



XXIII Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CE-051 (ID: 871)

Autor: Bustillo, Soledad

Título: Adaptación del método de difusión en gel para la detección de pepsina gástrica de pacú (Piaractus mesopotamicus Holmberg, 1887)

Director:

Palabras clave: pacú, pepsina, extractos gástricos, Piaractus mesopotamicus

Área de Beca: Cs. Naturales Y Exactas

Tipo Beca: Evc - Cin

Periodo: 01/04/2017 al 01/04/2017

Lugar de trabajo: Facultad De Cs. Exactas Y Naturales Y Agrimensura

Proyecto: (14F010) Proteasas digestivas de Piaractus mesopotamicus (pacú). Su aislamiento y caracterización.

Resumen:

La piscicultura ha despertado interés a nivel mundial desde hace más de 30 años. En la región NEA esta actividad ha venido incrementándose en los últimos años con especies nativas como el pacú (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887). El procesamiento del pescado genera una gran cantidad de residuos, en su mayoría vísceras, que son una fuente potencial de enzimas digestivas como la pepsina, proteasa que posee aplicabilidad en la industria y un gran valor de comercialización.

El objetivo de este trabajo fue la optimización de un método sencillo para la detección y semi-cuantificación de pepsina en extractos obtenidos a partir de mucosa gástrica de pacú. Los ejemplares fueron proporcionados por la Estancia "La Elina" (Riachuelo, Corrientes). La preparación de los extractos gástricos se realizó a partir de la digestión mecánica y sonicado de la mucosa de los estómagos del pacú en buffer Tris pH 2. Luego de centrifugar 5 min a 10000 rpm, se recogió el sobrenadante y se conservó a -20°C hasta la ejecución de los ensayos. La semi-cuantificación del contenido de pepsina se realizó empleando geles de caseína-agar. Brevemente, se prepararon dos soluciones, una en la que se disolvió el agar agar (1.5% P/V) en agua destilada y otra de caseína (13g leche Svelty Nestlé/100mL buffer Tris) disuelta en buffer glicina-HCl pH2 (1:4) a 37°C. Los geles de 5mm de espesor se prepararon mezclando partes iguales de ambas soluciones, se los dejó enfriar y se efectuaron los pocillos de 4mm de diámetro. Se sembraron 15 µL de las muestras a ensayar y se midió el halo de lisis luego de 24h a 37°C. En primer lugar se realizó una curva de calibración utilizando pepsina porcina comercial como patrón (0.1-3mg/mL, Sigma-Aldrich). Se graficó el diámetro de los halos en función del log₂ de las concentraciones para su linealización. Esto permitió luego poder calcular las concentraciones de pepsina presentes en las soluciones de extracto ensayadas (extracto puro y diluciones hasta 1/8) a través de los halos exhibidos a las 24h (Tabla 1 y Fig. 2). Por último, se pudo determinar gráficamente la sensibilidad de este método, es decir la mínima concentración de enzima detectable: 5x10⁻⁵ mg/mL. Así, este método sencillo permitirá determinar la presencia de pepsina y su semi cuantificación en muestras obtenidas durante los futuros procesos de purificación de la enzima con un consumo mínimo de muestra.