**Caracterización de enzimas proteolíticas obtenidas a partir de estómagos de Nototenia *Patagonotothen ramsayi***

Lamas DL (1,2), Alcolea Ersinger VF (2), Massa AE (1,2)

(1) Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras -IIMyC, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas -CONICET, Rodríguez Peña 4046, B7602GSD Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

(2) Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero - INIDEP, Paseo Victoria Ocampo, Escollera Norte 1, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina.

dlamas@inidep.edu.ar

La pesca es una actividad económica de gran importancia y desarrollo a nivel mundial. La tendencia actual de esta industria hacia sistemas productivos sostenibles presenta el desafío de garantizar un equilibrio entre el crecimiento económico, la explotación de los recursos naturales y la preservación del medio ambiente. El aprovechamiento o *up-cycling* de estos residuos para la fabricación de nuevos productos y/o extracción de compuestos bioactivos y funcionales con valor agregado son opciones viables para el desarrollo sostenible de esta actividad. En la actualidad, la extracción de biocatalizadores a partir de residuos pesqueros es una importante alternativa para el aprovechamiento integral de estos recursos. Los organismos marinos poseen enzimas (homólogas a los terrestres), con propiedades ventajosas respecto a su estabilidad térmica, especificidad al sustrato y tolerancia a la sal debido a la adaptabilidad metabólica necesaria para vivir en ambientes extremos y disimiles. En este contexto, el objetivo del presente trabajo fue extraer y caracterizar proteasas alcalinas y ácidas de los estómagos de nototenia (*Patagonotothen ramsayi),* especie marina que habita la plataforma argentina y forma parte de la fauna acompañante de la merluza. Los estómagos de los distintos ejemplares fueron diseccionados, separados, triturados y homogenizados en buffer en una proporción 1:2 p/V. Se utilizó buffer Tris-HCl pH 8 para evaluar enzimas alcalinas y buffer citrato pH 3 para enzimas ácidas. Posteriormente, se realizó una centrifugación a 10000 rpm, 30 minutos y 4ºC. Los extractos crudos obtenidos fueron sometidos a una purificación parcial con sulfato de amonio al 50%, y luego a sucesivas filtraciones con membranas de *cut off* de 30 kDa. La proteína soluble de cada extracto se determinó por el método de Lowry, y la actividad se evaluó mediante la proteólisis de los reactivos azocaseína y hemoglobina como sustrato para las enzimas alcalinas y ácidas, respectivamente. El efecto del pH y temperatura sobre la estabilidad de las proteasas demostró que pH 8 y 44°C son las condiciones ideales para el extracto alcalino, y pH 2 y 50°C las condiciones correctas para el extracto ácido. Los valores de actividad proteolítica obtenidos fueron de 2,60 ± 0,26 Abs⁄min⁄mg proteína en el extracto crudo alcalino, y de 1,38 ± 0,16 Abs⁄min⁄mg proteína en el extracto crudo ácido. Con sulfato de amonio se logró una recuperación de actividad proteolítica mayor al 95% en las enzimas alcalinas y de aproximadamente el 80% en las ácidas. Para determinar el perfil proteico, se realizó electroforesis en gel de SDS-poliacrilamida (SDS-PAGE) y se observaron bandas de peso molecular de aproximadamente 10, 23, 30 y 48 kDa en los extractos alcalinos, y de 23, 25, 35 y 100 kDa en los extractos ácidos. Los resultados obtenidos sugieren que las proteasas recuperadas a partir de los estómagos de Nototenia constituyen una alternativa viable para su revalorización, ya que presentan importantes características catalíticas y podrían ser utilizadas en la elaboración de alimentos, procesos biotecnológicos y de biorremediación.

Palabras Clave: *Patagonotothen ramsayi*, aprovechamiento integral, subproducto pesquero, extracción biocatalizadores.