



# XI Congreso Argentino **QUÍMICA ANALÍTICA**

Corrientes / Argentina 2021

## **LIBRO DE RESÚMENES**

XI Congreso Argentino de Química Analítica  
30 de Noviembre al 03 de Diciembre 2021  
Corrientes - Argentina  
Modalidad Virtual

Congreso Argentino de Química Analítica

XI Congreso Argentino de Química Analítica : libro de resúmenes / compilación de Sergio Sebastián Samoluk ; César Adrián Lezcano ; coordinación general de Juan Daniel Ruíz Díaz ; dirigido por Roberto Gerardo Pellerano ; editado por Melisa Jazmin Hidalgo; Roxana María Itatí Goyechea ; Adriana Lucía Moresi ; Diana Corina Fechner y Michael Pérez Rodríguez ; ilustrado por Romina Paola Romero. - 1a ed compendiada. - Paso de la Patria : Roberto Gerardo Pellerano, 2022.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online

ISBN 978-987-88-5110-5

1. Química Analítica. I. Samoluk, Sergio Sebastián, comp. II. Lezcano, César Adrián, comp. III. Ruíz Díaz, Juan Daniel, coord. IV. Pellerano, Roberto Gerardo, dir. V. Hidalgo, Melisa Jazmin, ed. VI. Romero, Romina Paola, ilus. VII. Título.

CDD 543.1

# Cribado de los factores que afectan la recuperación de pepsina de surubí utilizando sistemas micelares de dos fases acuosas

Antonella V. Acevedo Gomez<sup>a\*</sup>, Laura Leiva<sup>a</sup>, Soledad Bustillo<sup>a</sup> y Bibiana Nerli<sup>b</sup>

a. IQUIBA-NEA (UNNE/CONICET), Corrientes, Corrientes, Argentina.

b. IPROBYQ (UNR/CONICET), Rosario, Santa Fe, Argentina.

\* e-mail: antonellavag@hotmail.com

Los desechos (vísceras) del procesamiento de pescado pueden emplearse para producir subproductos comercialmente valiosos tales como proteasas e hidrolasas con múltiples aplicaciones en las industrias alimenticias, manufactureras y farmacéuticas. Dentro de ellas, la pepsina es la principal enzima digestiva en el estómago de los animales, se sintetiza y secreta en el epitelio de la pared estomacal bajo su forma inactiva llamada pepsinógeno (PG)<sup>1</sup>.

Aplicaciones como la extracción de colágeno emplean enzimas con un bajo grado de purificación y para obtenerlas podrían utilizarse métodos de recuperación primaria. Las operaciones unitarias más utilizadas en bioprocesos para este fin son la precipitación salina y las extracciones con solventes orgánicos que resultan inconvenientes debido al impacto ambiental que ocasionan, siendo deseable reemplazarlos por métodos de recuperación amigables, sencillos, económicos y sustentables<sup>2</sup>. Los sistemas micelares de dos fases acuosas (SMDFAs) pueden emplearse como herramientas extractivas en reemplazo de solventes orgánicos permitiendo la preservación de biomoléculas lábiles, especialmente manteniendo la estructura tridimensional de las proteínas, evitando su desnaturalización y consecuente inactivación. La extracción líquido-líquido con SMDFAs constituye una estrategia atractiva que integra la clarificación, concentración y purificación de la molécula blanco en una sola operación<sup>3</sup>.

El objetivo de este trabajo fue evaluar los factores que influyen significativamente en la recuperación del pepsinógeno de un extracto gástrico de surubí (*Pseudoplatistoma corruscans*), mediante el uso de sistemas bifásicos micelares acuosos como metodología potencial para su recuperación primaria. Las vísceras de ejemplares de surubí fueron suministradas por miembros del SIVEP (Servicio de Inspección Veterinaria de Pescado), de Corrientes y almacenadas a -20°C hasta su utilización. El extracto crudo (EE) rico en pepsinógeno (PG) se preparó por disgregación mecánica del estómago de surubí empleando buffer fosfato 50mM pH 7 (1:5 g/mL), se centrifugó, se sometió a una precipitación -60% (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-, el precipitado se redisolvió, dializó, liofilizó y se conservó a -20°C hasta su utilización. Con un diseño factorial completo 2<sup>k</sup> se evaluaron los factores que influyen en la recuperación del PG usando SMDFAs constituidos por el surfactante no iónico Genapol 080 (GX-080) y buffer citrato de sodio 100mM trabajando a temperatura de separación de 32°C. Se estudiaron las variables: masa de EE, pH y concentración de GX-080. Las respuestas evaluadas fueron el Rendimiento (R<sub>A/M</sub>%) -actividad proteolítica total del PG recuperado en fase/ actividad total del PG sembrado - y factor de purificación (PF<sub>A/M</sub>) - actividad específica del PG recuperado en fase/ actividad específica del PG sembrado- en las fases de equilibrio pobre (A) y rica en micelas (M) de los sistemas estudiados. Se utilizó el software Design Expert® para diseñar el experimento y analizar sus resultados.

En la tabla 1 se presenta la matriz del diseño con las condiciones de cada experimento y las respuestas obtenidas, hallándose resaltadas aquellas que permitieron los mayores indicadores de recuperación de la enzima (R<sub>M</sub>, %). El ANOVA para el modelo factorial seleccionado arrojó un valor F de 42,68 lo que indica que el mismo es significativo y el R<sup>2</sup> predicho (0,97) es coherente con el R<sup>2</sup> ajustado (0, 95). Para este modelo resultaron significativos (p<0,05): GX-080(%), EE(mg) y la interacción entre estos factores, no así el pH. El contenido de GX-080 tiene un efecto positivo sobre R<sub>M</sub>, mientras que las de EE y la interacción influyen negativamente. El PG se recupera preferentemente en la fase rica en micelas y para mejorar la extracción se debería aumentar la concentración de GX-080 y/o sembrar menor cantidad de EE en el sistema. Esta metodología resulta prometedora como método de recuperación primaria del PG de surubí.

**Tabla 1.** Matriz del diseño factorial completo (2<sup>k</sup>) con condiciones y resultados de la extracción del pepsinógeno.

Std	Run	Block	Factores			Respuestas			
			pH	GX-080 (%)	EE (mg)	FP <sub>A</sub>	FP <sub>M</sub>	R <sub>A</sub> (%)	R <sub>M</sub> (%)
6	1	Bloque 1	7	3	300	1,18	1,18	64	35
5	2	Bloque 1	5	3	300	1,34	0,75	57	36
7	3	Bloque 1	5	6	300	1,25	0,61	63	30
3	4	Bloque 1	5	6	200	1,02	0,92	5	95
8	5	Bloque 1	7	6	300	1,16	0,91	51	41
4	6	Bloque 1	7	6	200	1,12	1,05	13	90
2	7	Bloque 1	7	3	200	1,39	0,73	83	26
1	8	Bloque 1	5	3	200	1,27	0,77	72	39

1. Kageyama T. (2002) *CMLS Cellular and Molecular Life Sciences*, 59 (1), 288-306. / 2. Hari Krishna S, Srinivas ND, Raghavarao KSMS, Karanth NG (2002) *History and trends in bioprocessing and biotransformation*, 119-183. / 3. Contrera Gimenes N, Silveira E, Basile Tambourgí E. (2019) *Separation and Purification Reviews*, 00, 1-21.