



XXII Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CE-085 (ID: 490)

Autor: Acevedo Gomez, Antonella

Título: Actividad y estabilidad enzimática de la pepsina de sábalo, su comparación con la pepsina porcina

Director:

Palabras clave: Prochilodus lineatus, proteasas, mucosa estomacal, extracto enzimático

Área de Beca: Cs. Naturales Y Exactas

Tipo Beca: Beca De Otro Organismo Cyt Desarrollados En La Unne

Periodo: 01/04/2014 al 01/04/2018

Lugar de trabajo: Imit - Inst. De Modelado E Innovación Tecnológica

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

Resumen:

El sábalo (*Prochilodus lineatus*) es la especie de interés comercial más abundante en la cuenca del Río Paraná-Paraguay (60% de la biomasa ictícola), se exporta a países limítrofes congelado, entero y eviscerado. Esto genera una gran cantidad de vísceras como desechos (5% del peso del pescado) cuya disposición final actualmente provoca problemas ambientales, pero que son una fuente potencial de varias enzimas de interés industrial, particularmente de proteasas ácidas. La pepsina (principal enzima digestiva) es una proteasa ácida ampliamente utilizada que se obtiene principalmente del cerdo; sin embargo, países elevado desarrollo ictícola han iniciado estudios para aislar y caracterizarla a partir de vísceras de diferentes peces. El objetivo de este trabajo fue estudiar la actividad y estabilidad enzimática del extracto crudo extraído de la mucosa estomacal del sábalo y comparar los resultados con los obtenidos a partir de pepsina porcina comercial. Para ello la mucosa fue sometida a tratamiento mecánico con buffer 0,1 M glicina-HCl pH 2 para extraer y activar la pepsina; a su vez se emplearon soluciones de 0,5mg de pepsina porcina comercial/mL de buffer glicina-HCl pH 2. Para evaluar la actividad se empleó solución de hemoglobina como sustrato, según el método de (Anson y Mirsky, 1932). Se determinó el efecto del pH sobre la actividad del extracto crudo y la pepsina porcina empleando soluciones de hemoglobina preparadas con diferentes buffers cubriendo un rango de pH de 1 a 8. El efecto de la temperatura se evaluó midiendo la actividad enzimática de las muestras en un rango de 0 a 80°C. La estabilidad de la enzima frente al pH se estudió incubando las enzimas a distintos pH (1.0-8.0) durante 120 min, para luego medir su actividad. Para determinar la estabilidad de la enzima frente a la temperatura se ensayó la actividad de las muestras previamente incubadas a diferentes temperaturas (0°C a 80°C) durante 120 min. Por último, la estabilidad térmica en el tiempo se analizó incubando el extracto crudo y la pepsina porcina a 4, 37 y 60°C durante 8h; cada 2 horas se extrajeron muestras y se les determinó la actividad. Todos los experimentos se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como actividad relativa porcentual. La evaluación del efecto del pH evidenció que el pH óptimo de actividad pepsínica exhibida por el extracto gástrico, se encuentra en un valor cercano a 2, similar a los obtenidos para extractos crudos registrados en la literatura; la pepsina porcina mostró el mismo comportamiento. En cuanto al efecto de la temperatura, se observó un máximo de actividad catalítica exhibida por el extracto a 45°C, diferente al que presentó la enzima porcina (60°C). Concordante con el perfil de estabilidad que presenta una pepsina típica, tanto la pepsina porcina como el extracto gástrico de sábalo mostraron ser estables en el rango de pH 1.0-5.0, con una actividad residual superior al 95%. Por otra parte, la pepsina presente en el extracto crudo mostró ser estable hasta temperaturas cercanas a los 40°C, por encima de la cual se desnaturaliza, mientras que la pepsina porcina fue estable hasta los 60°C. Al evaluar la estabilidad en el tiempo, la pepsina del extracto de sábalo mostró ser estable a 4 y 37°C a lo largo de 8h de incubación, sin embargo perdió su actividad luego de ser incubada 2h a 60°C. En cambio, la pepsina porcina tiene una alta estabilidad a 60°C hasta 7h de incubación. Los resultados obtenidos permiten determinar las mejores condiciones para manipular y purificar la pepsina de sábalo presente en un extracto crudo, sin que se vea afectada su actividad enzimática. Así, medios con pH por debajo de 4 y condiciones ambientales inferiores a 37°C, aseguran la estabilidad de esta enzima aún en períodos prolongados. Por otro lado, la máxima actividad catalítica se detectó a pH cercanos a 2 y temperaturas de incubación del orden de los 40°C. Cabe destacar que, la mayor sensibilidad al calor de la pepsina de sábalo con respecto a la pepsina porcina, le otorga interés tecnológico al posibilitar su rápida inactivación térmica durante un proceso industrial.