

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS

EMPLEO DE PEPTIDASAS DE MACLURA POMIFERA (RAF.) SCHNEID (MORACEAE) EN LA LIBERACIÓN DE PÉPTIDOS BIOACTIVOS CON APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

Reyes Jara, Andrea Milagros

Mariela Anahí Bruno (Dir.), Graciela Garrote (Codir.)

Centro de Investigación de Proteínas Vegetales (CIProVe)

andreaeyesjara@biol.unlp.edu.ar

PALABRAS CLAVE: proteasas, hidrolizados, péptidos bioactivos.**USE OF PEPTIDASES FROM MACLURA POMIFERA (RAF.) SCHNEID (MORACEAE) IN THE RELEASE OF BIOACTIVE PEPTIDES WITH APPLICATION IN THE FOOD INDUSTRY**KEYWORDS: proteases, hydrolysates, bioactive peptides.

Resumen gráfico

Maclura pomifera (Raf.) Schneid
(Moraceae)Proteasas serínicas
mayoritarias*Pomiferina II*

63,408 kDa

pI 4,5

 K_M 0,19 mM $V_{máx}$ 0,39 $\mu\text{M}\cdot\text{s}^{-1}$ *Pomiferina I*

63,177 kDa

pI 8,7

 K_M 1,27 mM $V_{máx}$ 42,89 $\mu\text{M}\cdot\text{s}^{-1}$

{ Sustrato: Suc-AAPF-pNA
(ajuste Michaelis-Menten) }

Extracto
enzimático
parcialmente
purificado(11,6 \pm 0,1 Ucas/ml)Harina
desgrasadaHIDRÓLISIS
CONTROLADA

- 45 °C
- 200 rpm
- 180 min
- enzima:sustrato (1:9)

Aislado de
proteínas de
soja(23,4 \pm 0,7 mg/ml)

{ Búsqueda de
péptidos bioactivos }



Resumen

Las catálisis enzimáticas son elegidas por su especificidad, eficiencia, posibilidad de trabajar a distintas temperaturas y pHs, y por constituir así una opción más amigable con el ambiente. Las proteasas constituyen el 60% de las enzimas del mercado, entre ellas, las más empleadas de origen vegetal son: la papaína, la bromelina y la ficina, extraídas de los frutos de papaya (Caricaceae), ananá (Bromeliaceae) e higo (Moraceae), respectivamente. *Maclura pomifera* es una especie arbórea cultivada en nuestro país, cuyos frutos poseen látex rico en peptidasas serínicas que aún no han sido empleadas industrialmente. Estudios previos han demostrado su capacidad para hidrolizar proteínas presentes en leche bovina, clara de huevo y soja.

La generación de hidrolizados proteicos abre un abanico de posibilidades dentro de la industria alimentaria, permitiendo desarrollar formulaciones para dietas especiales, modificar propiedades funcionales y generar cambios de aroma y sabor. En los últimos años, además, se ha estudiado la generación de péptidos bioactivos, es decir, fragmentos de proteínas específicas que impactan positivamente en el funcionamiento del organismo al ser consumidos. Algunas de las actividades reportadas son la anticancerígena, inmunomoduladora, hipocolesterolémica, antioxidante, antihipertensiva, entre otras. Los péptidos bioactivos pueden ser obtenidos a partir de fuentes proteicas convencionales, así como alternativas.

Mediante el plan de trabajo presente se pretende estudiar la generación

de péptidos bioactivos en hidrolizados de harina desgrasada de soja empleando proteasas presentes en el látex de *M. pomifera*. A su vez, también se intentará purificar y caracterizar la segunda proteasa en abundancia presente.

Los ensayos realizados hasta la fecha permiten informar que fue posible realizar un aislado de proteínas de soja ($23,4 \pm 0,7$ mg/ml) e hidrolizarlas con un extracto parcialmente purificado de proteínas de látex de *M. pomifera* ($11,6 \pm 0,1$ Ucas/ml). Las condiciones de reacción fueron de 45 °C en agitación a 200 rpm, en una relación 1:9 (enzima:sustrato) durante 180 min, tomando alícuotas a distintos tiempos. La reacción se detuvo por incubación a ebullición durante 7 min. Se puede observar por SDS-PAGE que, luego de 10 min de hidrólisis, las bandas correspondientes a las proteínas mayoritarias de la soja (glicinina y β -conglucina) desaparecieron casi por completo, y se alcanzó un grado de hidrólisis de 10% luego de 180 min (método OPA). Por otro lado, fue posible aislar por cromatografía de intercambio aniónico, la segunda proteasa en abundancia presente en el látex, que presenta un pI de 4,5 y una masa molecular de 63,408 kDa, determinada por MALDI-TOF MS. La misma fue denominada Pomiferina II y caracterizada cinéticamente con el sustrato Suc-AAPF-pNA, obteniéndose un KM de 0,19 mM y una Vmáx de 0,39 μ M.s⁻¹. Los estudios respecto de la generación de compuestos bioactivos en estos hidrolizados continúan en curso.