



## **XXVII Comunicaciones Científicas y Tecnológicas**

Orden Poster: CE-047 (ID: 2427)

**Autor:** Medina, Daiana Mailen

**Título:** Hidrolizados de caseína y colágeno con tripsina aislada de palometa (*Pygocentrus nattereri*).

Director: Pellegrini Malpiedi, Luciana

Co-Director: Leiva, Laura Cristina Ana

Palabras clave: palometa, colágeno, caseína, antioxidante, tripsina.

Área de Beca: Cs. Naturales Y Exactas

Tipo Beca: Conicet

Periodo: 01/04/2020 al 31/03/2025

Lugar de trabajo: Iquia Nea - Inst. De Química Básica Y Aplicada Del Nordeste Argentino

Proyecto: (19F013) Potencial uso industrial de extractos enzimáticos de vísceras de peces nativos del NEA

### **Resumen:**

En los últimos años, existe un interés creciente por los péptidos bioactivos derivados de proteínas alimentarias debido a sus numerosas actividades biológicas y sus efectos beneficiosos para la salud, entre ellas, la actividad antioxidante. El estudio de esta propiedad tiene un especial interés siendo muy buscada para fines industriales. Por otra parte, las industrias procesadoras de pescado generan una gran cantidad de subproductos dentro los cuales se encuentran las vísceras, fuentes potenciales de enzimas digestivas con actividad proteolítica, entre ellas la tripsina, que pueden ser utilizadas para la producción de hidrolizados biológicamente activos. Los hidrolizados de colágeno y caseína (proteínas abundantes en el reino animal) generan péptidos con múltiples aplicaciones en la industria alimentaria y farmacéutica. Es por ello que el objetivo de este trabajo fue emplear tripsina aislada de los ciegos pilóricos de *Pygocentrus nattereri* (palometa) para la obtención de hidrolizados de colágeno y caseína, para luego evaluar la capacidad antioxidant de los péptidos resultantes. Para lo cual, se purificó la tripsina a partir del extracto obtenido de los ciegos pilóricos (cromatografía de afinidad) y se obtuvo colágeno (extracción con ácido acético 0,5 M) de la piel de palometa. La solución de caseína al 1% se preparó en buffer PBS pH 7,0. La hidrolisis de los sustratos (colágeno y caseína) se realizó incubándolos con la tripsina aislada a 37°C y extrayendo alícuotas a diferentes tiempos; la reacción se detuvo por calentamiento (5 min a 100°C). Los productos obtenidos se analizaron siguiendo el perfil electroforético de las bandas de las proteínas y de sus hidrolizados (SDS-PAGE 12%), analizando la concentración proteica (método de Bradford) y la actividad antioxidant (reacción de Fenton). Los datos (n=3) se analizaron estadísticamente utilizando software InfoStat (ANOVA-Test de Tukey, p<0.05). Los resultados obtenidos constataron la capacidad de la enzima para hidrolizar colágeno y la caseína. En el análisis del gel SDS-PAGE del colágeno presentó un patrón de bandas (beta, alfa1 y alfa2) característico del colágeno tipo I, mientras que el patrón correspondiente a sus hidrolizados evidencio que, al aumentar el tiempo de incubación, disminuye la intensidad de la banda beta, desapareciendo por completo con 24 horas de reacción. Mediante la determinación de la concentración proteica de las mezclas de péptidos obtenidos, se constató que el porcentaje de proteína hidrolizada incrementa conforme lo hace el tiempo de reacción, estabilizándose en un 49% entre los 15 a 60 min de incubación. En cuanto a la actividad antioxidant del colágeno y sus hidrolizados (concentración de 0,0075 mg/mL), se observó que luego de 30 min de hidrólisis ya se obtiene una mezcla de péptidos con una mayor capacidad antioxidant que la de la proteína inicial. En cuanto al análisis de estos resultados se concluye que, si bien la hidrolisis del colágeno progresó conforme lo hace el tiempo de contacto enzima/sustrato, la población de péptidos con capacidad antioxidant no se ve modificada. Con respecto a la acción de la tripsina sobre caseína (a 37°C por 2horas) se observó en el gel electroforético un patrón de bandas alfa-s1-CN, beta-CN y kappa-CN para la proteína y el mismo perfil en el tiempo 0, para la mezcla de reacción. En el resto de los tiempos ensayados, la ausencia de bandas permitió constatar la hidrólisis completa de la caseína. Por otra parte, se observó un incremento del porcentaje de caseína hidrolizada en función del tiempo de incubación. Además, se evidenció que la capacidad antioxidant de las mezclas de péptidos obtenidas a tiempos cortos de reacción (entre 15min y 1h) es baja e incluso menor que la caseína, revirtiéndose luego de 2h de incubación en la que se obtuvo hidrolizados con una mayor capacidad antioxidant respecto a la exhibida por la proteína original. Concluyendo que en este trabajo se pudo comprobar que la tripsina aislada de los ciegos pilóricos de palometa es capaz de degradar parcial y totalmente el colágeno y la caseína respectivamente en las condiciones ensayadas, generando péptidos con capacidad antioxidant superior a la de la proteína original. Estos resultados preliminares abren la posibilidad de futuros estudios para optimizar condiciones de hidrólisis e identificar los péptidos que exhiben esta atractiva propiedad.