

## RESUMEN

Las semillas del olivo contienen grandes cantidades de proteínas de Almacenamiento de semillas (SSPs) caracterizadas como globulinas de tipo 11S, similares a leguminas. Las leguminas son proteínas muy relevantes en procesos vitales para la planta. Además, tienen gran importancia en nutrición animal y humana, aunque se ha descrito su implicación en alergia alimentaria. La presencia de las SSPs de tipo 11S ha sido también detectada en algunos residuos sólidos de la industria oleícola. En un primer paso para estudiar el potencial de estas proteínas como fuente de carbono y nitrógeno para alimentación animal, hemos investigado los perfiles proteicos de tres productos del procesado de huesos procedentes del deshuesado en una almazara: fragmentos de endocarpio y semillas (producto 1), semillas enteras (producto 2) y el residuo sólido resultante de la extracción de aceite de semillas (producto 3). El análisis de los perfiles reveló una abundante cantidad de proteínas 11S en los tres productos, que se confirmó mediante inmunoblotting. Los experimentos fueron realizados tanto en condiciones desnaturizantes y no reductoras (que revelan la existencia de dos precursores Pre1 y Pre2, de 47.5 y 41 kDa) como desnaturizantes y reductoras (que son capaces de resolver 5 péptidos p1 a p5, con tamaños de 20, 22.4, 23.5, 27 y 30 kDa). Análisis similares de los extractos proteicos de los productos 1, 2 y 3 tras ser sometidos a tripsinólisis y pepsinólisis, mostraron que tanto los precursores Pre1 y Pre2 como los péptidos p1 a p5 son degradados por los enzimas prácticamente en su totalidad y en un corto periodo de tiempo. La acción de los enzimas también produce una degradación visible mediante técnicas histológicas de las proteínas 11S acumuladas en cuerpos proteicos en el endospermo del olivo. La alergenicidad potencial de las SSPs de tipo 11S del olivo ha sido también analizada con la ayuda de sueros de pacientes alérgicos a diversos frutos secos. Los sueros fueron usados en experimentos de inmunomarcado y de ELISA, que en ambos casos demostraron la disminución de la reactividad de éstos a las proteínas 11S tras tripsinólisis y peptinólisis. Los resultados obtenidos indican que las proteínas 11S son fácilmente digeribles, representando por tanto ingredientes potenciales para alimentación animal.

**Palabras clave:** olivo, *Olea europaea* L, s emillas, globulinas 11S, tripsina, pepsina, ELISA, inmunoreactividad, alergia.

## **ABSTRACT**

Olive seeds contain large amounts of seed storage proteins (SSPs) characterized as globulins of the 11S type, similar to legumins. Legumins are relevant proteins for living processes in plants. Moreover, they are important ingredients for animal and human nutrition, although they have been involved in food allergy. The presence of SSPs of the 11S type has been detected in several solid residues produced by industries of oil production. As a first step to analyze the potential of these proteins like carbon and nitrogen sources for animal feeding, we have investigated the protein profiles of three products originated after processing of olive stones obtained by de-stoning fruits in a olive processing industry: endocarp and seed fragments (product 1), whole seeds (product 2) and the solid residue resulting from the extraction of oil from seeds (product 3). Analysis of the protein profiles revealed the presence of a large amount of 11S proteins in the three products, which was confirmed by immunoblotting. The experiments were performed under denaturing, non-reducing conditions (which revealed the presence of two precursors Pre1 and Pre2, of 47.5 y 41 kDa) and under denaturing, reducing conditions (which are able to resolve 5 peptides p1 to p5, with sizes of 20, 22.4, 23.5, 27 y 30 kDa). Similar analysis of the protein extracts from products 1, 2 and 3 after trypsinolysis and pepsinolysis, displayed that both the precursors Pre1 and Pre2 and the peptides p1 to p5 are practically degraded in a short period of time. The action of the enzymes also produced a degradation of the 11S proteins accumulated in protein bodies in the olive endosperm which was visible by using histological techniques. Potential allergenicity of the olive SSPs of the 11S-type was also analyzed by using the sera from patients allergic to dry fruits. Sera were used in immunoblotting and ELISA experiments, which were able to demonstrate a diminishment of sera's reactivity to the 11S proteins after trypsinolysis and pepsinolysis. The results obtained indicate that the 11S proteins are easily digested, therefore representing potential ingredients for animal feeding. .

**Key words:** olive, *Olea europaea* L, seeds, 11S globulins, trypsin, pepsin, ELISA, immunoreactivity, allergy.

## RÉSUMÉ

Les graines d'olivier contiennent de grandes quantités de protéines de réserve (SSPs) caractérisées comme globulines de type 11S, similaires aux légumineuses. Elles sont des protéines très importantes au processus vitales des plantes. Elles ont aussi une grande importance dans la nutrition animale et humaine, malgré qu'ils ont décrit leur implication en allergie alimentaire. La présence des SSPs de type 11S a été aussi détectée dans certains résidus solides de l'industrie oléicole. Dans une première étape et pour étudier le potentiel de ces protéines comme source de carbone et d'alimentation en azote, nous avons étudié les profils protéiques de trois produits transformés provenant de dénoyautage des olives dans l'huilerie : fragments d'endocarpe et des graines (produit 1), graines entières (produit 2) et le résidu solide résultant de l'extraction de l'huile de graines (produit 3). l'analyse des profils protéiques révèlent une abondance de protéines 11S dans les trois produits, ce que a été confirmé par les immunoblots. Les expériences ont été réalisées à la fois sous des conditions de dénaturation et de non réduction (qui révèlent l'existence de deux précurseurs pre1 et pre2, de 47,5 kDa et 41 kDa) et de dénaturation et de réduction ( qui sont capables de résoudre 5 peptides de p1 à p5, de poids moléculaires de 20, 22,4, 23,5, 27 et 30 kDa). Des analyses similaires des extraits protéiques de produit 1, 2 et 3 après avoir été soumis à tripsinolyse et pepsinolyse, ont montré que les deux précurseurs pre1 et pre2 ainsi que les 5 peptides p1 à p5 sont presque entièrement dégradés par les enzymes pendant une courte période de temps. L'action des enzymes produit également une dégradation visible en utilisant des techniques histologiques des protéines 11S accumulées dans les corps protéiques de l'endosperme de l'olive. L'allergénicité potentielle des SSPs de type 11S de l'olivier a également été analysée à l'aide de sérums de patients allergiques aux fruits secs. Les sérums ont été utilisés dans des expériences immunomarquage et de ELISA, les deux cas, ont montré la diminution de la réactivité de ces protéines 11S après tripsinolyse et pepsinolyse. Les résultats indiquent que les protéines 11S sont faciles à digérer, ce qui représente que sont des ingrédients potentiels pour l'alimentation animale.

**Mots-clés:** l'olivier, *Olea europaea* L, graines, globulines 11S, tripsine, pepsine, ELISA, immun réactivité, allergie.