

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS

CARACTERIZACIÓN DE PROTEASAS DE BROMELIAS AUTÓCTONAS Y SU APLICACIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE BIOPÉPTIDOS A PARTIR DE PROTEÍNAS ALIMENTARIAS

Salese, Lucia

Bruno, Mariela Anahí (Dir.), Bernik, Delia Leticia (Codir.)

Centro de Investigación de Proteínas Vegetales (CIProVe). Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.

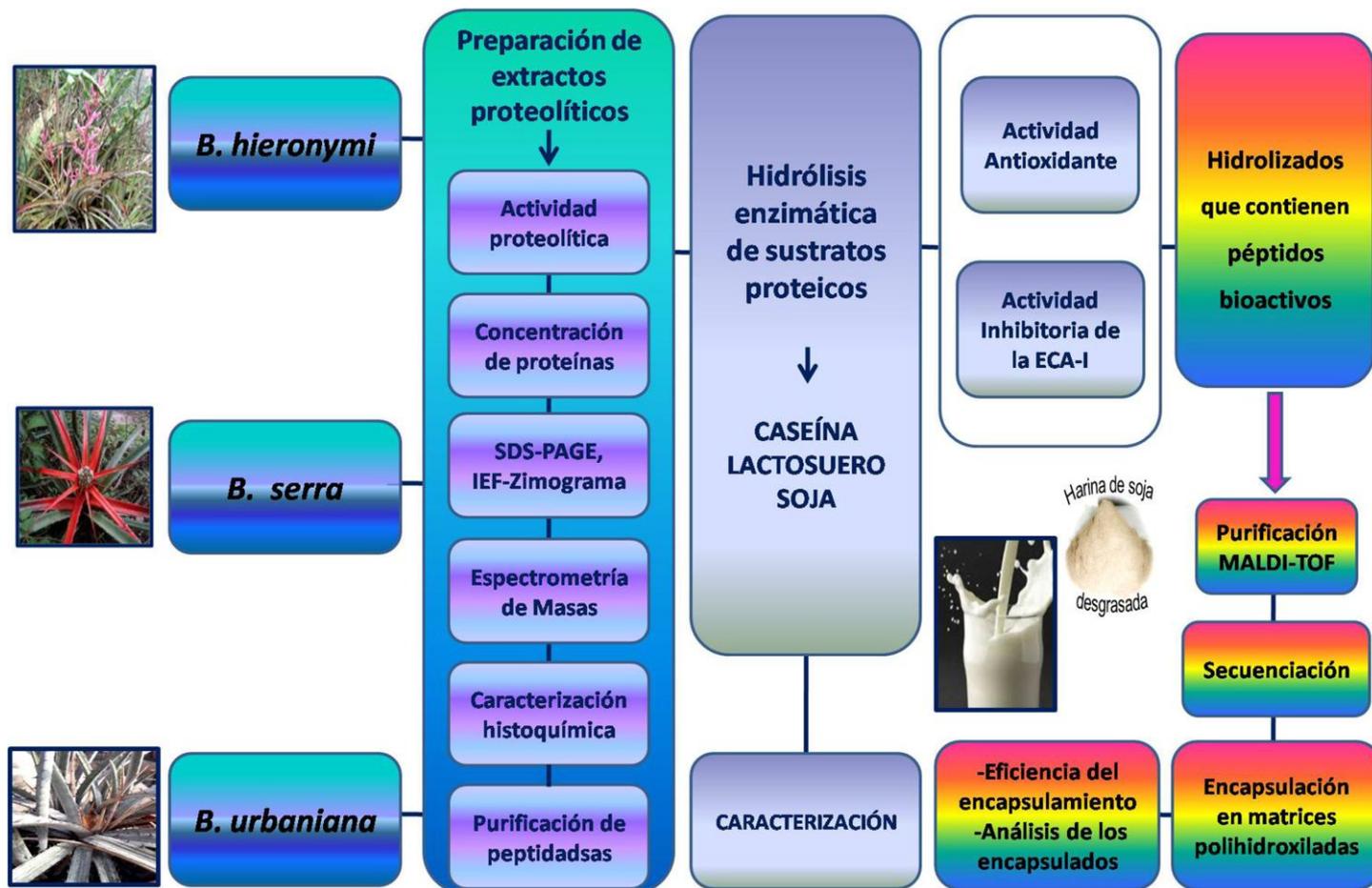
lusalese@gmail.com

PALABRAS CLAVE: Bromeliaceae, Fitopeptidasas, Hidrolizados Proteicos, Péptidos Bioactivos, Encapsulamiento, Actividad Antioxidante, Actividad Antihipertensiva.

CHARACTERIZATION OF PROTEASES FROM NATIVE BROMELIADS AND THEIR APPLICATION IN THE PRODUCTION OF BIOPEPTIDES FROM FOOD PROTEINS

KEYWORDS: Bromeliaceae, Plant Peptidases, Proteins Hydrolysates, Bioactive Peptides, Encapsulation, Antioxidant Activity, Antihypertensive Activity.

Resumen gráfico



Resumen

Numerosas especies vegetales poseen grandes cantidades de proteasas que podrían ser empleadas en biotecnología alimentaria. Nuestro objetivo es obtener, purificar y caracterizar peptidasas de bromelias autóctonas (Bromeliaceae) y emplearlas en la producción de péptidos bioactivos a partir de proteínas alimentarias, con el fin de ser evaluados como posibles componentes en alimentos funcionales y nutracéuticos.

Se obtuvieron diferentes extractos crudos (ECs) a partir de frutos inmaduros y ejes de las infrutescencias de *Bromelia hieronymi*, a partir de frutos de *B. serra* en diferente estado de madurez o por el empleo de diferentes partes de las bayas y, a partir de hojas de *Deinacantho urbanianum* (= *B. urbaniana*).

Los ECs de fruto de *B. hieronymi* fueron los más activos. El EC de hoja de *D. urbanianum* presentó baja actividad caseinólítica (AC), sin embargo, muestra al zimograma una banda muy activa de pI alcalino. Respecto a los ECs de *B. serra*, se seleccionó un extracto de frutos de maduración intermedia por sus valores de AC, con el objetivo de caracterizar y determinar las condiciones óptimas de trabajo.

Se determinó que las proteasas de *B. serra* son de tipo cisteínico, sus masas moleculares están comprendidas entre 23,3-26,6 kDa, y presentan un rango de pH óptimo de 6,3-9,0. Se observó estabilidad térmica por preincubación a 23, 37 y 45 °C, e inactivación luego de 10 min de tratamiento a 75 °C o de 2 min a 100 °C. La mayor actividad esterásica se obtuvo sobre el sustrato N- α -carboboixi-p-nitrofenil éster de L-Ala. Mediante purificación parcial con acetona y etanol se observó que, con cuatro volúmenes de ambos solventes, se recupera más del 90% de AC

respecto del EC. Al menos 4 bandas proteicas fueron observadas al IEF (pIs: 8,4-<3,5), siendo la región alcalina la más activa.

Se emplearon extractos de *B. serra* y *B. hieronymi* para hidrolizar proteínas de lactosuero, caseína y proteínas de soja, a 45 y 55 °C. En todos los casos se observó una degradación progresiva de los tres sustratos y se obtuvieron mayores porcentajes de grado de hidrólisis en los hidrolizados de caseína de 55 °C. Los hidrolizados de lactosuero presentaron los valores más altos de inhibición de la ECA. Por otra parte, se determinó la actividad antioxidante mediante dos variantes del método del ABTS (original y “quencher”), mostrando los mayores valores con el método quencher a 55 °C para los hidrolizados de caseína. Las actividades biológicas fueron más elevadas en los hidrolizados de *B. hieronymi* por lo que fueron seleccionados para su posterior fraccionamiento por exclusión molecular.

Se diseñó un protocolo para encapsular hidrolizados de lactosuero con actividad inhibitoria de la ECA caracterizado por MALDI-TOF. Empleando almidón de mandioca y mediante un procedimiento a bajas temperaturas se generan estructuras resistentes, con el fin de que los péptidos encapsulados no se degraden en la primera porción del tracto gastrointestinal.

Multimedia

<http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/114182>