,5,8,13}
15	LAGGQ ^{1,2,3,13}	35	EAVKALEL ^{1,2,3,4}
16	AIIS ^{1,2,5}	36	EAVKVVDL ^{1,2,4,8}
17	IALS ^{1,2}	37	EAVKAKVK ^{1,2,3,8}
18	SPFS ^{1,2,3}	38	LSVPPGFR ^{1,2,3,8,10,14,15,16,28,29}
19	PSYA ^{1,2,4,12,17}	39	TVVPLRTS ^{1,2,3,6,8,9,15,16,23}
20	PSLS ^{2,36}	40	VVAAPPPSALmSGKNP ^{1,2,8,10,11,19,20}

¹Péptidos secuenciados por UPLC-ESI-MS/MS. Las posibles actividades se obtuvieron de la base de datos BIOPEP (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>) y se le atribuye al péptido completo o a algún fragmento de él. Los aminoácidos se presentan en nomenclatura de una letra. Donde los superíndices indican las actividades biológicas: ¹ inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, ² inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, ³ inhibidor de la dipeptidil peptidasa III, ⁴ antioxidante, ⁵ estimulante de la captación de glucosa, ⁶ hipouricémico, ⁷ inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa, ⁸ inhibidor de α -glucosidasa, ⁹ inhibidor de lactocepinaa, ¹⁰ inhibidor de la enzima tripeptidil peptidasa II, ¹¹ inhibidor de la citosol alanil aminopeptidasa, ¹² inhibidor de renina, ¹³ neuropéptido, ¹⁴ regulador de la membrana mucosa del estómago, ¹⁵ antiamnésico, ¹⁶ antitrombótico, ¹⁷ inhibidor de la ligasa tubulina-tirosina, ¹⁸ inhibidor de leucociltransferasa, ¹⁹ antibacterial, ²⁰ hipotensivo, ²¹ anticáncer, ²² inhibidor de neurolisina, ²³ estimulante de sustancias vasoactivas, ²⁴ inmunoestimulante, ²⁵ tóxico, ²⁶ antiviral, ²⁷ hemolítico, ²⁸ inhibidor de PAM, ²⁹ antiinflamatorio, ³⁰ inhibidor de calpaína, ³¹ inhibidor de fosfatasa alcalina, ³² hipolipidémico, ³³ inhibidor de α -amilasa, ³⁴ opioide, ³⁵ péptido sintético, ³⁶ regulador de la fosfoglicerato cinasa, ³⁷ inhibidor de lipasa pancreática, ³⁸ inmunomodulador, ³⁹ inhibidor de alanina carboxipeptidasa, ⁴⁰ inhibidor de fosfolipasa A2, ⁴¹ inhibidor de la secreción de insulina, ⁴² antagonista de opioide.

APÉNDICE 2. Continuación...

Núm.	Péptido ¹	Núm.	Péptido ¹
41	TLGAAV ^{1, 2, 4, 6, 10, 11, 19, 20}	61	AKASMGQDL ^{1, 3, 2, 13}
42	EGI ^{1, 2}	62	TNcH ²
43	MPA ²	63	PRLPAPSRTGSRKE ^{1, 3, 2, 10, 8, 9}
44	SQAHC ^{1, 2, 4}	64	AIRMYQLMVSAGVL ^{1, 2, 5, 4, 12}
45	DRPA ^{1, 2, 13, 22}	65	LRDDGSTDR ^{1, 3, 2, 8, 7, 6}
46	RDPA ²	66	ISSALPcSSL ^{1, 2, 36, 9}
47	EGDK ^{1, 2}	67	VAVDSmGQVI ^{1, 2, 10, 13}
48	AcEL ⁴	68	LRDSGISTW ^{1, 3, 2, 4, 12}
49	SVISS ⁴	69	LSSPSLDGKM ^{1, 2, 36}
50	ASTTL ^{1, 2, 6}	70	ISAISSSAADI ^{1, 2, 10, 19, 23, 20, 8, 11}
51	EASPSAPPLTEMAGP ^{1, 2, 4, 8, 9, 14, 15, 16}	71	LGTLSGmRAL ^{1, 2, 6}
52	VPFSNSSSDPLPAmS ^{1, 2, 3, 9, 23}	72	ISSALcVDAV ^{1, 3, 2, 7}
53	AEALSAVSSSSSGAGSSP ^{1, 2, 7, 8, 23}	73	ISASLSWDR ^{1, 2, 36, 4, 29, 37}
54	PLDSSMSPSFSGRPS ^{1, 2, 3, 9, 12, 13, 22}	74	LSALFYAHL ^{1, 3, 2, 33, 4, 20, 12, 17}
55	LSASLAPFASAAAPYD ^{1, 2, 3, 10, 11, 13, 19, 20, 29, 36, 40}	75	LSFADPRRREAPH ^{1, 3, 2, 10, 19, 27, 26, 8, 12, 18}
56	TVSAmGSDHDQTSEA ^{1, 2, 8, 23}	76	VPV ^{1, 2}
57	GGGGGVScQDcGNQAK ^{1, 2}	77	AKASLmFH ^{1, 3, 2, 36, 6}
58	NSScDSDHL ^{1, 2, 3, 4}	78	SLSAcMVH ^{1, 2, 36}
59	NSTVcSDHD ^{1, 2}	79	AKASWRDS ^{1, 3, 2, 37}
60	SLSPSVPPP GSNGSVVA ^{1, 2, 8, 14, 15, 16, 28, 29, 36}	80	SLSPSVPPP GSNGSVVA ^{1, 2, 15, 16, 14, 36, 29, 8, 28}

¹Péptidos secuenciados por UPLC-ESI-MS/MS. Las posibles actividades se obtuvieron de la base de datos BIOPEP (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>) y se le atribuye al péptido completo o a algún fragmento de él. Los aminoácidos se presentan en nomenclatura de una letra. Donde los superíndices indican las actividades biológicas: ¹ inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, ² inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, ³ inhibidor de la dipeptidil peptidasa III, ⁴ antioxidante, ⁵ estimulante de la captación de glucosa, ⁶ hipouricémico, ⁷ inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa, ⁸ inhibidor de α -glucosidasa, ⁹ inhibidor de lactocepinaa, ¹⁰ inhibidor de la enzima tripeptidil peptidasa II, ¹¹ inhibidor de la citosol alanil aminopeptidasa, ¹² inhibidor de renina, ¹³ neuropéptido, ¹⁴ regulador de la membrana mucosa del estómago, ¹⁵ antiamnésico, ¹⁶ antitrombótico, ¹⁷ inhibidor de la ligasa tubulina-tirosina, ¹⁸ inhibidor de leucociltransferasa, ¹⁹ antibacterial, ²⁰ hipotensivo, ²¹ anticáncer, ²² inhibidor de neurolisina, ²³ estimulante de sustancias vasoactivas, ²⁴ inmunoestimulante, ²⁵ tóxico, ²⁶ antiviral, ²⁷ hemolítico, ²⁸ inhibidor de PAM, ²⁹ antiinflamatorio, ³⁰ inhibidor de calpaína, ³¹ inhibidor de fosfatasa alcalina, ³² hipolipidémico, ³³ inhibidor de α -amilasa, ³⁴ opioide, ³⁵ péptido sintético, ³⁶ regulador de la fosfoglicerato cinasa, ³⁷ inhibidor de lipasa pancreática, ³⁸ inmunomodulador, ³⁹ inhibidor de alanina carboxipeptidasa, ⁴⁰ inhibidor de fosfolipasa A2, ⁴¹ inhibidor de la secreción de insulina, ⁴² antagonista de opioide.

APÉNDICE 2. Continuación...

Núm.	Péptido ¹	Núm.	Péptido ¹
81	AESFELPGA ^{1, 2, 7, 9, 12, 14, 15, 16, 28}	101	RDEFLRLLmDG ^{1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 32}
82	RNSFTAPQ ^{1, 2, 10, 12}	102	RVGRAHAAARVcG ^{1, 2, 10, 19, 20, 11}
83	LSSAKDYH ^{1, 2, 3, 4, 6}	103	RPDGHPSRESdq ^{1, 2, 3, 13, 22}
84	ISSAVFcH ^{1, 2, 10, 12, 22, 30}	104	DTKMSNGDVTANK ^{1, 2}
85	PQPQPLPQPQPGP ^{1, 2, 9, 14, 15, 16, 28, 41}	105	NGVYEPcSDARI ^{1, 2, 3, 7, 10}
86	RPAGPGGQQQQcP ^{1, 2, 14, 15, 16, 22, 28}	106	LAAmEQSRmLAQ ^{1, 2, 3, 10, 11, 19, 20}
87	RPSPPPLPPTPPQ ^{1, 2, 6, 8, 9, 13, 15, 22}	107	DDEDGLGEVPGmM ^{1, 2, 3, 7, 14, 15, 16, 28}
88	PRQPQISSSSFF ^{1, 2, 3, 12, 23}	108	DHAGAIHNSDEQS ^{1, 2, 3, 7}
89	NEPHTSHVLIHP ^{1, 2, 3, 4, 5}	109	SASVSNAMTTSTH ^{1, 2, 6}
90	RSVGSSAGFGWRN ^{1, 2, 3, 4, 10, 22}	110	GGRKFSScTFHP ^{1, 2, 3, 6, 12}
91	NSFQLARLYLR ^{1, 2, 3, 4, 6, 12, 13}	111	TVSAmGSDH ^{1, 2}
92	LSAPYERASHIH ^{1, 2, 3, 4, 7, 10, 13, 17, 29, 40}	112	AEGScGSPR ^{1, 2, 3, 7}
93	DGDLSELLFSPT ^{1, 2, 4, 5, 6, 9, 11, 23}	113	AEAYGcLH ^{1, 2, 3, 4, 7, 8, 17, 24}
94	EAmQSASKGVQT ^{1, 2, 8}	114	AAGASADDGDA ^{1, 2, 3, 7, 8, 10, 11, 19, 20}
95	GTILFEGTHLGVH ^{1, 2, 3, 4, 5, 7, 13}	115	AEASASGAPc ^{1, 2, 7, 8, 10}
96	LLDYGSVAAAIAGc ^{1, 2, 3, 4, 5, 9, 10, 11, 17, 19, 20, 24}	116	ESSSVVSGDDDDGVVVQF ^{1, 2, 7, 12, 21, 23}
97	DGPRIIHSYSHV ^{1, 2, 3, 5, 14, 16}	117	AEASHmAMG ^{1, 2, 7, 8}
98	cGKESAAILFWV ^{1, 2, 5, 6, 10, 11, 13, 19, 20, 22}	118	LSASHHLR ^{1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 20}
99	RPPTINWGKGRV ^{1, 2, 3, 4, 8, 12, 13, 22}	119	RGGSTSSIR ^{1, 2, 4, 12, 18}
100	NDLVHGWGLDWNFWR ^{1, 2, 4, 5, 6, 10, 12, 22}	120	PGLGAGLLAVMLLGV ^{1, 2, 3, 9, 11, 14, 15, 16, 28}

¹Péptidos secuenciados por UPLC-ESI-MS/MS. Las posibles actividades se obtuvieron de la base de datos BIOPEP (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>) y se le atribuye al péptido completo o a algún fragmento de él. Los aminoácidos se presentan en nomenclatura de una letra. Donde los superíndices indican las actividades biológicas: ¹ inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, ² inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, ³ inhibidor de la dipeptidil peptidasa III, ⁴ antioxidante, ⁵ estimulante de la captación de glucosa, ⁶ hipouricémico, ⁷ inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa, ⁸ inhibidor de α -glucosidasa, ⁹ inhibidor de lactocepina, ¹⁰ inhibidor de la enzima tripeptidil peptidasa II, ¹¹ inhibidor de la citosol alanil aminopeptidasa, ¹² inhibidor de renina, ¹³ neuropéptido, ¹⁴ regulador de la membrana mucosa del estómago, ¹⁵ antiamnésico, ¹⁶ antitrombótico, ¹⁷ inhibidor de la ligasa tubulina-tirosina, ¹⁸ inhibidor de leucociltransferasa, ¹⁹ antibacterial, ²⁰ hipotensivo, ²¹ anticáncer, ²² inhibidor de neurolisina, ²³ estimulante de sustancias vasoactivas, ²⁴ inmunoestimulante, ²⁵ tóxico, ²⁶ antiviral, ²⁷ hemolítico, ²⁸ inhibidor de PAM, ²⁹ antiinflamatorio, ³⁰ inhibidor de calpaína, ³¹ inhibidor de fosfatasa alcalina, ³² hipolipidémico, ³³ inhibidor de α -amilasa, ³⁴ opioide, ³⁵ péptido sintético, ³⁶ regulador de la fosfoglicerato cinasa, ³⁷ inhibidor de lipasa pancreática, ³⁸ inmunomodulador, ³⁹ inhibidor de alanina carboxipeptidasa, ⁴⁰ inhibidor de fosfolipasa A2, ⁴¹ inhibidor de la secreción de insulina, ⁴² antagonista de opioide.

APÉNDICE 2. Continuación...

Núm.	Péptido ¹	Núm.	Péptido ¹
121	DHPKATATASRIL ^{1, 2, 3, 5, 13}	141	GEPAAA ^{1, 2, 3, 7, 10, 11, 19, 20}
122	RPSLIRITDRGP ^{1, 2, 4, 5, 12, 13, 15, 16, 18, 22, 36}	142	SVVV ^{2, 21}
123	PLGALPLRYARGP ^{1, 2, 3, 4, 8, 9, 12, 14, 15, 16, 18, 34}	143	EKRGALIVRRRLcVLL ^{1, 2, 3, 5, 11, 13, 18, 19, 26, 27}
124	RGGYGAARI ^{1, 2, 3, 4, 11, 17, 18, 19, 20, 24}	144	NGGGV ^{1, 2}
125	RLRHMAH ^{1, 2, 3, 4, 6, 8, 12}	145	MGPV ^{1, 2, 14, 15, 16}
126	LDDVIELIGDVAAGSVPL ^{1, 2, 4, 5, 7, 9, 10, 11, 15, 19, 20, 23}	146	LARSLGPTLQSAVRR ^{1, 2, 3, 6, 15, 16, 19, 18, 26, 27}
127	LSHLKADH ^{1, 2, 3, 4, 8}	147	GLDV ^{1, 2}
128	NSRTSSIR ^{1, 2, 4, 12}	148	AVDV ^{1, 2}
129	LSSQmLLL ^{2, 5, 9, 11, 23}	149	LGDV ¹
130	LSSQFLLL ^{2, 5, 9, 11, 12, 23}	150	SSDEGS ^{1, 2, 7}
131	KAASPRGPH ^{1, 2, 3, 10, 11, 15, 16, 18, 19, 20}	151	DGVDV ^{1, 2}
132	DRSSKmEMPmH ^{1, 2}	152	VQIDSS ²
133	SAAATGGA ^{1, 2, 10, 11, 19, 20}	153	ALV ^{2, 5}
134	LIPLKTAP ^{1, 2, 4, 5, 9, 10}	154	IVE ^{1, 2}
135	QDmT ²	155	PSV ²
136	EGGmT ^{1, 2}	156	LRDDILAILR ^{1, 2, 3, 5, 6, 7, 12, 13}
137	SRmT-	157	SLLAMLPIAGLV ^{1, 2, 3, 5, 9, 11, 36}
138	WGmT ^{1, 2, 4, 12}	158	IGDV ¹
139	SEDDNV ^{2, 7, 23}	159	LRDEVLIGLIG ^{1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 12}
140	ADYF ^{1, 2, 3, 4, 7, 8, 14, 20, 33}	160	LRDSAVMHLR ^{1, 2, 3, 4, 6, 12, 13}

¹Péptidos secuenciados por UPLC-ESI-MS/MS. Las posibles actividades se obtuvieron de la base de datos BIOPEP (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>) y se le atribuye al péptido completo o a algún fragmento de él. Los aminoácidos se presentan en nomenclatura de una letra. Donde los superíndices indican las actividades biológicas: ¹ inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, ² inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, ³ inhibidor de la dipeptidil peptidasa III, ⁴ antioxidante, ⁵ estimulante de la captación de glucosa, ⁶ hipouricémico, ⁷ inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa, ⁸ inhibidor de α -glucosidasa, ⁹ inhibidor de lactocepina, ¹⁰ inhibidor de la enzima tripeptidil peptidasa II, ¹¹ inhibidor de la citosol alanil aminopeptidasa, ¹² inhibidor de renina, ¹³ neuropéptido, ¹⁴ regulador de la membrana mucosa del estómago, ¹⁵ antiamnésico, ¹⁶ antitrombótico, ¹⁷ inhibidor de la ligasa tubulina-tirosina, ¹⁸ inhibidor de leucociltransferasa, ¹⁹ antibacterial, ²⁰ hipotensivo, ²¹ anticáncer, ²² inhibidor de neurolisina, ²³ estimulante de sustancias vasoactivas, ²⁴ inmunoestimulante, ²⁵ tóxico, ²⁶ antiviral, ²⁷ hemolítico, ²⁸ inhibidor de PAM, ²⁹ antiinflamatorio, ³⁰ inhibidor de calpaína, ³¹ inhibidor de fosfatasa alcalina, ³² hipolipidémico, ³³ inhibidor de α -amilasa, ³⁴ opioide, ³⁵ péptido sintético, ³⁶ regulador de la fosfoglicerato cinasa, ³⁷ inhibidor de lipasa pancreática, ³⁸ inmunomodulador, ³⁹ inhibidor de alanina carboxipeptidasa, ⁴⁰ inhibidor de fosfolipasa A2, ⁴¹ inhibidor de la secreción de insulina, ⁴² antagonista de opioide.

APÉNDICE 2. Continuación...

Núm.	Péptido ¹	Núm.	Péptido ¹
161	GGRSGGGKRPLVG ^{1, 2, 5, 9, 13, 22, 38, 5}	181	TAPRWLALPmLALGV ^{1, 2, 3, 4, 9}
162	RLDDKHLSTI ^{1, 2, 3, 4, 7}	182	TTGSRGRLAHREQR ^{1, 2, 3, 4, 6, 8, 18}
163	LRDSLADVPVL ^{1, 2, 3, 5, 6, 8, 12, 36}	183	QAPTG ^{1, 2, 6, 10}
164	PTADLDLRALL ^{1, 2, 3, 5, 6, 9, 11, 12}	184	NRIWHIQGTcALR ^{1, 2, 3, 6, 8, 12}
165	LSSALLSAVSHI ^{1, 2, 5, 9, 11}	185	PLNVAPVQESGGLSTR ^{1, 2, 9, 10}
166	IRAASQVLGAVL ^{1, 2, 4, 5, 10, 12, 19, 20}	186	RLSIAWTRAQGLPR ^{1, 2, 3, 4, 9}
167	RLLGTNALARL ^{1, 2, 3, 4, 9, 11}	187	IGGID ^{1, 2}
168	NENFKIR ^{1, 2, 4, 6, 12}	188	VSVV ²
169	SAILSNTKmAFISNIAV ^{1, 2, 5, 10, 13}	189	mHGL ^{1, 2}
170	NGTAEIKNEAIIISLPII ^{1, 2, 5, 7, 8, 9, 36}	190	VKGLG ^{1, 2}
171	LlclIISPRL ^{1, 2, 3, 5}	191	IGV ^{1, 2}
172	KFAAG ^{1, 2, 3, 10, 11, 12, 19, 20}	192	AEmD ^{2, 7}
173	QAALDEPAIR ^{1, 2, 4, 7, 10, 11, 12, 19, 20}	193	VTmD ²
174	AGAAARRAALR ^{1, 2, 3, 4, 6, 10, 11, 12, 13, 18, 20, 26, 27}	194	KPSRSPRLLGMADDDEQ ^{1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 11}
175	RNYPPPALR ^{1, 2, 3, 6, 8, 12}	195	SIVY ^{1, 2, 3, 4, 5, 10}
176	ATPSPASALLR ^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 11, 12}	196	AEMM ^{1, 2, 4, 7}
177	ANSRIYRGIYKQR ^{1, 2, 3, 4, 13, 18, 20, 21, 42}	197	SlmD ²
178	PATPASNSLAAAAAANAR ^{1, 2, 3, 6, 10, 11, 20, 36}	198	VGKGAVVAAGAIVISDVEPY ^{1, 2, 5, 8, 10, 11, 19, 20, 29, 40}
179	RYKGRGISNFSSPR ^{1, 2, 3, 4, 18, 21, 25}	199	RKIGGEHGSQQQLQPQDH ^{1, 2, 3, 4, 7}
180	PHIVRLLAFcDQR ^{1, 2, 3, 4, 5, 9, 10, 11}	200	ARGGGVGGDDDDDA ^{1, 2, 3, 7, 18}

¹Péptidos secuenciados por UPLC-ESI-MS/MS. Las posibles actividades se obtuvieron de la base de datos BIOPEP (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>) y se le atribuye al péptido completo o a algún fragmento de él. Los aminoácidos se presentan en nomenclatura de una letra. Donde los superíndices indican las actividades biológicas: ¹ inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, ² inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, ³ inhibidor de la dipeptidil peptidasa III, ⁴ antioxidante, ⁵ estimulante de la captación de glucosa, ⁶ hipouricémico, ⁷ inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa, ⁸ inhibidor de α -glucosidasa, ⁹ inhibidor de lactocepina, ¹⁰ inhibidor de la enzima tripeptidil peptidasa II, ¹¹ inhibidor de la citosol alanil aminopeptidasa, ¹² inhibidor de renina, ¹³ neuropéptido, ¹⁴ regulador de la membrana mucosa del estómago, ¹⁵ antiamnésico, ¹⁶ antitrombótico, ¹⁷ inhibidor de la ligasa tubulina-tirosina, ¹⁸ inhibidor de leucociltransferasa, ¹⁹ antibacterial, ²⁰ hipotensivo, ²¹ anticáncer, ²² inhibidor de neurolisina, ²³ estimulante de sustancias vasoactivas, ²⁴ inmunoestimulante, ²⁵ tóxico, ²⁶ antiviral, ²⁷ hemolítico, ²⁸ inhibidor de PAM, ²⁹ antiinflamatorio, ³⁰ inhibidor de calpaína, ³¹ inhibidor de fosfatasa alcalina, ³² hipolipidémico, ³³ inhibidor de α -amilasa, ³⁴ opioide, ³⁵ péptido sintético, ³⁶ regulador de la fosfoglicerato cinasa, ³⁷ inhibidor de lipasa pancreática, ³⁸ inmunomodulador, ³⁹ inhibidor de alanina carboxipeptidasa, ⁴⁰ inhibidor de fosfolipasa A2, ⁴¹ inhibidor de la secreción de insulina, ⁴² antagonista de opioide.

APÉNDICE 2. Continuación...

Núm.	Péptido ¹	Núm.	Péptido ¹
201	RQIGLLAAVGRSHVLARP ^{1, 2, 3, 5, 9, 10, 11, 13, 19, 20, 22}	221	ELGSAFANFGSEVTAOAA ^{1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 22, 23}
202	REAHGGSKVWEGDPHGVP ^{1, 4, 6, 8, 33}	222	KSmLEQLGHGIDIVNNG ^{1, 2, 5}
203	PESLMFcGGGGTLLGTTc ^{1, 2, 3, 5, 6, 8, 9, 11, 36}	223	FGGGAGAGTSSSGGGSSAGG GAGLG ^{1, 2, 11, 22, 23, 31}
204	MNLAAFSSTLATLPWYE ^{1, 2, 3, 4, 6, 7, 9, 10, 11, 17, 19, 20}	224	VAAGVIPGQLPGV ^{1, 2, 9, 10, 11, 13, 15, 16, 19, 20, 28}
205	GNFVG ^{1, 2}	225	EKFAVGTNGmLNEMRQ ^{1, 2, 3, 6, 12}
206	EVFV ^{1, 2, 10, 22, 30}	226	LMSSEPHGRLQPcMPT ^{1, 2, 4, 6, 23}
207	ELASMWVLSFVV ^{1, 2, 3, 4, 5, 12}	227	AESAHFMQ ^{1, 2, 3, 4, 7}
208	DVL ^{1, 2}	228	VIDP ²
209	LTI ^{2, 4, 6}	229	PDLV ^{1, 2, 5}
210	VGGN ^{1, 2}	230	VLIV ^{2, 5}
211	MVP ^{1, 2}	231	PSmAES ^{2, 7}
212	MGPPS ^{1, 2, 4, 8, 14, 15, 16}	232	LKPVA ^{1, 2, 4, 9, 10}
213	HIGDTVISNGNT ^{1, 2}	233	KLPVA ^{1, 2, 4, 9, 10}
214	TEFQVAFDGLT ^{1, 2, 4, 6, 10, 12, 32}	234	VPKIA ^{1, 2}
215	cGLAHHSSSGNT ^{1, 2, 3, 4, 23}	235	PAGDPA ^{1, 2}
216	TYPMLFSPGNT ^{1, 2, 4, 8, 15, 16, 28}	236	ITPKLDV ^{1, 2, 6}
217	VGGGGHGVAmDGVV ^{1, 2, 3}	237	VVLLQDV ^{1, 2, 5, 9, 11}
218	EWSSEIDMDAMDILEG ^{1, 2, 3, 5, 7, 8, 13, 23}	238	TLPATLAV ^{1, 2, 3, 6, 9}
219	KDAVMSTLGMGGDDKQGD ^{1, 2, 3, 4, 6, 7}	239	AKEGALVLYTL ^{1, 2, 4, 5, 6, 12}
220	QWGIYDAFKVmVGLPT ^{1, 2, 3, 4, 6, 7, 9, 10}	240	ESEEASVNSQPQAPLVR ^{1, 2, 5, 7, 8, 9}

¹Péptidos secuenciados por UPLC-ESI-MS/MS. Las posibles actividades se obtuvieron de la base de datos BIOPEP (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>) y se le atribuye al péptido completo o a algún fragmento de él. Los aminoácidos se presentan en nomenclatura de una letra. Donde los superíndices indican las actividades biológicas: ¹ inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, ² inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, ³ inhibidor de la dipeptidil peptidasa III, ⁴ antioxidante, ⁵ estimulante de la captación de glucosa, ⁶ hipouricémico, ⁷ inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa, ⁸ inhibidor de α -glucosidasa, ⁹ inhibidor de lactocepina, ¹⁰ inhibidor de la enzima tripeptidil peptidasa II, ¹¹ inhibidor de la citosol alanil amino peptidasa, ¹² inhibidor de renina, ¹³ neuropéptido, ¹⁴ regulador de la membrana mucosa del estómago, ¹⁵ antiamnésico, ¹⁶ antitrombótico, ¹⁷ inhibidor de la ligasa tubulina-tirosina, ¹⁸ inhibidor de leucociltransferasa, ¹⁹ antibacterial, ²⁰ hipotensivo, ²¹ anticáncer, ²² inhibidor de neurolisina, ²³ estimulante de sustancias vasoactivas, ²⁴ inmunoestimulante, ²⁵ tóxico, ²⁶ antiviral, ²⁷ hemolítico, ²⁸ inhibidor de PAM, ²⁹ antiinflamatorio, ³⁰ inhibidor de calpaína, ³¹ inhibidor de fosfatasa alcalina, ³² hipolipidémico, ³³ inhibidor de α -amilasa, ³⁴ opioide, ³⁵ péptido sintético, ³⁶ regulador de la fosfoglicerato cinasa, ³⁷ inhibidor de lipasa pancreática, ³⁸ inmunomodulador, ³⁹ inhibidor de alanina carboxipeptidasa, ⁴⁰ inhibidor de fosfolipasa A2, ⁴¹ inhibidor de la secreción de insulina, ⁴² antagonista de opioide.

APÉNDICE 2. Continuación...

Núm.	Péptido ¹	Núm.	Péptido ¹
241	RLQRLHAAGGV ^{1, 2, 4, 10, 11, 19, 20}	261	AMNRGGRAALcGAI ^{1, 2, 10, 12, 18, 19}
242	VATEAVTTGDGEN ^{1, 2, 3, 6, 7, 8, 10}	262	RScSDHRRSASV ^{1, 2, 3, 13, 18, 26, 27}
243	ADPSAETAEEML ^{2, 7, 8, 23}	263	SGPPV ^{1, 2, 4, 8, 15, 16}
244	VATVLPSR ^{1, 2, 5, 9, 10}	264	GFTLG ^{1, 2, 3, 6, 10, 12}
245	AVATEVPGV ^{1, 2, 14, 15, 16, 28}	265	LGAPV ^{1, 2, 10}
246	AVSLSLRP ^{1, 2, 3, 8, 12, 13, 14, 22}	266	VAAPV ^{1, 2, 10, 11, 19, 20}
247	GLISTVPR ^{1, 2, 3, 5}	267	KLVP ^{1, 2, 5}
248	IGSLLSPGV ^{1, 2, 5, 9, 11, 14, 15, 16, 28}	268	VFTAG ^{1, 2, 10, 12, 22, 30}
249	GLTVKVEP ^{1, 2, 4, 6, 8}	269	NNSc ²
250	AVVTAERP ^{1, 2, 7, 13, 22}	270	DVGLG ^{1, 2}
251	AVTVQPLD ^{1, 2, 9}	271	AAGAGGG ^{1, 2, 10, 11, 19, 20}
252	GILTSVRP ^{1, 2, 4, 5, 6, 13, 22}	272	DmNL ²
253	VAVHNATEVARP ^{1, 2, 10, 13, 22}	273	MMRA ^{1, 2, 3, 4}
254	VTAADITAWcR ^{1, 2, 4, 10, 11, 19, 20}	274	MPGMHA ^{1, 2, 13, 14, 15, 16, 28}
255	GLIG ^{1, 2, 5}	275	MPNF ^{1, 2}
256	AVIG ^{1, 2}	276	LDGGF ^{1, 2, 3, 10, 11}
257	mLASNPLAL ^{1, 2, 3, 9}	277	DGLLG ^{1, 2, 9, 11}
258	EAGPGFALAI ^{1, 2, 3, 8, 10, 15, 16, 28}	278	EAI ^{1, 8}
259	AGTAGGGRDAAAMQAL ^{1, 3, 7, 10, 11, 19, 20}	279	SLI ^{2, 5, 36}
260	STGSSIAALPGTNGQG ^{1, 2, 9, 10, 13, 14, 15, 16, 19, 20, 28}	280	IAL ^{1, 2}

¹Péptidos secuenciados por UPLC-ESI-MS/MS. Las posibles actividades se obtuvieron de la base de datos BIOPEP (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>) y se le atribuye al péptido completo o a algún fragmento de él. Los aminoácidos se presentan en nomenclatura de una letra. Donde los superíndices indican las actividades biológicas: ¹ inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, ² inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, ³ inhibidor de la dipeptidil peptidasa III, ⁴ antioxidante, ⁵ estimulante de la captación de glucosa, ⁶ hipouricémico, ⁷ inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa, ⁸ inhibidor de α -glucosidasa, ⁹ inhibidor de lactocepina, ¹⁰ inhibidor de la enzima tripeptidil peptidasa II, ¹¹ inhibidor de la citosol alanil aminopeptidasa, ¹² inhibidor de renina, ¹³ neuropéptido, ¹⁴ regulador de la membrana mucosa del estómago, ¹⁵ antiamnésico, ¹⁶ antitrombótico, ¹⁷ inhibidor de la ligasa tubulina-tirosina, ¹⁸ inhibidor de leucociltransferasa, ¹⁹ antibacterial, ²⁰ hipotensivo, ²¹ anticáncer, ²² inhibidor de neurolisina, ²³ estimulante de sustancias vasoactivas, ²⁴ inmunoestimulante, ²⁵ tóxico, ²⁶ antiviral, ²⁷ hemolítico, ²⁸ inhibidor de PAM, ²⁹ antiinflamatorio, ³⁰ inhibidor de calpaína, ³¹ inhibidor de fosfatasa alcalina, ³² hipolipidémico, ³³ inhibidor de α -amilasa, ³⁴ opioide, ³⁵ péptido sintético, ³⁶ regulador de la fosfoglicerato cinasa, ³⁷ inhibidor de lipasa pancreática, ³⁸ inmunomodulador, ³⁹ inhibidor de alanina carboxipeptidasa, ⁴⁰ inhibidor de fosfolipasa A2, ⁴¹ inhibidor de la secreción de insulina, ⁴² antagonista de opioide.

APÉNDICE 2. Continuación...

Núm.	Péptido ¹	Núm.	Péptido ¹
281	McLP ^{1, 2, 9}	301	PDVVAVTRGGGGGAG ^{1, 2, 10, 11, 13, 18}
282	FSGPL ^{1, 2, 9, 14, 15, 16}	302	VSHPA ^{1, 2, 3}
283	QYPL ^{1, 2, 4, 8, 9}	303	WHPA ^{1, 2, 3, 8}
284	PPPP ^{1, 2, 8}	304	GHEPA ^{1, 2, 7}
285	EVcL ^{1, 2}	305	PLLPA ^{1, 2, 5, 9, 11}
286	GII ^{1, 2, 5}	306	VKSIT ^{1, 2}
287	IIGDV ^{1, 2, 5}	307	SmPm ⁻
288	EPGTL ^{1, 2, 6, 14, 15, 16, 28}	308	FSPm ²
289	DRGL ^{1, 2, 18}	309	DGGAGGGFGAGSGT ^{1, 2, 3, 10, 11, 22}
290	ITGGL ^{1, 2}	310	GENLFWGSGT ^{1, 2, 3, 4, 6, 7, 12, 13, 22}
291	VATGL ^{1, 2, 10}	311	SPDLMLmSGT ^{1, 2}
292	DVGVA ^{1, 2, 10}	312	DNAPGGATTYT ^{1, 2, 4, 6, 10, 15, 16, 28}
293	REAHGG ^{1, 2, 4, 8}	313	AEVSSSAMGKVccSK ^{1, 2, 7, 23}
294	NGGGI ^{1, 2}	314	LGEESHNVHDMSFV ^{1, 2, 3, 7, 12, 23}
295	HmGG ^{1, 2}	315	cYNQSN SERPTASS ^{1, 2, 6, 13, 22, 23}
296	TAPAPV ^{1, 2, 10}	316	AGANRPTYTIEAMMGD ^{1, 2, 4, 7, 8}
297	FmSGDPDGPIGmSEE ^{1, 2, 7, 14, 15, 16, 23}	317	AAEPTmSDPYNPY ^{1, 2, 7, 10, 11, 13, 19, 20, 29, 40}
298	WIHG ^{1, 2, 3}	318	PTTEHSDGGGTEQDAV ^{1, 2, 3, 6, 7}
299	DPLPA ^{1, 2, 9}	319	RLAPV ^{1, 2, 3, 10}
300	SVLPP ^{1, 2, 4, 5, 9}	320	RAGSPPSDGSNDGNNR ^{1, 2, 8, 12}

¹Péptidos secuenciados por UPLC-ESI-MS/MS. Las posibles actividades se obtuvieron de la base de datos BIOPEP (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>) y se le atribuye al péptido completo o a algún fragmento de él. Los aminoácidos se presentan en nomenclatura de una letra. Donde los superíndices indican las actividades biológicas: ¹ inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, ² inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, ³ inhibidor de la dipeptidil peptidasa III, ⁴ antioxidante, ⁵ estimulante de la captación de glucosa, ⁶ hipouricémico, ⁷ inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa, ⁸ inhibidor de α -glucosidasa, ⁹ inhibidor de lactocepina, ¹⁰ inhibidor de la enzima tripeptidil peptidasa II, ¹¹ inhibidor de la citosol alanil aminopeptidasa, ¹² inhibidor de renina, ¹³ neuropéptido, ¹⁴ regulador de la membrana mucosa del estómago, ¹⁵ antiamnésico, ¹⁶ antitrombótico, ¹⁷ inhibidor de la ligasa tubulina-tirosina, ¹⁸ inhibidor de leucociltransferasa, ¹⁹ antibacterial, ²⁰ hipotensivo, ²¹ anticáncer, ²² inhibidor de neurolisina, ²³ estimulante de sustancias vasoactivas, ²⁴ inmunoestimulante, ²⁵ tóxico, ²⁶ antiviral, ²⁷ hemolítico, ²⁸ inhibidor de PAM, ²⁹ antiinflamatorio, ³⁰ inhibidor de calpaína, ³¹ inhibidor de fosfatasa alcalina, ³² hipolipidémico, ³³ inhibidor de α -amilasa, ³⁴ opioide, ³⁵ péptido sintético, ³⁶ regulador de la fosfoglicerato cinasa, ³⁷ inhibidor de lipasa pancreática, ³⁸ inmunomodulador, ³⁹ inhibidor de alanina carboxipeptidasa, ⁴⁰ inhibidor de fosfolipasa A2, ⁴¹ inhibidor de la secreción de insulina, ⁴² antagonista de opioide.

APÉNDICE 2. Continuación...

Núm.	Péptido ¹	Núm.	Péptido ¹
321	ASATATATATTAGATScS ^{1, 2, 6}	341	MFHHVVLGVILSLSF ^{1, 2, 4, 5, 6, 12, 13, 36}
322	LADLGDEAYV ^{1, 2, 3, 4, 7, 8, 17}	342	IAPSRKDGSEALSIR ^{1, 2, 4, 8, 10, 12, 23}
323	VEALQTGTSc ^{1, 2, 8}	343	FDRMRLEHNVAPN ^{1, 2, 3, 10}
324	LPRREDAEAcAFY ^{1, 3, 4, 9, 13, 18, 19, 20, 26, 27, 33}	344	VETLRYVSEYGADP ^{1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 17, 23, 24}
325	MPAEIENYV ^{1, 2, 7}	345	LSLVNFSWEVGSNF ^{1, 2, 5, 36, 37}
326	VEASHESPPL ^{1, 2, 7, 8, 9}	346	DPAEFEDDE ^{1, 2, 7, 12, 32}
327	EVALLGSDFD ^{1, 2, 4, 5, 7, 9, 10}	347	DGGSDEQDLM ^{1, 2, 7}
328	VEALESFDR ^{1, 2, 8, 12}	348	NDSAGEDDED ^{1, 2, 3, 7}
329	DLALKEmTE ^{1, 2, 3, 4}	349	ANDTSSNND ^{2, 7}
330	DIALKDIMm ^{1, 2, 4}	350	LDGQEmASEA ^{1, 2, 8, 13, 23}
331	DIAIQYLDD ^{1, 2, 3, 4, 7, 13, 19}	351	KATSAS ^{1, 2, 3}
332	NNAQPQHADA ^{1, 2, 3, 7, 8}	352	ITIPPKSTLL ^{1, 2, 5, 6, 8, 9, 11, 16, 29, 33}
333	VEAIRPHED ^{1, 2, 4, 7, 8, 12, 13, 22}	353	LTLTALLPKL ^{1, 2, 4, 5, 6, 9}
334	LLANKKSRGPKGEII ^{1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 14, 15, 16, 18}	354	QTTPGATVLVAGVALLL ^{1, 2, 5, 6, 10, 11, 14, 15, 16, 23, 28}
335	LDALEGDEmG ^{1, 2, 3, 7}	355	PPSSSGGVPSScTALP ^{1, 2, 8, 9, 23}
336	DIALMDMGAE ^{1, 2, 7}	356	ILLSDITINIGKGAPV ^{1, 2, 5, 9, 10, 11, 13}
337	LDAIDQmPm ^{1, 2, 7}	357	LHRLPPGPKVVGLAVA ^{1, 2, 3, 4, 8, 9, 10}
338	IDALmDDGAE ^{1, 2, 3, 7}	358	GLKEAKELVEKAPIV ^{1, 2, 3, 4, 5, 8, 10}
339	PSNDEmFPL ^{1, 2, 7, 9}	359	SFSIDKEDFAEA ^{1, 2, 3, 7, 8, 12}
340	AKTAHAHGSSVHLKR ^{1, 2, 3, 4}	360	VNIAMLIVGRVLLGVG ^{1, 3, 2, 5, 9, 11}

¹Péptidos secuenciados por UPLC-ESI-MS/MS. Las posibles actividades se obtuvieron de la base de datos BIOPEP (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>) y se le atribuye al péptido completo o a algún fragmento de él. Los aminoácidos se presentan en nomenclatura de una letra. Donde los superíndices indican las actividades biológicas: ¹ inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, ² inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, ³ inhibidor de la dipeptidil peptidasa III, ⁴ antioxidante, ⁵ estimulante de la captación de glucosa, ⁶ hipouricémico, ⁷ inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa, ⁸ inhibidor de α -glucosidasa, ⁹ inhibidor de lactocepina, ¹⁰ inhibidor de la enzima tripeptidil peptidasa II, ¹¹ inhibidor de la citosol alanil aminopeptidasa, ¹² inhibidor de renina, ¹³ neuropéptido, ¹⁴ regulador de la membrana mucosa del estómago, ¹⁵ antiamnésico, ¹⁶ antitrombótico, ¹⁷ inhibidor de la ligasa tubulina-tirosina, ¹⁸ inhibidor de leucociltransferasa, ¹⁹ antibacterial, ²⁰ hipotensivo, ²¹ anticáncer, ²² inhibidor de neurolisina, ²³ estimulante de sustancias vasoactivas, ²⁴ inmunoestimulante, ²⁵ tóxico, ²⁶ antiviral, ²⁷ hemolítico, ²⁸ inhibidor de PAM, ²⁹ antiinflamatorio, ³⁰ inhibidor de calpaína, ³¹ inhibidor de fosfatasa alcalina, ³² hipolipidémico, ³³ inhibidor de α -amilasa, ³⁴ opioide, ³⁵ péptido sintético, ³⁶ regulador de la fosfoglicerato cinasa, ³⁷ inhibidor de lipasa pancreática, ³⁸ inmunomodulador, ³⁹ inhibidor de alanina carboxipeptidasa, ⁴⁰ inhibidor de fosfolipasa A2, ⁴¹ inhibidor de la secreción de insulina, ⁴² antagonista de opioide.

APÉNDICE 2. Continuación...

Núm.	Péptido ¹	Núm.	Péptido ¹
361	IEFLRPVLIKWP ^{1, 2, 3, 5, 8, 12, 13}	381	GVPIALVLLI ^{1, 2, 5, 9, 11}
362	WTALAIAAALLLAGVV ^{1, 2, 3, 5, 9, 10, 11, 19, 20}	382	LIPVVLTLSTQKS ^{1, 2, 4, 5, 6, 9, 11}
363	MNKRLINILVPLIS ^{1, 2, 15, 23, 5, 13, 9}	383	NDEDmD ^{2, 7}
364	PPSRL ^{1, 2, 8}	384	INILPEIMVFLG ^{1, 2, 3, 4, 5, 8, 9, 10, 13, 22, 30}
365	LTEDS ^{1, 2, 4, 6}	385	IIQPEVIVEDGF ^{1, 2, 3, 5, 8, 10}
366	HPGAG ^{1, 2, 3, 14, 15, 16, 28}	386	PMGPV ^{1, 2, 14, 15, 16}
367	PHGAG ^{1, 2, 4}	387	AmESGADEVAFES ^{1, 2, 7, 8, 10}
368	VTPRPGALMVNmG ^{1, 2, 3, 6, 13, 15, 16, 22, 28}	388	VTPRPGALMVNmG ^{1, 2, 3, 6, 13, 15, 16, 22, 28}
369	VMASYm ^{1, 2}	389	IIIQIPEYKNK ^{1, 2, 3, 5, 8, 17, 21, 25}
370	IVTL ^{2, 5, 6}	390	DHSLVQDFLATI ^{1, 2, 3, 5, 7, 36}
371	AATPI ^{1, 2, 6, 10, 11, 19, 20}	391	DHEAVKTIWYIP ^{1, 2, 4, 7, 8}
372	VSPGI ^{1, 2, 14, 15, 16, 28}	392	LPSRPQVSSQME ^{1, 2, 9, 13, 22}
373	DDAEHE ^{1, 2, 3, 7}	393	LDILPEPHNVIV ^{1, 2, 3, 4, 5, 9, 13}
374	cLPI ^{1, 2, 9}	394	QVLLPQQLPLLP ^{1, 2, 4, 5, 9, 11, 12}
375	MPQK ^{1, 2}	395	ELPLVQAGLGKAY ^{1, 2, 3, 4, 5, 9, 12, 17}
376	HHPL ^{1, 2, 3, 9}	396	PIKKIVQEmTR ^{1, 2, 4, 5}
377	NcPL ^{1, 2, 9}	397	LLNLPEVKSAFK ^{1, 2, 3, 5, 6, 8, 9, 10, 11}
378	GGcPL ^{1, 2, 9}	398	LVQIVQVLENF ^{1, 2, 5, 22}
379	SVPEL ^{1, 2, 3, 4, 8}	399	IIQILVKEcNK ^{1, 2, 5, 13}
380	VIFEEEEDDGQTT ^{1, 2, 6, 7, 13, 23}	400	ARRAPEPRRLH ^{1, 2, 3, 4, 10, 13, 18, 19, 26, 27}

¹Péptidos secuenciados por UPLC-ESI-MS/MS. Las posibles actividades se obtuvieron de la base de datos BIOPEP (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>) y se le atribuye al péptido completo o a algún fragmento de él. Los aminoácidos se presentan en nomenclatura de una letra. Donde los superíndices indican las actividades biológicas: ¹ inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, ² inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, ³ inhibidor de la dipeptidil peptidasa III, ⁴ antioxidante, ⁵ estimulante de la captación de glucosa, ⁶ hipouricémico, ⁷ inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa, ⁸ inhibidor de α -glucosidasa, ⁹ inhibidor de lactocepina, ¹⁰ inhibidor de la enzima tripeptidil peptidasa II, ¹¹ inhibidor de la citosol alanil amino peptidasa, ¹² inhibidor de renina, ¹³ neuropéptido, ¹⁴ regulador de la membrana mucosa del estómago, ¹⁵ antiamnésico, ¹⁶ antitrombótico, ¹⁷ inhibidor de la ligasa tubulina-tirosina, ¹⁸ inhibidor de leucociltransferasa, ¹⁹ antibacterial, ²⁰ hipotensivo, ²¹ anticáncer, ²² inhibidor de neurolisina, ²³ estimulante de sustancias vasoactivas, ²⁴ inmunoestimulante, ²⁵ tóxico, ²⁶ antiviral, ²⁷ hemolítico, ²⁸ inhibidor de PAM, ²⁹ antiinflamatorio, ³⁰ inhibidor de calpaína, ³¹ inhibidor de fosfatasa alcalina, ³² hipolipidémico, ³³ inhibidor de α -amilasa, ³⁴ opioide, ³⁵ péptido sintético, ³⁶ regulador de la fosfoglicerato cinasa, ³⁷ inhibidor de lipasa pancreática, ³⁸ inmunomodulador, ³⁹ inhibidor de alanina carboxipeptidasa, ⁴⁰ inhibidor de fosfolipasa A2, ⁴¹ inhibidor de la secreción de insulina, ⁴² antagonista de opioide.

APÉNDICE 2. Continuación...

Núm.	Péptido ¹	Núm.	Péptido ¹
401	LLVPEK _m LDIAT ^{1, 2, 3, 5, 6, 8, 9}		
402	LLVPEKNARYR ^{1, 2, 3, 4, 5, 8, 9, 11, 13}		
403	VRTLLPLFSSLL ^{1, 2, 5, 6, 9, 11, 12, 36}		
404	QVPEQPKPELPP ^{1, 2, 3, 4, 8, 9}		
405	KPVPLGSQFLSDA ^{1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 12, 15, 23}		
406	LIKGPAVQVTYIG ^{1, 2, 3, 4, 14, 15, 16}		
407	MITAYVQHGHS ^{1, 2, 4, 17, 20}		
408	AmAYQVQPHVQA ^{1, 2, 4, 17}		
409	PKEPEPEPEPIP ^{1, 2, 3, 8}		
410	PKPEEPEVLGTY ^{1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 23}		
411	QVTK ²		
412	KVTQ ^{1, 2}		
413	LIMV ^{2, 5}		

¹Péptidos secuenciados por UPLC-ESI-MS/MS. Las posibles actividades se obtuvieron de la base de datos BIOPEP (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>) y se le atribuye al péptido completo o a algún fragmento de él. Los aminoácidos se presentan en nomenclatura de una letra. Donde los superíndices indican las actividades biológicas: ¹ inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, ² inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, ³ inhibidor de la dipeptidil peptidasa III, ⁴ antioxidante, ⁵ estimulante de la captación de glucosa, ⁶ hipouricémico, ⁷ inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa, ⁸ inhibidor de α -glucosidasa, ⁹ inhibidor de lactocepina, ¹⁰ inhibidor de la enzima tripeptidil peptidasa II, ¹¹ inhibidor de la citosol alanil amino peptidasa, ¹² inhibidor de renina, ¹³ neuropéptido, ¹⁴ regulador de la membrana mucosa del estómago, ¹⁵ antiamnésico, ¹⁶ antitrombótico, ¹⁷ inhibidor de la ligasa tubulina-tirosina, ¹⁸ inhibidor de leucociltransferasa, ¹⁹ antibacterial, ²⁰ hipotensivo, ²¹ anticáncer, ²² inhibidor de neurolisina, ²³ estimulante de sustancias vasoactivas, ²⁴ inmunoestimulante, ²⁵ tóxico, ²⁶ antiviral, ²⁷ hemolítico, ²⁸ inhibidor de PAM, ²⁹ antiinflamatorio, ³⁰ inhibidor de calpaína, ³¹ inhibidor de fosfatasa alcalina, ³² hipolipidémico, ³³ inhibidor de α -amilasa, ³⁴ opioide, ³⁵ péptido sintético, ³⁶ regulador de la fosfoglicerato cinasa, ³⁷ inhibidor de lipasa pancreática, ³⁸ inmunomodulador, ³⁹ inhibidor de alanina carboxipeptidasa, ⁴⁰ inhibidor de fosfolipasa A2, ⁴¹ inhibidor de la secreción de insulina, ⁴² antagonista de opioide.

C. APÉNDICE 3. Perfil de péptidos del hidrolizado con alcalasa del maíz comercial SUN

Núm.	Péptido ¹	Núm.	Péptido ¹
1	VVPVLIGG ^{1, 2, 5}	21	PLLADLLK ^{1, 2, 3, 4, 5, 9, 11}
2	MGPA ^{1, 2, 14, 15, 16}	22	PLVIVTLQ ^{1, 2, 5, 6, 9}
3	VAPL ^{1, 2, 9, 10}	23	SENHLVGPV ^{1, 2, 3, 4, 5, 14, 16}
4	GEPGG ^{1, 2, 14, 15, 16, 28}	24	GASDHAPVVV ^{1, 2, 10, 21}
5	VDQN ²	25	TIFYPTmF ^{1, 2, 4, 6, 8, 20, 33}
6	VDEL ^{2, 4, 7}	26	TLTDEAAAPF ^{1, 2, 3, 6, 7, 8, 10, 11, 19, 20}
7	TENGG ^{1, 2}	27	MQPPSMVENGSF ^{1, 2, 8, 10, 12}
8	LNNE ^{1, 2}	28	FSDFGmQASCSQ ^{1, 2, 4, 7, 22}
9	VEMD ^{1, 2, 8}	29	LPETNPSVLEPQ ^{1, 2, 3, 4, 5, 8, 9}
10	NNFE ^{1, 2, 7}	30	QMILDAVEmEE ^{1, 2, 3, 5, 7, 8, 13}
11	ADGAEI ^{1, 2, 7, 8}	31	RCLDSPPASLAPP ^{1, 2, 3, 8, 10, 14}
12	ADGAEL ^{1, 2, 4, 7, 8}	32	RmYSKSSAHIQ ^{1, 2, 4}
13	PISVLLK ^{2, 4, 5, 9, 11}	33	GGEVDPSDLGHLGA ^{1, 2, 3, 4, 7}
14	IPADLLLQ ^{1, 2, 5, 11}	34	FIYMLKDHEK ^{1, 2, 4, 7}
15	PIGKQVLK ^{1, 2, 4}	35	ANNPPPSRSPPPVP ^{1, 2, 8, 15}
16	PLQGARIAG ^{1, 2, 4, 9}	36	QGKHAASSSSSLVP ^{1, 2, 6, 5, 10, 11, 19, 20}
17	PLGKNLIGA ^{1, 2, 5, 9, 34}	37	QGKHAATAATSSSLVV ^{1, 2, 3, 5, 10, 14, 19, 20}
18	MPPALLLK ^{1, 2, 4, 5, 9, 11}	38	DKIHVVGLMTmAP ^{1, 2, 3, 10}
19	MKHLK ^{1, 2, 3, 4, 5, 11}	39	DETmEIVAYIEV ^{1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 17}
20	IPELAVIK ^{1, 2, 3, 4, 6, 11, 23}	40	FVFTVVLVAVGCAC ^{1, 2, 4, 5, 10, 12, 22}

¹Péptidos secuenciados por UPLC-ESI-MS/MS. Las posibles actividades se obtuvieron de la base de datos BIOPEP (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>) y se le atribuye al péptido completo o a algún fragmento de él. Los aminoácidos se presentan en nomenclatura de una letra. Donde los superíndices indican las actividades biológicas: ¹ inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, ² inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, ³ inhibidor de la dipeptidil peptidasa III, ⁴ antioxidante, ⁵ estimulante de la captación de glucosa, ⁶ hipouricémico, ⁷ inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa, ⁸ inhibidor de α -glucosidasa, ⁹ inhibidor de lactocepina, ¹⁰ inhibidor de la enzima tripeptidil peptidasa II, ¹¹ inhibidor de la citosol alanil aminopeptidasa, ¹² inhibidor de renina, ¹³ neuropéptido, ¹⁴ regulador de la membrana mucosa del estómago, ¹⁵ antiamnésico, ¹⁶ antitrombótico, ¹⁷ inhibidor de la ligasa tubulina-tirosina, ¹⁸ inhibidor de leucociltransferasa, ¹⁹ antibacterial, ²⁰ hipotensivo, ²¹ anticáncer, ²² inhibidor de neurolisina, ²³ estimulante de sustancias vasoactivas, ²⁴ inmunoestimulante, ²⁵ tóxico, ²⁶ antiviral, ²⁷ hemolítico, ²⁸ inhibidor de PAM, ²⁹ antiinflamatorio, ³⁰ inhibidor de calpaína, ³¹ inhibidor de fosfatasa alcalina, ³² hipolipidémico, ³³ inhibidor de α -amilasa, ³⁴ opioide, ³⁵ péptido sintético, ³⁶ regulador de la fosfoglicerato cinasa, ³⁷ inhibidor de lipasa pancreática, ³⁸ inmunomodulador, ³⁹ inhibidor de alanina carboxipeptidasa, ⁴⁰ inhibidor de fosfolipasa A2, ⁴¹ inhibidor de la secreción de insulina, ⁴² antagonista de opioide.

APÉNDICE 3. Continuación...

Núm.	Péptido ¹
41	FIILSSSLPRGFQ ^{1, 2, 3, 5, 9, 13, 14, 18,}
42	IGFLDDGIKIVIFK ^{1, 2, 3, 4, 6, 7, 10, 14,}
43	LGLGYTTVDLTIK ^{1, 2, 3, 4, 6}
44	LLLFLDAYRGRQ ^{1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11, 13, 17, 18}
45	LIKLGKTSLGGKL ^{1, 2, 4, 5, 9, 14}
46	IIFLDIDNFKKV ^{1, 2, 3, 4, 5, 6}
47	IILFIFLVIFNI ^{1, 2, 3, 5, 13}
48	PKLGRKVVTVVLGR ^{1, 2, 5}
49	SKIPARRLTQVVKKS ^{1, 2, 3, 4, 6, 13, 18, 19, 26, 27}
50	ALHGGARLFAVGLLcAAL ^{1, 2, 3, 4, 5, 9, 11, 19, 20}
51	KHAVAAGTADATRKRSLG ^{1, 2, 3, 7, 8, 10, 11, 14, 19, 20}
52	SDEEEDREADDEmPQ ^{1, 2, 7, 8, 23}
53	GWTGEEGGDADEFDTKP ^{1, 2, 3, 4, 7, 8, 10, 12, 23, 32}
54	IAAAMRAHGARQDDADAA ^{1, 2, 3, 7, 8, 10, 11, 19, 20}

¹Péptidos secuenciados por UPLC-ESI-MS/MS. Las posibles actividades se obtuvieron de la base de datos BIOPEP (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>) y se le atribuye al péptido completo o a algún fragmento de él. Los aminoácidos se presentan en nomenclatura de una letra. Donde los superíndices indican las actividades biológicas: ¹ inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, ² inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, ³ inhibidor de la dipeptidil peptidasa III, ⁴ antioxidante, ⁵ estimulante de la captación de glucosa, ⁶ hipouricémico, ⁷ inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa, ⁸ inhibidor de α -glucosidasa, ⁹ inhibidor de lactocepina, ¹⁰ inhibidor de la enzima tripeptidil peptidasa II, ¹¹ inhibidor de la citosol alanil aminopeptidasa, ¹² inhibidor de renina, ¹³ neuropéptido, ¹⁴ regulador de la membrana mucosa del estómago, ¹⁵ antiamnésico, ¹⁶ antitrombótico, ¹⁷ inhibidor de la ligasa tubulina-tirosina, ¹⁸ inhibidor de leucociltransferasa, ¹⁹ antibacterial, ²⁰ hipotensivo, ²¹ anticáncer, ²² inhibidor de neurolisina, ²³ estimulante de sustancias vasoactivas, ²⁴ inmunoestimulante, ²⁵ tóxico, ²⁶ antiviral, ²⁷ hemolítico, ²⁸ inhibidor de PAM, ²⁹ antiinflamatorio, ³⁰ inhibidor de calpaína, ³¹ inhibidor de fosfatasa alcalina, ³² hipolipidémico, ³³ inhibidor de α -amilasa, ³⁴ opioide, ³⁵ péptido sintético, ³⁶ regulador de la fosfoglicerato cinasa, ³⁷ inhibidor de lipasa pancreática, ³⁸ inmunomodulador, ³⁹ inhibidor de alanina carboxipeptidasa, ⁴⁰ inhibidor de fosfolipasa A2, ⁴¹ inhibidor de la secreción de insulina, ⁴² antagonista de opioide.

D. APÉNDICE 4. Perfil de péptidos del hidrolizado con pepsina-pancreatina del maíz comercial SUN

Núm.	Péptido ¹	Núm.	Péptido ¹
1	MTHG ^{1, 2}	21	ARPEAPLAQP ^{1, 2, 3, 8, 9, 10, 13, 22}
2	NAKL ^{1, 2}	22	EQKHKDGSKEKEG ^{1, 2, 3, 4, 8}
3	GKLG ^{1, 4}	23	IFTYFLYIFPAGF ^{1, 2, 3, 4, 10, 12}
4	IAEL ^{1, 2, 4, 7}	24	MYSAILSRNSGDVDA ^{1, 2, 3, 4, 5, 7, 13}
5	IKAN ^{1, 2, 3}	25	DEEDAEDDE ^{1, 2, 3, 7, 16, 23}
6	AIKN ¹	26	DNDDTAGDDE ^{1, 2, 7}
7	GGVVN ^{1, 2}	27	TLNKADIIVcGEAYG ^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 17, 24}
8	GVGVN ^{1, 2}	28	ITELTPTRGFAAEFA ^{1, 2, 3, 4, 6, 7, 10, 11, 12, 18, 19, 20, 32}
9	GQLK ^{1, 2, 4, 13}	29	GHDFKAVILEYMSN ^{1, 2, 3, 5, 6, 7, 13, 17}
10	RGVN ^{1, 2, 18}	30	MPSLQKALPPELADN ^{1, 2, 3, 4, 8, 9, 14}
11	RGVGG ^{1, 2, 18}	31	DVVNVLDIPENDPAN ^{1, 2, 3, 5, 8}
12	GKLQ ¹	32	YYAKERGPVTDIDP ^{1, 2, 3, 4, 12, 14, 15, 16, 17, 18}
13	AGGLQ ^{1, 2}	33	VIGcPKTIYGDLKc ^{1, 2, 3, 4, 12, 17}
14	McLP ^{1, 2, 9}	34	NKFTTIYHSTRQQ ^{1, 2, 3, 4, 6, 12}
15	PEGTI ^{1, 2, 3, 8}	35	NILLDGELTPHLSDS ^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 11, 13}
16	ILTAV ^{1, 2, 4, 5, 6, 13}	36	AAEGAVcPAAAEAEPLP ^{1, 2, 3, 7, 8, 9, 11, 10, 24}
17	GTIGL ^{1, 2}	37	ITLRSSDYK ^{1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 14, 21, 25}
18	SALGL ^{1, 2}	38	LTIALFGGYK ^{1, 2, 3, 4, 6, 21, 22, 25, 31}
19	VDGGL ^{1, 2}	39	VDWGEAPVLP ^{1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 10, 12}
20	RLAPV ^{1, 2, 3, 10}	40	LLVVATSAIPV ^{1, 2, 5, 9, 10, 11}

¹Péptidos secuenciados por UPLC-ESI-MS/MS. Las posibles actividades se obtuvieron de la base de datos BIOPEP (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>) y se le atribuye al péptido completo o a algún fragmento de él. Los aminoácidos se presentan en nomenclatura de una letra. Donde los superíndices indican las actividades biológicas: ¹ inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, ² inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, ³ inhibidor de la dipeptidil peptidasa III, ⁴ antioxidante, ⁵ estimulante de la captación de glucosa, ⁶ hipouricémico, ⁷ inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa, ⁸ inhibidor de α -glucosidasa, ⁹ inhibidor de lactocepina, ¹⁰ inhibidor de la enzima tripeptidil peptidasa II, ¹¹ inhibidor de la citosol alanil aminopeptidasa, ¹² inhibidor de renina, ¹³ neuropéptido, ¹⁴ regulador de la membrana mucosa del estómago, ¹⁵ antiamnésico, ¹⁶ antitrombótico, ¹⁷ inhibidor de la ligasa tubulina-tirosina, ¹⁸ inhibidor de leucociltransferasa, ¹⁹ antibacterial, ²⁰ hipotensivo, ²¹ anticáncer, ²² inhibidor de neurolisina, ²³ estimulante de sustancias vasoactivas, ²⁴ inmunoestimulante, ²⁵ tóxico, ²⁶ antiviral, ²⁷ hemolítico, ²⁸ inhibidor de PAM, ²⁹ antiinflamatorio, ³⁰ inhibidor de calpaína, ³¹ inhibidor de fosfatasa alcalina, ³² hipolipidémico, ³³ inhibidor de α -amilasa, ³⁴ opioide, ³⁵ péptido sintético, ³⁶ regulador de la fosfoglicerato cinasa, ³⁷ inhibidor de lipasa pancreática, ³⁸ inmunomodulador, ³⁹ inhibidor de alanina carboxipeptidasa, ⁴⁰ inhibidor de fosfolipasa A2, ⁴¹ inhibidor de la secreción de insulina, ⁴² antagonista de opioide.

APÉNDICE 4. Continuación...

Núm.	Péptido ¹	Núm.	Péptido ¹
41	ITGSPTTPPVI ^{1, 2, 6, 8, 15}	61	ISMYGSNDTGSGmcQ ^{1, 2, 3, 17, 24}
42	LTLPERAVAL ^{1, 2, 3, 4, 6, 8, 9, 10}	62	NDPTPDEVAcSKcM ^{1, 2, 6, 7, 10}
43	LTLPALALALS ^{1, 2, 3, 4, 6, 9}	63	PEPN ^{2, 3, 8}
44	LDVLEKGV ^{1, 2, 5, 9, 11}	64	HcDL ^{1, 2}
45	ITINIGKGAPV ^{1, 2, 10}	65	ISPDL ^{1, 2}
46	ITDHKMKPI ^{1, 2, 3, 4}	66	IHKVPK ^{1, 2, 5}
47	LDRVDRVLP ^{1, 2, 3, 5}	67	ILKVPQ ^{1, 2, 4, 5, 13}
48	VDTQLPTVPI ^{1, 2, 6, 9}	68	ILQVPK ^{1, 2, 5, 13}
49	LRSATLLVVPDKLAK ^{1, 2, 3, 5, 6, 8, 9, 11, 12}	69	YGYSYPPPQGYNNGP ^{1, 2, 3, 4, 8, 14, 15, 16, 17, 24, 34}
50	ITKNLWVAILQIV ^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 12, 13}	70	KPKVEP ^{1, 2, 4, 8}
51	LKVSTVKPLVLWLK ^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12}	71	LLAGVPK ^{1, 2, 3, 5, 9, 11}
52	STAVVALLVRGRLVVA ^{1, 2, 5, 9, 10, 11, 18}	72	LDENDTFAmGPAPASER ^{1, 2, 7, 10, 12, 14, 15, 16, 23}
53	cLAIVVVLVLTLI ^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 21}	73	SSVvcSNVAcQATPNAGD ^{1, 2, 6, 10}
54	LSLITKVIANGVALL ^{1, 2, 4, 5, 9, 10, 11}	74	DGGGEEGGGcGGSERTAGAR ^{1, 2, 3, 4}
55	RKRSKVLQRSLPR ^{1, 2, 3, 5, 9, 14}	75	cELAQQEMEYDHKR ^{1, 2, 3, 4, 17}
56	ITIPHSSVQT ^{1, 2, 4}	76	GDDLGEDDDAFNHMNAT ^{1, 2, 3, 7, 10}
57	ITIDSVQLHG ^{1, 2, 4}	77	DDGGGGGNDDDGGATRQGT ^{1, 2, 7, 11}
58	LTLHEmLPL ^{1, 2, 4, 6, 7, 9, 12}	78	SSLDIGDEQSESSDTPIG ^{1, 2, 6, 7, 23}
59	NDYKTMDLNFmES ^{1, 2, 3, 4, 14, 21}	79	DSTPDVESAGNmAGQRW ^{1, 2, 3, 6, 8, 13}
60	VEPEDWPCRFcE ^{1, 2, 3, 8, 18}	80	MTGDGEGVESSAAGERQGV ^{1, 2, 3, 7, 8, 10, 11, 19, 20}

¹Péptidos secuenciados por UPLC-ESI-MS/MS. Las posibles actividades se obtuvieron de la base de datos BIOPEP (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>) y se le atribuye al péptido completo o a algún fragmento de él. Los aminoácidos se presentan en nomenclatura de una letra. Donde los superíndices indican las actividades biológicas: ¹ inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, ² inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, ³ inhibidor de la dipeptidil peptidasa III, ⁴ antioxidante, ⁵ estimulante de la captación de glucosa, ⁶ hipouricémico, ⁷ inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa, ⁸ inhibidor de α -glucosidasa, ⁹ inhibidor de lactocepina, ¹⁰ inhibidor de la enzima tripeptidil peptidasa II, ¹¹ inhibidor de la citosol alanil aminopeptidasa, ¹² inhibidor de renina, ¹³ neuropéptido, ¹⁴ regulador de la membrana mucosa del estómago, ¹⁵ antiamnésico, ¹⁶ antitrombótico, ¹⁷ inhibidor de la ligasa tubulina-tirosina, ¹⁸ inhibidor de leucociltransferasa, ¹⁹ antibacterial, ²⁰ hipotensivo, ²¹ anticáncer, ²² inhibidor de neurolisina, ²³ estimulante de sustancias vasoactivas, ²⁴ inmunoestimulante, ²⁵ tóxico, ²⁶ antiviral, ²⁷ hemolítico, ²⁸ inhibidor de PAM, ²⁹ antiinflamatorio, ³⁰ inhibidor de calpaína, ³¹ inhibidor de fosfatasa alcalina, ³² hipolipidémico, ³³ inhibidor de α -amilasa, ³⁴ opioide, ³⁵ péptido sintético, ³⁶ regulador de la fosfoglicerato cinasa, ³⁷ inhibidor de lipasa pancreática, ³⁸ inmunomodulador, ³⁹ inhibidor de alanina carboxipeptidasa, ⁴⁰ inhibidor de fosfolipasa A2, ⁴¹ inhibidor de la secreción de insulina, ⁴² antagonista de opioide.

APÉNDICE 4. Continuación...

Núm.	Péptido ¹	Núm.	Péptido ¹
81	DVAPV ^{1, 2, 3, 7, 10}	96	DAAHPDLVcQLNRSLYG ^{1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 11, 12, 17, 19, 20, 24}
82	VITFSFEGDLTLNVYPD ^{1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 10, 12}	97	LDIPHVAHVINFDPND ^{1, 2, 4, 9, 10}
83	KTDFmESLKNLLKTDM ^{1, 2, 4, 5, 7, 9, 11}	98	REGPEGTPFHLLAEGFA ^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 14, 15, 16}
84	SASPVYVWmDGLEVVFD ^{1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 22, 30}	99	VLEHQITNNIKMFVED ^{1, 2, 5, 8}
85	SGHcYKQHDPIFDPTK ^{1, 2, 3, 6, 21, 25}	100	KDVEVRVRDLLARmTL ^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 11}
86	AATTFPFSAPAFYRGRAV ^{1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 11, 12, 13, 18, 19, 20, 33}	101	LPPSVILHHLYSRGPDE ^{1, 2, 3, 4, 7, 8, 9, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 20}
87	DFTSEcKIKTIDPmND ^{1, 2, 7, 12, 23}	102	cPSLGTGPLVDLLAGSASGGT ^{1, 2, 3, 5, 9, 11, 14, 15, 16}
88	KNSYDLLDSGGIKcVTc ^{1, 2, 5, 9, 11}	103	LDPSTGALSGLTPGGILVDm ^{1, 2, 3, 5, 13, 14, 15, 16, 28}
89	AAGEMPRIIGVDVAGLDVm ^{1, 2, 3, 5, 7, 10, 11, 19, 20}	104	SYQLDINVDKATDVLVH ^{1, 2, 3, 4, 5}
90	LAPEWIGGTAITPKVDVY ^{1, 2, 3, 4, 6, 8, 10}	105	GGIYHALLGPETLEESFP ^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 14, 15, 16}
91	TQIYVASGQVYGGNNRMA ^{1, 2, 3, 4, 10, 12, 13, 17}	106	SQSRRGRREPLARTPY ^{1, 2, 3, 6, 9, 13, 18, 19, 26, 27, 29}
92	KPIRVAENITNLDDLm ^{1, 2, 3, 4, 7, 12}	107	NHKNINPmFVPVFIML ^{1, 2, 3, 4, 10, 22, 30}
93	NYITDIcKRADLGYN ^{1, 2, 3, 4, 5, 8, 24}	108	VDmYA ^{1, 2, 4, 12, 17}
94	GPVHTRARWFNDmINV ^{1, 2, 3, 4, 14, 15, 16}	109	EPGEI ^{1, 2, 3, 14, 15, 16, 28}
95	DIIPNIGSPSQSGGDIDML ^{1, 2, 5}	110	GSGGGGGGGGxG ^{1, 2}

¹Péptidos secuenciados por UPLC-ESI-MS/MS. Las posibles actividades se obtuvieron de la base de datos BIOPEP (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>) y se le atribuye al péptido completo o a algún fragmento de él. Los aminoácidos se presentan en nomenclatura de una letra. Donde los superíndices indican las actividades biológicas: ¹ inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, ² inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, ³ inhibidor de la dipeptidil peptidasa III, ⁴ antioxidante, ⁵ estimulante de la captación de glucosa, ⁶ hipouricémico, ⁷ inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa, ⁸ inhibidor de α -glucosidasa, ⁹ inhibidor de lactocepina, ¹⁰ inhibidor de la enzima tripeptidil peptidasa II, ¹¹ inhibidor de la citosol alanil aminopeptidasa, ¹² inhibidor de renina, ¹³ neuropéptido, ¹⁴ regulador de la membrana mucosa del estómago, ¹⁵ antiamnésico, ¹⁶ antitrombótico, ¹⁷ inhibidor de la ligasa tubulina-tirosina, ¹⁸ inhibidor de leucociltransferasa, ¹⁹ antibacterial, ²⁰ hipotensivo, ²¹ anticáncer, ²² inhibidor de neurolisina, ²³ estimulante de sustancias vasoactivas, ²⁴ inmunoestimulante, ²⁵ tóxico, ²⁶ antiviral, ²⁷ hemolítico, ²⁸ inhibidor de PAM, ²⁹ antiinflamatorio, ³⁰ inhibidor de calpaína, ³¹ inhibidor de fosfatasa alcalina, ³² hipolipidémico, ³³ inhibidor de α -amilasa, ³⁴ opioide, ³⁵ péptido sintético, ³⁶ regulador de la fosfoglicerato cinasa, ³⁷ inhibidor de lipasa pancreática, ³⁸ inmunomodulador, ³⁹ inhibidor de alanina carboxipeptidasa, ⁴⁰ inhibidor de fosfolipasa A2, ⁴¹ inhibidor de la secreción de insulina, ⁴² antagonista de opioide.

APÉNDICE 4. Continuación...

Núm.	Péptido ¹	Núm.	Péptido ¹
111	LPFEGMSNLQAAYA ^{1, 2, 3, 4, 7, 10, 11, 12, 17, 19, 20, 29}	126	LPENDQLNVAFAV ^{1, 2, 3, 8, 9, 10}
112	AGVPLVLLLL ^{1, 2, 5, 9, 11, 15, 23}	127	FGMVDEARRMF ^{1, 2, 3, 7, 8, 13, 18, 19, 26, 27}
113	GVPIALVLLI ^{1, 2, 5, 9, 11}	128	MITAYVQHGHS ^{1, 2, 4, 17, 20}
114	TLPLPLLLPGALPPV ^{1, 2, 4, 5, 6, 8, 9, 11, 12, 14, 15, 16, 20, 23, 28}	129	PKEPEPEPEPIP ^{1, 2, 3, 8}
115	VIMLSGYLIFGSDP ^{1, 2, 3, 4, 5, 13, 22}	130	DHSLVQDFLATI ^{1, 2, 3, 5, 7, 14}
116	RGLGHDEQmLKVL ^{1, 2, 4, 5, 7, 18}	131	VTPRPGALMVNmG ^{1, 2, 3, 6, 13, 14, 15, 16, 22, 28}
117	PLRRlcVFWAGH ^{1, 2, 3, 8, 9, 10, 12, 13, 18, 19, 26, 27, 30}	132	QRHEKKYDPSA ^{1, 2, 4, 7}
118	PEPQAILPLRALPP ^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 12, 13}	133	AEDHVKTSADGQT ^{1, 2, 7, 8, 13}
119	PNmEmLLKVIYE ^{1, 2, 4, 5, 7, 9, 11, 17}	134	DHEAVKTIWYIP ^{1, 2, 4, 7, 8}
120	LIYPYEPWRFK ^{1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 13, 17, 29}	135	TVHPPFAGDYVR ^{1, 2, 3, 8, 14}
121	KVDNIL ^{1, 2, 5, 13}	136	EmLTGMKPIEHG ^{1, 2, 4, 6, 7}
122	ARRAPEPRRLH ^{1, 2, 3, 8, 10, 13, 18, 19, 26, 27}		
123	LIKGPAVQVTYIG ^{1, 2, 3, 4, 15, 16}		
124	LLVPEKNARYR ^{1, 2, 3, 4, 5, 8, 9, 11, 13}		
125	QVLLPQQLPLLP ^{1, 2, 4, 5, 9, 11, 12}		

¹Péptidos secuenciados por UPLC-ESI-MS/MS. Las posibles actividades se obtuvieron de la base de datos BIOPEP (<https://biochemia.uwm.edu.pl/biopep-uwm/>) y se le atribuye al péptido completo o a algún fragmento de él. Los aminoácidos se presentan en nomenclatura de una letra. Donde los superíndices indican las actividades biológicas: ¹ inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina, ² inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, ³ inhibidor de la dipeptidil peptidasa III, ⁴ antioxidante, ⁵ estimulante de la captación de glucosa, ⁶ hipouricémico, ⁷ inhibidor de la glutamato carboxipeptidasa, ⁸ inhibidor de α -glucosidasa, ⁹ inhibidor de lactocepina, ¹⁰ inhibidor de la enzima tripeptidil peptidasa II, ¹¹ inhibidor de la citosol alanil aminopeptidasa, ¹² inhibidor de renina, ¹³ neuropéptido, ¹⁴ regulador de la membrana mucosa del estómago, ¹⁵ antiamnésico, ¹⁶ antitrombótico, ¹⁷ inhibidor de la ligasa tubulina-tirosina, ¹⁸ inhibidor de leucociltransferasa, ¹⁹ antibacterial, ²⁰ hipotensivo, ²¹ anticáncer, ²² inhibidor de neurolisina, ²³ estimulante de sustancias vasoactivas, ²⁴ inmunoestimulante, ²⁵ tóxico, ²⁶ antiviral, ²⁷ hemolítico, ²⁸ inhibidor de PAM, ²⁹ antiinflamatorio, ³⁰ inhibidor de calpaína, ³¹ inhibidor de fosfatasa alcalina, ³² hipolipidémico, ³³ inhibidor de α -amilasa, ³⁴ opioide, ³⁵ péptido sintético, ³⁶ regulador de la fosfoglicerato cinasa, ³⁷ inhibidor de lipasa pancreática, ³⁸ inmunomodulador, ³⁹ inhibidor de alanina carboxipeptidasa, ⁴⁰ inhibidor de fosfolipasa A2, ⁴¹ inhibidor de la secreción de insulina, ⁴² antagonista de opioide.