**Obtención de biopéptidos a partir de proteínas alimentarias mediante el uso de proteasas de *Bromelia serra* Griseb.**

Salese L (1,2), Liggieri CS (1,3), Bernik DL (1,2), Bruno MA (1,2)

(1) Centro de Investigación de Proteínas Vegetales (CIPROVE), 47 y 115, La Plata, Buenos Aires, Argentina

(2) Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina

(3) Comisión de Investigaciones Científicas (CIC), Buenos Aires, Argentina

luciasalese@biol.unlp.edu.ar

Las enzimas proteolíticas pueden ser empleadas para liberar péptidos bioactivos a partir de proteínas alimentarias con la finalidad de producir ingredientes de alimentos que aporten un beneficio a la salud de los consumidores, como sucede con los alimentos funcionales. El objetivo del presente trabajo es caracterizar las proteasas de una especie nativa de la familia Bromeliaceae y emplearlas en la obtención de hidrolizados proteicos con el propósito de buscar nuevas fuentes de biopéptidos. Se obtuvo un extracto enzimático (EE) a partir de frutos de *Bromelia serra* (actividad caseinolítica: 1,17±0,08 Ucas/mL) y se determinó su actividad sobre sustratos sintéticos derivados de N-α-CBZ p–nitrofenil ésteres de aminoácidos (1 mM) con fin de identificar la preferencia de las enzimas presentes en el extracto. Los resultados mostraron que estas enzimas presentan mayor actividad sobre el sustrato derivado de Ala, y le siguieron, en orden de preferencia, Gln, Tyr, Phe y Gly. Los mismos mostraron un porcentaje de actividad mayor al 50% con respecto a Ala (100%). Resulta comparable a lo reportado para un extracto de *Bromelia hieronymi* que también mostró preferencia por el derivado de Ala, seguido por Gly, y Gln. Por otra parte, el EE se purificó parcialmente por precipitación etanólica obteniéndose un extracto denominado PER (precipitado etanólico redisuelto) con una actividad caseinolítica de 0,98 ± 0,09 Ucas/ml. El PER se empleó para hidrolizar caseína bovina (CAS), proteínas de lactosuero bovino (LAC) y aislado proteico de soja (SOJ). Se utilizó una proporción enzima:sustrato de 1:9 y se ensayaron diferentes tiempos de hidrólisis (5-180 min), a 45 y 55 ºC. Se realizó un seguimiento de los productos de hidrólisis mediante tricine-SDS-PAGE observándose una degradación progresiva de los tres sustratos. Se midió el grado hidrólisis (%GH) mediante dos métodos, OPA y TNBS, observándose que comparten dos tendencias: 1) los hidrolizados preparados a 55 ºC presentan mayores %GH si se comparan con los obtenidos a 45 ºC para cada sustrato; 2) los hidrolizados de CAS muestran los %GH más altos (OPA: 24,58±0,98%; TNBS: 27,00±0,66%), seguidos por los de SOJ (OPA: 12,08±0,55%; TNBS: 17,10±0,55%) y por último los de LAC (OPA: 7,90±0,92%; TNBS: 11,90±0,82%). Las determinaciones de actividades biológicas se realizaron mediante el método del ABTS (actividad antioxidante, expresado como mg/ml Trólox) y el método de inhibición de la ECA (actividad antihipertensiva, expresado como %IECA). El hidrolizado de CAS de 45 °C fue el que presentó la mayor actividad inhibitoria de la ECA respecto de su blanco de sustrato (53,8±1,9 y 29,4±1,4 %IECA, respectivamente), y por su actividad antioxidante destacaron los hidrolizados de 180’ de caseína a 45 y 55 ºC (ambos presentaron 2,9 mg/ml de Trólox). De acuerdo con los resultados obtenidos, se considera que el mejor método para determinar %GH es el OPA, por su baja complejidad y que las proteasas de *B. serra* son capaces de liberar biopéptidos promisorios para la industria alimenticia.

La investigación fue financiada por losProyectos X-746, X-834 y X914 de la UNLP.

Palabras clave: FITOPEPTIDASA, GRADO DE HIDRÓLISIS, PÉPTIDOS BIOACTIVOS