EXTRACCIÓN LíQUIDO–LíQUIDO DE PROTEASAS PROVENIENTES DE VÍSCERAS DE *PYGOCENTRUS NATTERERI*

Medina, D.M.[1,2,3]; Ramos, R.[1], D´Alessandro, J.I. [1,2]; Bustillo, S[3]; Woitovich Valetti, N.[1,2]; Pellegrini Malpiedi, L

[1]Laboratorio de Investigación y Desarrollos Biotecnológicos (FBioyF-UNR), Rosario, Santa Fe, Argentina.
[2]Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, CCT- Rosario.
[3]Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura (UNNE), Ciudad de Corrientes, Corrientes, Argentina

Contacto: lmalpiedi62@gmail.com

Palabras claves: proteasas, palometa, sistemas bifásicos.

INTRODUCCIÓN

El modelo económico lineal ha favorecido históricamente un uso intensivo de los recursos naturales, incrementando la generación de residuos y el impacto ambiental. Frente a este escenario, la bioeconomía circular promueve la valorización de subproductos como fuente de biomoléculas de alto valor agregado. La actividad pesquera y la acuicultura generan grandes volúmenes de descartes, entre ellos las vísceras de peces, que constituyen una fuente promisoria de enzimas (ver Figura 1).

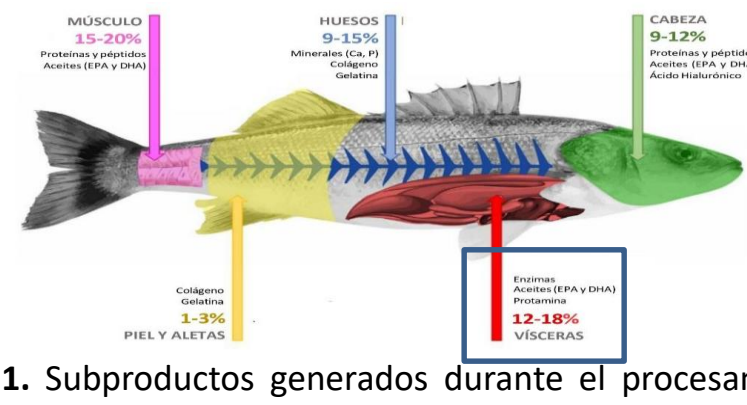


Figura 1. Subproductos generados durante el procesamiento de los peces.

OBJETIVOS

Este trabajo propone la recuperación y caracterización de proteasas obtenidas a partir de vísceras de *Pygocentrus nattereri,* más conocida como palometa (ver Figura 2), empleando sistemas bifásicos acuosos como una estrategia de extracción y purificación biocompatible y sustentable, con potencial aplicación en procesos biotecnológicos e industriales.

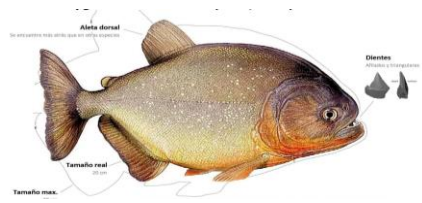


Figura 2. *Pygocentrus nattereri* (Kner, 1858).

METODOLOGÍA / MATERIALES Y MÉTODOS

- Los extractos proteicos fueron obtenidos a partir de ciegos pilóricos y mucosa gástrica mediante homogeneización, extracción asistida por ultrasonido y centrifugación. Los sobrenadantes fueron conservados a −20 °C hasta su utilización.
- Para la extracción líquido-líquido se evaluaron diferentes sistemas bifásicos acuosos (SBAs), constituidos por polietilenglicol (PEG), citrato de sodio (NaCit) y dos líquidos iónicos: [EMIM]Cl y [BMIM]Cl.
- Luego de una incubación de 2 horas a temperatura ambiente, las fases fueron separadas y utilizadas para medir proteínas totales y actividad enzimática
- Los sistemas que presentaron mejor selectividad entre proteasas y proteínas totales, estimada como el cociente entre sus coeficientes de reparto, fueron caracterizados mediante electroforesis SDS-PAGE.

RESULTADOS y DISCUSIÓN

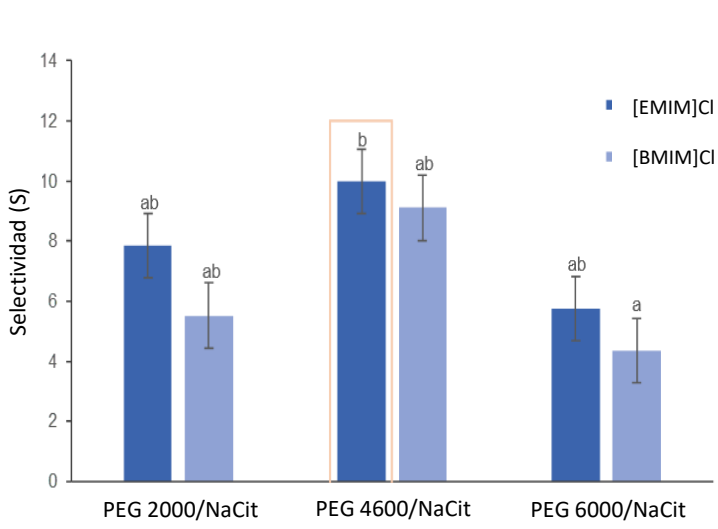


Figura 3. Las proteasas del extracto crudo de ciegos pilóricos, enriquecidas en tripsina, mostraron una partición preferencial hacia la fase superior de los sistemas bifásicos acuosos, respecto a las proteínas totales. La mayor selectividad entre ambos tipos de proteínas se observó para el sistema PEG 4600/[EMIM]Cl.

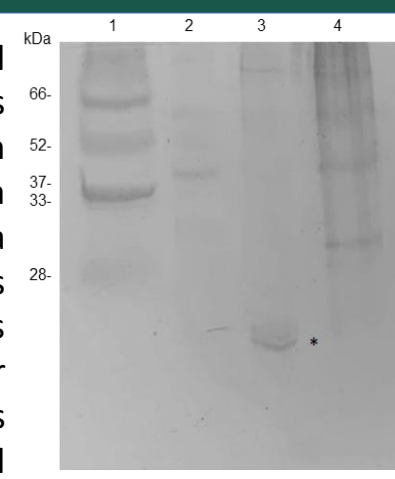


Figura 4. El análisis por SDS-PAGE confirmó que este sistema concentró la enzima de interés (~23 kDa) en la fase superior, separándola de la mayoría de las proteínas contaminantes.

Calle 1: Marcador de peso molecular (kDa).
Calle 2: Extracto crudo de ciegos pilóricos.
Calle 3: Fase superior del sistema PEG 4600/[EMIM]Cl.
Calle 4: Fase inferior del mismo sistema.

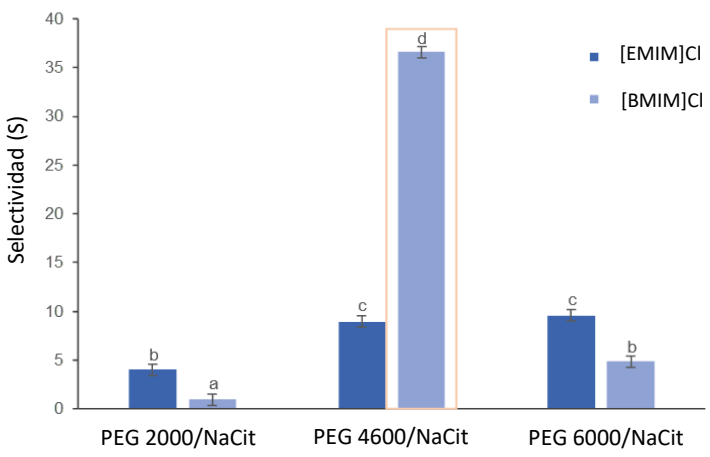


Figura 5. En el extracto crudo de mucosa gástrica se recuperaron enzimas tipo pepsina en la fase superior de los sistemas ensayados. Dicho comportamiento de reparto fue notoriamente sensible a la composición del sistema. La mayor selectividad se alcanzó en el sistema EG 4600/[BMIM]Cl.

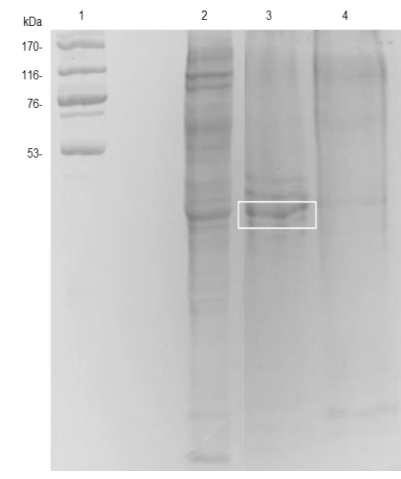


Figura 6. El análisis electroforético corroboró la recuperación de proteínas tipo pepsinógenos (35–42 kDa) en la fase superior, validando la eficiencia de este sistema para su purificación.

Calle 1: Marcador de peso molecular (kDa).
Calle 2: Extracto crudo de ciegos pilóricos (ECcp).
Calle 3: Fase superior (F_{sup}) del sistema PEG 4600/[BMIM]Cl.
Calle 4: Fase inferior (F_{inf}) del sistema.

CONCLUSIONES

Se concluye que los sistemas bifásicos acuosos PEG/citrato/líquidos iónicos permitieron la recuperación selectiva y parcial de proteasas en una sola etapa, constituyendo una estrategia biocompatible, sustentable y económicamente viable frente a los métodos convencionales.