



XXII Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CE-081 (ID: 369)

Autor: Gomez, Gabriela Noemi

**Título: CARACTERIZACION PRELIMINAR DE
EXTRACTO TRIPTICO DE CIEGOS PILORICOS
DE *Piaractus mesopotamicus* (pacú)**

Director:

Palabras clave: serinoproteasas, tripsina, BAPNA, termoestabilidad

Área de Beca: Cs. Naturales Y Exactas

Tipo Beca: Cofinanciadas Doctorales

Periodo: 01/04/2014 al 09/07/2016

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

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

Resumen:

Las vísceras de pescados constituyen el desecho mayoritario dentro de la actividad ictícola, pero a la vez son una fuente potencial de enzimas digestivas. Particularmente, la tripsina tiene un alto valor comercial, y es de uso muy difundido tanto en investigación científica como en industrias agroalimentarias, químicas, farmacéuticas y curtiembres. Actualmente la mayor parte de la tripsina comercial es de origen bovino y porcino, obteniéndose la del duodeno y/o del páncreas. Países con alto desarrollo de la pesca han iniciado estudios de aislamiento y caracterización de estas enzimas a partir de vísceras de peces. No existe hasta la fecha estudios sobre estas enzimas en pacú, siendo ésta una especie autóctona cuyo cultivo ha venido incrementándose en forma sostenida en los últimos años en el nordeste argentino. El objetivo de este trabajo fue caracterizar un extracto de ciegos pilóricos de *Piaractus mesopotamicus* (pacú) a fin de hallar las condiciones óptimas de actividad y estabilidad de actividad tripsina presente, que luego permitan abordar el aislamiento y purificación de esta proteína.

Muestra. Se colectaron ciegos pilóricos de ejemplares de pacú en bolsas de plástico selladas y se mantuvieron a -20 °C hasta su utilización.

Preparación del extracto. El tejido fue disgregado con buffer Tris-HCl 50mM, NaCl 0.5mM, CaCl₂ 20mM, pH 7.8, sonificado y luego centrifugado, recogiendo el sobrenadante para estudios ulteriores.

Actividad tripsina. Se determinó sobre el sustrato cromogénico BAPNA (N^ε-benzoyl-L-arginina-p-nitroanilida), siguiendo la reacción por medición de la absorbancia a 410 nm a través del tiempo en una lectora de microplacas termostatizada a 30°C. Mediante este ensayo se realizaron los siguientes estudios cinéticos: - Efecto del pH sobre la actividad enzimática: empleando diferentes soluciones reguladoras (pH 1-12) como medios para la disolución de sustrato (BAPNA). - Estabilidad de la enzima frente al pH: preincubando el extracto en distintos medios de pH (1 a 12), durante 120 min, antes de realizar el ensayo de actividad BAPNA. - Estabilidad de la enzima frente a la temperatura: incubando el extracto a diferentes temperaturas (0°C a 75°C), durante 120 min, previamente a la realización de actividad BAPNA residual.

Actividad proteolítica sobre azocaseína. Se empleó para determinar la termoestabilidad del extracto en el rango 0-75°C.

En todos los casos, se estimó una actividad enzimática relativa (%) considerando 100% a la mayor actividad detectada en el ensayo.

La enzima en el extracto presentó su máximo de actividad a pH alcalinos (8-9). Al ser incubada en medios de distintos pH, se observó que ésta conserva su actividad a pH 8-10, disminuyéndola marcadamente por debajo y por encima de estos valores. La temperatura influyó en la actividad y estabilidad de las tripsinas. Al evaluar el efecto de esta variable, se halló que la actividad óptima fue a 45°C. Evaluada la termoestabilidad, se determinó que la enzima conserva su actividad luego del tratamiento térmico en el rango 0-45°C, e incluso se exalta luego de ser sometida a tratamiento térmico 40-45°C, para perderla por completo a 75 °C.

El perfil hallado para la tripsina en estudio es consistente con lo hallado en la bibliografía para tripsinas de otras especies ictícolas.

La caracterización parcial de extracto de ciegos pilóricos de pacú muestra el comportamiento enzimático típico de la tripsina, aportando información que serán tenidos en cuenta en el control de las condiciones óptimas para manipular esta enzima en procesos de purificación, conservando su actividad.