Amparo Iris Zavaleta (editora)

Seminario Internacional en Biotecnología para la Salud

Libro de resúmenes

VICERRECTORADO DE
INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

Amparo Iris Zavaleta
(Editora)

Seminario Internacional en Biotecnología para la Salud

Libro de resúmenes

VICERRECTORADO DE
INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ISBN 978-612-48262-0-7

Primera edición digital
Lima, junio de 2020

© Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Vicerrectorado de Investigación y Posgrado
Av. Germán Amézaga n.° 375, edificio Jorge Basadre, segundo piso
Ciudad Universitaria, Lima, Perú
(01) 619 7000, anexos 7345 y 7445
vrip@unmsm.edu.pe

© Amparo Iris Zavaleta, editora

Cuidado de edición, corrección de estilo y diagramación de interiores
Abel Ortega Chávez

Diseño de cubierta y logotipo
Susana Calderón Toledo

La edición de este libro fue financiada por convenio 196-FONDECYT-2019.

Queda prohibida la reproducción total o parcial de la presente edición, bajo cualquier modalidad, sin la autorización expresa del titular de los derechos.

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

Orestes Cachay Boza
Rector

Elizabeth Canales Aybar
Vicerrectora Académica de Pregrado

Felipe San Martín Howard
Vicerrector de Investigación y Posgrado

GRUPO DE INVESTIGACIÓN EN BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA Y SALUD (BIOMIAS) DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Amparo Iris Zavaleta Pesantes
Coordinadora

Titulares

Elizabeth Liz Chávez Hidalgo
Carmen Gladys Peña Suasnabar
Cynthia Giovanna Esquerre Huallpa
Karim Lizeth Jiménez Aliaga

Colaboradores

Victor Luis Izaguirre Pasquel
Carlos Arturo Castañeda Altamirano



SEMINARIO INTERNACIONAL EN BIOTECNOLOGÍA PARA LA SALUD

ORGANIZADORES

Vicerrectorado de Investigación y Posgrado
Grupo de Investigación en Biotecnología Microbiana y Salud

COMITÉ ORGANIZADOR

Amparo Iris Zavaleta Pesantes
Presidenta

Miembros
Karim Lizeth Jiménez Aliaga
Carmen Gladys Peña Suasnabar
Cynthia Giovanna Esquerre Huallpa
Elizabeth Liz Chávez Hidalgo

COMITE CIENTÍFICO

Doris Huerta Canales
Yadira Fernández Jerí
Inés Arnao Salas

Colaboradores

Susana Calderón Toledo
Natalia Bullón Zegarra
Arturo Alejandro Paredes
José León Contreras
Stephy Saavedra Bocanegra
Cleni Palma Albino
Deniz Cayetano Osorio
César Bautista de la Cruz
Manuel Vilchez Chávez
Gina Acuña Ramírez
Eliana Bravo Becerra
Isabel Navarro Zabarburú

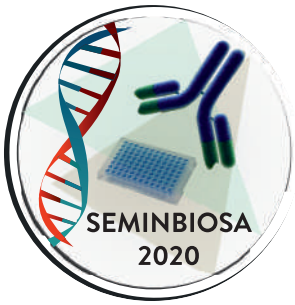
Asistencia técnica
Edelia Paredes Cantoral
Judith León Morales
Juana Quiroz Castañeda
Fernando Gabriel Charatona
Oscar Montes Encarnación



SEMINARIO INTERNACIONAL EN BIOTECNOLOGÍA PARA LA SALUD

Áreas temáticas

1. Biotecnología agroalimentaria
2. Biotecnología ambiental
3. Biotecnología marina y acuícola
4. Biotecnología de enzimas y procesos
5. Biotecnología farmacéutica
6. Nanobiotecnología
7. Biotecnología aplicada en otras áreas de salud



PRESENTACIÓN

La biotecnología continúa siendo la fuerza motriz, a nivel mundial, para la producción de un conjunto de productos, y tiene como base para esta tarea a organismos, o parte de ellos, y su información genética. La contribución de la biotecnología a la salud se centra en la producción de alimentos funcionales, nutracéuticos, biofármacos, vacunas, diagnósticos moleculares y terapias regenerativas, y —sobre todo— en el uso de tecnologías limpias que conserven un entorno saludable.

El Seminario Internacional en Biotecnología para la Salud tiene el objetivo de dar a conocer los avances clave en diferentes áreas temáticas relacionadas con el uso de microorganismos, enzimas, proteínas y otros metabolitos, y tecnologías con potencial uso directo o indirecto en salud. Con este Seminario Internacional, el Vicerrectorado de Investigación y Posgrado y el Grupo de Investigación en Biotecnología Microbiana y Salud buscan promover la valorización de la biodiversidad, el avance científico-tecnológico y la innovación, y la implementación de nuevas tecnologías que favorezcan el desarrollo económico y atiendan las demandas sociales a nivel nacional e internacional. Asimismo, con este evento se intenta impulsar la formación de redes internacionales de investigación para incrementar la producción científica, la formación de recursos humanos especializados y la vinculación de la academia con los sectores productivos y la comunidad.

El Comité Organizador

Seminario Internacional en

Biotecnología para la salud

Del 4 al 6 de marzo del 2020

PROGRAMA

Día	Hora	Título	Ponentes	Institución-País
Miércoles 4 de marzo	8:00-9:00	Registro de asistencia		
	9:00-9:15	Inauguración del evento por el Dr. Felipe San Martín Howard, vicerrector de Investigación y Posgrado		
	9:00-10:00	Caracterización de bacterias productoras de moléculas de interés en salud	Dra. Amparo Zavaleta	UNMSM-Perú
	10:00-11:00	Microorganismos de ambientes extremos: rol ecológico y su potencial biotecnológico	Dra. Beatriz Díez	UC-Chile
	11:00-11:20	*Coffee break*		
	11:20-12:20	Uso de enzimas en la síntesis de insumos alimentarios	Dr. Andrés Illanes	PUCV-Chile
	12:20-13:20	Extracción de compuestos antimicrobianos y antioxidantes desde microalgas	Dra. María Lienqueo Dra. Allison Leyton	UCH-Chile
	13:20-14:00	Libre		
	14:00-16:00	Presentación oral de trabajos y pósteres		
	16:00-17:00	Medicinal Cannabis, a natural drug like no other	Dr. Ali Seyfoddin	AUT- Nueva Zelanda
Jueves 5 de marzo	9:00-10:00	Propiedades fisicoquímicas de las proteínas de la quínoa y su influencia en funcionalidad y aplicaciones tecnológicas	Dra. Lilian Abugoch	UCH-Chile
	10:00-11:00	Obtención de péptidos bioactivos mediante hidrólisis enzimática secuencial	Dra. Karim Jiménez	UNMSM-Perú
	11:00-11:20	*Coffee break*		
	11:20-12:20	Péptidos de origen vegetal y animal: Aplicaciones, síntesis y propiedades fisicoquímicas	Dra. Fanny Guzmán	PUCV-Chile
	12:20-13:20	Análisis y caracterización de proteínas y péptidos por cromatografía líquida de alta eficiencia	Dr. Alexander Gamboa	UCH-Chile
	13:20-14:00	Libre		
	14:00-16:00	Presentación oral de trabajos y pósteres		
	16:00-17:00	Biopolímeros en la industria farmacéutica	Dr. Guillermo Castro	UNLP- Argentina
Viernes 6 de marzo	9:00-10:00	Aplicaciones y usos de la nanotecnología en la liberación controlada de compuestos	Dr. Cristian Tapia	UCH-Chile
	10:00-11:00	Obtención de globulinas 11S de quinoa por un sistema discontinuo de DF/UF Cross Flow y su potencial uso en biotecnología	Mg. Arturo Intiquilla	UCH-Chile
	11:00-11:20	*Coffee break*		
	11:20-12:20	Multifuncionalidad y biodisponibilidad de péptidos bioactivos de origen alimentario	Dra. Blanca Hernández	CSIC-España
	12:20-13:20	Efectos de compuestos bioactivos en procesos antiinflamatorios a nivel intestinal	Dr. Martín Gotteland	UCH-Chile
	13:20-14:00	Libre		
	14:00-16:00	Presentación oral de trabajos y pósteres		
	16:00-17:00	Oportunidades de la nanobiotecnología en la formación de redes de investigación	Dr. Julio Santiago Dr. Justiniano Quispe Dr. Cristian Tapia Dra. María Lienqueo Dr. Martín Gotteland	UNMSM-Perú UCH-Chile

Índice

Presentación 7

Programa 8

Resúmenes de conferencias / 13

Caracterización de bacterias productoras de moléculas de interés en salud 14
Amparo Iris Zavaleta

Microorganismos de ambientes extremos: rol ecológico y su potencial biotecnológico 16
Beatriz Díez

Uso de enzimas en la síntesis de insumos alimentarios 18
Andrés Illanes

Extracción de compuestos antimicrobianos y antioxidantes desde microalgas 20
María Elena Lienqueo, Allison Leyton

Medicinal Cannabis, a natural drug like no other 22
Ali Seyfoddin

Propiedades fisicoquímicas de las proteínas de la quínoa y su influencia en funcionalidad y aplicaciones tecnológicas 23
Lilian Abugoch James

Obtención de péptidos bioactivos mediante hidrólisis enzimática secuencial 25
Karim Jiménez

Péptidos de origen vegetal y animal: Aplicaciones, síntesis y propiedades fisicoquímicas 27
Fanny Guzmán

Análisis y caracterización de proteínas y péptidos por cromatografía líquida de alta eficiencia 29
Alexander Gamboa Arancibia

Biopolímeros en la industria farmacéutica 31
Guillermo R. Castro

Aplicaciones y usos de la nanotecnología en la liberación controlada de compuestos 33
Cristian Tapia Villanueva

Obtención de globulinas 11S de quinoa por un sistema discontinuo de DF/UF Cross Flow y su potencial uso en biotecnología 35
Adrian Arturo Intiquilla Quispe

Multifuncionalidad y biodisponibilidad de péptidos bioactivos de origen alimentario 37
Blanca Hernández Ledesma

Efectos de compuestos bioactivos en procesos antiinflamatorios a nivel intestinal 39
Martin Gotteland

Resúmenes de presentaciones orales / 41

Evaluación de la multifuncionalidad de hidrolizados de la fracción albúmina de *Erythrina edulis* 42
Cleni Palma-Albino, Karim Jiménez Aliaga, Amparo Iris Zavaleta, Víctor Izaguirre, Blanca Hernández-Ledesma

Estudio macroscópico e histológico de heridas diabéticas tratadas con gel a base de flavonoides de hojas de *Peperomia dolabriformis* 44
Erik Ortiz-Alva, Aída Alva-Castillo

Antimicrobial potential of stingless bee *Melipona eburnea*: an analysis of activity *in vitro* and *in silico* 46
Fernando Valdivieso-Rivera, Giovanna Morán-Marcillo, Nina Espinosa de los Monteros-Silva, Carolina Proaño-Bolaños

Films poliméricos conteniendo ciprofloxacina intercalada en hidróxidos dobles laminares como apósitos compuestos para aplicación tópica 48
Yadira Salguero Salas, Laura Valenti, Ricardo Rojas, Mónica García

Efecto de diferentes dosis de fucoidan de *Lessonia trabeculata* sobre parámetros bioquímicos en ratones balb/c 50
Libertad Alzamora-Gonzales, Edson Carbajal-Huamaní, Erasmo Colona-Vallejos, Estela Urbina Ayala, Rosa Condori Macuri, Fabrizio Vásquez Cruzado, Diego Ramos Lette, Jorge Chávez Pérez, Eder Apumayta Suárez

Bioautografía enzimática integrada a espectrometría de masas en tándem y molecular docking de alcaloides de *Hippeastrum miniatum* como herramienta de búsqueda de agentes terapéuticos para el Alzheimer 52
Kirianova Godoy Bautista

Acinetobacter sp. KG07 productor de L-asparaginasa proveniente de sedimentos del río Lurín-Lima 55
Katherin García-Huamaní, Susana Calderón-Toledo, Stephy Saavedra, Ysamar Tapia-Bañez, Amparo Iris Zavaleta

Purification, characterization and application of a collagenolytic protease produced by *Pseudomonas* sp. SUK 56
Prashant Bhagwat, Padma Dandge

Expresión recombinante de L-asparaginasa II por *Pichia pastoris* (Mut^{s}) en altas concentraciones de metanol 57
Omar Pillaca-Pullo, Marcela Pimenta, Gisele Monteiro, Adalberto Pessoa-Jr, Michele Vitolo

Estudio DFT para el análisis comparativo de la energía de interacción al glicerol de las enzimas glicerol deshidratasa de *Lactobacillus reuteri* y *Klebsiella pneumoniae* 59
Christian Solis-Calero

Purificación de una serinoproteasa aislada del veneno de *Bothrops barnetti* – caracterización y actividad coagulante 61
Magaly Brousett-Minaya, Frey Romero-Vargas

A thermostable pectinase from *Thermotoga maritima* with potential industrial applications 63
Carol N. Flores-Fernández, Max Cárdenas-Fernández, Gary J. Lye, John M. Ward

Oxidación de arsénico mediado por *Halomonas elongata* como alternativa a la biorremediación de suelos 65
Victor Borda Gallegos, José Luis Sierra Herrera, Lyda La Torre Riveros, María Antonieta Quispe-Ricalde

Obtención de quitooligómeros mediante bioconversión de exoesqueleto de *Litopenaeus vannamei* y pluma de *Dosidicus gigas* por hidrólisis bacteriana 67
Maritza Yliana Navarro Purizaga, Kirianova Godoy, Rosa Liliana Solis-Castro

Efecto de la velocidad de agitación sobre la composición del alginato producido por *Azotobacter vinelandii*: un biopolímero con potencial aplicación biomédica 69
Francisco Sánchez-Rosales, Alvaro Díaz-Barrera

Nanotecnología aplicada a la remediación de efluentes urbanos 71
Ana María Gagneten, Natalí Romero, Ulises Reno, Julieta Arias, Luciana Regaldo, Vanesa Kergaravat, Guillermo R. Castro

Evaluación de la modificación de la superficie de electrodos de carbono en la transferencia de electrones de *Shewanella oneidensis* MR-1 73
Silvia Sato Soto, Kaho Yamada, Toshikazu Fukushima, Seiya Tsujimura

De los genomas a la búsqueda de proteínas de interés biotecnológico 75
María A. Quispe Ricalde, José L. Sierra, Paola Elorrieta Mamani, Pedro Romoacca Hancco, Ilución Mamani Morales, Kevin Pacheco Capcha, David Pauccar Huillcahuamán, Shirly Pila Lacuta, Ingrid Vera Ferchau, Hugo Castelán Sánchez, Sonia Dávila Ramos

Resúmenes de pósteres / 77

Effect of different concentrations of a novel remineralizing agent on caries-like lesions *in vitro* 78
Mario Diaz-Dosque, Rodrigo Cabello, Humberto Palza, Montserrat Padilla, Rodolfo Ibarra, Patricia Palma, Gonzalo Rodriguez

Desarrollo de una prueba RT-PCR con *primers* específicos-degenerados para detección de avibirnavirus 80
Leidy Pola-Romero, Aldo Flores-Pérez, Milagros Zavaleta, Luis E. Saravia

Influencia de diferentes dosis de fucoidan de *Lessonia trabeculata* sobre las células sanguíneas en un modelo murino 82
Libertad Alzamora-Gonzales, Edson Carbajal-Huamaní, Erasmo Colona-Vallejos, Estela Urbina Ayala, Priscila Mamani Zapana, Jorge Chávez Pérez, Eder Apumayta Suárez

Evaluación del efecto protector de péptidos de *Erythrina edulis* sobre el estrés oxidativo inducido por Fe^{+2} en la línea celular SH-SY5Y 84
Nathaly Rodríguez, Arturo Intiquilla, Karim Jiménez-Aliaga, Inés Arnao, Amparo Iris Zavaleta, Víctor Izaguirre, Blanca Hernández-Ledesma

Actividad antioxidante e inhibición de la enzima convertidora de angiotensina I (ECA I) de hidrolizados proteicos de *Lupinus mutabilis* (Tarwi) 86
Karen Manrique, Arturo Intiquilla, Cleni Palma-Albino, Karim Jiménez Aliaga, Amparo Iris Zavaleta, Víctor Izaguirre, Blanca Hernández-Ledesma

Funcionalidad de la goma de tara (*Caesalpinia spinosa*) en microbiología y bioquímica 88
Brita Anaya, Ruth Huamán, Erika Puchuri

Modelamiento *in silico* de metaloproteasa PT2 obtenida de *Pseudomonas aeruginosa* M211 90
Sayuri Kina-Ysa, Amparo Iris Zavaleta

Cultivo de bacterias proteolíticas aisladas de sembríos de arroz sobre concentrados proteicos de leguminosas 92
Manuel Gonzalo Vilchez Chávez, Ysamar Audy Tapia Báñez, Juan Carlos Flores-Santos, Deniz Cayetano-Osorio, Amparo Iris Zavaleta

Bacterias extremófilas, un recurso genético para la búsqueda de oxidorreductasas 94
María A. Quispe Ricalde, José L. Sierra

Bacterias degradadoras de plástico aisladas del botadero de basura de Haquira-Cusco 96
Vanessa Silva, Annie Nieto, Elsa Aguilar

Producción de polihidroxibutirato (PHB) en biorreactor: Biopolímero con potencial aplicación biomédica 98
Luz Cueva, Juan Alva, Keyla Llontop, Anthony Fuentes, Alberto Quezada, Alfredo Cruz

Diseño e implementación de un equipo de electrohilado para la obtención de nanofibras dopadas de nanopartículas de Cu y Ag 100
Andrés Alfaro Cerazo, Manuel Jesús Torres Calla, Justiniano Quispe-Marcatoma, Carlos Vladimir Landauro

Síntesis y caracterización de plásticos biodegradables a base de almidón de maíz utilizando como refuerzo celulosa microcristalina 102
Anthony Neciosup, Carlos Vladimir Landauro, Justiniano Quispe-Marcatoma, Gretty Villena, Illanit Samolsky

Síntesis y caracterización de estroncio-apatita dopada con sustitución de calcio para aplicaciones biomédicas 103
Jesús Grados, Fred Montalvo Amanca, Maximiliano Zapata Moreno, Justiniano Quispe-Marcatoma, Carlos Vladimir Landauro

Producción y caracterización de películas delgadas de hidroxiapatita usando la técnica de *magnetron sputtering* de ángulo recto 104
Manuel Jesús Torres Calla, Milida Zarella Pinto, Justiniano Quispe-Marcatoma, Carlos Vladimir Landauro

Películas delgadas de carboapatita preparadas por *magnetron sputtering* de ángulo recto (RAMS) 106
Milida Zarella Pinto, Justiniano Quispe-Marcatoma, Carlos Vladimir Landauro, Elvis Oswaldo López, Alexandre Mello, Alexandre Rossi

Síntesis y caracterización de Hidroxiapatita dopada con metales para aplicaciones biomédicas 108
Fred Montalvo Amanca, Maximiliano Moreno Zapata, Justiniano Quispe-Marcatoma, Carlos Vladimir Landauro

Conclusiones del Seminario 110

Normas para la publicación en el libro de resúmenes 113

Publicidad del evento 118



SEMINARIO INTERNACIONAL EN BIOTECNOLOGÍA PARA LA SALUD

RESÚMENES DE CONFERENCIAS

Caracterización de bacterias productoras de moléculas de interés en salud

Amparo Iris Zavaleta

Grupo de Investigación BIOMIAS, Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima-Perú. azavaletap@unmsm.edu.pe

Las moléculas bioactivas aisladas de microorganismos son sustancias que presentan efectos beneficiosos en humanos y animales, tales como polifenoles, exopolisacáridos, vitaminas, ácidos grasos de cadena corta, péptidos, aminoácidos, pigmentos, oligosacáridos, polioles, enzimas, entre otras. La búsqueda de nuevas fuentes de estas moléculas es permanente [(1)]. En este contexto, las bacterias ácido lácticas (BAL) son un grupo heterogéneo de microorganismos, que producen principalmente ácido láctico a partir de la fermentación de carbohidratos, son no patógenas y generalmente reconocidas como seguras. Las BAL producen moléculas que juegan un rol importante en la nutrición tales como aminoácidos, vitaminas, ácidos grasos de cadena corta, etc. Estos microorganismos se han aislado de diversas fuentes naturales y de productos fermentados. Su capacidad de adaptarse a diversos nichos ecológicos se debe principalmente a su diversidad metabólica [(2)]. Por ello, se estudiaron las BAL responsables de la fermentación láctica espontánea de los frutos de *Capsicum frutescens* "ají charapita", procedente de la Región Loreto, mediante técnicas amplificación de secuencias repetidas, espaciadores intergénicos 16S-23S y secuenciación de los genes ribosómicos 16S, así se identificaron y caracterizaron diversas cepas de *Lactobacillus plantarum* que participan en el bioproceso; a la vez, se aislaron escasas cepas de *Leuconostoc pseudomesenteroides* y *Weissella confusa* [(3)]. En otro estudio, se caracterizaron BAL aisladas de diferentes frutas de la Región Loreto, encontrando *L. plantarum* (76%), *W. cibaria* (13%), *L. brevis* (8%) y *W. confusa* (3%). Las cepas de *L. plantarum* aisladas produjeron ácido láctico en concentraciones diferentes y presentaron diversos perfiles genéticos, lo cual indica la diversidad intraespecífica y metabólica de esta especie aislada de frutas [(4)]. Cepas de *L. plantarum* son utilizadas en la producción de exopolisacáridos, vitaminas, polioles, bacteriocinas y en procesos fermentativos [(5)], presentando gran potencial para la producción de moléculas bioactivas para la salud.

Palabras clave: Moléculas bioactivas, bacterias ácido lácticas, *Lactobacillus plantarum*.

Referencias:

1. Wu X, Zha J, Koffas MA. Microbial production of bioactive chemicals for human health. Current Opinion in Food Science. 2020; 32: 9-16.
2. Rice T, Sahin AW, Lynch KM, Arendt EK, Coffey A. Isolation, characterisation and exploitation of lactic acid bacteria capable of efficient conversion of sugars to mannitol, International Journal of Food Microbiology. 2020; 321: 108546.
3. Gonzáles D, Sueros S, Vegas C, et al. Caracterización molecular de los microorganismos responsables de la fermentación espontánea del ají "Charapita" (*Capsicum frutescens*). Agron Colomb. 2016; 34(1Suppl): 1336-1339.
4. Sanchez J, Vegas C, Zavaleta AI, Esteve-Zarzoso B. Predominance of *Lactobacillus plantarum* strains in peruvian amazonian fruits. Polish Journal of Microbiology 2019; 68(1): 127-137.
5. Gao H, Wen J, Hu J, Nie Q, Chen H, Nie S, *et al. Momordica charantia* juice with *Lactobacillus plantarum* fermentation: Chemical composition, antioxidant properties and aroma profile. Food Bioscience. 2019; 29(6): 62-72.

CV de conferencista

Químico Farmacéutica, Magíster en Ciencias y Doctora en Medicina (Programa de Biotecnología, Universidad de Alicante, España). Miembro de la Sociedad Americana de Microbiología desde 1990. Jefa de la Oficina de Fomento a la Investigación del Consejo Superior de Investigaciones del Vicerrectorado de Investigación, Universidad Nacional Mayor de San Marcos de septiembre 2006 a diciembre 2009. Directora de la Unidad de Investigación y de Posgrado de junio 2010 a junio 2014; y de junio 2014 hasta octubre 2018 respectivamente. Coordinadora del Grupo de Investigación en Biotecnología Microbiana y Salud (BIOMIAS) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos y Coordinadora del Programa de maestría en Biotecnología. Investigadora RENACYT- Grupo Carlos Monge Medrano – Nivel III.

Microorganismos de ambientes extremos: rol ecológico y potencial biotecnológico

Beatriz Díez
Pontificia Universidad Católica de Chile
bdiez@bio.puc.cl

Extreme environments represent ideal natural models to understand the principles of microbial ecology and evolution. Nowadays, the use of the integrated high throughput meta'omics' approaches (primarely metagenomics) enable to uncover the identity and specific role of each biotic component of the community, and the recovery of genomes of hundreds of microbes and their interactions. We focus our studies, using genomics and meta-omics approaches, to investigate the effect of both biotic (e.g. viruses) and abiotic (e.g. temperatura) factors in the microbial communities of extreme systems, demonstrating spatial replacement of microorganisms due to niche differentiation by environmental conditions.

In hot springs, we have study relevant microorganisms such as the thermophilic cyanobacterium *Fischerella* spp., main primary producers and nitrogen fixers between 40-60ºC in phototrophic microbial mats.

In the coastal marine observatory of Chile Bay, located in the Western Antarctic Peninsula, since 2013, we are investigating how climate change is affecting the microbial ecology. We studied some relevant functions such as the use of proteorhodopsin (PR) (proton pump promoted by light) or the C and N metabolic pathways, strategies that have been little studied in the Antarctic waters. We also apply metagenomics to search for a enzyme that degrade the synthetic plastic PET, which is an environmentally threatening waste. The new sequences found for this enzyme, serve for computational prediction of their PET-degrading potential, biochemical characterization of their activity and thermal stability, and determination of their protein structure to identify the variations encoding these activity-stability traits to foster protein engineering of these enzymes.

In these extreme systems, metagenome assembled genomes (MAGs), also lead us to the recovery of new complete genomes of microbes and virus with low or nulle representatives in public databases. This genomes are increasing our databases for a better comparative genomics analysis to search for evolutionary relationship and new adaptations, many of them with potential biotecnological applications.

Finally, our more recent research using metaómics in the field of environmental viruses of sewage waters, is allowing us to reveal the identity and diversity of known

and new infectious agents. This we expect will help us to develop early prevention strategies to prevent their spread in the environment, that could be harmful to human health.

Key words: Extremophile, metaómics, microbial ecology, MAGs.

Lecturer CV:

Dr. Beatriz Díez got a PhD in Biology at Universidad Autónoma de Barcelona (UAB) - Institute of Marine Science (CMIMA-CSIC), Spain in 2001. She worked as a postdoctoral (funded by Swedish Research Council) at Stockholm University between 2002 and 2005. From 2003 to 2005 she was also Assistant Professor at the University of Alicante, Spain. Between 2006 and 2008 she worked at Stockholm University as Assistant Professor. From 2008-2010 she worked at CMIMA-CSIC in Barcelona (Spain). In 2010, she got a position as Professor at Department of Molecular Genetics and Microbiology, P. Catholic University of Chile. The main framework of research in BDíez-Lab (bdiezlab.com) is the study of the structure, function, adaptations (metabolic and genetic), and interactions of microbial and viral communities in extreme environments, using a combination of quantitative molecular, genomic, metaómics, and biogeochemical approaches. She has got 45 publications in peer-reviewed journals and awarded several chilean (CONICYT-FONDECYT, INACH, PCI, ECOS, CONA) and international (MISTI-MIT International Science and Global Initiatives Technology Seed Funds, USA) funded grants. She has an index H of 19 and 2893 citations.

Uso de enzimas en la síntesis de insumos alimentarios

Andrés Illanes
Escuela de Ingeniería Bioquímica,
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
andres.illanes@pucv.cl

Las enzimas tienen un vasto campo de aplicación, siendo la industria alimentaria y la industria farmacéutica las de mayor relevancia. Alimentación y salud están hoy estrechamente vinculadas en el concepto de alimentación saludable, el que ha evolucionado desde una moda a una tendencia mundial. En este campo, la biocatálisis enzimática es de particular importancia. El uso convencional de enzimas en la elaboración de alimentos se remonta a los inicios del siglo pasado y cobra gran importancia a contar de la década de 1970 con su uso masivo en la producción de edulcorantes y de insumos para la industria láctea y de grasas y aceites. Por su parte, el uso de enzimas en la industria farmacéutica se remonta a la década de 1980, referida a la producción de antibióticos β-lactámicos, y hoy adquiere una relevancia estratégica en la síntesis de fármacos enantioméricamente puros. Alimentación y salud confluyen hoy en un nuevo paradigma: la alimentación saludable. Hoy en día el sector más dinámico de la industria alimentaria lo constituyen precisamente los alimentos funcionales orientados a proveer beneficios a la salud más allá de su rol nutricional. Las enzimas juegan hoy un rol muy relevante en la elaboración de alimentos funcionales. Dentro de ellos, los prebióticos, son considerados insumos alimentarios de relevancia en relación a la salud intestinal, cuya síntesis representa una forma novedosa de utilizar biocatalizadores enzimáticos en procesos de alto valor agregado.

Se presenta como caso de estudio la síntesis enzimática de oligosacáridos derivados de la lactosa con carácter prebiótico, dando especial énfasis a la síntesis de galacto-oligosacáridos (GOS) y lactulosa mediante la enzima β-galactosidasa. Esta enzima ha sido tradicionalmente empleada por su potencial hidrolítico para elaborar productos lácteos delactosados. Sin embargo, para lograr la síntesis de oligosacáridos, la reacción con β-galactosidasa debe llevarse a cabo en condiciones de reacción no convencionales que depriman su potencial hidrolítico y favorezcan las reacciones de transgalactosilación. Dichos compuestos han sido científicamente comprobados en su función prebiótica adquiriendo, por tanto, una gran importancia en la salud intestinal. El hecho de ser elaborados a partir de suero o permeado de suero, que es un subproducto (o residuo) de la industria láctea, plantea una muy interesante estrategia de valoración industrial al poder producir insumos de alto valor para la propia industria láctea.

Se analiza el estado del arte en la síntesis enzimática de GOS y lactulosa, sus logros y desafíos, presentando una síntesis de los resultados obtenidos en los últimos años en nuestro laboratorio.

Palabras clave: Alimentos saludables; prebióticos; galacto-oligosacáridos; lactulosa; β-galactosidasa.

Referencias:

- Roberfroid, M.B. The Journal of Clinical Nutrition 2007; 137: 830S-837S.
- Kim YS, Oh DK. Bioresource Technology. 2011; 104: 668-672
- Vera C, Córdova A, Aburto C, Guerrero C, Suárez S, Illanes A. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2016; 32(12): 197
- Guerrero C, Aburto C, Suárez S, Vera C, Illanes A. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 2018; 16: 353-363.

CV de conferencista:

Prof. Andrés Illanes Frontaura, Ingeniero Civil Químico de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Master en Ciencias en Ingeniería Bioquímica, Instituto de Tecnología de Massachussets (MIT). Profesor de la Escuela de Ingeniería Bioquímica de la Pontificia Universidad de Valparaíso (Chile), imparte asignaturas a nivel de pre y posgrado relacionadas con Ingeniería Bioquímica y Biotecnología. Cuenta con más de cien publicaciones científicas, la mayoría indizadas en bases WOS, SCOPUS y una decena de libros especializados. Profesor Honorario de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Extracción de compuestos antimicrobianos y antioxidantes desde macroalgas

María Elena Lienqueo[1,2], *Allison Leyton*[1]
[1] Centro de Biotecnología y Bioingeniería (CeBiB),
[2] Departamento de Ingeniería Química, Biotecnología y Materiales,
Universidad de Chile. mlienque@ing.uchile.cl

En las últimas décadas, los productos de origen marino han sido objeto de una intensa investigación; se han descubierto nuevas sustancias con propiedades farmacológicas y nutracéuticas [(1)]. Por otro lado, se necesitan procesos más económicos y amigables con el medio ambiente para producir biocompuestos. Una alternativa es la biorrefinería para la producción de diversos bioproductos a partir de materias primas renovables y que generen nulos o mínimos residuos. En los últimos años, nuestras investigaciones se han centrado en estudiar diferentes tipos de macroalgas, entre ellas el alga parda *Macrocystis pyrifera*, como fuente de carbohidratos y florotaninos, determinando las mejores condiciones para su extracción [(2)]. En el caso de los florotaninos, se obtuvieron por ser compuestos antioxidantes y antibacterianos [(3)], mientras los carbohidratos fueron utilizados para el crecimiento y la producción de carotenoides (licopeno, β-caroteno y astaxantina) por una levadura marina, *Rhodotorula mucilaginosa* [(4)]. La fracción residual se utilizó como fertilizante en cultivo hidropónico de vegetales [(5)]. Luego, ha sido posible demostrar que *M. pyrifera* puede usarse para obtener antioxidantes / antimicrobianos, como fuente de nutrientes para la producción biotecnológica de carotenoides. Además, el residuo puede ser utilizado como fertilizante, abriendo la posibilidad de evaluar el uso de otras macroalgas (verdes y rojas) con diferentes aplicaciones farmacológicas y nutracéuticas.

Referencias:

1. Leyton A, Vergara-Salinas J, Pérez-Correa JR, Lienqueo ME. Purification of phlorotannins from *Macrocystis pyrifera* using macroporous resins. Food Chemistry 2017; 237: 312-319.
2. Leyton A; Pezoa-Conte R; P. Mäki-Arvela; J-P Mikkola, M. E Lienqueo. Improvement in carbohydrate and phlorotannin extraction from *Macrocystis pyrifera* using carbohydrate active enzyme from marine *Alternaria sp* as pretreatment. Journal of Applied Phycology 2017; 29: 2039-2048.
3. Leyton A, R Pezoa-Conte, A Barriga, A Buschmann, P Mäki-Arvela, J-P Mikkola; M E Lienqueo. Identification and efficient extraction method of phlorotannins from the brown seaweed *Macrocystis pyrifera* using an orthogonal experimental design. Algae Research 2016; 16: 201-208.

4. Leyton A, M. E. Lienqueo, C. Shene. *Macrocystis pyrifera*: substrate for the production of bioactive compounds. Journal of Applied Phycology 2019 (in press).

5. Leyton A, Flores L, Mäki-Arvela P, Lienqueo ME, Shene C. *Macrocystis pyrifera* source of nutrients for the production of pigments by a marine *Rhodotorula mucilaginosa*. Journal of Applied Microbiology 2019; 127, 106-1079.

CV de conferencista:

M. Elena Lienqueo, Ingeniería Civil Química, Doctor en Ciencias de la Ingeniería mención Química y Profesora Titular de la Universidad de Chile. Inició su carrera académica investigando en procesos del área de purificación proteínas, implementando correlaciones que permitieran seleccionar las mejores secuencias de purificación. También ha realizado investigación en el área de desarrollo de procesos biotecnológicos para la producción de biocombustibles a partir de biomasa lignocelulósica y algal. En la actualidad su investigación se orienta a la producción de alimentos mejorados tanto para humanos y animales, así como biomateriales en base a microorganismos que utilicen como fuentes de nutriente algas y materiales lignocelulósicos y sus residuos. Esta investigación se orienta a la producción de enzimas que degraden dichas fuentes de carbono y al clonamiento de microorganismos que sean capaces de sintetizar proteínas que sean ricas en aminoácidos esenciales para la alimentación humana y animal. También ha trabajado en la extracción en compuestos de interés en el área de compuestos farmacológicos y nutracéuticos desde algas como son florotaninos, carotenoides y ficobiliproteínas.

Medicinal Cannabis, a natural drug like no other

Ali Seyfoddin
Drug Delivery Research Group, School of Science,
Auckland University of Technology, Auckland, New Zealand
ali.seyfoddin@aut.ac.nz

To date, about 568 chemical constituents have been identified from the cannabis plant. Among them, tetrahydrocannabinol (THC) and cannabidiol (CBD) are the most well-known cannabinoids. *Cannabis* is a flowering plant from the Cannabaceae family and genus *Cannabis*. *Cannabis sativa* and *Cannabis indica* are the most well-known species of *Cannabis*. A subspecies, *C. sativa* subsp. ruderalis, has been identified but it is not well recognised. The Hybrid species are variable depending on parent plants. They can be sativa dominant, indica dominant or balanced. Cannabinoids may have therapeutic effects on different diseases such as metabolic disorders like obesity and diabetes, neurodegenerative disorders like Alzheimer's, movement disorders like epilepsy and Parkinson's disease, nausea in HIV patients and the pain after chemotherapy in cancer patients. Moreover, there is some evidence that terpenes have synergistic effects with cannabinoids. Historically cannabinoids have therapeutically been administered orally or through the lungs by smoke. These are clearly crude delivery mechanisms and smoking is obviously harmful. The active compounds must be extracted from the plant and isolated for rational pharmacology, and this could include combinations of identified cannabinoids.

In this presentation, the phytochemistry and pharmacology of *Cannabis* will be discussed with a focus on practical considerations, dosing and administration.

Lecturer CV:

Dr Ali Seyfoddin, is a senior lecturer in Drug Delivery and Biomedical Sciences at Auckland University of Technology, Auckland, New Zealand. He leads the Drug Delivery Research Group (www.drugdelivery@aut.ac.nz) and leads a research programme in medicinal cannabis. His main areas of research are 3D printed and encapsulated bioactive delivery systems for human, veterinary and aquaculture applications

Propiedades fisicoquímicas de las proteínas de quínoa y su influencia en funcionalidad y aplicaciones tecnológicas

Lilian Abugoch James
Departamento de Ciencia de loa Alimentos y Tecnología Química.
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.
Sergio LIvingstone 1007, Independencia, Santiago, Chile. labugoh@uchile.cl

La quínoa es una semilla con alto contenido de proteínas (12-23%) y un balance de aminoácidos altamente recomendable para el consumo humano [1]. Las fracciones de las proteínas de quínoa son básicamente albúminas 2S y globulinas 11S cuya estructura se estabiliza a través de puentes disulfuro [2]. Sus proteínas poseen diversas propiedades fisicoquímicas, que pueden variar desde la elaboración de aislado proteicos funcionales, hasta la formación de matrices que puedan entregar propiedades organolépticas, de barrera, interactuar con otros polímeros, formar nuevos materiales, encapsular bioactivos, ser parte de recubrimientos, películas y bioenvases, generar biopéptidos activos.

Las fracciones proteicas de las proteínas de la quínoa pueden ser purificadas/ modificadas por el entorno (temperatura, pH, ultrasonido, enzimas, altas presiones) de tal forma que es posible modular sus propiedades fisicoquímicas en vías de diseñar diferentes biomateriales que puedan ser usado en la industria de los alimentos, en la industria cosmética, entre otras [1, 3-5]. La potencialidad de diversificar el uso de la quínoa, es muy amplia y permite vislumbrar mayores usos biotecnológicos que le den mayor valor y transformación a la semilla.

Palabras clave: Proteínas de quínoa, globulinas, albúminas, propiedades fisicoquímicas.

Referencias:

1. Abugoch LE, Romero N, Tapia CA, Silva J, Rivera M. Study of some physicochemical and functional properties of quinoa (*Chenopodium quinoa* willd) protein isolates. J Agric Food Chem. 2008; 56(12).
2. Brinegar C, Goundan S. Isolation and Characterization of Chenopodin, the 11S Seed Storage Protein of Quinoa (*Chenopodium quinoa*). Journal of Agricultural and Food Chemistry 1993; 41: 182-185.
3. Valenzuela C, Abugoch L, Tapia C, Gamboa A. Effect of alkaline extraction on the structure of the protein of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) and its influence on film formation. Int J Food Sci Technol. 2013; 48(4).

4. Vera A, Valenzuela MA, Yazdani-Pedram M, Tapia C, Abugoch L. Conformational and physicochemical properties of quinoa proteins affected by different conditions of high-intensity ultrasound treatments. Ultrason Sonochem. 2019; 51: 186-96.
5. Romo I, Abugoch L, Tapia C. Soluble complexes between chenopodins and alginate/chitosan: Intermolecular interactions and structural-physicochemical properties. Carbohydr Polym [Internet]. 2020; 227: 115334. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014486171931001X

CV de conferencista:

Profesora Asociada del Departamento de Ciencia de los Alimentos de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile. Doctora de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de la Plata, Magíster en Ciencia de los Alimentos e Ingeniera en Alimentos de la Universidad de Chile. Investigadora y profesora de pre y posgrado en bioquímica y procesos alimentarios - Aspectos bioquímicos del procesamiento y conservación de alimentos - Propiedades fisicoquímicas, funcionales y estructurales de proteínas, especialmente proteínas de quínoa. Proyectos de investigación, I+D+i, publicaciones científicas relevantes en las áreas de investigación, numerosas presentaciones en congresos nacionales e internacionales, formadora de varias generaciones de Ingenieros en Alimentos, y estudiantes de maestría y doctorado. Creadora de la "Expoferia de Alimentos Innovadores para la industria de los Alimentos", (año 2020 versión XV). Directora del Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química.

Obtención de péptidos bioactivos mediante hidrólisis enzimática secuencial

Karim Jiménez
Grupo de Investigación BIOMIAS, Laboratorio de Biología Molecular,
Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos,
Jr. Puno 1002, Lima 1- Perú. kjimeneza@unmsm.edu.pe

Los péptidos bioactivos (PB) son secuencias de aminoácidos cortas, de 2 a 22 residuos, que además de su valor nutricional pueden ejercer diferentes actividades beneficiosas para la salud, como antioxidante, antihipertensiva, hipocolesterolémica, antimicrobiana, etc. [1], lo que sugiere su uso potencial como ingredientes de alimentos funcionales para la promoción de la salud y la reducción del riesgo de enfermedades. Los PB se pueden obtener de diferentes fuentes tanto animales como vegetales, siendo estas últimas las que presentan mayor interés, en especial a partir de semillas de leguminosas por su alto contenido proteico [2]. Los PB se pueden liberar de las proteínas que las contienen mediante la digestión gastrointestinal, durante el procesamiento de los alimentos, por fermentación, por hidrólisis química o enzimática, prefiriéndose ésta última porque presenta la ventaja de ser reproducible con mayor facilidad debido a que permite un control total del proceso [3]. La hidrólisis enzimática puede llevarse a cabo mediante proteasas de origen animal, vegetal o microbiano de grado alimentario. Sin embargo, es imprescindible evaluar la estabilidad de los PB producidos durante las fases de absorción, distribución, metabolismo, para poder garantizar su estabilidad *in vivo* [4]. En este sentido se ha establecido una metodología de consenso a nivel internacional para la producción de PB, simulando las condiciones fisiológicas de la digestión gastrointestinal humana en sus diferentes fases (oral, estomacal e intestinal), de esta forma se garantiza la estabilidad de los PB para facilitar su llegada a la vía sistémica donde ejercerán sus efectos terapéuticos [5]. Adicionalmente se pueden utilizar otras proteasas de forma secuencial, lo que abre todo un abanico de posibilidades gracias al uso de proteasas microbianas que presentan diferente especificidad por los sustratos pudiendo liberar PB diferentes con propiedades interesantes, por ejemplo el uso de la enzima Alcalasa® proveniente de *Bacillus licheniformis*, una proteasa de amplio espectro de hidrólisis, que ha sido ampliamente empleada en la obtención de PB con buen perfil antioxidante, hipocolesterolémico, hipoglucemiante, etc [6, 7]. Los resultados de la búsqueda de nuevas proteasas de origen microbiano, de diferentes ambientes, podrían servir para liberar PB con nuevas actividades biológicas útiles para el tratamiento de diferentes patologías que aquejan al hombre.

Palabras clave: Péptidos bioactivos, proteasas, hidrólisis enzimática, hidrólisis secuencial.

Referencias:

1. Mojica L, Luna-Vital DA, Gonzalez de Mejia E. Characterization of peptides from common bean protein isolates and their potential to inhibit markers of type-2 diabetes, hypertension and oxidative stress. J Sci Food Agric. 2017; 97(8): 2401-10.
2. Mine Y, Li-Chan E, Jiang B. Bioactive proteins and peptides as functional foods and nutraceuticals. Iowa: Blackwell Publishing; 2010.
3. Singh BP, Vij S, Hati S. Functional significance of bioactive peptides derived from soybean. Peptides. 2014; 54: 171-9.
4. Hernandez-Ledesma B, Del Mar Contreras M, Recio I. Antihypertensive peptides: production, bioavailability and incorporation into foods. Adv Colloid Interface Sci. 2011; 165(1): 23-35.
5. Minekus M, Alminger M, Alvito P, Ballance S, Bohn T, Bourlieu C, *et al*. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food - an international consensus. Food Funct. 2014; 5(6): 1113-24.
6. Intiquilla A, Jimenez-Aliaga K, Guzman F, Alvarez CA, Zavaleta AI, Izaguirre V, *et al*. Novel antioxidant peptides obtained by alcalase hydrolysis of *Erythrina edulis* (pajuro) protein. J Sci Food Agric. 2019; 99(5): 2420-7.
7. Maqsoudlou A, Mahoonak AS, Mora L, Mohebodini H, Toldra F, Ghorbani M. Peptide identification in alcalase hydrolysated pollen and comparison of its bioactivity with royal jelly. Food Res Int. 2019; 116: 905-15

CV de conferencista

Químico Farmacéutica y Magíster en Biotecnología (Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú). Máster en Ciencias Farmacéuticas, itinerario I+D+i en fármacos y Doctora en Farmacia (Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, España). Docente asociada a Dedicación Exclusiva de la Farmacia y Bioquímica UNMSM. Miembro del Grupo de Investigación BIOMIAS. Docente Investigadora reconocida en el Registro Nacional Científico, Tecnológico y de Innovación Tecnológica – RENACYT en el grupo Carlos Monge Medrano – Nivel III.

Péptidos de origen vegetal y animal: Aplicaciones, síntesis y propiedades fisicoquímicas

Fanny Guzmán
Laboratorio Síntesis de Péptidos,
Núcleo de Biotecnología Curauma (NBC),
Curauma, Valparaíso, Chile. Fanny.guzman@pucv.cl

Actualmente los péptidos tienen aplicación en diferentes líneas de investigación y en la industria farmacéutica. Además de ser derivados de proteínas existen muchos péptidos que actúan en procesos bioquímicos al igual que sus componentes estructurales, los aminoácidos; es así que encontramos péptidos naturales en la leche, en la miel, como defensa de las plantas y insectos.

En la industria farmacéutica encontramos péptidos como la insulina, que es un péptido de 51 residuos producido por el páncreas; la oxitocina, una hormona de 9 residuos; la angiotensina, un péptido de 9 residuos. En los últimos 20 años, la industria de péptidos ha crecido de una manera exponencial por sus posibilidades frente cáncer y en vacunas.

La síntesis de péptidos ha surgido como una herramienta poderosa en los laboratorios bioquímicos, farmacológicos, inmunológicos, biofísicos, neurológicos y cosméticos para permitir el conocimiento de múltiples mecanismos funcionales en el ámbito celular, de la respuesta inmune frente a diversas enfermedades y en la implementación de nuevas sustancias inmunoprofilácticas. La síntesis de péptidos en fase sólida (SPPS, por su sigla en inglés) creada por Bruce Merrifield, ha tenido un gran avance en el uso de nuevos grupos protectores y activadores, lo que se ha sido optimizado gracias al desarrollo de nuevas técnicas y de equipos que permiten hacer muchos péptidos en una misma síntesis y en poco tiempo.

Palabras clave: Péptidos, aminoácidos, antimicrobianos, vacunas.

Referencias:

- Guzman f, Barberies S, Illanes A. Electronic Journal of Biotecnology. 2007; 10(2).
- Fosgerau K, Hoffmann T. Drug Discov Today. 2015; 20(1): 122-8. doi: 10.1016/j.drudis.2014.10.003
- De la Torre BG, Albericio F. Molecules. 2020; 25(3): 745. doi: 10.3390/molecules25030745.

CV de conferencista

Química (Universidad Nacional de Colombia), Dra. Sci. Química Orgánica (Universidad Nacional de Colombia). Investigador Senior Núcleo de Biotecnología Curauma (NBC), de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (PUCV). Directora del Laboratorio de Síntesis de Péptidos del NBC. Profesora del programa de Doctorado en Biotecnología de las Universidades Federico Santa María y PUCV. Investigadora principal en diversos proyectos Fondecyt, con financiamiento del Gobierno de Chile. Áreas de trabajo: péptidos antimicrobianos, vacunas peptídicas, péptidos de algas. Treinta años de experiencia en síntesis de péptidos. Invitada como especialista en diversas universidades y centros de investigación de Argentina, Brasil, Colombia, Cuba, España, México, Paraguay, Perú y Venezuela. Autora de más de 150 publicaciones en revistas ISI WoS y titular de tres patentes de invención. Participante en diversas redes de colaboración internacional y receptora de premios nacionales de medicina en Colombia.

Análisis y caracterización de proteínas y péptidos por cromatografía líquida de alta eficiencia

Alexander Gamboa Arancibia
Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile, Independencia, Santiago de Chile, Chile. agamboa@ciq.uchile.cl

El desarrollo de medicamentos biotecnológicos es un campo creciente de investigación en la industria farmacéutica que se ha expandido por la aparición de los productos biosimilares [1]. Este progreso, también ha alcanzado a péptidos cuyas funciones fisiológicas han ganado el interés del área médica para la producción de fármacos peptídicos, selectivos, eficaces y con buena tolerancia [2]. La calidad de este nuevo grupo de moléculas, es un factor determinante para el desarrollo de formulaciones altamente terapéuticas, estables y seguras [3]. A diferencia de las moléculas pequeñas de síntesis orgánica, los bioterapéuticos, como anticuerpos monoclonales, requieren el uso de la maquinaria celular en su producción y sucesivas etapas de purificación para la obtención del agente activo [4]. En este proceso, se puede alterar la estructura aminoacídica y modificaciones post-traduccionales, como glicosilaciones, afectando el perfil terapéutico del medicamento [3, 4]. Adicionalmente, péptidos y proteínas son sensibles a fenómenos de inestabilidad física y química, que pueden modificar diferentes niveles de su ordenamiento. El desplegamiento y agregación, son ejemplos del primer caso, mientras que la oxidación, deamidación, proteólisis, son ejemplo del segundo. La cromatografía líquida de alta eficiencia, es una técnica instrumental de separación, identificación y/o cuantificación de moléculas terapéuticas, que ha sido ampliamente utilizada para péptidos y proteínas [5]. En esta, los analitos de interés son selectivamente retenidos en la fase estacionaria, y posteriormente, son eluidos de la columna cromatográfica por el uso de una adecuada fase móvil. De todos los rellenos existentes, los más utilizados para bioterapéuticos son los de exclusión molecular, intercambio iónico y fase reversa. El primero, separa péptidos y proteínas de acuerdo a su tamaño molecular y es muy útil para identificar la formación de agregados y dímeros en productos biotecnológicos. El segundo, se emplea en el análisis de formas truncadas de anticuerpos y otras aplicaciones basadas en las diferencias del punto isoeléctrico de los analitos. Por último, en la fase reversa, el mecanismo se basa en la hidrofobicidad de los residuos de péptidos y proteínas, que se pueden adsorber selectivamente en el relleno. Esto permite la separación de una gran cantidad de moléculas y se ha aplicado para la obtención de mapas peptídicos, que consiguen identificar distintas variantes, como glicosilaciones, oxidaciones, entre otras. Adicionalmente, este modo de cromatografía es altamente compatible con espectrómetros de masa, lo que facilita la

identificación de la estructura de nuevos péptidos y proteínas aisladas. Teniendo en cuenta la gran cantidad de tipos y proveedores de columnas, es crítica la selección de estas, en conjunto con adecuados parámetros instrumentales, para obtener métodos robustos de separación de péptidos y proteínas y de esta forma, asegurar la calidad del producto que se está purificando y/o formulando.

Referencias:

1. Tsiftsoglou AS, Ruiz S, Schneider CK. Development and Regulation of Biosimilars: Current Status and Future Challenges. BioDrugs. 2013; 27(3): 203-11.
2. Fosgerau K, Hoffmann T. Peptide therapeutics: current status and future directions. Drug Discov Today. 2015; 20(1): 122-8.
3. Robinson CJ, Jones C. Quality control and analytical techniques for biopharmaceuticals. Bioanalysis. 2011; 3(1): 81-95.
4. Berkowitz SA, Engen JR, Mazzeo JR, Jones GB. Analytical tools for characterizing biopharmaceuticals and the implications for biosimilars. Nat Rev Drug Discov. 2012; 11(7): 527-40.
5. Aguilar M-I, editor. HPLC of peptides and proteins: methods and protocols. Totowa, NJ: Humana Press; 2004. 413 p. (Methods in molecular biology).

CV de conferencista

Químico Farmacéutico de profesión, Magíster y Doctorado en Ciencias Farmacéuticas, con una avanzada formación en análisis instrumental y su aplicación en la formulación de medicamentos. Inició su trayectoria en la industria farmacéutica en el área de aseguramiento de la calidad y posteriormente en el departamento de desarrollo analítico, donde dirigió los procesos de elaboración de metodologías para los nuevos productos de la compañía, completando trece años de experiencia. Su área de expertiz es el desarrollo de técnicas cromatográficas para el análisis de moléculas activas en distintas matrices y la caracterización de materiales por técnicas de difracción de rayos X, espectroscópicas y térmicas. Actualmente, es académico de la carrera de Química y Farmacia de la Universidad de Santiago y de Post-grado en la Universidad de Chile. En esta última institución, participa como Investigador de equipos destacados en el área alimentaría y farmacéutica.

Biopolímeros en la industria farmacéutica

Guillermo R. Castro
Laboratorio de Nanobiomateriales, CINDEFI
Facultad de Ciencias Exactas. CONICET
Universidad Nacional de La Plata, Argentina
grcastro@gmail.com

La industria farmacéutica se encuentra en un gran proceso de transformación debido a los avances científico-tecnológicos recientes y a la necesidad de desarrollar sistemas de administración de moléculas más eficientes empleando tecnología denominada verde. En este sentido, la disponibilidad de una gran variedad de polímeros naturales, sumado al avance de técnicas con mayor sensibilidad y/o nuevas, ha posibilitado el desarrollo de novedosas micro- y nano-tecnológicas para la administración de fármacos.

Los biopolímeros son moléculas producidas por diversas formas vivientes que van desde plantas a microorganismos. Algunos de ellos se usan en las industrias farmacéuticas, alimentos y cosmética. En general, los biopolímeros de uso comercial están mayoritariamente compuestos por carbohidratos o aminoácidos, aunque pueden estar funcionalizados con otras moléculas debido a su rol biológico. Entre sus mayores ventajas podemos enumerar una elevada diversidad de grupos funcionales, variada longitud de cadena y pesos moleculares, pueden presentar grupos quirales y estereo- y enantio-selectividad, son fáciles de modificar mediante métodos químicos y/o enzimáticos, diversa estructura y topología, pueden producir estructuras sol-gel de acuerdo a las condiciones ambientales, son biodegradables y sus productos de degradación son atóxicos. En general presentan baja o nula toxicidad, son fáciles de purificar y en muchos casos son productos de desecho por lo cual poseen bajo costo.

En el laboratorio de Nanobiomateriales se han desarrollado micro- y nano-sistemas de liberación controlada de moléculas basadas en biopolímeros. En particular, un área de nuestro interés es el desarrollo de sistemas de liberación controlada de antibióticos debido a la emergencia surgida por la aparición de microorganismos multi-resistentes a antibióticos (MDR) declarada por la OMS y a la falta de producción de nuevos antibióticos observada en las últimas décadas.

En particular, serán presentados 3 modelos desarrollados de liberación controlada en los cuales se han empleado biopolímeros con diferentes funcionalidades. En el primer caso, se estudió la liberación de ciprofloxacina en una matriz coacervada de alginato-pectina de alto grado de metoxilación; en un segundo desarrollo, se presentará una matriz de alginato con Eudragit para liberación de florfenicol; y por último, sistemas de transportadores lipídicos nanoestructurados (NLC) recubiertos

de quitosano para liberación controlada de levofloxacina y tocoferol, agente antioxidante. Los sistemas desarrollados fueron analizados mediante métodos biofísicos a saber: técnicas espectroscópicas (FTIR, Raman, Rayos X, fluorescencia, etc.), microscópicas (SEM, TEM, AFM) y gravimétricas, que permiten confirmar las ventajas del empleo de biopolímeros para liberación controlada de fármacos.

Palabras clave: Biopolímeros, liberación controlada de moléculas, hidrogeles, antibióticos.

Referencias:

- Islan GA, Dini C, Bartel LC, Bolzán AD, Castro GR. Characterization of smart auto-degradative hydrogel matrix containing alginate lyase to enhance levofloxacin delivery against bacterial biofilms. Int J Pharm. 2015; 496: 953-64. Doi: 10.1016/j.ijpharm.2015.10.050.
- Islan GA, Cacicedo ML, Rodenak-Kladniew B, Durán N, Castro GR (2017). Development and tailoring of hybrid lipid nanocarriers. Special issue: Applications of solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC): State of the art. Curr Pharm Des. 2017; 23(43): 6643-58. Doi:10.2174/1381612823666171115110639.
- Islan GA, Gonçalves LMD, Marto J, Duarte A, Alvarez VA, Castro GR, Almeida AJ. Green formulation of smart hybrid nanostructured lipid carriers containing α-tocopherol and levofloxacin as biocarriers with antioxidant and antibacterial activities. Enviado para su publicación. 2020.
- Karp F, Turino LN, Estenoz D, Castro GR, Islan GA. Encapsulation of florfenicol by in situ crystallization into novel alginate-Eudragit RS blended matrix for pH modulated release. J Drug Deliv Sci Technol. 2019; 54: 101241 (In press). https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101241.

CV de conferencista:

Guillermo R. Castro, es Licenciado en Química (especialidad Biológica) y Doctor de la Universidad de Buenos Aires (Área Química), Argentina. Ha detentado posiciones posdoctorales en el Dept. of Chemistry, Massachusetts Institute of Technology (1996-1998, Cambridge, EE.UU.) y en Tufts University (Boston, EE.UU.), posteriormente fue designado Investigador Asociado y luego Profesor Adjunto en el Dept of Biomedical Eng., Tufts University (2001-2006, EE.UU.).

Posiciones presentes: Investigador Superior, CONICET (Argentina); Profesor Titular (Ordinario) Área Biotecnología, Depto. de Química, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina).

Docencia de grado: Ingeniería Metabólica y Nanobiotecnología.

Responsable del Laboratorio de Nanobiomateriales (CINDEFI, La Plata, Argentina).

Producción científica: 5 patentes, mas de 150 publicaciones internacionales y capítulos de libros.

Áreas de interés: liberación controlada de moléculas, biocatálisis, biopolímeros, micro- y nano-biotecnologías aplicadas a medicina.

Líneas de investigación: fibrosis quística, cáncer, diabetes, antifúngicos.

Aplicaciones y usos de la nanotecnología en la liberación controlada de compuestos

Cristian Tapia Villanueva
Departamento de Ciencia de loa Alimentos y Tecnología Química.
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile.
Sergio Livingstone 1007, Independencia, Santiago, Chile. ctapia@uchile.cl

Una de las aplicaciones de la nanotecnología en salud es el desarrollo de nanosistemas de liberación de moléculas bioactivas (fármacos convencionales, proteínas, biopéptidos y fitoquímicos) en sitios específicos del organismo para ejercer una acción localizada en procesos inflamatorios como las enfermedades colónica y periodontal. También en el campo de los envases bioactivos se utilizan para preservar los alimentos de la acción de microorganismos, mediante la liberación controlada de agentes antimicrobianos como aceites esenciales. Los polisacáridos y proteínas se usan ampliamente en el diseño de estos sistemas, tanto en forma separada como formando complejos. Dentro de los polisacáridos, quitosano [1] y alginato están entre los más utilizados, y dentro de las proteínas se usan preferentemente las de la leche, aunque hay una tendencia creciente al uso de proteínas vegetales, tales como las de quinoa. Hemos desarrollado nanosistemas de liberación basados en quitosano, obtenidos mediante gelificación iónica y pulverización con nitrógeno líquido como sistemas de liberación colónica [2] y periodontal [3], al igual que como sistemas de liberación de agentes antimicrobianos en envases bioactivos para la preservación de fruta fresca [4]. Actualmente, estamos desarrollando nanosistemas basados en complejos solubles de quinoa con quitosano o alginato [5] con potencial aplicación en el campo de la salud y los alimentos.

Palabras clave: Quitosano, alginato, proteínas de quínoa, liberación colónica, nanopartículas, envases bioactivos.

Referencias:

1. Rizeq B. R, Younes N.N, LE, Rasool K, Nasrallah G.K. Synthesis, bioapplications, and toxicity evaluation of chitosan-based nanoparticles. Int J Mol Sci. 2019, 20: 5776.
2. Gamboa A, Araujo V, Caro N, Gotteland M, Abugoch L, Tapia C. Spray freeze-drying as an alternative to the ionic gelation method to produce chitosan and alginate nanoparticles targeted to the colon. Journal of Pharmaceutical Sciences. 2015; 104(12): 4373-4385.
3. Pavez L, Tobar N, Chacón C, Arancibia R, Martínez C, Tapia C, Pastor A, González M, Martínez J, Smith P. C. Chitosan- triclosan particles modulate inflammatory signaling in gingival fibroblasts. J Periodont Res. 2018; 53: 232-239.
4. Medina E, Caro N, Abugoch L, Gamboa A, Díaz-Dosque M, Tapia C. Chitosan thymol

nanoparticles improve the antimicrobial effect and the water vapour barrier of chitosan-quinoa protein films. Journal of Food Engineering. 2019; 240: 191-198.

5. Romo I, Abugoch L, Tapia C. Soluble complexes between chenopodins and alginate/chitosan: Intermolecular interactions and structural-physicochemical properties. Carbohydrate Polymers. 2020; 227: 115334.

CV de conferencista:

Profesora Asociada del Departamento de Ciencia de los Alimentos de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas de la Universidad de Chile. Doctora de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de la Plata, Magíster en Ciencia de los Alimentos e Ingeniera en Alimentos de la Universidad de Chile. Investigadora y profesora de pre y posgrado en bioquímica y procesos alimentarios - Aspectos bioquímicos del procesamiento y conservación de alimentos - Propiedades fisicoquímicas, funcionales y estructurales de proteínas, especialmente proteínas de quínoa. Proyectos de investigación, I+D+i, publicaciones científicas relevantes en las áreas de investigación, numerosas presentaciones a congresos nacionales e internacionales, formadora de varias generaciones de Ingenieros en Alimentos, y estudiantes de magíster y doctorado. Creadora de la "Expoferia de Alimentos Innovadores para la Industria de los Alimentos", (año 2020 versión XV). Directora del Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química.

Obtención de globulinas 11S de quinoa por un sistema discontinuo de DF/UF Cross Flow y su potencial uso en biotecnología

Adrian Arturo Intiquilla Quispe
Dpto. Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química,
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas,
Universidad de Chile. aintiquilla@ug.uchile.cl

Los aislados proteicos obtenidos a partir de semillas de origen vegetal como *Chenopodium quinoa* (Quinua) se han vuelto un insumo de alta importancia en la industria alimentaria y biotecnológica alcanzado una demanda de 115 millones de toneladas a nivel mundial, donde su uso como aditivo y/o ingrediente depende en gran medida de las características que imparten en los productos en los que se utilizan, por lo que su aislamiento y/o purificación por diferentes métodos son un reto constante [(1)]. El objetivo del presente estudio fue desarrollar un procedimiento escalable lineal de diafiltración/ultrafiltración de flujo cruzado (DF/UF FC), utilizando membranas en serie de corte molecular de 100 y 30 kDa, con un sistema de flujo en paralelo para incrementar el área de trabajo (0,02 m^2) y obtener un concentrado de globulina 11S (quenopodina) a partir de harina de quinua [(2)] y compararlo con un sistema que utiliza las mismas membranas en un sistema por separado [(1)]. El proceso de DF/UF FC se realizó en un equipo Sartocon® Slice. En la primera parte, se realizó un proceso de DF utilizando 8 diavolumenes (DV) seguido del proceso de concentración por UF FC. En la concentración se estudiaron las curvas de disminución de flujo de acuerdo con los mecanismos de ensuciamiento de Hermia (1982) y la resistencia en un modelo de serie [(3)], resultando en un ajuste adecuado para el modelo de bloqueo completo de poros de la superficie de membrana (R= 0,993). El perfil electroforético de los procesos de diafiltración presentaron un polipéptido de tamaño ≈57 kDa correspondiente a la quenopodina y sus subunidades que predominaron en el proceso de concentración. Se obtuvo una mayor capacidad de procesamiento y rendimiento de proteína en relación al trabajo realizado con las membranas de manera independiente, reduciendo un 32,31% el tiempo e incrementando la concentración final de proteína del retenido hasta un 102,27% generando 2,1 gramos de producto. Se evaluó el tamaño y dispersidad de la quenopodina, presentando un tamaño de 23,1 nm en relación al volumen que representó el 99% del aislado y un índice de polidispersión de 0,43. El proceso DF/UF FC demostró ser adecuado, además de fácil de manejar y de poder escalar en este tipo de instrumento para aumentar la producción de quenopodina, las cuales tienen potencial uso en la industria alimentaria y/o biotecnológica.

Palabras clave: Globulina 11S, Diafiltración, Ultrafiltración Cross Flow.

Referencias:

1. Arazo M, Jaque N, Caro N, Abugoch L, Tapia C. Development of a scalable procedure by a discontinuous crossflow DF/UF to obtain a concentrate of chenopodin from a dead-end centrifugal UF at bench scale. Food Chem. 2020; 30(313):126-154.
2. Abugoch James LE1. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): composition, chemistry, nutritional, and functional properties. Adv Food Nutr Res. 2009; 58:1-31.
3. Hermia, J."Constant Pressure Blocking Filtration Laws - Application to Power-Law Non-Newtonian Fluids.Trans. Inst. Chem. Transactions of the Institution of Chemical Engineers London, 1982; 60(3): 183-87.

CV de conferencista:

Licenciado en Ciencia y Tecnología de Alimentos y Magíster en Biotecnología por la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima.

Estudiante del tercer año del Doctorado en Nutrición y Alimentos de la Universidad de Chile, Santiago. Su investigación se centra en la búsqueda de moléculas bioactivas aprovechando recursos de la biodiversidad: tarwi, quinua, residuos agroindustriales, etc; y la formación de nanocomplejos proteína-polisacárido para liberación de bioactivos a nivel colónico. Miembro del grupo de investigación BIOMIAS de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Investigador RENACYT, Grupo María Rostworowski, nivel II. Publica en revistas de alto impacto como: Natural Product Communications, Journal of the Science of Food and Agriculture, Biotechnology Progress, entre otras.

Multifuncionalidad y biodisponibilidad de péptidos bioactivos de origen alimentario

Blanca Hernández Ledesma
Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL, CSIC-UAM).
c/ Nicolás Cabrera 9, Madrid 28049, España
bhernandez@ifi.csic.es

Los péptidos bioactivos derivados de alimentos se han convertido en ingredientes prometedores para el desarrollo de alimentos funcionales y/o nutracéuticos, debido a su reconocida inocuidad, bajo coste y múltiples efectos beneficiosos (Udenigwe, & Aluko, 2012). Los péptidos bioactivos son definidos como secuencias de aminoácidos inactivos dentro de la proteína precursora, que, una vez liberados por procesos de hidrólisis *in vitro*, digestión *in vivo* y/o procesado de los alimentos, pueden ejercer un efecto beneficioso sobre las funciones del organismo y/o impactar positivamente sobre la salud humana, más allá de su importante valor nutricional. Las estructuras diversas de los péptidos bioactivos pueden explicar el amplio abanico de actividades biológicas demostradas hasta la fecha. Así, en la literatura se han descrito péptidos procedentes de fuentes, tanto animales como vegetales, con actividad antioxidante, anti-inflamatoria, anti-hipertensiva, anti-diabética, hipocolesterolémica, opioide, inmunomodulante, quimiopreventiva y anti-microbiana, entre otras (Lammi *et al.*, 2019).

Los péptidos multifuncionales son aquellos que presentan la capacidad de ejercer más de una actividad fisiológica afectando a diferentes órganos y/o funciones diana. Debido a sus ventajas con respecto a los péptidos monofuncionales que ejercen una única actividad, como son los menores efectos secundarios y el menor coste, los péptidos multifuncionales representan un área emergente con numerosas aplicaciones (Daliri *et al.*, 2017). Sin embargo, aunque la investigación relacionada con el desarrollo de alimentos funcionales basados en péptidos bioactivos ha ganado popularidad en los últimos años, la capacidad para traducir los nuevos descubrimientos en soluciones prácticas y comerciales todavía permanece demorada en el tiempo. Las principales razones de esta descompensación temporal son: (i) la falta de métodos escalables y consistentes de producción de péptidos bioactivos a partir de fuentes naturales de origen alimentario o no alimentario; (ii) el bajo conocimiento sobre la estabilidad gastrointestinal y/o la absorción de los péptidos, que influye sobre su biodisponibilidad; (iii) la falta de conocimiento suficiente sobre los mecanismos de acción responsables de los efectos demostrados; y (iv) la falta de ensayos clínicos adecuados que confirmen los efectos fisiológicos, avalando la aprobación de alegaciones de salud para los péptidos bioactivos (Chakrabarti *et al.*, 2018).

Teniendo en cuenta estos retos y desafíos, la presente conferencia abordará los siguientes aspectos:

- Nuevas fuentes de péptidos bioactivos basados en alimentos vegetales y subproductos de la industria alimentaria.
- Actividades biológicas descritas hasta la actualidad para péptidos alimentarios, tanto a nivel local como sistémico, describiendo los modelos empleados para su estudio, tanto *in vitro*, en modelos celulares y animales.
- Biodisponibilidad de péptidos: profundizando en los estudios llevados a cabo para evaluar la estabilidad frente a los procesos de digestión gastrointestinal y la capacidad para atravesar el epitelio intestinal, favoreciendo los efectos a nivel sistémico. Se detallarán las estrategias más prometedoras para incrementar la biodisponibilidad de los péptidos, como es la encapsulación.
- Regulación sobre el uso de los péptidos bioactivos en el desarrollo de nuevos alimentos funcionales y/o nutracéuticos.

Palabras clave: Proteínas alimentarias; péptidos bioactivos; funcionalidad biológica; digestión y absorción; promoción de la salud.

Referencias Bibliográficas:

1. Chakrabarti, S., Guha, S., Majumder, K. Food-derived bioactive peptides in human health: challenges and opportunities. Nutrients. 2018; 10: 1738.
2. - Daliri, E. B., Oh, D. H., Lee, B. H. (2017). Bioactive peptides. Foods, 6, E32.
3. - Lammi, C., Aiello, G., Boschin, G., Arnoldi, A. Multifunctional peptides for the prevention of cardiovascular disease: A new concept in the area of bioactive food-derived peptides. Journal of Functional Foods. 2019; 55: 135-145.
4. - Udenigwe, C. C., & Aluko, R. E. Food protein-derived bioactive peptides: Production, processing, and potential health benefits. Journal of Food Science. 2012; 77: R11-R24.

CV de conferecista:

Doctora en Farmacia desde 2002, ha desarrollado su carrera en el Instituto de Fermentaciones Industriales, la Universidad de California, Berkeley y el Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CSIC-UAM), donde actualmente trabaja como Científico Titular. Su carrera ha estado centrada en la actividad biológica de proteínas y péptidos alimentarios permitiendo un mejor conocimiento de sus implicaciones para la salud y el desarrollo de nuevos ingredientes alimentarios. Es autora de 73 artículos JCR, 9 artículos de divulgación y 30 capítulos de libro, con un índice h de 33. Ha presentado sus resultados en más de 90 congresos. Ha dirigido 5 tesis doctorales y 15 tesis de máster. Ha participado en 8 Proyectos internacionales y 20 nacionales. Ha participado como miembro de tribunales de oposición, tesis doctorales y de máster y paneles de expertos de evaluación de proyectos, además de ser miembro de comités editoriales de libros y revistas.

Efectos de compuestos bioactivos en procesos antiinflamatorios a nivel intestinal

Martin Gotteland
Dpto. de Nutrición, Fac. de Medicina, Univ. de Chile, Santiago, Chile. mgottela@med.uchile.cl

La homeostasis del ecosistema digestivo resulta de la estrecha y armoniosa interacción entre la microbiota intestinal, la inmunidad local y la barrera epitelial. Cualquier alteración que afecte a alguno de estos 3 componentes repercute negativamente sobre los demás, perturbando dicha homeostasis y favoreciendo el desarrollo de fenómenos inflamatorios que pueden perdurar en el tiempo y afectar gravemente la salud del individuo. Alteraciones de la microbiota, de la barrera epitelial y de la inmunidad asociadas con inflamación de la mucosa han sido reportadas a nivel gástrico (úlcera gastroduodenal), intestinal (enfermedad celíaca) y colónico (enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa). La permanencia en el tiempo de estos fenómenos inflamatorios significa un mayor riesgo de cáncer digestivo para los pacientes afectados por estas patologías.

Compuestos bioactivos como los polifenoles dietarios, los prebióticos y los probióticos contribuyen tanto a la regulación de la composición y diversidad de la microbiota como a la estabilización de la función intestinal de barrera y la estimulación de la inmunidad local, previniendo o atenuando el desarrollo de procesos inflamatorios en la mucosa. Estos efectos protectores implican distintos mecanismos, incluyendo la estimulación de poblaciones bacterianas beneficiosas pertenecientes, principalmente, a los géneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Akkermansia* y a especies productoras de butirato (un ácido graso volátil (AGV) antiinflamatorio) como *Faecalibacterium prausnitzii*. Ciertos prebióticos, probióticos y polifenoles ejercen actividades antibacterianas que reducen poblaciones bacterianas potencialmente patógenas (como *H. pylori* en el estómago), o productoras de metabolitos tóxicos como NH_3, p-cresol y H_2S considerados como proinflamatorios, citotóxicos y/o perturbadores de la función mitocondrial. Polifenoles polimerizados, como las proantocianidinas, también pueden unirse al lipopolisacarido (LPS) bacteriano en el lumen intestinal, reduciendo su interacción con la mucosa. Los AGVs, a través de la inhibición de la histona desacetilasa y/o de la estimulación de sus receptores GPR41, GPR43 y GPR109, regulan las respuestas inmunitarias innatas y adaptativas, así como la activación de los macrófagos residentes en la mucosa digestiva. Estos eventos contribuyen a disminuir la producción de mediadores de la inflamación y la infiltración de la mucosa por neutrófilos, mientras estimulan las células Treg productoras de IL-10, favoreciendo la tolerancia inmune a antígenos bacterianos y dietarios. Otros metabolitos bacterianos como el equol, las urolitinas, la enterolactona, derivados de isoflavonas, elagitaninos

y lignanos, respectivamente, y algunos ácidos aromáticos producidos a partir de los polifenoles, también exhiben actividades antiinflamatorias. Finalmente, varios compuestos bioactivos y/o sus metabolitos bacterianos estimulan la expresión de proteínas de uniones estrechas (ZO-1, claudinas, ocludinas), reforzando la función intestinal de barrera.

Los compuestos bioactivos de la dieta representan, por lo tanto, una herramienta interesante para prevenir o disminuir los procesos inflamatorios a nivel digestivo a través de variados mecanismos de acción.

Palabras clave: Polifenoles, prebióticos, probióticos, microbiota intestinal, mucosa digestiva.

Referencias Bibliográficas:

- Cires MJ, Wong X, Carrasco-Pozo C, Gotteland M. The Gastrointestinal Tract as a Key Target Organ for the Health-Promoting Effects of Dietary Proanthocyanidins. Front Nutr 2017; 3: 57.
- Gotteland M, Andrews M, Toledo M, Muñoz L, Caceres P, Anziani A, Wittig E, Speisky H, Salazar G. Modulation of *Helicobacter pylori* colonization with cranberry juice and Lactobacillus johnsonii La1 in children. Nutrition. 2008; 24: 421-6.
- Santino A, Scarano A, De Santis S, De Benedictis M, Giovinazzo G, Chieppa M. Gut Microbiota Modulation and Anti-Inflammatory Properties of Dietary Polyphenols in IBD: New and Consolidated Perspectives. Curr Pharm Des 2017; 23: 2344-2351.
- Viladomiu M, Hontecillas R, Yuan L, Lu P, Bassaganya-Riera J. Nutritional protective mechanisms against gut inflammation. J Nutr Biochem 2013; 24: 929-39.
- Isolauri E, Salminen S. Probiotics, gut inflammation and barrier function. Gastroenterol Clin North Am 2005; 34: 437-50.

CV de conferecista:

Doctorado en Fisiología y Fisiopatología de la Nutrición Humana (Universidad París VII, París, Francia), es Profesor Titular de la Universidad de Chile, académico del Dpto. de Nutrición de la Facultad de Medicina y del Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA). Participa como docente en los Programas de pregrado de las carreras de Nutrición y Medicina, además de postgrado, principalmente del Magíster de Nutrición (INTA), y del Doctorado en Nutrición y Alimentos. Director de más de 30 tesis de Licenciatura, Magíster y Doctorado. Sus líneas de investigación están enfocadas al estudio de la interacción entre ciertos componentes de la dieta (polifenoles, pre- y probióticos, fibra, aditivos, entre otros), la mucosa digestiva y la microbiota intestinal, como determinante de la salud en el ser humano, mediante el uso de modelos *in vitro*, animales y el desarrollo de ensayos clínicos.



SEMINARIO INTERNACIONAL EN BIOTECNOLOGÍA PARA LA SALUD

RESÚMENES DE PRESENTACIONES ORALES

Evaluación de la multifuncionalidad de hidrolizados de la fracción albúmina de *Erythrina edulis*

***Cleni Palma-Albino*[1], *Karim Jiménez Aliaga*[1], *Amparo Iris Zavaleta*[1], *Víctor Izaguirre*[1], *Blanca Hernández-Ledesma*[2]**

[1] Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Grupo de Investigación BIOMIAS. Jr. Puno N° 1002, Lima, Perú. Teléfono: +51 (01) 6197000
[2] Departamento de Bioactividad y Análisis de Alimentos, Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL, CSIC-UAM, CEI UAM+CSIC), Nicolás Cabrera 9, 28049 Madrid, España.
Correo electrónico: biomiasunmsm@gmail.com

Introducción: El incremento de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) ha despertado el interés por la búsqueda de hidrolizados proteicos multifuncionales que ayuden en su prevención o tratamiento. Se han reportado diferentes fuentes vegetales con alto contenido proteico que poseen actividades antioxidante, antidiabética, etc. Entre estas fuentes tenemos al Pajuro (*Erythrina edulis*), que posee un alto contenido de proteínas (18-25%), especialmente la fracción albúmina, que según se ha reportado, posee un buen perfil antioxidante [(1)], volviéndose una potencial fuente de estudio para obtener hidrolizados proteicos multifuncionales. El objetivo de este estudio fue hidrolizar la fracción albúmina y evaluar su actividad biológica.

Materiales y métodos: Se realizó una hidrólisis secuencial de la fracción albúmina de *Erythrina edulis* obtenida por Solano y col.[(1)], utilizando las enzimas pepsina (0.7 FIP- U/mg), pancreatina (350 FIP- U/g) y alcalasa (2.4 U/g proteína), separando alícuotas por tiempos, con las que se determinó el grado de hidrólisis usando el reactivo OPA y se cuantificaron las proteínas según el método BCA. Se evaluó la actividad antioxidante (ORAC y ABTS)[(2)], inhibitoria ECA[(3)] y la actividad inhibitoria DPP4 usando el DPP4 Inhibitor Screening Kit MAK203 (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA).

Tabla 1. Comparación de las actividades biológicas reportadas en la fracción Albúmina y HPPA 120.

Ensayos "*In vitro*"		MUESTRAS	
		Albúmina	HPPA 120
IC 50 (mg/mL)	Actividad inhibitoria ECA	n.d.	0.044 ± 0.003
	Actividad inhibitoria DPP4	n.d.	0.223 ± 0.004
TEAC (ET/mg proteína)	ORAC	0.802 ± 0.103	2.844 ± 0.197
	ABTS	0.25 ± 0.008	1.288 ± 0.058

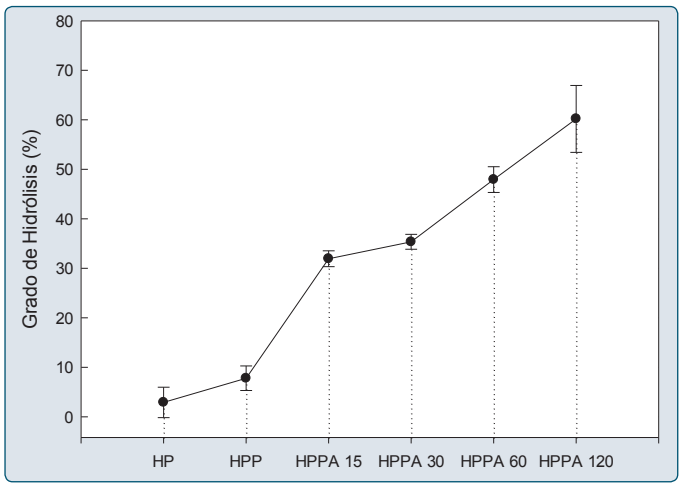


Figura 1. Evaluación del grado de hidrólisis (%) de la fracción Albúmina de *Erytrhina edulis*. HP: Hidrólisis con Pepsina, HPP: Hidrólisis con Pepsina Pancreatina, HPPA: Hidrólisis con Pepsina, Pancreatina y Alcalasa.

Resultados y discusión: La actividad antioxidante ORAC y ABTS de la fracción albúmina fue de 0.802 ± 0.103 y 0.25 ± 0.008 µmol de ET/mg de proteína, respectivamente; estos valores se incrementaron a más del 100% tras realizar la hidrólisis secuencial (Tabla 1). En el caso de las actividades inhibitorias ECA y DPP4, no se detectaron en la fracción de albúmina, sin embargo, en el punto final de la hidrólisis se obtuvieron valores significativos (IC_{50}: 0.044 ± 0.003 y 0.223 ± 0.004 mg/mL), los cuales se relacionan al incremento de hidrolizados proteicos observados en la Fig. 1, pudiendo concluir que la actividad se debe a la interacción de las enzimas con los hidrolizados proteicos de bajo peso molecular.

Conclusiones: La hidrólisis de la fracción albúmina presentó más de una actividad biológica, representando una potencial fuente para la obtención de péptidos multifuncionales.

Palabras clave: *Erythrina edulis*, fracción albúmina, hidrólisis enzimática, multifuncionalidad.

Agradecimientos: Al financiamiento del contrato: N°042−2018-FONDECYT-BM-IADT-AV.

Referencias bibliográficas:

1. Solano-Abad E. Modelo de digestión gastrointestinal *In vitro* para la obtención de fracciones peptídicas antioxidantes y quelantes de metales a partir de las semillas de *Erythrina edulis* [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico] Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2017.

2. Intiquilla A, Jiménez-Aliaga K, Zavaleta A, Arnao I, Peña C, Chávez-Hidalgo E., Hernández-Ledesma B. Nat Prod Commun. 2016; 11(6): 781-6.

3. Hayakari, M., Kondo, Y., & Izumi, H. A rapid and simple spectrophotometric assay of angiotensin-converting enzyme. Anal Biochem. 1978; 84(2): 361-9.

Estudio macroscópico e histológico de heridas diabéticas tratadas con gel a base de flavonoides de hojas de *Peperomia dolabriformis*

***Erik Ortiz-Alva*[1*], *Aída Alva-Castillo*[2]**

[1] Grupo de Investigación en Ciencias Dinámicas del Departamento de Fisiología Animal y Química Biológica de la Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo, La Libertad, Perú.
[2] Escuela de Posgrado de Farmacia y Bioquímica, Mención Productos naturales. Universidad Nacional de Trujillo, La Libertad, Perú.

Introducción: En el Perú, el pie diabético es una de las complicaciones más frecuentes de la Diabetes Mellitus [(1)] y en la actualidad es un problema multifactorial, teniéndose la necesidad de buscar nuevas estrategias terapéuticas. Plantas medicinales como *Peperomia dolabriformis* habitan en los valles andinos cálidos de La Libertad, siendo utilizada tradicionalmente como cicatrizante. El objetivo fue evaluar el efecto del gel a base de flavonoides totales de *P. dolabriformis* sobre los parámetros macroscópicos e histológicos de las heridas de ratas diabéticas con resistencia a la insulina.

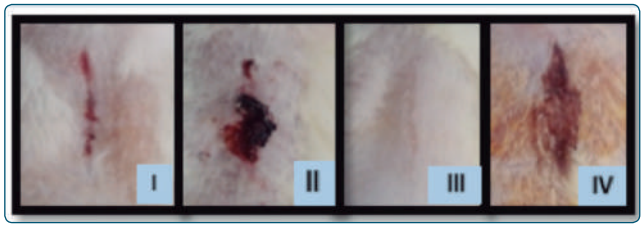


Figura 1. Heridas al 7° día de tratamiento post-incisión.

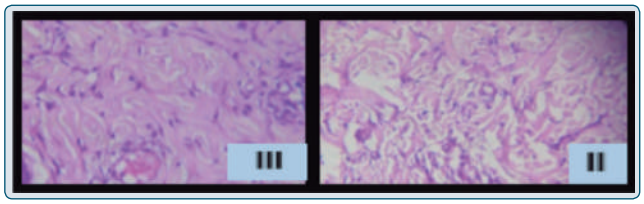


Figura 2. Producción de colágeno y densidad de fibroblastos. Hematoxilina-eosina, 100x.

Materiales y métodos: El extracto etanólico se obtuvo por maceración y sus flavonoides por hidrólisis ácida. Se indujo resistencia a la insulina (diabetes tipo 2), por inyección con dexametasona (2mg/Kg, i.m, 5 días). Luego, se realizaron incisiones en la zona dorsal y se administraron los tratamientos por vía tópica durante 7 días según el diseño experimental: Grupo I (Control negativo), Grupo II (Modelo de enfermedad), Grupo III (gel al 5% de flavonoides), Grupo IV (Povidona yodada). Se evaluaron los parámetros macroscópicos e histológicos de las heridas diabéticas a través de estudios estadísticos semi-cuantitativos.

Resultados y discusión: Se encontró que el gel a base de flavonoides aumenta significativamente ($p<0.05$) la velocidad de cicatrización (Fig. 1) y la densidad de fibroblastos y síntesis de colágeno (Fig. 2). Esto concuerda con lo reportado con Zavaleta [(2)], el cual encontró que *P. dolabriformis* mejora la curación de heridas de la mucosa palatina en conejos. El gel de *P. dolabriformis* podría fomentar la curación mediante la regulación del TGF-1β [(3)], disminución del estrés oxidativo y el aumento de expresión de factores de transcripción como PPARγ y NFR2 [(4)].

Conclusiones: Los flavonoides de *P. dolabrifomis* mejoran la curación de heridas diabéticas y es una droga promisoria para combatir el pie diabético.

Palabras clave: Hidrogeles, úlceras, cicatrizante, epitelización, antiinflamatorio.

Agradecimientos: Financiamiento personal Laboratorio de Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, UNT.

Referencias bibliográficas:

1. Mejía et al. Association between hospitalization stay and diabetic foot: an analytical cross-sectional study in three Peruvian hospitals. Medwave. 2018; 18(7): e7336.

2. Zavaleta Peralta FM. Efecto del gel de P*eperomia dolabriformis* y Aloe vera sobre la cicatrización de heridas de mucosa palatina en conejos de la raza nueva Zelanda. [Tesis]. Chimbote: Universidad Católica de los Ángeles; 2018.

3. Yuslianti et al. Effect of rambutan-honey and its flavonoid on TGF-β1 induce fibroplasia oral wound healing. Research Journal of Medicinal Plants. 2016; 10(8): 435-42.

4. Mirza et al. Macrophage PPARγ and impaired wound healing in type 2 diabetes. J Pathol. 2015; 236(4): 433-44.

Antimicrobial potential of stingless bee *Melipona eburnea*: an analysis of activity *in vitro* and *in silico*

***Fernando Valdivieso-Rivera*[1*], *Giovanna Morán-Marcillo*[1], *Nina Espinosa de los Monteros-Silva*[1], *Carolina Proaño-Bolaños*[1]**
[1] Laboratorio de Biología Molecular y Bioquímica. Universidad Regional Amazónica Ikiam, Napo - Ecuador

Introduction: In recent years, the resistance to antibiotics generate millions of deaths around the world. Faced with this problem, research to look for alternative antimicrobials has aroused interest in antimicrobial peptides, which are characterized by their mechanism of rapid action that prevents the generation of resistance. The sources of antimicrobial peptides have been extended throughout history from bacteria to multicellular organisms [(1)]. However, some species have not been studied such as *Melipona eburnea*, a wild bee of Amazon. The aim of this study was characterized the structure and antimicrobial activity *in vitro* and *in silico* of one peptide from *M. eburnea*.

Materials and methods: The approach of the methodology begins knowing that insect-derived immune peptides are regulated at the transcriptional level after a bacterial infection. Therefore, the first step after the collection of forage bees was infect them with bacteria [(2)]. After immunization, hemolymph was extracted, separated into fractions in RP-HPLC and analyzed using MALDI ToF MS/MS. Every fraction was a part of a screening of activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in triplicate. The peptide sequence found in the study was evaluated using Molecular Docking with Autodock VINA.

Table 1. Comparison of binding energy values of halicitine and Dhalictine.

	Origin / PDB Code	Halictine (kcal/mol)	Dhalictine (kcal/mol)
Membrane cell	Mammalian 2MLR	-38.43	-21.55
	Bacterial 2W6D	-17.06	-53.98
Enzyme	*S. aureus* 1MWT	-26.72	-9.63
	E. coli 4PRV	-31.16	-25.74

Results and discussion: One fraction presented inhibitory activity (Figure 1).

In the same fraction, a part of the antimicrobial peptide halictine was

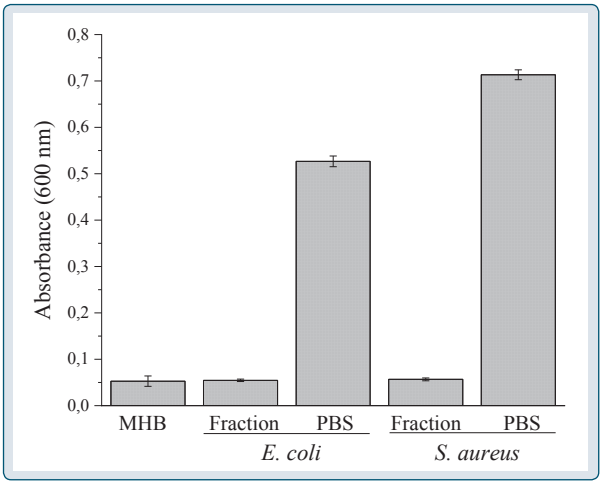


Figure 1. Biological activity of HPLC fraction against two bacteria. **MHB**: Mueller Hinton Broth without bacteria (negative control). **PBS**: Phosphate buffered saline and bacteria (positive control).

identified with MALDI ToF MS/MS [3]. Binding energy between the sequence fond named as Dhalictine (WSKILGHLI) and previously reported (GMWSKILGHLIR) were compared. The results show (Table 1) that Dhalictine interacts better with the bacterial membrane than halictine, and halictine interacts more strongly with mammalian membrane than Dhalicitine.

Therefore, the peptide found in this study could present less hemolysis and selective activity against bacteria. Besides, by simulating the peptide as a potential inhibitor of key enzymes for microorganisms (Table 1), Dhalictine presented less binding energy, which attributes that its mechanism of action is more linked to membrane disruption.

Conclusions: *M. eburnea* produce antimicrobial peptides in their hemolymph to overcome infections, and this study demonstrates that the combination of *in vitro* and *in silico* tests are essential for decision making and subsequent essays.

Keywords: Immunization, simulations, hemolymph.

Acknowledgments: PARG project.

Bibliographic references:

1. Patel S, Akhtar N. Antimicrobial peptides (AMPs): The quintessential 'offense and defense' molecules are more than antimicrobials. Biomedicine & Pharmacotherapy. 2017; 95: 1276-83.

2. Ishii K, Hamamoto H, Sekimizu K. Establishment of a bacterial infection model using the european honeybee, *Apis mellifera* L. PLoS One. 2014; 9(2): e89917.

3. Monincová L, Budesínský M, Slaninová J, Hovorka O, Cvacka J, Voburka Z, *et al*. Novel antimicrobial peptides from the venom of the eusocial bee *Halictus sexcinctus* (Hymenoptera: Halictidae) and their analogs. Amino Acids. 2010; 39(3): 763-75.

Films poliméricos conteniendo ciprofloxacina intercalada en hidróxidos dobles laminares como apósitos compuestos para aplicación tópica

Yadira Salguero Salas[1], *Laura Valenti*[1], *Ricardo Rojas*[1], *Mónica García*[2*]

[1] Departamento de Fisicoquímica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, e Instituto de Investigaciones Fisicoquímicas de Córdoba (INFICQ-CONICET), Ciudad Universitaria, X5000HUA Córdoba, Argentina.
[2] Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, y Unidad de Investigación y Desarrollo en Tecnología Farmacéutica (UNITEFA-CONICET), Ciudad Universitaria, X5000HUA Córdoba, Argentina.
*mgarcia@fcq.unc.edu.ar

Introducción: Los films poliméricos (FP) para el tratamiento y profilaxis de infecciones de la piel son una interesante alternativa a las terapias convencionales. Por su parte, los sólidos inorgánicos, como los hidróxidos dobles laminares (LDH), son usados como portadores de fármacos para controlar su liberación. Este trabajo tuvo por objetivos la obtención de FP con base en LDH cargados con ciprofloxacina (Cip) e incorporados en una matriz polimérica, y la caracterización de sus propiedades fisicoquímicas y farmacéuticas relevantes.

Materiales y métodos: Los LDH-Cip se sintetizaron por coprecipitación a pH variable. Luego de optimizar las condiciones de síntesis, se incorporaron a una dispersión polimérica de hialuronano (HS) 2 % p/v y glicerina 1 % v/v (plastificante) para obtener los FP mediante evaporación del solvente. La estructura y composición de LDH-Cip se determinaron mediante DRX y FT-IR, análisis químico y TGA, y la morfología de las partículas por DLS y SEM. Los FP fueron caracterizados mediante estudios de uniformidad de peso y contenido, microscopía confocal (MC), hinchamiento, liberación *in vitro* y actividad microbiológica frente a *Staphylococcus aureus*.

Resultados y discusión: Mediante DRX, FT-IR y TGA se evidenció la intercalación de Cip en los LDH y la ausencia de Cip pura o del complejo Cip-metal divalente en los sistemas desarrollados. Se alcanzó una incorporación de Cip del 57,8 % p/p, la cual ocupó la totalidad de los sitios intercambiables de los LDH. Las partículas presentaron tamaño micrométrico, amplio rango de distribución de tamaños, potencial zeta positivo (36,7 mV) y morfología de tipo laminar. Los FP presentaron uniformidad de peso y contenido con coeficientes de variación inferiores al 9%, indicando distribución homogénea de la Cip a lo largo de su superficie, aunque ésta presentó rugosidad de acuerdo con el análisis de MC. Los FP se hincharon hasta un 150 y 200% en PBS pH 7,4 y 5,8, respectivamente, y mostraron una liberación controlada de Cip y dependiente del pH del medio. Los FP presentaron actividad antimicrobiana con relevancia clínica frente a *S. aureus*.

Conclusión: Los films desarrollados presentan propiedades prometedoras para ser aplicados tópicamente en el tratamiento y profilaxis de infecciones bacterianas de la piel.

Palabras clave: Portadores inorgánicos, liberación controlada, administración tópica, films híbridos.

Agradecimientos: YS agradece a la SENESCYT de la República del Ecuador por la beca otorgada. Este trabajo fue financiado por la Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica – Fondo para la investigación Científica y

Tecnológica (FONCyT-PICT 2012-0534); el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la República Argentina (CONICET, PIP 11220120100575); y la Secretaría de Ciencia y Tecnología, Universidad Nacional de Córdoba (SECyT-UNC 05/C585).

Referencias bibliográficas:

1. García MC, Aldana AA, Tártara LI, Alovero F, Strumia MC, Manzo RH, *et al*. Bioadhesive and biocompatible films as wound dressing materials based on a novel dendronized chitosan loaded with ciprofloxacin. Carbohydrate polymers. 2017; 175: 75-86.

Efecto de diferentes dosis de fucoidan de *Lessonia trabeculata* sobre parámetros bioquímicos en ratones balb/c

***Libertad Alzamora-Gonzales*[1*], *Edson Carbajal-Huamaní*[1], *Erasmo Colona-Vallejos*[1], *Estela Urbina Ayala*[1], *Rosa Condori Macuri*[1], *Fabrizio Vásquez Cruzado*, *Diego Ramos Lette*, *Jorge Chávez Pérez*[2], *Eder Apumayta Suárez*[2]**

[1] Facultad de Ciencias Biológicas, Grupo de Investigación Inmunomoduladores y Antitumorales de Origen Natural y Sintético. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima-Perú.
[2] Instituto de Investigación de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima-Perú.

Introducción: El efecto tóxico de los productos farmacológicos se puede demostrar mediante la determinación del perfil bioquímico y la obtención de información sobre estado de órganos como riñones, hígado y páncreas. La ruta digestiva del fucoidan de *Cladosiphon okamuranus* fue demostrada en ratas por Nagamine *et al.* [(1)], detectándolo en suero, hígado y tejidos del intestino delgado, confirmando que atraviesa la barrera epitelial y es absorbido por las células de Kupffer. Aunque en el Perú, el fucoidan no se consume de manera masiva como ocurre en Japón, donde el consumo diario promedio es de 14.2 g [(2)], es necesario establecer si su consumo altera el perfil bioquímico. El objetivo es demostrar el efecto del fucoidan de *L. trabeculata* sobre ocho indicadores de perfil bioquímico en ratones Balb/c tratados con distintas dosis de fucoidan de *L. trabeculata*.

Materiales y métodos: El extracto crudo (40% de pureza), fue elaborado a partir de frondas de *L. trabeculata* Villouta & Santelices 1986 (Phaeophyta) procedente de la Bahía de San Nicolás (Ica, Perú). Las dosis de fucoidan se administraron por vía oral, durante 15 días, a ratones hembra Balb/c de 4 a 5 semanas de edad, con pesos de 20-25 g, mantenidas en jaulas fisiológicas, bajo condiciones estándar. Los animales fueron adquiridos en el Instituto Nacional de Salud, se adecuaron a las condiciones del bioterio durante 5 días.

Se distribuyeron en cinco grupos (n=5). cada grupo recibió una dosis distinta del extracto con fucoidan (GI: 100; GII: 200; GIII: 400; GIV: 800 mg/Kg de peso; GV: Control, sin tratamiento). Al término de los tratamientos, se realizó la sangría total, previa anestesia y eutanasia del animal. La sangre se colectó en viales con acelerador de coagulación y se obtuvo el suero. Se analizaron los siguientes parámetros bioquímicos: Alanin aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), úrea, creatinina, fosfatasa alcalina, albúmina, globulinas y glucosa.

Resultados y discusión: Los valores encontrados para ALT y AST corresponden al rango normal referencial, lo mismo que los valores de fosfatasa alcalina, se puede inferir que no se ha producido ninguna alteración funcional en hígado, riñones o páncreas, lo que coincide con lo reportado en un ensayo realizado en ratas intoxicadas con etanol, en el cual se demostró la actividad hepatoprotectora del fucoidan [(3)]. Los valores de la glucosa se incrementaron en los cuatro grupos tratados ($p>0.05$), lo que podría deberse a que también se incrementó el azúcar de la dieta, ya que el fucoidan contiene fucosa sulfatada, manosa, galactosa y xilosa [(4)]. Estos resultados deben ser considerados si se emplea como suplemento nutricional de uso constante.

Conclusiones: Las dosis empleadas en los cuatro grupos experimentales no afectaron el perfil bioquímico por ende no causaron daño hepático, renal o pancreático.

Palabras clave: Fucoidan, perfil bioquímico, *Lessonia trabeculata*, algas pardas, extracto de alga parda.

Agradecimientos: La investigación fue financiada por el CONCYTEC. Convenio 133-2017-Fondecyt.

Referencias bibliográficas:

1. Nagamine T, Nakazato K, Tomioka S, Iha M, Nakajima K. Intestinal absorption of fucoidan extracted from the brown seaweed, *Cladosiphon okamuranus*. Mar. Drugs. 2014; 13(1): 48-64.

2. Fukuda S, Saito H, Nakaji S, Yamada M, Ebine N, Tsushima E, *et al*. Pattern of dietary fiber intake among the Japanese general population. Eur J Clin Nutr. 2007; 61(1): 99-103.

3. Selvaraju M, Shanmugaam U, Ravichandran S, Tamilarasan M, Thangavel B. Hepatoprotective effect of fucoidan isolated from the seaweed *Turbinaria decurrens* in ethanol intoxicated rats, International Journal Biological Macromolecules. 2014; 67: 367-372.

4. Hwang PA, Yan MD, Lin H, Li KL, Lin YC. Toxicological evaluation of low molecular weight fucoidan *in vitro* and *in vivo*. Mar. Drugs. 2016; 14: 121-135.

Bioautografía enzimática integrada a espectrometría de masas en tándem y molecular docking de alcaloides de *Hippeastrum miniatum* como herramienta de búsqueda de agentes terapéuticos para el Alzheimer

Kirianova Godoy Bautista
Universidad Nacional de Tumbes, INCABIOTEC

Introducción: El Alzheimer es un trastorno neurodegenerativo progresivo, que se desarrolla con un marcado deterioro cognitivo, pérdida de memoria y alteraciones neuropsiquiátricas. Se caracteriza por la presencia de placas seniles de Aβ amiloide, ovillos neurofibrilares, y disminución del neurotransmisor acetilcolina. Según la hipótesis colinérgica, el deterioro cognitivo en el Alzheimer surge como consecuencia de la disminución de la transmisión colinérgica. Debido a ello, el incremento de acetilcolina por inhibición de la enzima acetilcolinesterasa (AChE), podría restaurar la transmisión colinérgica y revertir el deterioro cognitivo [(1)].

Los desórdenes neurodegenerativos, como el Alzheimer son hoy en día un grave problema de salud a nivel mundial con escasas alternativas de tratamiento. Debido a ello es imperativo la búsqueda de drogas efectivas para su tratamiento y cura definitiva.

Hippeastrum miniatum es una especie que crece en la selva peruana, usada tradicionalmente para el tratamiento de mordedura de serpiente. Al ser el veneno de serpiente, un coctel de enzimas como la acetilcolinesterasa, diana terapéutica del Alzheimer, consideramos que el uso tradicional de *H. miniatum* como antídoto puede ser explicado por la presencia de alcaloides inhibidores de enzimas, en particular de acetilcolinesterasa, hecho que permite restaurar la transmisión colinérgica y convierten a *H. miniatum* en un reservorio de moléculas activas para el Alzheimer. El desarrollo actual de drogas es un proceso guiado por actividad, que emplea técnicas instrumentales e informáticas para acelerar el proceso de descubrimiento de fármacos y disminuir los costos de experimentación. La bioautografía enzimática integrada con espectrometría de masas en tándem, es una estrategia eficiente para el descubrimiento de inhibidores enzimáticos. Debido a la tolerancia de contaminantes de los espectrómetros de masas MALDI TOF, el acoplamiento de la bioautografía enzimática con espectrometría de masas MALDI TOF/TOF fuera de línea, es capaz de identificar con alta especificidad moléculas inhibidoras de la colinesterasa en extractos vegetales complejos, disminuyendo costos de experimentación y acelerando el proceso de descubrimiento de drogas, sobre todo si la técnica va seguida de un proceso de *docking* molecular que, en una fase muy temprana de investigación, nos muestra la interacción molecular de la diana farmacológica con su inhibidor.

Debido a ello, el presente trabajo tuvo como objetivo el desarrollo de la técnica que acopla la bioautografía enzimática con espectrometría de masas en tándem MALDI TOF/TOF para la identificación de alcaloides inhibidores de la colinesterasa en bulbos de *Hippeastrum miniatum*, y el empleo de *docking* molecular de estos alcaloides para el descubrimiento de moléculas más efectivas para el tratamiento del Alzheimer.

Materiales y métodos: El extracto metanólico de bulbos de *H. miniatum*, fue obtenido mediante extracción asistida por ultrasonido. A partir de este se extrajeron alcaloides por partición líquido-líquido, empleando una mezcla de ácido acético al 5% y cloroformo. La fase acuosa fue basificada con carbonato de sodio y los alcaloides fueron extraídos con cloroformo (3x50mL).

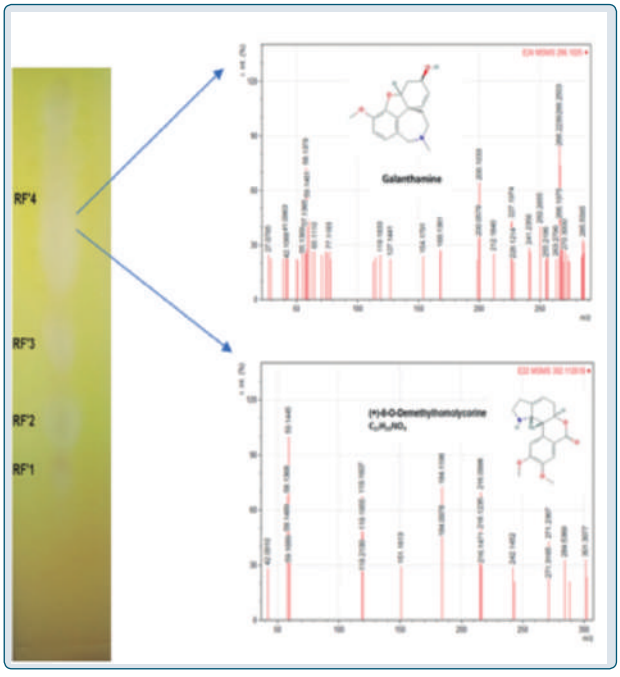


Figura 1. Identificación de alcaloides inhibidores de colinesterasa en *H. miniatum* empleando integración de bioautografía enzimática con espesctrometría de masas en tándem MALDI TOF TOF.

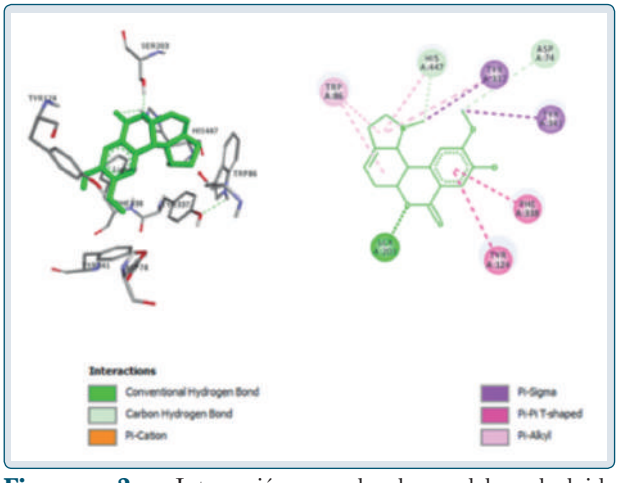


Figura 2. Interacción molecular del alcaloide (+)-8-O-Demethylhomolycorine con el centro activo de AChE.

La actividad inhibitoria de la colinesterasa *in vitro* de los alcaloides obtenidos fue evaluada mediante el ensayo de Ellman [2], usando galantamina como control positivo, trabajándose con 5 concentraciones de extractos.

La bioautografía enzimática se desarrolló sobre placas cromatográficas de silicagel de 10 cm de longitud en las que se migró la muestra empleando un sistema de solventes constituido por cloroformo : metanol (9:1). Se evaporó el solvente y se procedió a aplicar el sustrato acetiltiocolina, el reactivo DNTB y la enzima acetilcolinesterasa. Las placas fueron incubadas a temperatura ambiente. La actividad inhibitoria se visualiza por la formación de spots blancos en medio de un fondo amarillo. Estos spots indican la presencia de compuestos que inhiben la actividad de la enzima acetilcolinesterasa. Los spots de inhibición fueron desorbidos de la placa, y los compuestos presentes en ellos fueron extraídos con metanol, concentrados y mezclados con una matriz constituída por CHCA 15mg/ml y TFA 0.1%. Las muestras fueron analizadas en un espectrómetro de masas MALDI TOF TOF 5800 de AB SCIEX, en modo reflectrón positivo, empleando un rango de masa de 80 a 2500 Da. El análisis en tándem se realizó activando la celda de colisión en modo MS MS 2KV positivo. La interpretación de los espectros y la identificación de los alcaloides fueron realizadas empleando el software MS FINDER V.3.24.

El *docking* molecular se realizó empleando el software Autodock V.4.2, empleando algoritmo genético lamarckiano y la estructura tridimensional de la acetilcolinesterasa humana acoplada a Donepezil de código PDB: 4EY7.

Resultados y discusión: La CI_{50} de los alcaloides de *H. miniatum* fue de 29,7 µg/mL, lo que indica actividad inhibitoria significativa, siendo superior a la obtenida por Ortiz y colaboradores [3] para *Hippeastrum argentinum* (67.3 µg/mL).

La bioautografía enzimática de los alcaloides de bulbos de *H. miniatum*, muestra la presencia de 4 spots de inhibición (fig. 01).

Mediante integración de bioautografía enzimática y espectrometría de masas en tándem MALDI TOF TOF, se identificaron los alcaloides de *H. miniatum*, responsables de la actividad anticolinesterasa. El spot 4 es el de mayor diámetro, lo cual indica la presencia de inhibidores de gran potencia o de elevada concentración (Figura 1). En este spot se han detectado los alcaloides galantamina y (+)-8-O-Demethylhomolycorine.

Los alcaloides inhibidores de la colinesterasa detectados mediante este método fueron: galantamina, licorina, pancratinina A, Clivonidine, (+)-8-O-Demethylhomolycorine. Es relevante la presencia de galantamina, puesto que es uno de los pocos fármacos aprobados por la FDA para el tratamiento de Alzheimer; asimismo se ha determinado por *docking* que (+)-8-O-Demethylhomolycorine se une al dominio catalítico y al sitio aniónico periférico de la enzima (PAS) (Figura 2). Este resultado es relevante porque el sitio PAS de la enzima es usado por ella para acoplarse al beta amiloide e inducir la formación de placas seniles. Además, Hulcova y colaboradores [4] determinaron que este compuesto inhibe a la GSK-3β, una enzima implicada en la hiperfosforilación de tau.

Conclusiones: Mediante integración de bioautografía enzimática y espectrometría de masas MALDI TOF/TOF se han identificado los alcaloides responsables de la actividad inhibitoria de la acetilcolinesterasa de los bulbos de *H. miniatum*, siendo los más relevantes la galantamina y (+)-8-O-Demethylhomolycorine. Este último se une a la tríada catalítica y al PAS de la enzima, además trabajos previos señalan que este compuesto inhibe a GSK - 3β, configurándose como una molécula multidiana que puede ser el punto de partida para el desarrollo de drogas más eficaces contra el Alzheimer.

Palabras clave: Bioautografía enzimática, anticolinesterasa, *Hippeastrum miniatum*, MALDI TOF/TOF.

Agradecimientos: A la beca INCABIOTEC- Universidad Nacional de Tumbes.

Referencias bibliográficas:

1. Ferreira-Vieira TH, Guimaraes IM, Silva FR, Ribeiro FM. Alzheimer's disease: Targeting the Cholinergic System. Current Neuropharmacology [Internet]. 22 de enero de 2016 [citado 24 de enero de 2019];14(1):101-15. Disponible en: http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1570-159X&volume=14&issue=1&spage=101

2. Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochemical Pharmacology [Internet]. julio de 1961 [citado 9 de febrero de 2019];7(2):88-95. Disponible en: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0006295261901459

3. Ortiz JE, Pigni NB, Andujar SA, Roitman G, Suvire FD, Enriz RD, et al. Alkaloids from Hippeastrum argentinum and Their Cholinesterase-Inhibitory Activities: An *in Vitro* and *in Silico* Study. Journal of Natural Products [Internet]. 27 de mayo de 2016 [citado 22 de enero de 2019];79(5):1241-8. Disponible en: http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jnatprod.5b00785

4. Hulcová D, Breiterová K, Siatka T, Klímová K, Davani L, Šafratová M, et al. Amaryllidaceae Alkaloids as Potential Glycogen Synthase Kinase-3β Inhibitors. Molecules [Internet]. 21 de marzo de 2018 [citado 24 de enero de 2019];23(4):719. Disponible en: http://www.mdpi.com/1420-3049/23/4/719

Acinetobacter sp. KG07 productor de L-asparaginasa proveniente de sedimentos del río Lurín - Lima

Katherin García-Huamaní, Susana Calderón-Toledo, Stephy Saavedra, Ysamar Tapia-Bañez, Amparo Iris Zavaleta

Laboratorio de Biología Molecular. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima 1 - Perú

Introducción: L-asparaginasa es usada para el tratamiento de diversos tipos de cáncer, así como en la reducción de la concentración de acrilamida en alimentos termoprocesados. Esta enzima es aislada de vegetales, animales y microorganismos [(1)]. En este último grupo están los géneros *Escherichia* y *Erwinia*, productores de L-asparaginasa, sin embargo, presentan baja actividad o reacciones adversas; ante este hecho, es necesaria la búsqueda de nuevas fuentes. Por ello se caracterizó a *Acinetobacter* sp. KG07 productor de L-asparaginasa proveniente de fangos del río Lurín en Lima.

Materiales y métodos: A 24 bacterias aisladas de fangos del río Lurín (Lima) se les realizaron ensayos de actividad enzimática en placas de agar utilizando L-asparagina, gelatina, caseína y skim milk, almidón y carboximetilcelulosa. Para el análisis cualitativo de producción de L-asparaginasa se usó medio Czapek Dox modificado, suplementado con azul de bromotimol como indicador [(2)]. Los aislados bacterianos productores de la mayor concentración de la enzima fueron identificados por secuenciación parcial de los genes ribosómicos 16S.

Resultados y discusión: De las 24 cepas analizadas, se identificaron dos bacterias con mayor producción de L-asparaginasa. La cepa KG07 fue Gram-negativa, sin actividades proteolítica, amilolítica o celulolítica y presentó 98% de similitud con el género *Acinetobacter*. Por el contrario, la cepa KG KG15 fue Gram positiva, con actividades proteolítica, amilolítica y celulolítica y mostró 97% de similitud con el género *Bacillus*. La actividad L-asparaginasa de *Acinetobacter* sp KG07 fue 0,231 U/mL, alcanzando su máximo valor al inicio de su fase estacionaria. La concentración obtenida de la enzima fue aproximadamente diez veces menor a la descrita para *Acinetobacter baumani* [(3)].

Conclusiones: *Acinetobacter* sp. KG07 produce 0,231 ± 0,03 U/mL de L-asparaginasa y no produce proteasas, es una fuente potencial para la producción de esta enzima.

Referencias bibliográficas:

1. Cachumba JJ, Antunes FA, Peres GF, Brumano LP, Santos JC, Da Silva SS. Current applications and different approaches for microbial L asparaginase production. Braz J Microbiol 2016; 47(1): 77-85.

2. Mahajan R, Saran S, Kameswaran K, Kumar V, Saxena R. Efficient production of L-asparaginase from *Bacillus licheniformis* with low-glutaminase activity: optimization, scale up and acrylamide degradation studies. Bioresour Technol. 2012; 125: 11-16.

3. Muslim SN, AL_Kadmy IMS, Mohammed Ali AN, Hussein NH, Dwaish AS, El-Haboby BT, *et al*. Extraction and purification of l-asparaginase produced by A*cinetobacter baumannii* and their antibiofilm activity against some pathogenic bacteria. The International Journal of Biotechnology. 2016; 5(1): 7-14.

Purification, characterization and application of a collagenolytic protease produced by *Pseudomonas* sp. SUK

Prashant Bhagwat [a]***, Padma Dandge*** [b]

[a] Department of Microbiology, Shivaji University, Kolhapur 416004, India
[b] Department of Biochemistry, Shivaji University, Kolhapur 416004, India

Introduction: Protease represents one of the most important group of enzymes with wide industrial applications, which accounts for approximately 60% of the total enzyme sales in the world. Collagenolytic proteases are the enzymes having ability to hydrolyze the native and denatured triple helix of collagen to smaller fragments and hence they have wide application in pharmaceutical and food industries. Present work describes the purification, biochemical, biophysical characterization and application of collagenolytic protease from *Pseudomonas* sp. SUK.

Materials y methods: Collagenolytic protease production was carried out using previously optimized media. Purification of collagenolytic protease was done with anion exchange chromatography and subjected to different physicochemical analysis. Purified enzyme was characterized using biophysical analysis such as CD, DLS and DSC. The meat tenderization ability of purified collagenolytic protease at lower temperature was evaluated. The application of enzyme in dissociation of animal tissues was also investigated in this study.

Results: The extracellular collagenolytic protease produced by *Pseudomonas* sp. SUK was purified to homogenecity by ammonium sulfate precipitation followed by DEAE-cellulose chromatography. The enzyme was purified by 15.40-fold with 26.80% recovery and its molecular mass was found to be 58.6 kDa by SDS-PAGE. The optimum temperature and pH for the enzyme were 60 °C and 8.0, respectively. The purified enzyme was stable over a wide pH and temperature range and it was able to degrade various types of collagen. The Km and Vmax of the enzyme was 1.05 ± 0.09 mg ml^{-1} and 6.03 ± 0.52 x 10^{-4} mol l^{-1} min^{-1}, respectively. EDTA, Fe^{3+}, Hg^{2+}, SDS, methanol and iso-propyl alcohol inhibited >25% enzyme activity whereas Zn^{2+}, Ba^{2+}, Ca^{2+}, Tween 80, toluene and n-hexane were found to be good enhancers. Biophysical characterization revealed that the enzyme is having 68.4% a-helix and 8.32% b-sheet, with hydrodynamic radius of approximately 3.1 nm. Furthermore, the enzyme has a negative charge at pH 7.5 with a zeta potential value of -28.7 mV and Tm 62.3 ± 0.02 °C. This study assumes that the collagenolytic protease purified from *Pseudomonas* sp. SUK could be potentially exploited for meat tenderization at reduced temperatures as well as in animal tissue cultures as a tissue dissociating and cell dislodging agent.

Keywords: Collagenolytic protease, Biophysical characterization, Meat tenderization, Cell dislodging agent.

Bibliographic references:

1. Bhagwat PK, Jhample SB, Dandge PB. Statistical medium optimization for the production of collagenolytic protease by *Pseudomonas* sp. SUK using response surface methodology. Microbiology. 2015; 84(4): 520-530.

2. Suphatharaprateep, W., Cheirsilp, B., & Jongjareonrak, A. Production and properties of two collagenases from bacteria and their application for collagen extraction. New biotechnology. 2011; 28(6): 649-655.

Expresión recombinante de L-asparaginasa II por *Pichia pastoris* (Mut^{s}) en altas concentraciones de metanol

***Omar Pillaca-Pullo*[*1,2], *Marcela Pimenta*[1], *Gisele Monteiro*[1], *Adalberto Pessoa-Jr*[1], *Michele Vitolo*[1]**

[1] Universidad de São Paulo, Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Departamento de Tecnología Bioquímico-Farmacéutica, São Paulo.
[2] Escuela de Medicina Humana, Universidad Privada San Juan Bautista, Lima, Perú

Introducción: L-asparaginasa o ASNasa (EC. 3.5.1.1) es una enzima usada en el tratamiento de Leucemia Linfoblástica Aguda. La ASNasa comúnmente usada es de origen bacteriano por lo que suele presentar reacciones inmunológicas, por esta razón, las nuevas investigaciones se centran en la búsqueda de la enzima de origen eucariótico. ASNasa II de *Saccharomyces cerevisiae* surge como una nueva alternativa de agente antitumoral debido a su estabilidad y pH óptimo [(1)]. La levadura metilotrófica *Pichia pastoris*, crece en altas densidades celulares, siendo una buena opción para producir grandes cantidades de proteínas recombinantes. El cultivo se suele dividir en dos fases: **a**) Fase de crecimiento, utilizando glicerol y **b**) Fase de inducción, donde el metanol induce la expresión de la proteína recombinante [(2)]. Durante la fase de inducción, la concentración de metanol en el medio es importante para el crecimiento y expresión proteica; sin embargo, altos niveles de metanol pueden generar estrés oxidativo por metabolitos tóxicos (formaldehído y ácido fórmico) estimulando la ruta apoptótica [(3)].

Materiales y métodos: Los cultivos se llevaron a cabo en frascos Erlenmeyer Baffled con medio BMGY (pH 6,0) con 10 g/L de glicerol a 30 °C, 250 rpm. Después del consumo de glicerol, las células son separadas por centrifugación. El pellet celular fue resuspendido en medio BMMY (pH 6.0) e inducido adicionando metanol (1 y 3% v/v) a cada 24 horas a 20°C y 250 rpm. Finalmente, se realizó un cultivo en biorreactor con 2L de medio BMGY (pH 6,0) con 40 g/L de glicerol a 30°C, 500 rpm y 1 vvm, inducido con pulsos de metanol durante 120 horas a 20°C. El pH 6.0 se mantuvo constante en todo el cultivo. La actividad de ASNasa fue medida utilizando las células vivas (actividad periplasmática) por el método de β-hidroxamato aspártico [(1)] y la cantidad de biomasa fue medida por el método de masa seca, ambos parámetros fueron acompañados durante todo el tiempo de cultivo.

Resultados y discusión: En frascos Erlenmeyer Baffled, la concentración de glicerol (10 g/L) fueron consumidos después de 8 horas ($\mu_{máx}$ = 0.35 h^{-1}, $Y_{x/s}$ = 0.8 g/g). La actividad ASNasa fue observada a lo largo del cultivo, cuando se uso 1% de metanol hasta las 120 horas de cultivo (23 U/g), mientras con 3% de metanol se obtuvo un pico de producción a las 48 horas de inducción (16 U/g) (Figura 1). La caída de la producción de ASNasa en ambos casos puede deberse a dos motivos: a) la acidificación del medio, b) los efectos tóxicos generados por los metabolitos derivados del metanol. La inducción usando metanol al 3% fue la elegida para proseguir el ensayo en biorreactor debido al menor tiempo de producción. En biorreactor, la fase de crecimiento se llevó a cabo en 21 horas usando glicerol (40 g/L) ($\mu_{máx}$ = 0.27 h^{-1}, $Y_{x/s}$ = 0.8 g/g) y la actividad periplasmática (14 U/g) fue detectada después de 12 horas de inducción y se mantuvo casi constante durante todo el cultivo; la actividad total al final del proceso fue 1420 U (Figura 2). Los resultados en biorreactor indicaron que mantener el pH constante durante todo el proceso es clave en la producción de la

ANSasa. Además, se infiere que la alta concentración de metanol debe generar algún efecto positivo en la levadura. Katarura *et al*, 1998 [4] propusieron tres interpretaciones para explicar el aumento de la producción extracelular de Pz-Glycoproteina Humana I (pzGPZdV): 1) incremento de la transcripción del gen, 2) incremento de la permeabilidad de la proteína a través de la membrana e 3) incremento en el suministro de energía para producción de la proteína. Debido al aumento en la cantidad de biomasa producida (~21 g/L) durante la fase de inducción (Fig. 2), consideramos que la tercera hipótesis sería la más razonable para nuestro caso.

Conclusiones: La cepa de *P. pastoris* se desarrolló eficientemente en medios con altas concentraciones de metanol (3%), y el cultivo en biorreactor mostró que el mantenimiento del pH a 6.0 afecta positivamente la expresión de ASNasa.

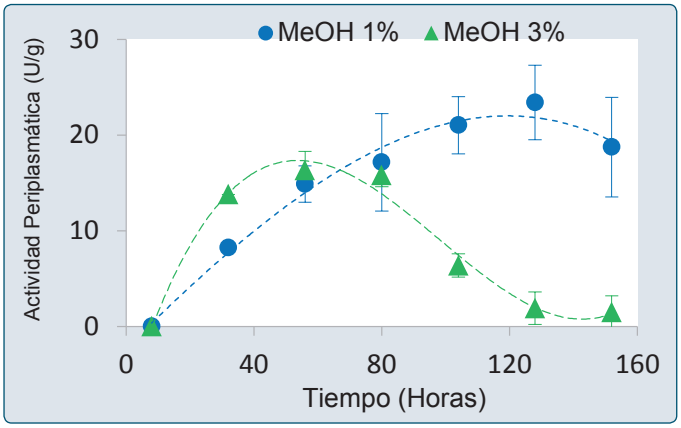


Figura 1. Actividad periplasmática de ASNasa producida en *P. pastoris* en diferentes concentraciones de metanol.

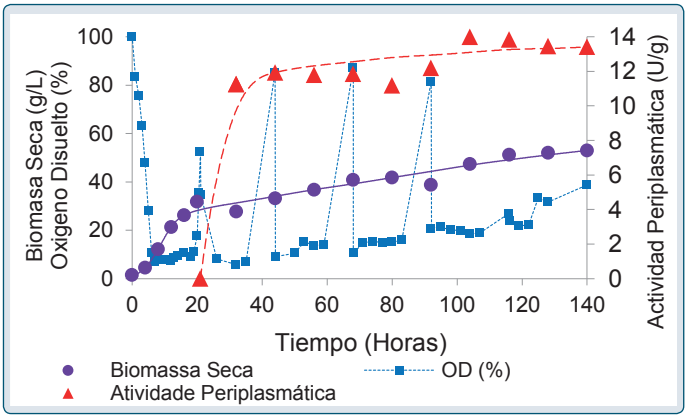


Figura 2. Producción de ASNasa de *P. pastoris* por cultivo en biorreactor con 3%(v/v) de metanol.

Palabras clave: *Pichia pastoris*, L-asparaginasa, *Saccharomyces cerevisiae*, metanol.

Agradecimientos: FAPESP Proceso (2013/08617-7).

Referencias bibliográficas:

1. Ferrara MA, Severino NMB, Mansure JJ, Martins AS, Oliveira EMM, Siani AC, *et al.* Asparaginase production by a recombinant Pichia pastoris strain harbouring *Saccharomyces cerevisiae* ASP3 gene. Enzyme Microb Technol. 2006; 39(7): 1457-63.

2. Poutou R, Córdoba H, Quevedo B, Landázuri P, Echeverri O, Sáenz H, *et al.* Expresión de Iduronato 2-sulfato sulfatasa humana recombinante (IDShr) en *Pichia pastoris*. Rev la Fac Ciencias Pontif Univ Javeriana [Internet]. 2005; 10(1): 75-96.

3. Jones J, Bellion E. Methanol oxidation and assimilation in *Hansenula polymorpha*. An analysis by 13C n.m.r. *in vivo*. 1991; 280: 475-81.

4. Katakura Y, Zhang W, Zhuang G, Omasa T, Kishimoto M, Goto Y, *et al.* Effect of methanol concentration on the production of human 2- glycoprotein I domain V by a recombinant *Pichia pastoris*: A simple system for the control of methanol concentration using a semiconductor gas sensor. J Ferment Bioeng. 1998; 86(5): 482-7.

Estudio DFT para el análisis comparativo de la energía de interacción al glicerol de las enzimas glicerol deshidratasa de *Lactobacillus reuteri* y *Klebsiella pneumoniae*

Christian Solis-Calero[1]

[1] Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima - Perú.

Introducción: En los últimos años se ha observado un creciente interés en cambiar de materia prima fósil a una materia prima renovable para la producción de productos químicos y materiales. El 3-hidroxipropionaldehído (3HPA) es uno de los compuestos químicos que sirve de base para la síntesis de diversos compuestos de interés industrial, tales como acroleína, el ácido 3-hidroxipropiónico, 1,3-propanodiol, ácido malónico, acrilamida y ácido acrílico, y también se puede utilizar como agente antimicrobiano (reuterina) en alimentos y la industria de la salud [(1)]. Este metabolito puede ser producido a partir del glicerol en algunas bacterias por una reacción catalizada por la enzima glicerol deshidratasa (GD). El glicerol es un subproducto obtenido en grandes volúmenes de la fabricación de biodiesel, bioetanol y jabón, y es por ello un sustrato de carbono potencialmente útil para la producción de 3HPA [(2)]. Por lo tanto el estudio de las vías metabólicas, así como de la enzima GD en particular, son de gran interés para poder optimizar la generación del 3HPA. Por otro lado, el *Lactobacillus reuteri* (LR) es un microorganismo candidato muy atractivo para la producción de 3HPA porque no es patógeno, también se usa como un probiótico, y por lo tanto, carece de restricciones que limiten su uso industrial, a diferencia de la *Klebsiella pneumoniae* (KP), uno de los microorganismos inicialmente propuestos para tal fin [(3)]. En el presente trabajo, por ello, se propone realizar un análisis comparativo de las energías de interacción de los residuos aminoácidos de las enzimas GD de LR y KP al glicerol, que permita determinar la importancia de los mismos en la afinidad de la enzima con el objetivo de ser sujetos a modificación por técnicas de ingeniería genética, para optimizar su actividad.

Materiales y métodos: Las estructura de la GD de KP fue obtenida de la base datos PDB (ID: 1IWP) y la de LR fue obtenida por modelaje de homología

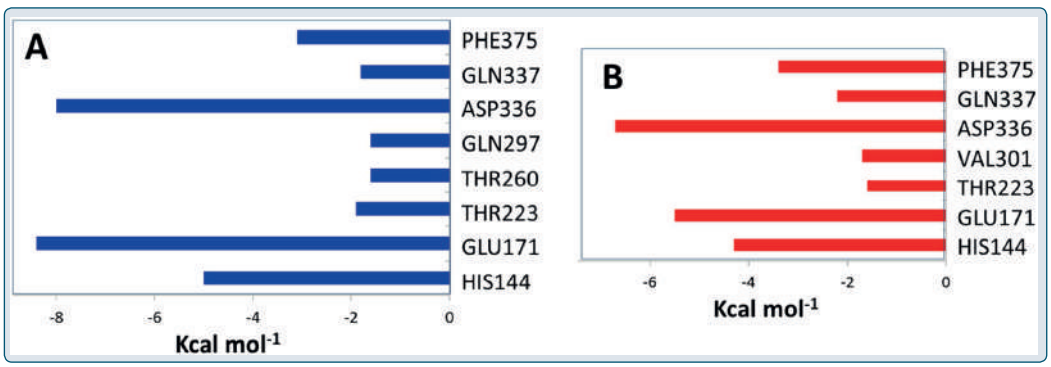


Figura 1. Residuos de aminoácidos con mayor contribución a las energías de interacción de los complejos entre el glicerol y las enzimas glicerol deshidratasa de (A) *Lactobacillus reuteri* y (B) *Klebsiella pneumoniae*.

usando como molde la estructura de KP [4]. Ambos sistemas en complejo con glicerol fueron optimizados mediante cálculos de química cuántica/mecánica molecular (QM/MM) usando un nivel de cálculo MNDO/AM1/PM3 y el campo de fuerza YAMBER. Los complejos GD/glicerol de LR y KP fueron entonces utilizados para el cálculo de las energías de interacción de todos sus residuos aminoácidos al glicerol por el método de fragmentación molecular MFCC ("molecular fractionation with conjugate caps") con un nivel de cálculo DFT (teoría del funcional de la densidad): PBE/DNP^{+}.

Resultados y discusión: Los resultados de los cálculos de energía de interacción obtenidos, mostraron que para la energía de interacción total de los complejos GD/glicerol de LR y KP fueron -35.2 y -35 kcal mol^{-1}, respectivamente. El residuo más importante para la unión fue el Glu171, con una contribución a la energía de interacción de -8.4 kcal mol^{-1}, mientras que para el sistema GD/glicerol de KP, el aminoácido con la interacción más atractiva fue el Asp336, con una contribución a la energía de interacción de -6.7 kcal mol^{-1}. En ambos casos, se obtuvo un mapa de la energía de interacción de todos los residuos de GD al glicerol, los residuos con las mayores contribuciones son representados en las Fig. 1 y 2.

Conclusiones: A través del presente estudio se pudo cuantificar las contribuciones de los diferentes aminoácidos de las enzimas GD de LR y KP a la energía de interacción de las enzimas con el glicerol. Los residuos aminoácidos con mayores contribuciones a la energía de interacción son de naturaleza polar, lo que guarda relación con el análisis cualitativo de las estructuras de la GD de KP obtenida experimentalmente [4], y la obtenida por modelaje por homología de la GD de KP, donde se observa que la mayoría de interacciones entre la GD y sus ligandos son del tipo puente de hidrógeno.

Palabras clave: Glicerol deshidratasa, reuterina, *Lactobacillus reuteri*, *Klebsiella pneumoniae*, MFCC.

Agradecimientos: Al Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por el apoyo brindado para la consecución del presente trabajo que es parte del proyecto de investigación 03556-R-19 financiado con resolución 03556-R-19.
Al grupo de Reactividad Química y Diseño de Fármacos de la Universitat de les Illes Balears, España, por las facilidades en software y otros recursos computacionales que permitieron la ejecución de los cálculos realizados para el presente trabajo.

Referencias bibliográficas:

1. Dawes J, Rowley J. Enhancing the customer experience: contributions from information technology. J Business Res. 2005; 36(5): 350-7.

2. Wang ZX, Zhuge J, Fang H, Prior BA. Glycerol production by microbial fermentation: a review. Biotechnol Adv. 2001; 19(3): 201-23.

3. Dishisha T, Pereyra LP, Pyo SH, Britton RA, Hatti-Kaul R. Flux analysis of the Lactobacillus reuteri propanediol-utilization pathway for production of 3-hydroxypropionaldehyde, 3-hydroxypropionic acid and 1,3-propanediol from glycerol. Microb Cell Fact. 2014; 13: 76.

4. Yamanishi M, Yunoki M, Tobimatsu T, Sato H, Matsui J, Dokiya A, et al. The crystal structure of coenzyme B12-dependent glycerol dehydratase in complex with cobalamin and propane-1,2-diol. Eur J Biochem. 2002; 269(18): 4484-94.

Purificación de una serinoproteasa aislada del veneno de *Bothrops barnetti* – caracterización y actividad coagulante

***Magaly Brousett-Minaya*[*1, 3], *Frey Romero-Vargas*[2, 3]**
[1] Universidad Nacional de San Agustín, Facultad de Ciencias Naturales y Formales, Escuela de Química
[2] Universidad Nacional de San Agustín, Facultad de Ciencias Biológicas, Dpto. académico de Biología
Universidad Estadual de Campinas, UNICAMP, Sao Paulo Brasil- Instituto de Biología, área de Bioquímica
brousett144@yahoo.es

Introducción: Uno de los países afectados por el envenenamiento ofídico es Perú, el cual presenta una valiosa y diversa herpetofauna que incluye especies de las familias Elapidae (género *Micrurus*) y Viperidae (géneros *Bothrops*, *Crotalus*, *Lachesis*). Los reportes de envenenamientos ocurren en las zonas de selva alta y baja, con mayor incidencia en Loreto (Campbell e Lamar, 2004). Diferentes trabajos apuntan a especies del género *Bothrops* como las principales agresoras entre el 61% a 88.5% (Bustamante *et al.*, 2007). Debido a la alta tasa de accidentes ofídicos, surge la necesidad de evaluar las actividades biológicas de estos venenos con la finalidad de diseñar y elaborar con ellos un suero "antibotrópico", para neutralizar los venenos de estas especies.

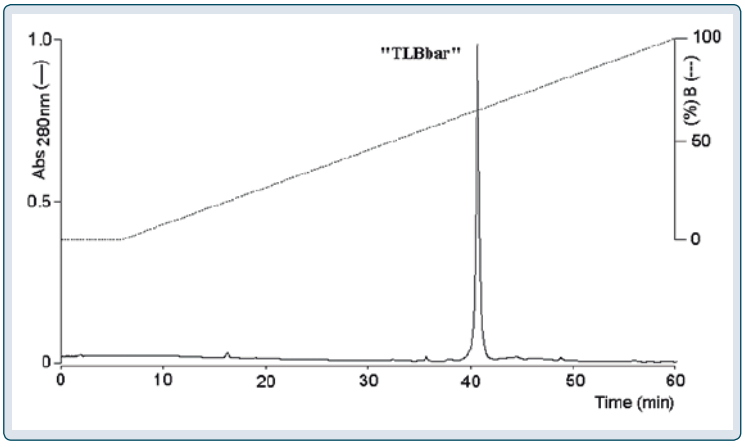


Figura 1. Cromatografía HPLC columna de fase reversa C8.

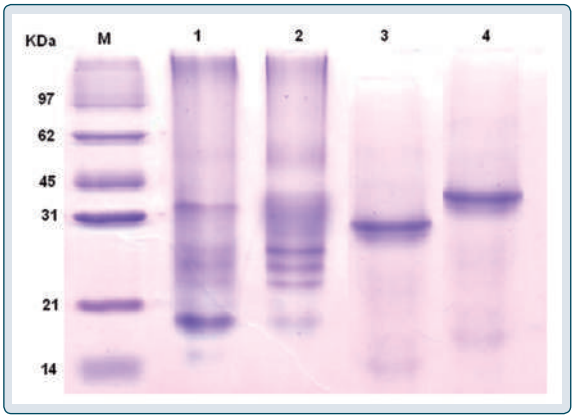


Figura 2. Electroforesis, gel poliacrilamida, condiciones nativas y agentes desnaturalizantes.

Materiales y métodos: Se realizó la purificación de la serinoproteasa "TLBbar" a partir del extracto seco del veneno de *B. barnetti*, mediante dos etapas: cromatografía Exclusión Molecular de Sephadex G-75 y cromatografía en HPLC de fase reversa en columna analítica Supelco C8. Se identificaron algunas actividades biológicas.

Resultados y discusión: La serinoproteasa fue purificada por HPLC, columna C-8, mostrando un pico bien definido (Fig. 1), presenta un alto grado de pureza, revelado en SDS-PAGE con Mr ~28,5 kDa (Fig. 2). La enzima presentó su mayor actividad proteolítica a 37°C y a pH 8.0. TLBbar presenta un comportamiento

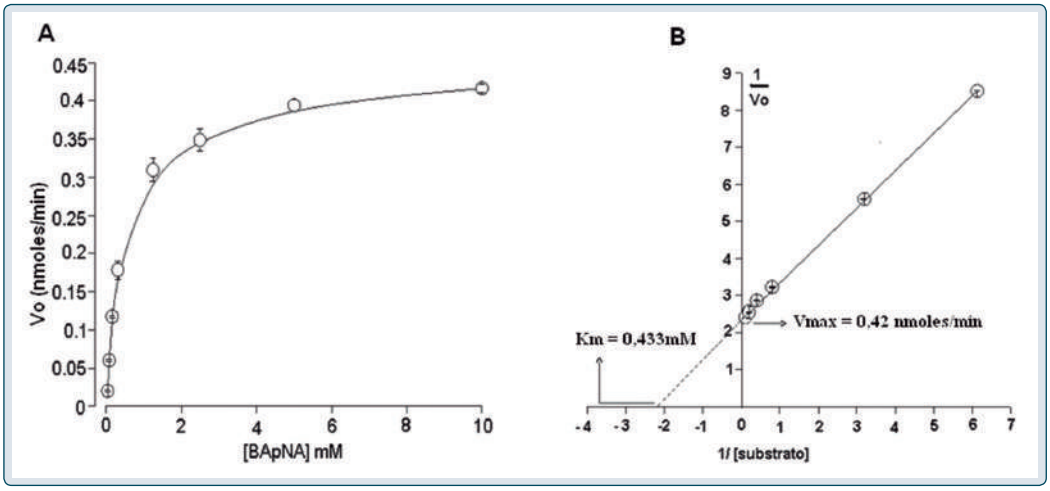


Figura 3. Cinética enzimática da TLBbar sobre el substrato BApNA A: Concentración de substrato B: Gráfico de Lineweaver-Burk - velocidad máxima da Serinoproteasa y su Km.

michaeliano según los estudios cinéticos realizados con substrato BApNA, revelando un Vmax y Km de 0,42 nmol/min y 0,433 mM, respectivamente (Fig. 3).

TLBbar presentó actividad coagulante sobre fibrinógeno bovino, formando un coágulo semi-rígido. Su actividad fibrinogenolítica se evidenció por la liberación de fibrinopéptidos A y la degradación de la cadena Aαdel fibrinógeno, la cual fue inhibida por PMSF y Leupeptina; confirmando su clasificación en el grupo de las serinoproteasas. La eficiencia de esta actividad fue observada entre 30°C y 40°C durante 2 horas de incubación. TLBbar tiene actividad pro-coagulante sobre plasma humano, evidenciando una dosis coagulante mínima (DCM) de 31,14 µg. Asimismo, fue evidenciada alta coagulabilidad (8 segundos) sobre el fibrinógeno bovino.

Conclusiones: La metodología utilizada en el proceso de purificación de TLBbar del veneno *Bothrops barnetti* demostró ser rápida y eficiente, conservando sus actividades biológicas. Presenta actividad pro-coagulante en plasma humano. Su actividad fibrigenolítica se evidenció por la liberación de fibrinopéptidos A de la cadena α de fibrinógeno y se evidenció una alta coagulabilidad en fibrinógeno bovino. TLBbar puede considerarse una nueva serinoproteasa, con potencial clínico, ya que muestra un potente efecto pro-coagulante.

Palabras clave: Veneno, serinoproteasa, actividad proteolítica

Referencias bibliográficas:

1. Campbell JA., Lamar W. The venomous reptiles of Latin America. Ithaca, NY: Cornell University Press; 2004. p. 425.

2. Bustamante JL., Flores V. Informe final de la consulta técnica sobre accidentes con animales ponzoñosos en Latino América. São Paulo: Panaftosa; 2007. p. 55.

A thermostable pectinase from *Thermotoga maritima* with potential industrial applications

Carol N. Flores-Fernández[1*], Max Cárdenas-Fernández[1], Gary J. Lye[1], John M. Ward[1]
[1] Dept. of Biochemical Engineering, The Advanced Centre for Biochemical Engineering, University College London, London, WC1E 6BT, U.K.

Introduction: Pectin is a complex polymer formed of mainly a polygalacturonic acid backbone with different degrees of esterification as well as neutral sugars as side chains. Due to the complexity of pectin, several pectinases are involved in its degradation [(1)]. To date, the majority of the studies about pectinases have focussed on those from mesophilic microorganisms such as *Aspergillus* and *Erwinia*. Thermostable pectinases have a great industrial potential for improving processes in textile, sugar, juice, and paper industries, as well as for the degradation of pectin-rich biomass feedstocks [(2)]. The aim of this work was to study a pectinase from the hyperthermophilic bacteria *Thermotoga maritima*.

Methodology: A gene encoding a polygalacturonase from *Thermotoga maritima* was cloned and expressed. The plasmid pET-29a (+) and the restriction enzymes *Nde*I and *Xho*I were used for cloning the gene with a C-terminal His6-tag. The PCR product was ligated into the plasmid and transformed into *E. coli* NovaBlue. Then, the plasmid was transformed into the expression host *E. coli* BL21 (DE3). In addition, the enzyme was functionally characterised and the substrate specificity was determined using pectin with different degrees of methylation such as polygalacturonic acid, citrus pectin and apple pectin.

Results and Discussion: The gene is 1347 bp in length and encodes an intracellular polygalacturonase with a molecular weight of 50.5 kDa. The enzyme exhibited maximum activity between pH 7 and 8 as well as in a temperature range from 90 to 100 °C. This polygalacturonase was highly stable at high temperatures keeping up to 72% of activity after 24 h of incubation at 90 °C. The ion Mn^{2+} produced an enhancement of 2-fold in the enzymatic activity and improved the product release in 20% at optimum temperature values. Regarding substrate specificity, the enzyme was able to catalyse the hydrolysis of only unmethylated substrates (Table 1). This pectinase, based on functional characteristics, has a great potential to be applied, along with other kinds of pectinases, in juice and beverage industries for fruits with high pectin content which are poorly soluble and viscous at normal processing temperatures [(3)].

Table 1. Substrate specificitys of the polygalacturonase from *Thermotoga maritima*.

Substrate	Degree of methylation (%)	Relative activity* (%)
Polygalacturonic acid	0	100
Citrus pectin	≥6.7	2
Apple pectin	50-75	6

* Activity with polygalacturonic acid was considered as 100%.

Conclusions:

- A polygalacturonase from *Thermotoga maritima* was successfully cloned and expressed in *E. coli*.
- The polygalacturonase showed great activity and stability at high temperatures.
- The ion Mn^{2+} enhanced the activity of the enzyme as well as the product release.
- The enzyme showed specificity only towards unmethylated substrates.

Keywords: Pectinase, thermostability, *Thermotoga maritima*.

Bibliographic references:

1. Bonnin E, Garnier C, Ralet MC. Pectin-modifying enzymes and pectin-derived materials: Applications and impacts. Applied Microbiology and Biotechnology. 2014; 98(2): 519-532.

2. Satyanarayana T, Kawarabayasi Y, Littlechild, J. Chapter 26: Pectinases of Thermophilic Microbe in Thermophilic Microbes. In: Satyanarayana T, Kawarabayasi Y, Littlechild, J. Environmental and Industrial Biotechnology: Biotechnology of Thermophiles. 2nd ed. London: Springer Science+Business Media Dordrech; 2013. p.1-956.

3. Kluskens LD, Van Alebeek GJWM, Walther J, Voragen AGJ, De Vos WM, Van Der Oost J. Characterization and mode of action of an exopolygalacturonase from the hyperthermophilic bacterium *Thermotoga maritima*. FEBS Journal. 2005; 272(21): 5464-5473.

Oxidación de arsénico mediado por *Halomonas elongata* como alternativa a la biorremediación de suelos

***Victor Borda Gallegos*[1*], *José Luis Sierra Herrera*[2], *Lyda La Torre Riveros*[3], *María Antonieta Quispe-Ricalde*[1]**

[1] Departamento de Biología, Escuela Profesional de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
[2] Escuela de postgrado, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
[3] Departamento de Química, Escuela Profesional de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco

Introducción: El arsénico (As) es un metaloide presente en el ambiente de forma natural que en los últimos años ha incrementado su presencia por las actividades antrópicas generando contaminación; su toxicidad depende de las especies químicas presentes en el ambiente, siendo la más tóxica el arsénico (As III) [(1)]. Para hacer frente a ello, surgen las técnicas de biorremediación por microorganismos, las cuales aprovechan la capacidad metabólica de los mismos para transformar dichas sustancias en otras menos tóxicas o inmovilizarlas en el ambiente [(2)].

Materiales y métodos: Para la oxidación del arsénico III por *Halomonas elongata* se evaluó una curva de toxicidad de 20 mg/L hasta 80 mg/L, para determinar la concentración mínima inhibitoria de este metaloide frente al crecimiento de la bacteria. La oxidación del arsénico III se analizó por la técnica de voltamperometría de onda cíclica. Por otro lado, se contaminaron muestras de suelos *in vitro* con concentraciones crecientes de As III desde 10 mg/L hasta 50 mg/L, para esto se desarrolló un grupo control que conserva la flora microbiana natural del suelo y un grupo experimental con el microorganismo halófilo. Estas dos pruebas se llevaron a cabo a 28° C y humedad constante, se evaluaron tomando muestras de suelo cada dos días por un periodo de diez días empleando la técnica de extracción simple; el procesamiento de las muestras se realizó por espectrometría de absorción atómica por horno de grafito.

Resultados y discusión: Los resultados indicaron que la bacteria halotolerante evaluada, *Halomonas elongata*, oxida el As III, lo que la ubica en el grupo de microorganismos con potencial biotecnológico en la biorremediación de suelos y aguas contaminadas por este metal.

La oxidación del As III al As V es una vía inicial de descontaminación de este metal, y es donde los microorganismos vivos pueden cumplir un papel importante por la capacidad de oxidar arsénico III a través de procesos enzimáticos [(3)]. Los microorganismos extremófilos han demostrado sobrevivir en estos ambientes contaminados, lo que induce a pensar que activan sus mecanismos de resistencia a metales pesados como el arsénico.

Conclusión: El microorganismo halótolerante *H. elongata* es capaz de oxidar arsénico en todas las concentraciones ensayadas.

Palabras clave: Arsénico, *Halomonas elongata*, biorremediación.

Agradecimientos: Gracias a Escuela Profesional de Biología, Escuela de postgrado, y a la Escuela Profesional de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

Referencias bibliográficas:

1. Bundschuh J. Distribución del arsénico en las regiones ibérica e iberoamericana. J Chem Inf Model. 2013; 53(9): 1689-99.

2. Kruger MC, Bertin PN, Heipieper HJ, Arsène-Ploetze F. Bacterial metabolism of environmental arsenic - mechanisms and biotechnological applications. Appl Microbiol Biotechnol. 2013; 97(9): 3827-41.

3. Páez A. Funcionalidad biológica de la resistencia a arsénico en la bacteria hipertolerante *Pseudomonas putida* KT2440. [Tesis doctoral]. Madrid: Universidad Autónoma de Madrid; 2009.

Obtención de quitooligómeros mediante bioconversión de exoesqueleto de *Litopenaeus vannamei* y pluma de *Dosidicus gigas* por hidrólisis bacteriana

***Maritza Yliana Navarro Purizaga*[1], *Kirianova Godoy*[2], *Rosa Liliana Solis-Castro*[3*]**

[1] Escuela de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Nacional de Tumbes
[2] Incabiotec SAC
[3]Laboratorio de Biología Molecular, Universidad Nacional de Tumbes -Perú

Introducción: La industria pesquera y acuícola generan una cantidad considerable de desechos derivados de crustáceos, los cuales, al no ser transformados, contribuyen al incremento de la contaminación ambiental. La biotransformación de estos desechos permite no sólo la disminución del impacto ambiental sino también la generación de productos de mayor valor agregado.

Los crustáceos son una fuente importante de quitina y quitosano, biopolímeros de interés en medicina, biotecnología, agricultura y en la industria alimentaria; sin embargo, su pobre solubilidad a pH neutro limita su uso (Kidibule *et al*., 2018). A diferencia de éstos, los quitooligómeros, son compuestos con bajo grado de polimerización y peso molecular menor a 3900 Daltons, generados por hidrólisis de quitina y quitosano. Estos compuestos son de interés biotecnológico debido a que poseen elevada solubilidad, son biocompatibles, no son tóxicos, y poseen un amplio rango de actividad biológica como: antibacterianos, antifúngicos, antitumorales, inmunoestimulantes, antioxidante, antiinflamatorio, antivirales, probióticos (Ibrahim *et al*., 2016; Kidibule *et al*., 2018), debido a ello la transformación de los desechos de pota y langostino a quitooligómeros funcionales es de gran importancia.

En consideración a lo antes mencionado, el presente trabajo tiene como objetivo dar valor agregado a los desechos de *Litopenaeus vannamei* y *Dosidicus gigas*, mediante su bioconversión eficiente, económica y ecoamigable para la obtención de quitooligosacaridos, empleando bacterias aisladas a partir de estos mismos desechos.

Materiales y métodos: El trabajo experimental se realizó en el Laboratorio de Biología Molecular y de Análisis Ambiental de la Universidad Nacional de Tumbes. Se utilizaron bacterias aisladas en medio quitina coloidal. Las bacterias se aislaron a partir de los residuos de camarón y pluma de pota recolectados de las fábricas procesadoras de estos productos hidrobiológicos. Las bacterias fueron designadas como 9A, A3, A5, RDQ, 5DQ, D145, e identificadas mediante secuenciamiento de la región 16S RNA.

Para la degradación se empleó una batería de 11 bioreactores conteniendo medio mínimo con 5% de residuo de pluma de pota o residuo de camarón como fuente de carbono, y bacterias solas o asociadas, a una concentración de 2 D.O. (600 nm), con volumen de reacción de 50 ml, y en agitación 150 rpm/min, por duplicado (Kumar y Suresh, 2014). Las condiciones de crecimiento fueron: temperatura de 28 y 32 °C, pH inicial de 6.3 y 7.0, y tiempo de reacción de 240 y 168 horas para residuo de langostino y pluma de pota, respectivamente.

Los muestreos para determinar la producción de quitooligómeros (producto de la degradación) se realizaron cada 24 horas para la pluma de pota, y cada 48 horas después del primer día para el residuo de langostino. Las alícuotas de 1 ml fueron centrifugadas a 14000 rpm/min, y el sobrenadante fue utilizado para la medición de quitooligómeros, la cual se realizó en espectrofotómetro a 540 nm (Kim *et al*., 2018; Miller, 1958).

Resultados: De la batería de 11 bioreactores conteniendo bacterias solas o asociadas, tanto para el residuo de pota como para el residuo de langostino, las cepas A3 y la RDQ, fueron las más eficientes para la bioconversión de residuos de pota y langostino, respectivamente. Los resultados muestran que el porcentaje de extracción de quitooligómeros a partir del residuo de pota fue de 0.53%, mientras que partir de langostinos fue de 0.28%. Además, la velocidad de conversión de los residuos de pota en quitooligómeros resultó ser 58% mayor que con el exoesqueleto de langostino. Esto sugiere que las enzimas de las bacterias aisladas tienen mayor afinidad por la estructura particular de la quitina presente en la pluma de pota.

Conclusión: A la luz de nuestros resultados, se concluye que las bacterias A3 y RDQ, muestran potencial para la degradación de residuos de camarón y de pluma de pota. Se requiere optimizar las variables de proceso y el análisis del costo de producción, con el fin de realizar el escalamiento a nivel industrial.

Palabras clave: Quitinasas, bacterias quitinolíticas, residuos agroindustriales, quitooligómeros.

Agradecimientos: Universidad Nacional de Tumbes por el financiamiento a esta investigación, según Resolución N° 0904-2018-UNTUMBES-CU.

Referencias bibliográficas:

1. Ibrahim K, El-Eswed B, Abu-Sbeih K, Arafat T, Al Omari M, Darras F, Badwan A. Preparation of chito-oligomers by hydrolysis of chitosan in the presence of zeolite as adsorbent. Marine Drugs. 2016; 14(8): 43. DOI:10.3390/md14080043.

2. Kidibule PE, Santos-Moriano P, Jiménez-Ortega E, Ramírez-Escudero M, Limón MC, Remacha M, *et al*. Use of chitin and chitosan to produce new chitooligosaccharides by chitinase Chit42: enzymatic activity and structural basis of protein specificity. Microbial Cell Factories. 2018; 17(1): 47. DOI:10.1186/s12934-018-0895-x.

3. Kim TI, Lim DH, Baek KS, Jang SS, Park BY, Mayakrishnan V. Production of chitinase from *Escherichia fergusonii*, chitosanase from *Chryseobacterium indologenes*, *Comamonas koreensis* and its application in N-acetylglucosamine production. International Journal of Biological Macromolecules. 2018; 112: 1115-21. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2018.02.056.

4. Kumar PK, Suresh PV. Biodegradation of shrimp biowaste by marine *Exiguobacterium* sp. CFR26M and concomitant production of extracellular protease and antioxidant materials: Production and process optimization by response surface methodology. Mar Biotechnol (NY). 2014; 16(2): 202-18. DOI 10.1007/s10126-013-9531-2.

5. Miller G. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical chemistry. 1959; 31(3): 426-8.

Efecto de la velocidad de agitación sobre la composición del alginato producido por *Azotobacter vinelandii*: un biopolímero con potencial aplicación biomédica

***Francisco Sánchez-Rosales*[1*], *Alvaro Díaz-Barrera*[1]**

[1]Escuela de Ingeniería Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Av. Brasil 2085, Casilla 4059, Valparaíso, Chile. alvaro.diaz@pucv.cl

Introducción: El alginato es un polisacárido lineal compuesto por bloques de ácido α-L gulurónico (G) y ácido β-D manurónico (M), se extrae de algas y puede ser producido por la bacteria *Azotobacter vinelandii*. Se utiliza en biomedicina como matriz portadora de drogas hidrofílicas. Se ha propuesto que los alginatos usados como compuestos en la liberación prolongada de fármacos deben poseer un peso molecular entre 500 y 900 kDa [(1)]. Las principales características que determina la aplicación del alginato son: su peso molecular y la razón G/M [(1)].

En cultivos de *A. vinelandii* se puede modificar el peso molecular variando las condiciones de cultivo [(3)]. Por tal razón, la finalidad de este trabajo fue determinar la influencia de la velocidad de agitación sobre el peso molecular promedio y la razón G/M del alginato producido por *A. vinelandii* en un biorreactor de 3 L.

Materiales y métodos: Se realizaron cultivos por lote de *A. vinelandii* (ATCC 9046) en condiciones de diazotrofía usando sacarosa (20 g L^{-1}) como fuente de carbono y energía, a 30°C, pH 7. Se operó un biorreactor de tanque agitado de 3 L a 300, 500 y 700 rpm, con un flujo de aire de 1,5 L min^{-1}. La concentración celular y de alginato se calcularon gravimétricamente. La concentración de sacarosa fue estimada por hidrólisis ácida y posterior medición de azúcares reductores. El peso molecular promedio del alginato se cuantificó por cromatografía de permeación en gel acoplada a HPLC, y la razón G/M fue estimada por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).

Resultados y discusión: En la figura 1 se presenta la producción de alginato. Se observó que la mayor concentración del polímero (3,8±0,4 g L^{-1}) se alcanzó en los cultivos a 700 rpm, un comportamiento similar a lo descrito anteriormente [(3)].

A una menor velocidad de agitación (300 rpm) y por lo tanto, menor velocidad de transferencia de oxígeno (VTO), es posible que las células dispongan de menor contenido energético para la síntesis del polímero. En la figura 2 se muestra el efecto de la velocidad de agitación sobre el máximo peso molecular promedio (PMP) del alginato y su razón G/M.

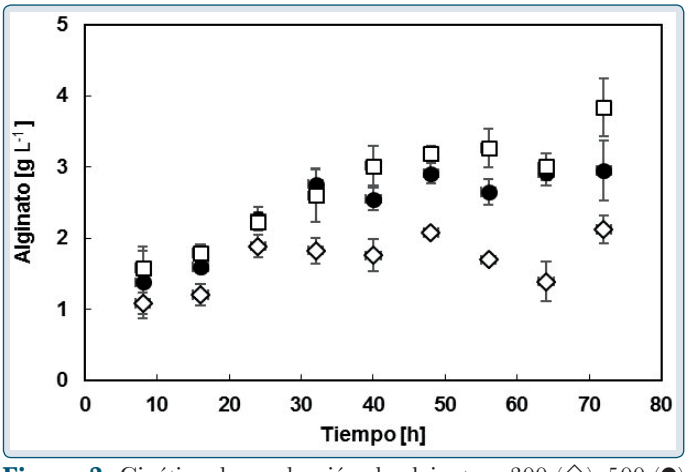


Figura 2. Cinética de producción de alginato a 300 (◇), 500 (●) y 700 (□) rpm, a 30°C, bajo condiciones de fijación de nitrógeno.

Se observó que a 500 rpm se obtuvo el más alto PMP de alginato, alcanzando 543±43 kDa. Un incremento en la velocidad de agitación de 300 a 700 rpm, incrementó la razón G/M, variando desde 0,36 a 0,68. Las diferencias en la razón G/M pueden atribuirse a diferentes VTOs logradas en cada condición de agitación. Es posible que a una mayor VTO se favorezca la actividad epimerasa (AlgE7), la cual se sabe epimeriza residuos de manuronato no acetilados [2].

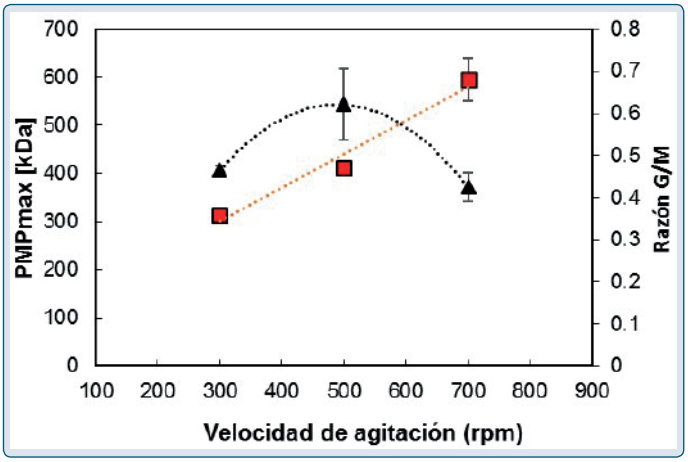


Figura 2. Efecto de la velocidad de agitación sobre el peso molecular promedio (▲) y la razón G/M (■) de alginato.

Conclusiones: Un aumento de la velocidad de agitación favoreció el contenido de residuos gulurónico en el alginato sintetizado. Desde una perspectiva biotecnológica, los resultados de este trabajo demuestran la posibilidad de producir alginatos con peso molecular y razón G/M específicos. El alginato obtenido a 500 rpm con un peso molecular de 543 ±43 kDa podría ser usado en aplicaciones farmacéuticas.

Palabras clave: Alginato, peso molecular, razón G/M.

Agradecimientos: Fondecyt regular 1170896. Organización de los Estados Americanos (OEA), Universidad Nacional de Agricultura de Honduras.

Referencias bibliográficas:

1. Skaugrud O, Hagen A, Borgersen B, Dornish M. Biomedical and pharmaceutical applications of alginate and chitosan. Biotechnology and Genetic Engineering Reviews. 1999; 116(1): 23-40.

2. Pacheco-Leyva I, Guevara P, Díaz-Barrera A. Alginate biosynthesis in *Azotobacter vinelandii*: overview of molecular mechanisms in connection whit the oxygen availability. International Journal of Polymer Science. 2016; http://dx.doi.org/10.1155/2016/2062360.

3. Peña C, Trujillo-Roldan M, Galindo, E. Influence of dissolved oxygen tension and agitation speed on alginate production and its molecular weight in cultures of *Azotobacter vinelandii*. Enzyme and Microbial Technology. 2000; 27: 390-398.

4. Díaz-Barrera A. Peña C. Galindo, E. The oxygen transfer rate influences the molecular mass the alginate produced by *Azotobacter vinelandii*. Applied Microbiology and Biotechnology. 2007; 76: 903-910.

Nanotecnología aplicada a la remediación de efluentes urbanos

Ana María Gagneten[1*], *Natalí Romero*[1,2], *Ulises Reno*[1,2], *Julieta Arias*[1], *Luciana Regaldo*[1,2], *Vanesa Kergaravat*[1,2,3], *Guillermo R. Castro*[2,4]

[1] Lab. Ecotoxicología, Facultad de Humanidades y Ciencias, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina
[2] Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina. (CONICET), Argentina
[3] Lab. Sensores y Biosensores. Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (UNL)
[2,4] Lab. Nanobiomateriales. CINDEFI. Universidad Nacional de La Plata. Buenos Aires, Argentina

Introducción:

Los efluentes cloacales deben ser tratados previo a su vuelco al ambiente. El objetivo del trabajo es diseñar un filtro de bajo costo dopado con nanopartículas de plata para disminuir la carga bacteriana, pero conservando nutrientes, para reutilizarlos para riego en zonas semiáridas.

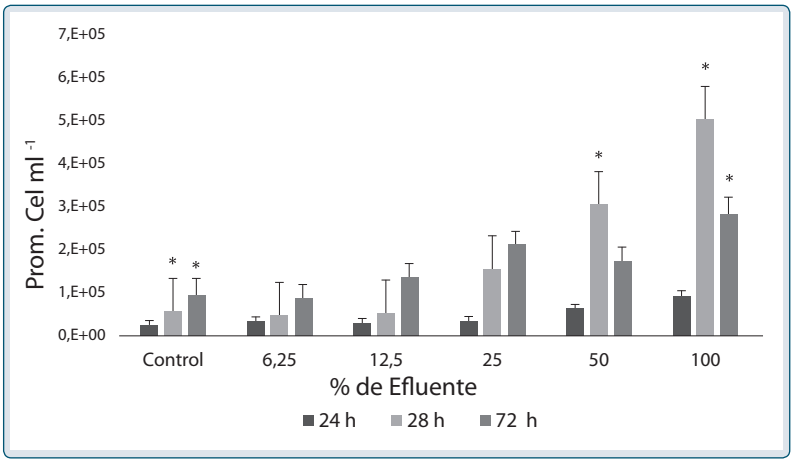


Figura 1. Número de células *C. vulgaris*/mL; * = diferencias significativas ($p<0,01$) entre concentraciones de efluente y control a 48 y 72 h.

Materiales y métodos: En el efluente se determinó: temperatura, pH, conductividad, oxígeno disuelto (OD), sólidos disueltos totales (SDT), salinidad (S); nitratos, cloruros. Se realizaron análisis bacteriológicos (coliformes totales –fermentación en tubos múltiples–, *Echerichia coli* – fermentación en tubos múltiples usando sustrato fluorogénico–) (EPA 2012). Mediante bioensayos agudos (48h) y crónicos (21d) se evaluaron ecotoxicidad (100; 50; 25; 12,4 y 6,25 % de efluente, con *Ceriodaphnia dubia*), y capacidad de inhibición de crecimiento (72h) con *Chlorella vulgaris* según OECD (2011). La toxicidad se clasificó según Persoone *et al.* (2003) para riesgo de aguas residuales vertidas al medio acuático. Se determinaron las unidades tóxicas (UT), para *C. dubia*, según (Koçbaş and Oral., 2015):

$$UT = \frac{100}{LC50 \text{ o } EC50}$$

Se realizó una prueba de concepto adaptando un filtro de celulosa dopado con AgNPs (365 ppm Ag) para filtrar el efluente cloacal.

Se midió Ag total (que incluye AgNPs y Ag^{+}) antes y después del filtrado mediante Voltametría de Redisolución Anódica (VRA) para descartar posible arrastre de Ag debido al proceso de filtrado.

Tabla 1. Concentración de bacterias (NMP/100 mL) del efluente antes (AF) y después (DF) del filtrado.

NMP/100 mL	AF	DF
Coliformes Totales	4×10^6	900
E. coli	4×10^3	28

Resultados y discusión: Para *C. dubia,* la mortalidad en 24h fue del 0% con todas las diluciones ensayadas, obteniéndose un efluente cloacal Clase I (no tóxico). Para *C. vulgaris*, al final del ensayo se observaron diferencias significativas entre los tratamientos (p=0,012). Sólo en la concentración más baja (6,25 %), se registró % I = 4,2. En el resto de las diluciones la densidad celular al final del ensayo fue mayor que en el control, mostrando diferencias significativas al 100% (p<0,05). La densidad celular a las 48 h aumentó en los tratamientos 50 y 100 % (p<0,01), lo que disminuyó hacia el final del ensayo a 57 y 56,4 %, respectivamente. En las diluciones 12,5 y 25 %, la densidad celular aumentó (durante todo el ensayo, sin mostrar diferencias significativas) (Figura 1).

La eficiencia del filtro fue muy alta: Coliformes totales (NMP/100 mL) disminuyeron de $4x10^6$ a 900 y *E. coli* de $4,3x10^3$ (NMP/100 mL) a 28, es decir, 99,98 % y 99,35 %, respectivamente, de remoción de las bacterias iniciales (Tabla 1). La carga bacteriana es menor a la reglamentada para aguas de uso recreacional.

Respecto a la concentrtación de Ag, no se detectó este metal previamente al filtrado (AF), pero después dicho proceso (DF) se encontraron 275 ppt.

Conclusiones:

- El efluente no es tóxico para *Chlorella vulgaris* ni *Ceriodaphnia dubia*.
- La prueba de concepto del filtro resultó exitosa para remover bacterias del efluente, disminuyendo la carga bacteriana entre 2 y 4 órdenes de magnitud, registrándose muy baja concentración de Ag posterior al filtrado.
- Se realizarán estudios para determinar su potencialidad como fertilizante líquido.

Palabras clave: Nanobiotecnología, remediación, efluentes cloacales, bioindicadores.

Agradecimientos: Secretaría de Políticas Universitarias Proy VT42UNL11805, Univ. Nac. del Litoral y Univ. Nac. de La Plata. Argentina. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas Argentina.

Referencias bibliográficas:

1. American Public Health Association. Standard methods for the examination of water and wastewater. 22nd ed. Washington DC: American Public Health Association, 2012.

2. Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). Guidelines for the testing of chemicals, Section 2. Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test [Internet]. OECD iLibrary. 2011. Disponible en https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-201-alga-growth-inhibition-test_9789264069923-en)

3. Persoone G, Marsalek B, Blinova I, Törökne, A, Zarina D. A practical and user-friendly toxicity classification system with microbiotests for natural waters and wastewaters. Environmental Toxicology. 2003; 18(6): 395-402.

4. Koçbaş, F. and Oral, R. *Daphnia magna* as a test species for toxicity evaluation of municipal wastewater treatment plant effluents on freshwater cladoceran in Turkey. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 2015; 15: 1-2.

Evaluación de la modificación de la superficie de electrodos de carbono en la transferencia de electrones de *Shewanella oneidensis* MR-1

***Silvia Sato Soto*[a], *Kaho Yamada*[b], *Toshikazu Fukushima*[b], *Seiya Tsujimura*[a]**

[a] División de Ciencia de los Materiales, Facultad de Ciencias Puras y Aplicadas, Universidad de Tsukuba, Ibaraki, Japón
[b] Laboratorios de Investigación Ambiental, Nippon Steel, Chiba, Japón

Introducción: Los sistemas bioelectroquímicos convierten la energía liberada de las reacciones celulares de oxidación y/o reducción en energía eléctrica [(1)]. Así, estos sistemas han sido propuestos para diversas aplicaciones que incluyen la producción de electricidad, síntesis de compuestos de interés, tratamiento de aguas residuales y biorremediación [(2)]. A pesar de su potencial, no hay escalamiento industrial debido a una baja densidad de corriente. En esta investigación se propone el uso de *Shewanella oneidensis* MR-1 inmovilizada sobre la superficie de un ánodo como mediador redox para incrementar la transferencia de electrones.

Materiales y métodos: Se utilizaron filtros de carbono como electrodos y se modificaron por voltametría cíclica con los mediadores redox rojo neutro o azul de toluidina. Los filtros de carbono modificados se colocaron en celdas electroquímicas de tres electrodos (ER Ag/AgCl; EA Pt), un filtro de carbono no modificado fue el control. La producción de energía eléctrica se monitoreó por cronoamperometría utilizando un potencial de 0.1V. Asimismo, se añadió un inóculo de *Shewanella oneidensis* MR-1 (>1x10^8 células viables/mL) y un volumen de lactato de sodio al 50% para obtener alrededor de 10 mM en el medio (buffer fosfato 100 mM pH7 y KCl 80 mM). El consumo de lactato se monitoreó mediante "Lactate Assay Kit-WST" (Dojindo Laboratories, Japan).

Resultados y discusión: Los tratamientos con los filtros de carbono

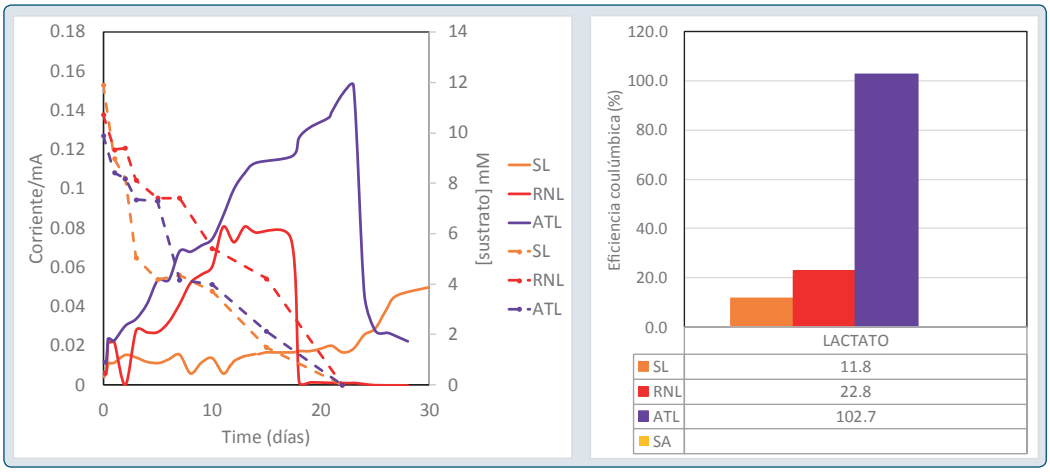


Figura 1. Corriente generada (líneas continuas) y consumo de lactato (líneas punteadas) en control (SL) y tratamientos con los electrodos modificados con rojo neutro (RNL) y azul de toluidina (ATL). La eficiencia coulúmbica fue calculada de acuerdo a Watson y Logan [(3)].

modificados con mediadores redox presentaron corrientes altas y pendientes más definidas que el control. En los tres tratamientos, el lactato fue consumido totalmente al día 22, sin embargo, la oxidación del lactato fue parcial. Al calcular la eficiencia coulúmbica, los filtros de carbono con azul de toluidina mostraron 102.7%, mientras que el rojo neutro fue 22.8%, y el control 11.8%.

Conclusión: ATL fue 8.7 veces mayor que el tratamiento SL, y 4.9 veces que el tratamiento RNL.

Palabras clave: mediadores redox, *Shewanella oneidensis* MR-1, lactato, filtros de carbono.

Agradecimientos: Esta investigación fue financiada por fondos del gobierno japonés y por la empresa Nippon Steel (Japón).

Referencias bibliográficas:

1. Bajracharya S, Sharma M, Mohanakrishna G, Dominguez Benneton X, Strik DPBTB, Sarma PM. An overview on emerging bioelectrochemical systems (BESs): Technology for sustainable electricity, waste remediation, resource recovery, chemical production and beyond. Renew Energy. 2016; 98: 153-70.

2. Logan BE, Hamelers B, Rozendal R, Schröder U, Keller J, Freguia S. Microbial fuel cells: Methodology and technology. Environ Sci Technol. 2006; 40(17): 5181-92.

3. Watson VJ, Logan BE. Power Production in MFCs Inoculated With *Shewanella oneidensis* MR-1 or Mixed Cultures. 2010; 105(3): 489-98.

De los genomas a la búsqueda de proteínas de interés biotecnológico

María A. Quispe Ricalde[1], José L Sierra[2], Paola Elorrieta Mamani[1], Pedro Romoacca Hancco[3], Ilución Mamani Morales[1], Kevin Pacheco Capcha[1], David Pauccar Huillcahuamán[1], Shirly Pila Lacuta[1], Ingrid Vera Ferchau[3], Hugo Castelán Sánchez[4], Sonia Dávila Ramos[4]*

[1*] Escuela Profesional de Biología, Facultad de Ciencias; [2] Escuela de Post-grado; [3] Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, Perú.
[4] Centro de Investigación en Dinámica Celular, Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), México.

Introducción: La información genética contenida en el genoma de los microorganismos otorga información sobre los genes útiles para el crecimiento y desarrollo de los mismos, así como revela el contenido de genes no descritos, genes que comparten con otros organismos, etc. Por lo tanto, el genoma es una herramienta útil para la búsqueda de genes que podrían tener utilidad biotecnológica. Las bacterias halófilas y halotolerantes, que son los modelos actuales que se vienen utilizando, son) capaces de crecer en ambientes cuyo contenido de sal puede llegar a estados de saturación; estas condiciones inhóspitas de desarrollo permiten que la batería enzimática de estos microorganismos contenga características especiales en cuanto a su actividad. Con el objetivo de encontrar enzimas que sean útiles en biotecnología, se han conseguido y descrito los genomas de dos bacterias halotolerantes.

Materiales y métodos: Se realizó el aislamiento en medio sea water (Dyall-Smith, *et al.* 2006) modificado y suplementado con 5 a 33% de NaCl. Después de filtrar muestras de 1 L de agua de los manantiales salinos del departamento de Cusco, los filtros de 22 µm se colocaronsobre agar SW y los cultivos se mantuvieron desde 15) hasta 21 días a 37°C. El ADN fue aislado utilizando el kit de extracción de ADN GeneElute bacterial genomic ADN (Sigma Aldrich). El genoma fue secuenciado con la tecnología de Illumina. Las librerías de secuenciación fueron preparadas usando 2ηg de ADN genómico en el kit Nextera XT (Illumina, USA). El genoma completo fue secuenciado en la plataforma MiSeq (Illumina), la calidad de las métricas y el ensamblado fueron realizados con los programas FastQC y A5-miseq, respectivamente. La anotación de los genomas se realizó con el software RAST (Mamani, *et al.* 2019), con la base de datos de cluster de grupos ortólogos (COG) y Pfam v30.0.

Resultados y discusión: Se obtuvieron los genomas de *Halomonas elongata* y *Chromohalobacter salexigens*. El genoma de *H. elongata* contiene 3,247 secuencias de genes que codifican proteínas, con un contenido de C+G del 64.3%. El análisis funcional muestra 463 subsistemas, entre los que están genes de respuesta al estrés osmótico y estrés oxidativo, genes de resistencia a bajas y altas temperaturas, sistemas de transporte, asimilación y metabolismo de metales, genes de resistencia a antibióticos y compuestos tóxicos, etc. El genoma de *C. salexigens* contiene un único cromosoma circular de 3'706,402 pb, con un contenido de C+G de 64%. La anotación funcional de proteínas en base a cluster de grupos ortólogos indican la presencia de genes de procesamiento y modificación del ARN, transcripción, replicación, recombinación y reparación, mecanismos de transducción de señales, biogénesis de la membrana y pared celular, tráfico y secreción intracelular, etc.

Conclusión: Se consiguieron los genomas de dos microorganismos halotolerantes, cuyo contenido indica el potencial biotecnológico.

Palabras clave: Genomas, bacteria, halófila, halotolerante.

Agradecimientos: Financiado por el Convenio Nº 023-2018-UNSAAC.

Referencias bibliográficas:

1. Dyall-Smith M, Oren A. Culture-dependent study of microbial diversity of Lake Chak. Appl Environ Microbiol. 2006; 72(11): 7427.

2. Mamani JL, Pacheco KB, Elorrieta P, Romoacca P, Castelán H, Dávila S, *et al*. Draft genome sequence of Halomonas elongata MH25661 isolated from a saline creek in the Andes of Peru. Microbiol Resour Announc. 2019; 8(1): e00934-18.



SEMINARIO INTERNACIONAL EN BIOTECNOLOGÍA PARA LA SALUD

RESÚMENES DE PÓSTERES

Effect of different concentrations of a novel remineralizing agent on caries-like lesions *in vitro*

***Mario Diaz-Dosque*[1], *Rodrigo Cabello*[1], *Humberto Palza*[2], *Montserrat Padilla*[1], *Rodolfo Ibarra*[1], *Patricia Palma*[1], *Gonzalo Rodriguez*[1]**

[1] Faculty of Dentistry of the University of Chile.
[2] Faculty of Physical and Mathematical Sciences. University of Chile. Santiago. Chile.
E-mail: mrdiaz@uchile.cl

Introduction: : BlueRemin® (BR) is a novel remineralizing and cariostatic agent based on fluoride and graphene for professional use (Patent PCT / CL2017 / 050067; WO / 2018 /090156, not manufactured yet at an industrial level). The aim was to evaluate the differences of superficial hardness and mineral density in specimens of enamel demineralized in a microbiological model of caries lesion and submitted to a protocol of remineralization with a novel remineralizing agent (BlueRemin) in different concentrations.

Method: Three different BR's concentrations were used in a remineralization protocol, in samples of demineralized enamel resulting from a microbiological model of caries lesion, and the differences in surface hardness and mineral density were compared for each concentration. 24 human enamel surfaces were demineralized in an *in vitro* mono species cariogenic biofilm (*S. mutans* ATCC 25175) for formation of caries-like lesions. *S. mutans* was cultivated in BHI. Enamel samples (specimens) were exposed to human saliva for the formation of dental pellicle and immersed in BHI. For demineralization were exposed speciemns to 0.1 mM of sucrose four times a day for three days. Specimens were assigned to 3 groups of different concentrations of a novel remineralizing agent, BlueRemin (BR) based on fluoride and graphene, and control. BlueRemin (BR) is protected by Chilean patent application No.201602960 and is not yet available commercially. Microhardness (Vickers microhardness number) and microtomography assessments were used to measure the percentage of recovery of superficial hardness (%RSH) and mineral density (%RMD) as indicators of remineralization. ANOVA test and multiple comparison test were used for statistical analysis.

Results: Remineralization occurred in all groups to different degrees; %RSH was 1.32 for control and 30.78, 30.7 and 48.61 for the three different concentrations. All changes from baseline were significant ($P \leq 0.05$) but there were no significant differences between the different concentrations of the novel remineralizing agent.

Conclusion: BlueRemin exhibited a remineralization capacity of caries-like lesions in the *in vitro* model. Further research is required to assess the use of BlueRemin in the dental practice.

Keywords: Remineralization, cariostatic, fluoride, graphene, caries.

Bibliographic references:

1. Cury JA, Tenuta LM. Enamel remineralization: controlling the caries disease or treating early caries lesions? Braz Oral Res. 2009; 23(Spec Iss 1): 23-30.

2. Dowker SE, Elliott JC, Davis GR, Wassif HS. Longitudinal study of the three-dimensional development of subsurface enamel lesions during *in vitro* demineralisation. Caries Res. 2003; 37(4): 237-45.

3. Hernández-Parra DT. Efecto remineralizante de un agente a base de flúor y grafeno, sobre discos de hidroxiapatita desmineralizada, con un modelo de biopelícula de *Streptococcus mutans*.

[Tesis para optar al Título de Cirujano Dentista]. Santiago de Chile: Facultad de Odontología, Universidad de Chile; 2016.

4. Jara-Contreras MA. Efecto remineralizante de un agente a base de flúor y grafeno sobre bloques de esmalte desmineralizados con un modelo de biopelícula de *Streptococcus mutans*. [Tesis para optar al Título de Cirujano Dentista]. Santiago de Chile: Facultad de Odontología, Universidad de Chile; 2017.

Desarrollo de una prueba RT-PCR con *primers* específicos-degenerados para detección de avibirnavirus

***Leidy Pola-Romero*[1], *Aldo Flores-Pérez*[1], *Milagros Zavaleta*[2], *Luis E. Saravia*[1]**

[1] BTS Consultores S.A.C., Lima – Perú.
[2] Centro de Investigaciones Tecnológicas, Biomédicas y Medioambientales, Universidad Nacional de San Marcos, Lima – Perú.

Introducción: La enfermedad infecciosa de la bursa (o enfermedad de Gumboro) afecta a nuestro país causando grandes pérdidas económicas en los planteles avícolas [(1)]. La detección, control y prevención de esta enfermedad es complicada debido a la capacidad infectiva, resistencia y alta variabilidad del virus. Aunque las actuales pruebas moleculares de diagnóstico son la alternativa más sensible también presentan algunas limitaciones: las PCR de diagnóstico y la de secuenciación son independientes y no detectan todas las variedades de IBDV. Hacer una PCR 1-paso (one-step) por cada tipo de PCR duplica el gasto, al ser PCRs independientes. Hacer ADNc para PCR en 2-pasos (two-step) no siempre es exitoso usando hexámeros aleatorios, ya que depende de la efectividad de la transcriptasa inversa, obteniendo resultados poco certeros y se necesitan pruebas adicionales para la comprobación de los resultados, esto incrementa su costo. Por dichas razones, en este estudio se evaluó la técnica de la RT-PCR con *primers* específicos-degenerados para incrementar la sensibilidad de la PCR como prueba de diagnóstico y la PCR como técnica de secuenciación para IBDV.

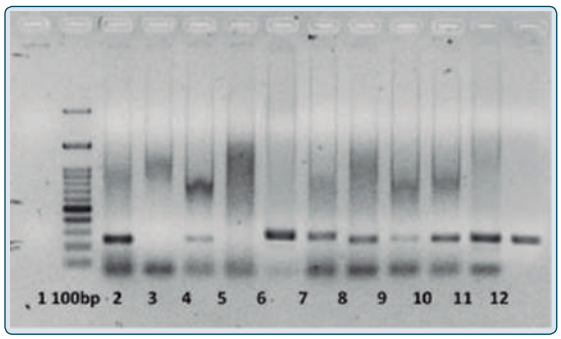


Figura 1. RT-PCR dos pasos y PCR secuenciación parcial del segmento A de muestras positivas de IBDV.

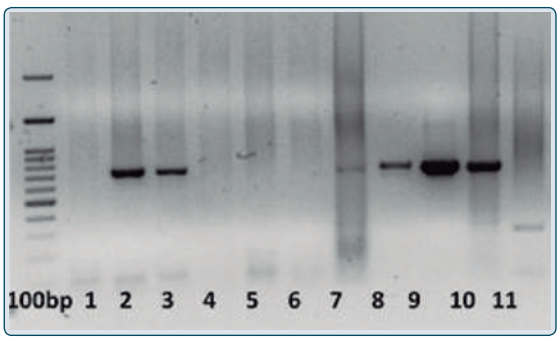


Figura 2. RT-PCR dos pasos y PCR secuenciación parcial del segmento B de muestras positivas de IBDV.

Materiales y métodos: Las muestras evaluadas fueron una vacuna comercial de IBDV y bursas infectadas con IBDV. Se llevó a cabo la recopilación de secuencias de la base de datos de secuencias génicas, Genbank, del National Center for Biotechnology Information (NCBI). Se realizó un alineamiento múltiple con todas las secuencias y se diseñaron varias parejas de *primers* en las zonas más conservadas.

Se evaluaron distintos aspectos en el diseño de la RT-PCR y se compararon 2 métodos de extracción: con kit II de Geneaid y extracción con Genezol. Se realizaron las PCRs de diagnóstico y secuenciación de IBDV para seleccionar el mejor par de *primers* específicos-degenerados.

Resultados y discusión: Se diseñaron 10 *primers* de longitud corta (11-13 nucleótidos), 6 para el segmento A y 4 para el segmento B, con un máximo de 3 degeneraciones por *primer*. Se logró obtener un ARN de buena calidad con el kit II de Geneaid. Los *primers* que obtuvieron mejores resultados fueron R6 con F11 para el segmento A y R7 con F12 para el segmento B. Se compararon dos tipos de enzimas transcriptasas inversas (M-MuLV y AMV), obteniendo mejores resultados con la enzima M-MuLV y agregando DMSO al 20%. Mediante RT-PCR de secuenciación parcial del segmento A y B, se demostró que el mix de los *primers* específicos-degenerados junto con hexámeros aleatorios amplifica satisfactoriamente el ARN proveniente del tejido de las bursas.

Conclusión: La RT-PCR diseñada con *primers* específicos-degenerados R6 con F11 y R7 con F12 (0.8 µM de cada *primer*) en conjunto con hexámeros aleatorios (4 µM) incrementó la sensibilidad de la PCR de diagnóstico y secuenciación de IBDV. La RT-PCR permitió la amplificación de segmentos que luego pueden ser secuenciados, identificados y caracterizados a nivel molecular. Esta RT-PCR también confirma la presencia de ADNc apto para la amplificación parcial o total del segmento A y B.

Palabras clave: Bursa, RT-PCR, IBDV, específicos-degenerados, hexámeros aleatorios.

Agradecimientos: A BTS Consultores S.A.C. por financiar el proyecto de investigación. Al CITBM por las facilidades para la ejecución de los ensayos. A los colegas de ambas instituciones por su valiosa asistencia científica.

Referencias bibliográficas:

1. León N. Evaluación de los niveles de protección de una vacuna intermedia contra la enfermedad de Gumboro en pollos de postura. [Tesis para optar el título de Médico Veterinario] Lima: Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2008.

Influencia de diferentes dosis de fucoidan de *Lessonia trabeculata* sobre las células sanguíneas en un modelo murino

***Libertad Alzamora-Gonzales*[1*], *Edson Carbajal-Huamaní*[1], *Erasmo Colona-Vallejos*[1], *Estela Urbina Ayala*[1], *Priscila Mamani Zapana*[1], *Jorge Chávez Pérez*[2], *Eder Apumayta Suárez*[2]**

[1] Facultad de Ciencias Biológicas, Grupo de Investigación Inmunomoduladores y Antitumorales de Origen Natural y Sintético. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima-Perú.
[2] Instituto de Investigación de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima-Perú.

Introducción: La mayoría de los productos de procedentes de algas marinas son considerados de baja toxicidad, tanto los extractos como los productos semipurificados son generalmente inocuos. Contienen fucoidan, un polisacárido conformado por L-fucosa, grupos éster sulfato y pequeñas cantidades de azúcares como galactosa, xilosa, manosa y ácidos urónicos [(1)]. La bioactividad y efecto protector de células sanguíneas del fucoidan ha sido demostrada, incluso si está presente en un extracto crudo [(2, 3)]; sin embargo, es necesario investigar si dosis elevadas pueden afectarlas. El objetivo fue determinar si las dosis de 100 hasta 800 mg/kg peso corporal, afectan a las células sanguíneas de ratones Balb/c.

Materiales y métodos: El extracto fue elaborado de frondas del alga parda *L. trabeculata* colectada en la Bahía de San Nicolás (Ica, Perú). La concentración de fucoidan en el extracto fue de 40%. Las dosis de fucoidan se administraron por vía oral a ratones hembra Balb/c de 4 a 5 semanas de edad, con pesos de 20-25 g, mantenidas en jaulas fisiológicas, bajo condiciones estándar y agua *ad-libitum*. Los animales se adquirieron del Instituto Nacional de Salud y se adaptaron a las condiciones del bioterio 5 días antes del inicio de los ensayos, fueron tratados de acuerdo con la legislación nacional e internacional.

Se distribuyeron en cinco grupos (n=5), cada grupo recibió una dosis diaria, durante 15 días, del extracto con fucoidan (GI: 100, GII: 200, GIII: 400, GIV: 800 mg/Kg de peso, y GV: Control, sin tratamiento). Al término del ensayo, se realizó la sangría total por punción intracardiaca, previa anestesia y eutanasia del animal. La sangre se colectó en viales con heparina y se realizó el análisis de eritrocitos, leucocitos, hemoglobina y hematocrito.

Resultados y discusión: Los valores obtenidos para eritrocitos no se afectaron con los tratamientos ($p>0.05$), en el caso de los leucocitos el porcentaje de monocitos se incrementó a 17.7% ($p<0.05$) en el GIV. Se puede inferir que el fucoidan de esta especie puede emplearse como estimulador de la inmunidad innata, ya que los monocitos al ingresar a los tejidos se diferencian en macrófagos, importantes células presentadoras de antígeno; en ese sentido, Song *et al.* [(4)] compararon la actividad inmunomoduladora de los polisacáridos sulfatados de 3 algas: *Grateloupia filicina* (Rhodophyta), *Ulva pertusa* (Chlorophyta) y *Sargassum qingdaoense* (Ochrophyta, en el que se encuentran las algas pardas), observando en este último un mejor efecto *in vitro* e *in vivo*. Estos polisacáridos se evaluaron *in vivo* como adyuvantes en la inmunización con virus de influenza aviar, observándose aumento en la proliferación de linfocitos, el título de anticuerpos dosis-dependiente y en la producción de IFN-gamma e IL-4, este último de forma dosis dependiente. En el Perú no se han reportado datos acerca de la actividad del fucoidan de *L. trabeculata* sobre células sanguíneas.

Conclusión: La dosis de 800mg/Kg peso de fucoidan de *L. trabeculata*, produce el

incremento significativo del porcentaje de monocitos en el modelo murino estudiado.

Palabras clave: Fucoidan, células sanguíneas, *Lessonia trabeculata*, algas pardas, bioactividad.

Agradecimientos: La investigación fue financiada por el CONCYTEC. Convenio 133-2017-Fondecyt.

Referencias bibliográficas:

1. Higa T, Kuniyoshi M. Toxins associated with medicinal and edible seaweeds. Toxin Reviews. 2000; 19(2):119-37.

2. Berteau O, Mulloy B. Sulfated fucans, fresh perspectives: structures, functions, and biological properties of sulfated fucans and an overview of enzymes active toward this class of polysaccharide. Glycobiology. 2003; 13: 29R-40R.

3. Rhee KH, Lee KH. Protective Effects of Fucoidan against γ-Radiation-induced damage of blood cells. Arch Pharm Res. 2011; 34(4): 645-651.

4. Song *et al*. Characterization and comparison of the structural features, immune-modulatory and anti-avian influenza virus activities conferred by three algal sulfated polysaccharides. Mar Drugs. 2015; 14(1): 4.

Evaluación del efecto protector de péptidos de *Erythrina edulis* sobre el estrés oxidativo inducido por Fe^{+2} en la línea celular SH-SY5Y

Nathaly Rodríguez[1], Arturo Intiquilla[1], Karim Jiménez-Aliaga[1], Inés Arnao[1], Amparo Iris Zavaleta[1], Victor Izaguirre[1], Blanca Hernández -Ledesma[2]

[1] Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Grupo de Investigación BIOMIAS. Jr. Puno N° 1002, Lima, Perú. . Teléfono: +51 (01) 6197000.
[2] Departamento de Bioactividad y Análisis de Alimentos, Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL, CSIC-UAM, CEI UAM+CSIC), Nicolás Cabrera 9, 28049 Madrid, España.
biomiasunmsm@gmail.com

Introducción: El estrés oxidativo es capaz de ocasionar daño en diferentes macromoléculas celulares como lípidos, proteínas y ADN, con consecuencias patológicas [(1)]. Las enfermedades neurodegenerativas (EN) se caracterizan por la acumulación excesiva de marcadores de estrés oxidativo y metales como el hierro [(2)], por ende se buscan nuevas fuentes de antioxidantes y quelantes de metales para abordar su tratamiento. El pajuro es una leguminosa subutilizada oriunda de Latinoamérica que presenta un alto contenido de proteínas (hasta 25%), a partir de sus semillas se han caracterizado péptidos bioactivos con buen perfil antioxidante [(3, 4)]. En el presente estudio se evaluó el efecto protector de algunos péptidos de pajuro sobre el estrés oxidativo inducido por Fe^{+2} en la línea celular SH-SY5Y.

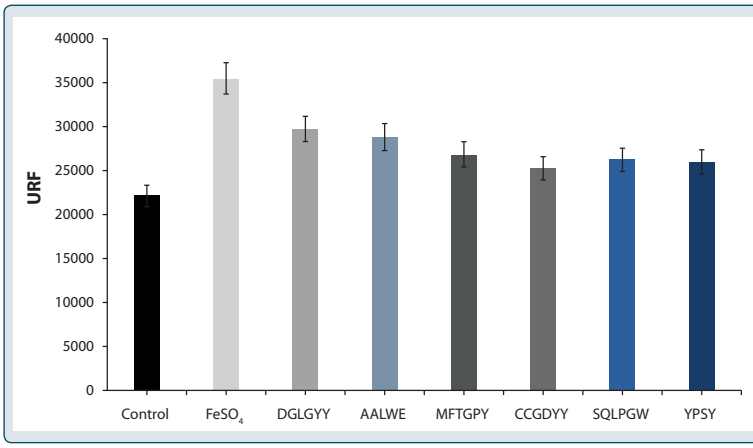


Figura 1. Generación de radicales libres inducida por $FeSO_4$ en presencia de los péptidos derivados de semillas de *Erythrina edulis* en la línea celular SH-SY5Y.

Materiales y métodos: Se estudiaron 6 péptidos previamente caracterizados a partir de las semillas de pajuro [(3)], los cuales fueron liberados tras la hidrólisis de las proteínas con alcalasa. Los péptidos fueron sintetizados en base a su estructura.

Para la determinación de la generación intracelular de radicales libres, se utilizó el método de oxidación del diacetato de diclorofluoresceína (DCFA-DA) [(5)]. Se sembraron $2x10^4$ células por pocillo de neuroblastoma humano SH-SY5Y en placas de 96 pocillos. Los péptidos fueron evaluados a la concentración de 100 µM durante 6 hs. La fluorescencia se cuantificó 60 min después de la adición de $FeSO_4$ 200 µM a λ_{exc}=485 ŋM y λ_{exc}= 580 ŋM.

Resultados y discusión: El daño oxidativo de las biomoléculas y aumento de la acumulación de hierro en áreas específicas del cerebro se consideran aspectos patológicos importantes de las EN. En el presente modelo se logró inducir la liberación

de radicales libres por adición de $FeSO_4$ 200 µM, en una línea celular de neuroblastoma humano SH-SY5Y, con un incremento de 60% en relación a las células control. Este incremento fue revertido por los péptidos en estudio especialmente por CCGDYY y YPSY con un 78 y 74%, respectivamente.

Conclusión: Los resultados sugieren que los péptidos en estudio, liberados tras la hidrólisis de proteínas de pajuro con alcalasa, presentan buen perfil antioxidante frente al estrés oxidativo inducido por Fe^{+2} en la línea celular SH-SY5Y, pudiendo servir como nuevos ingredientes de alimentos nutracéuticos.

Palabras clave: *Erythrina edulis*, péptidos bioactivos, neuroblastoma SH-SY5Y, Fe^{+2}.

Agradecimientos: A los financiamientos de investigación contratos: Nº042-2018-FONDECYT-BM-IADT-AV y A19040181-VRI-UNMSM.

Referencias bibliográficas:

1. Elfawy HA, Das B. Crosstalk between mitochondrial dysfunction, oxidative stress, and age related neurodegenerative disease: Etiologies and therapeutic strategies. Life Sci. 2019; 218: 165-84.

2. Hider RC, Ma Y, Molina-Holgado F, Gaeta A, Roy S. Iron chelation as a potential therapy for neurodegenerative disease. Biochem Soc Trans. 2008; 36(Pt 6): 1304-8.

3. Intiquilla A, Jimenez-Aliaga K, Guzman F, Alvarez CA, Zavaleta AI, Izaguirre V, *et al.* Novel antioxidant peptides obtained by alcalase hydrolysis of *Erythrina edulis* (pajuro) protein. J Sci Food Agric. 2019; 99(5): 2420-7.

4. Intiquilla A, Jimenez-Aliaga K, Zavaleta AI, Arnao I, Pena C, Chavez-Hidalgo EL, *et al. Erythrina edulis* (Pajuro) seed protein: A new source of antioxidant peptides. Nat Prod Commun. 2016; 11(6): 781-6.

5. LeBel CP, Ischiropoulos H, Bondy SC. Evaluation of the probe 2',7'-dichlorofluorescin as an indicator of reactive oxygen species formation and oxidative stress. Chem Res Toxicol. 1992; 5(2): 227-31.

Actividad antioxidante e inhibición de la enzima convertidora de angiotensina I (ECA I) de hidrolizados proteicos de *Lupinus mutabilis* (Tarwi)

***Karen Manrique*[1], *Arturo Intiquilla*[1], *Cleni Palma-Albino*[1], *Karim Jiménez Aliaga*[1], *Amparo Iris Zavaleta*[1], *Víctor Izaguirre*[1], *Blanca Hernández-Ledesma*[2]**

[1] Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Grupo de Investigación BIOMIAS. Jr. Puno N° 1002, Lima, Perú. Teléfono: +51 (01) 6197000
[2] Departamento de Bioactividad y Análisis de Alimentos, Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL, CSIC-UAM, CEI UAM+CSIC), Nicolás Cabrera 9, 28049 Madrid, España.
biomiasunmsm@gmail.com

Introducción: La hipertensión arterial (HTA) constituye un importante problema de salud pública. La enzima convertidora de angiotensina (ECA) cataliza la conversión de la angiotensina I en angiotensina II, un octapéptido con acción vasoconstrictora que está involucrado en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) en tejido vascular y cardiaco, lo cual favorece la progresión de la HTA. Por tanto, los compuestos inhibidores de la ECA con propiedades antioxidantes podrían ayudar a controlar la enfermedad [1]. En los últimos años se han descrito hidrolizados proteicos a partir de semillas de leguminosas, con potencial antioxidante y antihipertensivo [2, 3]. El objetivo del trabajo fue evaluar la actividad antioxidante y la inhibición de ECA de hidrolizados proteicos de *Lupinus mutabilis*.

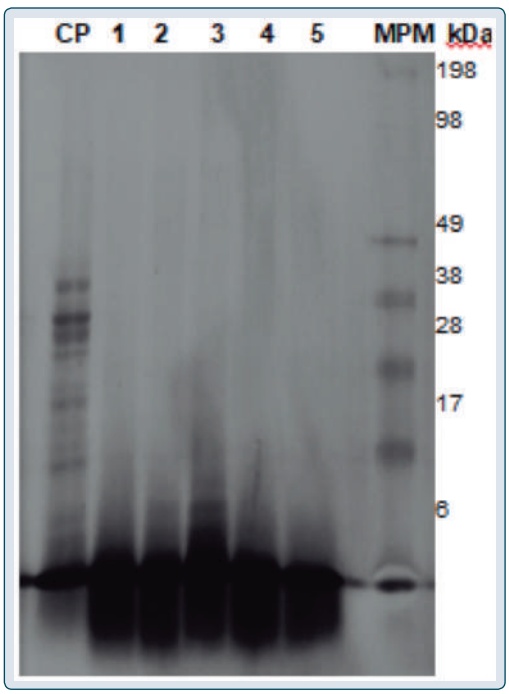


Figura 1. Perfil electroforético (SDS-PAGE) del concentrado proteico e hidrolizados proteicos de *Lupinus mutabilis* con las enzimas pepsina 15 min (carril 1), 30 min (carril 2). Pancreatina 45 min (carril 3), 60 min (carril 4), 90 min (carril 5), **MPM:** marcador de peso molecular.

Materiales y métodos: El concentrado proteico (CP) se obtuvo a partir de harina desengrasada con etanol y sin deslupinizar de semillas de *Lupinus mutabilis*, siguiendo el protocolo de Betancur y col [4]. El CP fue hidrolizado de forma secuencial con las enzimas digestivas pepsina, 0,7 FIP-U/mg (30 min), y pancreatina 350 FIP-U/g (60 min), a 37°C. Se evaluó el GH % usando el reactivo OPA y se cuantificaron las proteínas según el método BCA. Los hidrolizados obtenidos se liofilizaron en un Labconco 2,4 L y se determinó la actividad antioxidante (ABTS+) e inhibitoria ECA [5].

Tabla 1. Actividad antioxidante e inhibición de ECA del CP y el HPP de semillas de tarwi.

	ABTS (IC_{50} (µg/mL))	Porcentaje de inhibición ECA de 35 µg de prot
CP	6,25	9,5
HPP	6,73	58,5

Resultados y discusión: El CP obtenido muestra predominio de proteínas en el rango de 25 a 60 kDa, (Fig. 1), dichas proteínas fueron fácilmente digeridas por las enzimas pepsina y pancreatina con un grado de hidrólisis de 11,7 y 14,6%, respectivamente (Fig. 1).

Cabe destacar que el hidrolizado proteico pepsina-pancreatina (HPP) a los 90 min, mostró mayor inhibición del radical ABTS (IC_{50}=10,54 µg/mL), en comparación con el CP (35 µg/mL), de forma similar 35 ug del HPP mostró mayor inhibición de ECA (58,5%) frente al CP sin hidrolizar (9,5%), lo que sugiere que las enzimas pepsina y pancreatina liberaron péptidos bioactivos con potencial antioxidante e inhibidores de ECA.

Conclusión: La hidrólisis secuencial del concentrado proteico de tarwi con pepsina y pancreatina se presenta como una estrategia para la obtención de hidrolizados proteicos con buen perfil antioxidante y antihipertensivo.

Palabras clave: *Lupinus mutabilis*, hidrolizado proteico, actividad antioxidante, inhibición ECA.

Agradecimientos: A los financiamientos de investigación contratos: Nº042-2018-FONDECYT-BM-IADT-AV y A19040181-VRI-UNMSM.

Referencias bibliográficas:

1. Mojica L, Luna-Vital DA, González de Mejía E. Characterization of peptides from common bean protein isolates and their potential to inhibit markers of type-2 diabetes, hypertension and oxidative stress. J Sci Food Agric. 2017; 97(8): 2401-10.

2. Intiquilla A, Jimenez-Aliaga K, Guzman F, Alvarez CA, Zavaleta AI, Izaguirre V, *et al.* Novel antioxidant peptides obtained by alcalase hydrolysis of *Erythrina edulis* (pajuro) protein. J Sci Food Agric. 2019; 99(5): 2420-7.

3. Zhang Y, Zhang Y, Chen P, Shu F, Li K, Qiao L, *et al.* A novel angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptide derived from the glutelin of vinegar soaked black soybean and its antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats. J Biochem. 2019; 166(3): 223-30.

4. Betancur-Ancona D, Davila-Ortiz G, Chel-Guerrero LA, Torruco-Uco JG. ACE-I inhibitory activity from *Phaseolus lunatus* and *Phaseolus vulgaris* peptide fractions obtained by ultrafiltration. J Med Food. 2015; 18(11): 1247-54.

5. Hayakari M, Kondo Y, Izumi H. A rapid and simple spectrophotometric assay of angiotensin-converting enzyme. Anal Biochem. 1978; 84(2): 361-9.

Funcionalidad de la goma de tara (*Caesalpinia spinosa*) en microbiología y bioquímica

***Brita Anaya*[1*], *Ruth Huamán*[2], *Erika Puchuri*[1]**

[1] Laboratorio de Bioquímica, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho-Perú,
[2] Laboratorio de Microbiología, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho-Perú.

Introducción: La goma de tara representa un producto trascendente, con excelentes características reológicas y variadas aplicaciones, tanto alimentarias como tecnológicas, gracias a su gran capacidad gelificante en reemplazo del agar agar. El componente mayoritario es el galactomanano, con una concentración que alcanza un 80% (p/v), que es usado como aditivo alimentario con función espesante y estabilizante, aprobado por la comisión del Codex Alimentarius [1, 2]. Esta goma natural constituye una alternativa a las gomas tradicionales en la industria mundial de alimentos, entre otros. El objetivo de este estudio fue evaluar su propiedad gelificante en la preparación de medios de cultivo microbiológico y como soporte cromatográfico.

Materiales y métodos: La muestra fue adquirida del Molino Procesador "Los Andes" de la provincia de Huanta, Ayacucho. Se realizó un estudio de las propiedades organolépticas y físico-químicas de la goma de tara, así como análisis bromatológicos en base a los métodos recomendados por la AOAC [3]. Se purificó la goma de tara por el método de extracción acuosa alcohólica. Se utilizaron diversas concentraciones para evaluar su funcionalidad como medio de cultivo y soporte de columna cromatográfica [4].

Resultados y discusión: Las características organolépticas mostraron un aspecto homogéneo, color transparente, sin olor, sabor sui géneris, textura viscosa, insoluble en agua fría y soluble a temperatura de ebullición. Las características físico-químicas fueron: punto de fusión (muestra 2% p/v) 92°C, punto de solidificación 85°C, viscosidad 47 min, índice de refracción 1°B, densidad (dil 1:10) 0,48 g/cm^3 y pH 5,5; guardan similitud con lo reportado por Escalante [1]: termoestable, estabilidad a pH mayor a 3,5, buena retención de agua, mejor solubilidad a mayor temperatura, no modifica sabores, previene la cristalización y sinéresis y, por no ser alterado por la presencia de electrolitos; características que permitieron un resultado satisfactorio al utilizarlo como soporte de columna. Los resultados bromatológicos fueron: humedad 8,62%, proteínas 1,49%, grasas 0,34%, carbohidratos 88,44% y cenizas 1,11%, encontrándose dentro de la Norma [2].

La goma de tara en bruto no es recomendable como solidificante de medio de cultivo ni soporte de columna por su inestabilidad e interferencia del color, por lo que se procedió a purificarla. Escalante refiere que las soluciones de goma de tara son de fina textura y más viscosas que las soluciones de goma garrofín, por tanto requiere usarse en niveles de 20 a 25% menos que ésta. De entre las diversas concentraciones evaluadas, resultó óptima la de 3,5% (p/v), que favoreció el mejor desarrollo de los hongos ambientales hasta un periodo máximo de seis días de incubación, mientras que no fue favorable para bacterias por ofrecer resistencia al desplazamiento del asa de Kolle. El empleo de la goma purificada como soporte de columna cromatográfica requirió optimizar la estabilidad, por lo que se trabajó con varios agentes: ácido bórico/ácido clorhídrico, ácido bórico/ácido sulfúrico y borato de sodio. La adición del borato al 5% mejoró la consistencia del gel. El ion del borato actúa como un agente de vinculación cruzada con la goma de tara hidratada

formando geles de estructuras cohesivas; la formación y fuerza de estos geles dependen del pH, temperatura y concentraciones de los reactivos. La concentración óptima como soporte fue de 4%, la elusión de la ovoalbúmina y la papaína fue más rápida que con la goma de tara, que eluye en un tiempo aproximadamente 3 veces mayor respecto al estándar Sephadex-G-200, que actúa mejor por la ausencia de grupos ionizantes.

Conclusión: La goma de tara como agente gelificante de medios de cultivo funciona bien para hongos ambientales y no para bacterias. El grado de elusión de la goma es más lento que del Sephadex.

Palabras clave: *Caesalpinia spinosa*, medio de cultivo, soporte cromatográfico, agente gelificante.

Agradecimientos: Al Fondo de Ayuda Económica de la UNSCH.

Referencias bibliográficas:

1. Escalante A. Aplicación de un recubrimiento comestible de goma de tara (*Caesalpinia spinosa*) sobre fresas (*Fragaria ananassa*) para prolongar su conservación. [Tesis de magíster]. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina; 2015.

2. FAO, OMS. Codex Alimentarius. Norma General para los Aditivos Alimentarios. Codex Stan 192-1995. Revisión 2018.

3. Horwitz W. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemist International. 18th ed. Gaithersburg, Md: Association of Analytical Chemists; 2007.

4. Devlin T. Bioquímica. 4° ed. Barcelona: Reverté; 2015.

Modelamiento *in silico* de metaloproteasa PT2 obtenida de *Pseudomonas aeruginosa* M211

Sayuri Kina-Ysa*, Amparo Iris Zavaleta
Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Farmacia y Bioquímica,
Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima 1 - Perú.

Introducción: *Pseudomonas aeruginosa* secreta diversas proteasas que son consideradas factores de virulencia, las cuales están implicadas en la invasión al huésped. La comprensión de la estructura tridimensional de una proteína como blanco permite el diseño de agentes terapéuticos, asimismo, la estimación de sus potenciales usos en biocatálisis. En este aspecto, las proteasas alcalinas se utilizan en la elaboración de detergentes biológicos de alto impacto y en la hidrólisis de residuos pecuarios, avícolas, entre otros [1]; por ello, el interés del estudio *in silico* de la proteasa PT2 para elucidar su estructura y función.

Materiales y métodos: La extracción de ADN genómico, se realizó según la metodología de solventes orgánicos (fenol-cloroformo). El gen de proteasa fue amplificado por la reacción en cadena de la polimerasa utilizando cebadores F-5'-CCTGATCKGGCCGATAACTGCAAT-3' y R-5'-GGAAGACASCTATCAATTCGAACAG-3' [2], cuyas condiciones de reacción fueron: 94 °C por 4 min, seguido por 35 ciclos a 94 °C por 45 s, 55 °C por 1 min y 72 °C por 45 s. El producto amplificado se verificó mediante electroforesis en gel de agarosa, después se secuenció. La secuencia nucleotídica del gen de la proteasa PT2 se convirtió en secuencia aminoacídica, posteriormente se realizó un modelamiento por homología con el programa Cn3D 4.3.1. comparando con la secuencia 1KAP [3] del banco de proteínas.

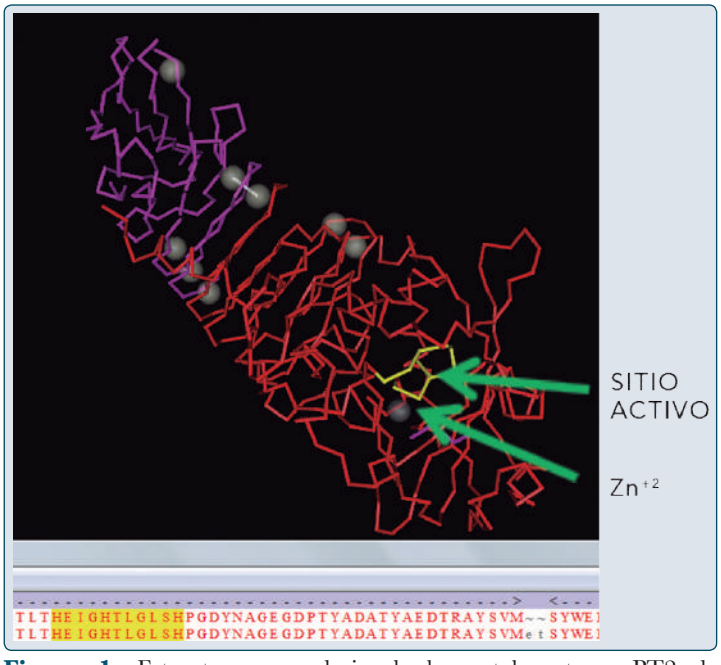


Figura 1. Estructura secundaria de la metaloproteasa PT2 de *Pseudomonas aeruginosa* M211.

Resultados y discusión: El producto amplificado del gen de la proteasa PT2 midió aproximadamente 1550 pb, la secuencia parcial del gen traduce 362 aa y presentó 99,72% de similitud con la metaloproteasa alcalina de *P. aeruginosa* y 99,45 % con serina 3-deshidrogenasa de esta misma bacteria. El análisis ProtParam indicó que los 362 aa generan una proteína con un peso de 38.8 kDa. Sin embargo, la proteína completa esta conformada por 470 aa y pesa 50 kDa [4]. Los

108 residuos faltantes corresponden a la región C-terminal, en donde se encuentran seis sitios de unión a Ca^{+2}. Dentro de este dominio esta la estructura β-paralela enrollada y los iones Ca^{+2} están unidos entre las hebras por un motivo de secuencia GGXGXD repetido. Los iones Ca^{+2} confieren estabilidad a la estructura terciaria de la proteína [3, 4].

La zona roja indica la homología existente entre la secuencia aminoacídica parcial y la 1KAP [3] del PDB (Figura 1). Los residuos de unión a zinc son H176, H180, H186 y residuo catalítico Q177, y los residuos del sitio activo son HEIGHTLGLSH.

Conclusión: La secuencia aminoacídica de la proteasa PT2 de *P. aeruginosa* M211 fue modelada *in silico* por homología determinando que es una metaloproteasa dependiente de Zn^{+2}.

Palabras clave: Metaloproteasa, *Pseudomonas aeruginosa*, modelamiento *in silico*, proteasa.

Referencias bibliográficas:

1. Marathe SK, Vashistht AV, Prashanth A, Parveen N, Nair SS. Isolation, partial purification, biochemical characterization and detergent compatibility of alkaline protease produced by *Bacillus subtilis*, *Alcaligenes faecalis* and *Pseudomonas aeruginosa* obtained from sea water samples. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. 2018; 16(1): 39-46.

2. Andrejko M, Zdybicka-Barabas A, Janczarek M, Cytryńska M. Three *Pseudomonas aeruginosa* strains with different protease profiles. Acta Biochim Pol. 2013; 60(1): 83-90.

3. Baumann U, Wu S, Flaherty KM, McKay DB. Three-dimensional structure of the alkaline protease of *Pseudomonas aeruginosa*: a Two-domain protein with a calcium binding parallel beta roll motif. EMBO Journal 1993; 12(9): 3357-3364.

4. Miyatake H, Hata Y, Fujii T, Hamada K, Morihara K, Katsube Y. Crystal structure of the unliganded alkaline protease from *Pseudomonas aeruginosa* IFO3080 and its conformational changes on ligand binding. Journal of Biochemistry 1995; 118(3): 474-479.

Cultivo de bacterias proteolíticas aisladas de sembríos de arroz sobre concentrados proteicos de leguminosas

*Manuel Gonzalo Vilchez Chávez**, *Ysamar Audy Tapia Báñez*, *Juan Carlos Flores-Santos*, *Deniz Cayetano-Osorio*, *Amparo Iris Zavaleta*
Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima - Perú.

Introducción: Actualmente, la hidrólisis de proteínas presenta diversas aplicaciones en obtención de péptidos, mejora de las características organolépticas, reducción de reacciones alérgicas, entre otras. Las propiedades de los hidrolizados proteicos dependen de las características bioquímicas y estructurales de cada proteasa y fuente de procedencia; así, los estudios reportan hidrolizados tanto de proteínas vegetales [1] como animales [2]. En consecuencia, la necesidad de identificar nuevas fuentes alternativas de proteasas es permanente, por ello, esta investigación presenta bacterias con capacidad proteolíticas sobre concentrados proteicos de *Erythrina edulis* "pajuro", *Phaseolus lunatus* "pallar de Ica" y *Lupinus mutabilis* "tarwi".

Materiales y métodos: Las bacterias fueron aisladas a partir de tierra de cultivos de arroz mediante diluciones seriadas. La capacidad proteolítica se comprobó sobre agares skim milk, caseína y gelatina. La formación de un halo transparente alrededor de la colonia indicó hidrólisis proteica. Para la identificación bacteriana, se realizó la amplificación y secuenciación de los genes ribosómicos 16S.

Por otro lado, los concentrados proteicos se obtuvieron de *Phaseolus lunatus*, *Lupinus mutabilis* y *Erythrina edulis*, según el procedimiento descrito por Intiquilla y col [1]. Luego, los extractos proteicos fueron disueltos en agua bidestilada a pH 7 y 80 °C, después se centrifugaron por 15 min. El sobrenadante se utilizó en la preparación de agar nutritivo conteniendo proteínas solubles de leguminosas 1%, extracto de levadura 0,2% y agar 2%. En seguida, las bacterias se cultivaron a 37 °C por 48 h. Finalmente, ácido tricloacético 10% se añadió sobre las placas. La formación de una zona traslúcida alrededor del cultivo indico hidrólisis.

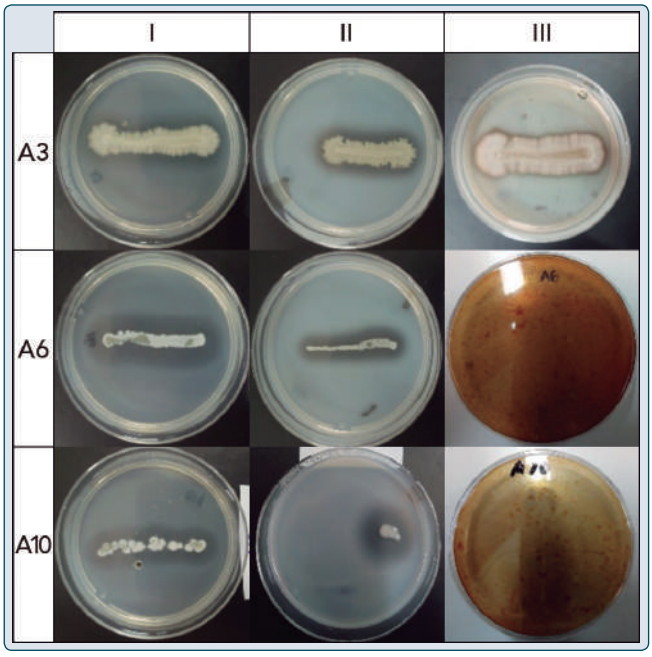


Figura 1. Bacterias con capacidad hidrolítica sobre concentrados proteicos de leguminosas.
Concentrados proteicos: **I**, *Phaseolus lunatus*; **II**, *Lupinus mutabilis* y **III**, *Erythrina edulis*. Cepas bacterianas: A3, A6 y A10.

Resultados y discusión: De los 10 aislados se identificaron tres bacterias con capacidad proteolítica sobre los medios skim milk, caseína y gelatina con halos de hidrólisis ≥ 10 mm. Estas fueron denominadas A3, A6 y A10 e identificadas por secuenciación parcial de los genes ribosómicos 16S como *Bacillus* sp (cepa A3) y *Aeromonas* sp. (cepas A6 y A10).

Bacillus sp A3 hidrolizó concentrados proteicos de *P. lunatus*, *L. mutabilis* y *E. edulis*, mientras *Aeromonas* sp, cepas A6 y A10, hidrolizaron los dos primeros concentrados proteicos, pero no crecieron en agar conteniendo *E. edulis* (Figura 1).

La actividad proteolítica de los géneros *Bacillus* y *Aeromonas* fue reportada en otros estudios [3, 4] pero no en concentrados proteicos de *L. mutabilis* y *E. edulis*.

Por otro lado, la ausencia de crecimiento de *Aeromonas* sp cepas A6 y A10 sobre agar conteniendo proteínas de *E. edulis* se debería a compuestos antimicrobianos por investigar que co-precipitan.

Conclusión: Las bacterias con capacidad proteolítica fueron identificadas como *Bacillus* sp. A3, *Aeromonas* sp. cepas A6 y A10. La primera hidrolizó concentrados proteicos de *Erythrina edulis*, P*haseolus lunatus* y *Lupinus mutabilis*. Por el contrario, las cepas de *Aeromonas* sp A6 y A10 hidrolizaron *P. lunatus* y *L. mutabilis*, pero no crecieron sobre *E. edulis*.

Palabras clave: Actividad proteolítica, *Bacillus* sp, *Aeromonas* sp, *Erythrina edulis*, *Phaseolus lunatus*, *Lupinus mutabilis*.

Referencias bibliográficas:

1. Intiquilla A, Jiménez K, Zavaleta A, Arnao I, Peña C, Chávez E, *et al*. *Erythrina edulis* (Pajuro) seed protein: A new source of antioxidant peptides. Natural Product Communications. 2016; 11(6): 781-86.

2. D'Avila S, Guimarães V, Salas M, Prentice C. Evaluation of functional properties in protein hydrolysates from bluewing searobin (*Prionotus punctatus*) obtained with different microbial enzymes. Food Bioprocess Technol. 2011; 4: 1399-1406.

3. Pant G, Prakash A, Pavani J, Bera S, Deviram G, Kumar A, *et al*. Production, optimization and parcial purification of protease from *Bacillus subtilis*. Journal of Taibah University for Science. 2015; 9(1) 50-55.

4. Zacaria J, Delamare A, Costa S, Echevarrigaray S. Diversity of etracellular proteases among *Aeromonas* determined by zymogram analysis. Journal of Applied Microbiology. 2010; 109: 212-19.

Bacterias extremófilas un recurso genético para la búsqueda de oxidorreductasas

María A. Quispe Ricalde[1*], *José L. Sierra*[2]
[1] Docente de la EP de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco.
[2] Escuela de Post-grado, Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco.

Introducción: La alta diversidad biológica del país es reconocible por la flora y fauna visibles. La diversidad geográfica y climática de más de 66 sub biomas [(1)], incluye la presencia de ambientes que exigen a los microorganismos, mecanismos fisicoquímicos adaptativos específicos, llevándolos a los límites para el desarrollo de la vida. En los andes, existen ambientes con altas concentraciones de sal (27 a 33% de NaCl) que han generado, en los microorganismos que albergan, adaptaciones que les permiten responder a situaciones de estrés [(2)] como la presencia de metales pesados, entre ellos cobre y arsénico. La búsqueda de oxidorreductasas responde a múltiples inquietudes, que incluyen conocer la alta diversidad microbiana de estos lugares y el potencial genético desarrollado por cada una de dichas especies, lo que permitiría obtener nuevas moléculas para los requerimientos de la industria, la medicina y el medio ambiente.

Materiales y métodos: Se aislaron bacterias halófilas y halotolerantes a partir de manantiales salinos de la región de Cusco. Luego de pasar un litro de agua de dichas fuentes a través de filtros de 0.22 µm de poro se cultivó en medio Sea Water (SW) suplementado con 5, 15, 20 y 25% de NaCl. La evaluación cualitativa de la actividad oxidorreductasa fue realizada en medio SW con 15% de NaCl y suplementado con rojo congo al 0.1% y rojo fenol al 0.1% de forma independiente. La actividad específica de peroxidasas, lacasas y lignino-peroxidasas se valoró con el sustrato 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic ácida) (ABTS), variando las condiciones de reacción para cada enzima siguiendo la metodología de Peidro, 2018. Se amplificó el gen rRNA 16S con cebadores universales para organismos del dominio Bacteria, y se evaluó la homología con lo reportado en el GenBank.

Resultados y discusión: Se aislaron 90 cepas en las que se evaluó la actividad oxidorreductasa, seleccionando 10, de las cuales, tres mostraron mayor actividad enzimática específica de Lignino-peroxidasas, Lacasas y Peroxidasa. La homología de las secuencias del gen rRNA 16S de las 10 cepas seleccionadas, indican que el género predominante fue *Salinivibrio*, con la especie, *S. costicola*; otro género con actividad oxidorreductasa es *Halomonas* con las especies *H. elongata* y *H. taeanensis*.

Conclusión: Se ha identificado a *Halomonas elongata* y *H. taeanensis* como bacterias con mayor actividad enzimática de oxidorreductasas. De forma similar la especie *Salinivibrio costicola* es capaz de producir enzimas oxidorreductasas.

Palabras clave: Oxidorreductasas, bacterias extremófilas.

Agradecimientos: Financiado por el Convenio ARES-UNSAAC.

Referencias bibliográficas:

1. Aybar-Camacho C, *et al*. Atlas de zonas de vida del Perú – Guía Explicativa. Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú (SENAMHI). Dirección de Hidrología; 2017.

2. Castelán H, *et al.* Intermediate-salinity systems at high altitudes in the peruvian andes unveil a high diversity and abundance of bacteria and viruses. Genes (Basel). 2019, 10(11): E891; doi:10.3390/genes10110891.

3. Peidro H. Análisis comparativo del transcriptoma del hongo halófilo *Aspergillus sydowii*-like, crecido en benzo [a] pireno y fenantreno en condiciones hipersalinas. [Tesis de maestría]. Morelos: Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México; 2018.

Bacterias degradadoras de plástico aisladas del botadero de basura de Haquira-Cusco

Vanessa Silva, Annie Nieto, Elsa Aguilar
Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, Cusco-Perú

Introducción: Los residuos sólidos son el primer problema ambiental del mundo y el segundo del Perú. El principal problema de los residuos plásticos radica en el tiempo que demoran en degradarse, al persistir hasta mil años en el ecosistema contaminan el ambiente afectando la salud de los seres vivos. Los plásticos son sin duda la huella más duradera de la humanidad. El objetivo del presente trabajo fue aislar bacterias del género Pseudomonas de un botadero de basura, capaces de degradar tres tipos de plástico.

Materiales y métodos: Se muestrearon los lixiviados del botadero de basura de Haquira. Para el aislamiento bacteriano se usaron placas petri con un agar específico para *Pseudomonas*, agar Cetrimide, sembrándose las muestras por el método de agotamiento en superficie e incubando a 37°C por 24 horas en horno Pasteur. Se identificaron tres cepas de *Pseudomonas*, bioquímica y molecularmente, mediante el Kit RapID NF plus y la secuenciación del gen ARNr 16S (laboratorio de Biotecnología ADN Uchumayo E.I.R.L.), respectivamente. Las tres cepas fueron codificadas como: L05, L07 y L20. Para la degradación del plástico, se inoculó 1µl del cultivo de cada cepa en tubos de ensayo con tapa rosca que contenían 6 ml de medio salino experimental, constituído por: $NH_4(SO_4)$ (1 g/L), $NaNO_3$ (1 g/L), K_2HPO_4 (1 g/L), KCl (1 g/L), $MgSO_4$ $7H_20$ (0.2 g/L), extracto de levadura (1 g/L); seguidamente se colocaron en cada tubo tres tipos de plástico: Tereftalato de polietileno (PET), Poliestireno (PS) y Polipropileno (PP); los cuales fueron incorporados en forma de discos de 4 mm de diámetro, previamente lavados con etanol al 70 % y pesados en balanza analítica. Los tubos de ensayo fueron incubados en dos condiciones de cultivo: incubadora sin agitación a 37 °C y baño maría con agitación (150 rpm). El experimento duró 06 meses, y la degradación del plástico se evidenció cualitativamente, mediante la observación microscópica de los plásticos con un aumento de 100x, y cuantitativamente a través dos métodos: la pérdida de peso, evaluada con balanza analítica de 5 dígitos (±0.00001 g), y el porcentaje de variación de la transmitancia de los grupos funcionales de los espectros de los plásticos, determinados por Espectroscopía Infrarroja transformada por Fourier (FTIR).

Resultados y discusión: Se logró aislar e identificar, bioquímica y molecularmente, a las tres especies del género *Pseudomonas* como homólogos a *Pseudomonas aeruginosa* cepa dut-lxm0725, con capacidad degradadora para PET, PS y PP.

Los porcentajes de degradación para cada tipo de plástico fueron: PP, 40%; PET, 36.2%;

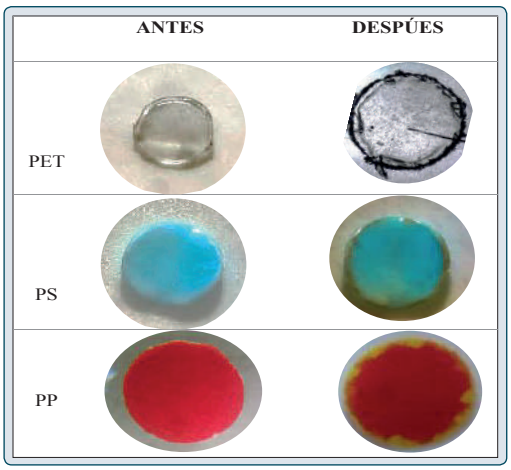


Figura 1. Evaluación cualitativa del antes y después de la degradación de los tres tipos de plástico al cabo de los 06 meses.

PS, 30.4%. La FTIR mostró incremento del porcentaje de transmitancia de los grupos funcionales representativos de cada tipo de plástico, posiblemente a consecuencia de la degradación de los mismos.

Conclusión: Se lograron aislar tres cepas del género *Pseudomonas* con capacidad degradadora para tres tipos de plástico, PET, PS y PP. La cepa L05 fue la que degradó más plástico, y el PS fue el más susceptible a la biodegradación.

Palabras clave: Biodegradación, *Pseudomonas*, PET, PS, PP, espectroscopía infrarroja.

Agradecimientos: Los autores agradecen a la Municipalidad Provincial del Cusco, que permitió el acceso al botadero de basura de Haquira.

Referencias bibliográficas:

1. Poblete-Castro I, *et al.* (2012). Industrial biotechnology of *Pseudomonas putida* and related species. Appl Microbiol Biotechnol. 2012; 93(6): 2279-90.

2. Umamaheswari, *et al.* Electron microscopic studies of Polyethylene terephthalate degradation potential of *Pseudomonas species*. Journal of Microbiology and Biotechnology Research. 2013; 3(1): 104-110.

Producción de polihidroxibutirato (PHB) en biorreactor: Biopolímero con potencial aplicación biomédica

Luz Cueva[1*], *Juan Alva*[1], *Keyla Llontop*[2], *Anthony Fuentes*[1], *Alberto Quezada*[1], *Alfredo Cruz*[1]

[1] Escuela de Ingeniera Ambiental, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional de Trujillo.
[2] Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo.

Introducción: El uso de los plásticos es muy atractivo debido a sus características integrales de resistencia, ligereza y durabilidad. Desde la perspectiva ambiental, debido a su irracional producción y lenta degradación, se considera un problema serio de contaminación, por lo que es necesario encontrar sustitutos amigables con el medio ambiente que tengan las mismas o mejores características fisicoquímicas y puedan alcanzar costos de producción similares o menores a los plásticos tradicionales. Una de las alternativas que se vienen utilizando para este fin son los biopolímeros que algunos microorganismos pueden producir y acumular intracelularmente. Los más conocidos son los polihidroxialcanoatos (PHA) y sus derivados, que tienen propiedades similares a la de muchos polímeros alifáticos –como los polietilenos y polipropilenos, hechos a base de petroquímicos–, además de ser biocompatibles y no tóxicos, lo que posibilita su introducción en el cuerpo humano y su uso en un amplio campo de aplicaciones biomédicas.

Materiales y métodos: Todos los materiales, reactivos y equipos fueron proporcionados por el Proyecto Canon PIC N° 08-2014 "Aprovechamiento de Residuos Agroindustriales Regionales en la producción de Plásticos Biodegradables". Para la producción del PHB, se usó una cepa aislada de suelos de cultivos de vid de la localidad de Cascas, Gran Chimú, La Libertad; empleándose un medio de cultivo (g/l) con la siguiente constitución: glucosa, 20; peptona, 5; extracto de levadura, 2; extracto de carne, 1; cloruro de sodio, 5. La fermentación se realizó en un biorreactor marca Applikon, con 1.5 L de volumen y con una duración de 48 horas, con el fin de evaluar la producción de biomasa (peso seco), consumo de glucosa (DNS) y acumulación PHB (HPLC); terminada la fermentación, se centrifugó la biomasa, se lavó con agua destilada y etanol, y se secó a 40 °C por 24 horas. Se extrajo el polímero mediante digestión de la biomasa seca usando NaClO al 4.5 % v/v, a pH 12.3 y a temperatura ambiente por 8 horas; el precipitado fue centrifugado a 5000 rpm por 10 min y se enjuagó con agua destilada y luego con etanol 96 %, para ser secado a 50 °C. El polímero recuperado se caracterizó por FTIR, DSC Y TGA.

Resultados y discusión: Se obtuvo en biorreactor una acumulación de 71.9 % de PHB, con una producción de biomasa 2.52 g/L a las 48 horas, usando una cepa de *Bacillus* sp. autóctona. Mediante el método de digestión con NaClO, se encontró una pureza superior al 90 % mediante análisis por FTIR, confirmando que el polímero producido es poli-3-hidroxibutirato al evidenciarse las bandas características del grupo carbonilo a 1723 cm^{-1} y las bandas a 1281 y 1262 cm^{-1} correspondientes a los enlaces C-O. El barrido por calorimetría diferencial (DSC) realizado al polímero muestra una temperatura de fusión de 166.88 °C, cercana a los 175 °C reportados en literatura, y el análisis termogravimétrico (TGA) reporta una temperatura de degradación alrededor de los 282.11 °C, lo cual confirma que la extracción por NaClO no degrada el polímero, manteniendo una estabilidad térmica acorde con la literatura.

Conclusión: La producción de polihidroxibutirato a partir de cepas nativas y su purificación, nos permite obtener un material biodegradable y biocompatible para ser usado en numerosas aplicaciones en las ciencias médicas.

Palabras clave: Polihidroxialcanoatos, bioplásticos, fermentación, biorreactor, *Bacillus*.

Agradecimientos: Este trabajo fue financiado por el Proyecto Canon Minero PIC-08-2014 de la Universidad Nacional de Trujillo.

Referencias bibliográficas:

1. Koller M. Advances in polyhydroxyalkanoate (PHA) production. Bioengineering. 2017; 4(4): 88.

2. Ray S, Kalia VC. Biomedical Applications of Polyhydroxyalkanoates. Indian Journal of Microbiology. 2017; 57(3): 261-269.

3. Możejko-Ciesielska J, Kiewisz R. Bacterial polyhydroxyalkanoates: Still fabulous? Microbiological Research. 2016; 192(1): 271-282.

Diseño e implementación de un equipo de electrohilado para la obtención de nanofibras dopadas de nanopartículas de Cu y Ag

Andrés Alfaro Cerazo[1*], *Manuel Jesús Torres Calla*[1], *Justiniano Quispe-Marcatoma*[1,2] , *Carlos Vladimir Landauro*[1,2]

[1] Facultad de Ciencias Físicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, A. Postal 14-0149, lima14. Perú.

[2] Centro de Investigaciones Tecnológicas, Biomédicas y Medioambientales (CITBM), Calle José Santos Chocano 199. Bellavista. Callao. Perú.

Introducción: La técnica de preparación de membranas por electrohilado (electrospinning), ha sido ampliamente estudiada durante los últimos años gracias a la posibilidad de crear fibras en escala micro y nanométrica para una gran variedad de aplicaciones biomédicas. Este interés se debe a sus atractivas características, como: amplia superficie por unidad de área, porosidad y una serie de propiedades mecánicas [1]. Por ejemplo, en los nanocompositos poliméricos elaborados por esta técnica, se observa como las nanopartículas (Np), además de mejorar las propiedades mecánicas del polímero, le transmiten sus propiedades químicas [1], como es el caso de las nanofibras de Np de Cu [2] y Ag [3], que por sus propiedades bactericidas, podrían ser aplicadas en el tratamiento de aguas. Dada la gran variedad de materiales que se pueden obtener con esta técnica, se procede en este trabajo a diseñar y construir un equipo de electrospinning con el fin de obtener nanofibras, en particular, las de PVA/Ag y PVA/Cu.

Materiales y métodos: Se procede a diseñar el equipo que consta principalmente de dos partes: La bomba de infusión y la fuente de alto voltaje. La bomba de infusión se construye con la idea de que sea fácil de utilizar y programar, y que al mismo tiempo tenga la potencia y la precisión suficiente como para inyectar la solución a tasas de flujos del orden de los µL/min. Se usa por ello un motor paso a paso controlado por una placa arduino y un driver, con el cual se logra reducir los pasos del motor. El diseño de la bomba se elabora con el fin de que el motor no pierda potencia ni pasos. Para la fuente de alto voltaje, se opta por construirla base a un flyback de TV. Para la obtención de nanofibras, se procede primero a sintetizar nanopartículas de Cu y Ag por la técnica de coprecipitación química; una vez obtenidas, se mezclan con una disolución de PVA. Esta solución se introducirá en la jeringa del electrospinning para iniciar la síntesis de las nanofibras.

Resultados y discusión: Los resultados preliminares muestran que el equipo de electrospinning fabricado cuenta con las características necesarias para ser utilizado por personal idóneo de forma sencilla e intuitiva, y permite obtener resultados satisfactorios en la fabricación de nanofibras. De otro lado, ser realizó una primera medida de caracterización de las nanofibras obtenidas, estudiando sus propiedades elásticas. Los resultados para las nanofibras de PVA/Ag, muestran que tienden a volverse más rígidas, aumentando su constante elástica, al aumentar la concentración de Np. En cuanto a las nanofibras de PVA/Cu, tienden a mantener su constante de rigidez, pero, fuera del límite elástico, tienen un punto de rotura inferior al PVA para bajas concentraciones, siendo por lo tanto más frágiles que éste, aunque si se aumenta la concentración se vuelve más rígido, con un aumento considerable en su punto de rotura.

Palabras clave: Electrospinning, nanopartículas, nanofibras, bactericida.

Agradecimientos: Los autores agradecen a CIENCIACTIVA (CONCYTEC) por su apoyo financiero parcial a través de su Programa del Centro de Excelencia.

Referencias bibliográficas:

1. Duque L, Sánchez D, Rodriguez L, López M. Electrospinning: la era de las nanofibras. Rev Iber Polímeros. 2014; 14(1): 10-27.

2. Reza A, Mohammadsaleh F, Reza M. Copper-containing polyvinyl alcohol composite systems: Preparation, characterization and biological activity. J Phys Chem Solids. 2015; 83: 96-103.

3. Silva R, Kunita MH, Girotto EM, Radovanovic E, Muniz EC, *et al*. Synthesis of Ag-PVA and Ag-PVA/PET-s20 composites by supercritical CO_2 Method and study of silver nanoparticle growth. J Braz Chem Soc. 2008; 19(6): 1224-9.

Síntesis y caracterización de plásticos biodegradables a base de almidón de maíz utilizando como refuerzo celulosa microcristalina

Anthony Neciosup[1*], *Carlos Vladimir Landauro*[1,2], *Justiniano Quispe-Marcatoma*[1,2], *Gretty Villena*[3], *Illanit Samolsky*[3]

[1] Facultad de Ciencias Físicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Apartado Postal 14-0149, Lima 14, Perú.
[2] Centro de Investigaciones Tecnológicas, Biomédicas y Medioambientales. Calle José Santos Chocano 199, Bellavista, Callao.
[3] Laboratorio de Micología y Biotecnología, Universidad Nacional Agraria La Molina, Av. La Molina s/n, Lima 12, Perú.

Introducción: Cada año los mares son receptores de hasta 12 millones de toneladas de desechos plásticos, lo que los convierten en el enemigo número uno del medio ambiente [(1)]. La conciencia ambiental ha provocado una intensa demanda de materiales ecológicos amigables con la naturaleza, renovables, sostenibles, biodegradables y reciclables [(2)]. En este contexto, el objetivo del presente trabajo fue desarrollar un plástico biodegradable a base de almidón –principal reserva de energía de la mayoría de los vegetales– con propiedades mecánicas mejoradas a través del empleo de celulosa, un material natural, como refuerzo [(3)].

Materiales y métodos: Para la preparación de las membranas, 1.5 g de almidón de maíz, 0.5 g de glicerina y 0.25 g de celulosa microcristalina, fueron disueltos en un beaker con 40 ml de agua desionizada. Esta mezcla se mantuvo a una temperatura de 70 °C, con constante agitación de 100 rpm durante 40 min. Posteriormente, 20 ml de la mezcla fueron colocados en una placa petri y llevados a un proceso de ultrasonido con el fin de eliminar posibles burbujas. Luego se pusieron en un horno a 50 °C por 1h y se dejaron secar durante 1 día. Todos los materiales usados en el proceso de síntesis fueron caracterizados mediante el uso de las siguientes técnicas: difracción de rayos X (DRX) y espectroscopía Raman. Asimismo, se realizó un test mecánico con el objetivo de observar ciertos parámetros mecánicos.

Resultados y discusión: Los resultados obtenidos mediante difracción de rayos X y espectroscopía Raman reflejan un alto porcentaje de cristalinidad para celulosa microcristalina (72.05 %), el cual es el responsable de otorgar a las membranas de almidón una mayor resistencia mecánica.

Conclusión: Mediante el protocolo seguido, se lograron sintetizar plásticos biodegradables a partir de materiales naturales. Asimismo, el uso de celulosa microcristalina como refuerzo mejora las propiedades mecánicas del producto sintetizado.

Palabras clave: Plástico biodegradable, almidón de maíz, celulosa microcristalina.

Agradecimientos: Los autores agradecen el financiamiento brindado por el Proyecto N83-2018-FONDECYT-BM-IAT-AT.

Referencias bibliográficas:

1. Satyanarayana KG, Arizaga GG, Wypych F. Biodegradable composites based on lignocellulosic fibers-an overview. Prog Polym Sci. 2009; 34(9): 982-1021.

2. Herrera-Franco P, Valadez-Gonzalez A. A study of the mechanical properties of short natural-fiber reinforced composites. Compos Part B: Eng 2005; 36(8): 597-608.

3. Flauzino Neto WP, Silvério HA, Oliveira N, Pasquini D. Extraction and characterization of cellulose nanocrystals from agro-industrial residue–Soy hulls. Industrial Crops and Products. 2013; 42: 480-8.

Síntesis y caracterización de estroncio-apatita dopada con sustitución de calcio para aplicaciones biomédicas

Jesús Grados[*1], *Fred Montalvo Amanca*[1,2], *Maximiliano Zapata Moreno*[3], *Justiniano Quispe-Marcatoma*[1,2], *Carlos Vladimir Landauro*[1,2]

[1] Facultad De Ciencias Físicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima - Perú.
[2] Centro de Investigaciones Tecnológicas, Biomédicas y Medio Ambientales (CITBM), Callao - Perú.
[3] Laboratório de Física Aplicada, Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear-CDTN, Comissão Nacional de Energia Nuclear-CNEN, Minas Gerais - Brasil.

Introducción: Las cualidades de la Hidroxiapatita (HAp) en el campo de los injertos óseos, vienen siendo estudiadas desde hace muchos años debido a su) excelente bioactividad, biocompatibilidad, insolubilidad y similitud con el hueso natural. Actualmente, para de hacerla más semejante a la estructura y composición química del hueso natural, se han realizado sustituciones dentro de la estructura cristalina de la HAp, lo que mejora sus propiedades biológicas y mecánicas, modificando sus características antibacterianas o disminuyendo su solubilidad [(1)]. Así, se ha reportado que la sustitución del Ca por diferentes cationes (Sr^{+2}, Zn^{+2}, Mg^{+2}, Cu^{+2}, etc.), genera cambios en los parámetros de la red [(2)]. En base a estos reportes, se plantea estudiar la posibilidad de usar estroncio para sustituir al calcio en todo el rango de composición de la HAp, evaluando las modificaciones que ello pudiera causar en su estructura cristalina.

Materiales y métodos: Empleando el método sol-gel, se sintetizó Sr-HAp. Para ello se preparon soluciones de nitrato de calcio 1M y fosfato de amonio 0,48M, las cuales fueron basificadas con hidróxido de amonio (pH 10,5); la mezcla resultante fue llevada a agitación magnética constante durante 2 h y se dejó envejecer por 5 días. Finalmente, fue lavada, secada y sometida a diferentes temperaturas para establecer su estabilidad térmica. Las muestras sintetizadas fueron analizadas por difracción de rayos X (DRX) y su caracterización estructural fue realizada mediante refinamiento por el método Rietveld.

Resultados y discusión: El análisis por DRX del producto sintetizado, evidencian que se obtuvo Sr-HAp monofásica, estable térmicamente hasta los 600° C. El refinamiento Rietveld muestra que al sustituir todo el Ca por Sr la estructura cristalina se mantiene.

Conclusiones: Los resultados evidencian que es posible sintetizar Sr-HAp sustituyendo todo el Ca por Sr sin que cambie la estructura cristalina de la HAp.

Palabras clave: Hidroxiapatita, hidroxiapatita estróncica, biomaterial.

Agradecimientos: Los autores agradecen al Vicerrectorado de Investigación y Posgrado-VRIP-UNMSM por el financiamiento parcial brindado a través del Proyecto B19130121. Así también, agradecen el financiamiento parcial brindado por el Centro de Investigaciones Tecnológicas, Biomédicas y Medioambientales (CITBM).

Referencias bibliográficas:

1. Özbek YY, Baştan FE, Üstel F. Synthesis and characterization of strontium-doped hydroxyapatite for biomedical applications. J Therm Anal Calorim. 2016; 125(2): 745-50.

2. Stipniece L, Salma-Ancane K, Loca D, Pastare S. Synthesis of strontium substituted hydroxyapatite through different precipitation routes. Key Eng Mater. 2016; 674: 3-8.

Producción y caracterización de películas delgadas de hidroxiapatita usando la técnica de *magnetron sputtering* de ángulo recto

***Manuel Jesús Torres Calla*[1], *Milida Zarella Pinto*[1,2], *Justiniano Quispe-Marcatoma*[1,2], *Carlos Vladimir Landauro*[1,2]**

[1] Facultad de Ciencias Físicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, A. Postal 14-0149, Lima 14. Perú.
[2] Centro de Investigaciones Tecnológicas, Biomédicas y Medioambientales (CITBM), Calle José Santos Chocano 199. Bellavista. Callao. Perú

Introducción: La Hidroxiapatita (Hap - $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) es uno de los biocerámicos que posee gran potencial en la regeneración de tejidos óseos. Por ello, estos últimos años viene siendo muy utilizada en procedimientos clínicos (por ejemplo, como cementos dentales y en los recubrimientos que se les hace a los implantes metálicos). Una de las técnicas que se emplean para realizar estos recubrimientos es la de pulverización catódica por radiofrecuencia (RF magnetrón sputtering), la cual brinda una mejor uniformidad en la película delgada. Para poder depositar películas delgadas en un sistema de RF Magnetrón Sputtering es necesario tomar en cuenta distintos parámetros, como por ejemplo: la temperatura, presión base, potencia reflectiva, flujo de argón y oxígeno, entre otros. La hidroxiapatita, al ser un material complejo, tiende a separarse cuando la pulverización catódica inicia, razón por la cual, al controlar los parámetros antes mencionados, se logra depositar una película delgada homogénea.

Materiales y métodos: Para este trabajo, se sintetizó el polvo de hidroxiapatita en el Grupo de Investigación Materia Condensada de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Esta síntesis se realizó por el método de sol-gel a temperatura ambiente; posteriormente, se sintetizó la muestra a 150°C. La deposición de las películas delgadas de Hap se realizó en un magnetron sputtering de ángulo recto (RAMS). Este sistema se basa en la pulverización catódica, en la cual los magnetrons están uno en frente del otro, teniendo el portasustrato en ángulo recto respecto a los blancos; esta técnica utiliza una fuente de radiofrecuencia que hace que los iones de argón oscilen en la región de confinamiento magnético de los magnetrons. La técnica de caracterización que se usó fue la difracción de rayos X (XRD).

Resultados y discusión: Las medidas de difracción de rayos X en las películas obtenidas muestran una fase amorfa, sin embargo, luego del tratamiento térmico a 400°C, se puede apreciar los picos característicos de la hidroxiapatita juntamente con picos característicos de fosfatos de calcio.

Conclusión: Los resultados indican que teniendo control en los parámetros que intervienen en el proceso de deposición y partiendo de blancos de Hap pura, es posible hacer crecer películas delgadas de Hap.

Palabras clave: Biocerámicos, Hidroxiapatita, RF *magnetron sputtering*, películas delgadas.

Agradecimientos: Los autores agradecen al Vicerrectorado de Investigación y Posgrado-VRIP-UNMSM por el financiamiento parcial brindado a través del Proyecto B19130121. Así también agradecen el financiamiento parcial brindado por el Centro de Investigaciones Tecnológicas, Biomédicas y Medioambientales (CITBM).

Referencias bibliográficas:

1. Mello A. Filmes finos cristalinos de hidroxiapatita: Uma abordagem original com magnetron sputtering de alvos opostos. [Teses Doutorado]. Rio de Janeiro: Instituto Militar de Engenharia, 2007.

2. García MV, Reyes J. La hidroxiapatita, su importancia en los tejidos mineralizados y su aplicación biomedica. Tip Rev. Espec. en Ciencias Químico-Biológicas. 2006; 9(2): 90-5.

3. Blanco López P, Monsalve Guil L, Matos Garrido N, Moreno Muñoz J, Nuñez Márquez E, Velasco Ortega E. La osteointegración de implantes de titanio con diferentes superficies rugosas. Av Odontoestomatol. 2018; 34(3): 141-9.

Películas delgadas de carboapatita preparadas por magnetron sputtering de ángulo recto (RAMS)

Milida Zarella Pinto[1,3], Justiniano Quispe-Marcatoma[1,3], Carlos Vladimir Landauro[1,3], Elvis Oswaldo López[2], Alexandre Mello[2], Alexandre Rossi[2]*

[1] Facultad de Ciencias Físicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Ap. Postal 14-0149, Lima14, Perú.
[2] Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas, Ap. Postal 22290-180, Urca, Rio de Janeiro, Brasil.
[3] Centro de Investigaciones Tecnológicas, Biomédicas y Medioambientales (CITBM), Jr. José Santos Chocano 199. Urb. San Joaquín, Bellavista, Callao, Perú.

Introducción: En los últimos años se ha ido incrementando el interés por investigar la hidroxiapatita (HA), $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, un biocerámico con gran aplicación en la biomedicina e implantología [(1)] debido a que su composición química es similar a la fase mineral del tejido óseo. Asimismo, exhibe interesantes propiedades como osteoconducción, osteointegración, osteoinducción, buena estabilidad química, etc., las cuales se pueden mejorar notablemente al realizar sustituciones aniónicas y/o catiónicas con F^-, Zn^{2+}, Sr^{2+}, SiO_4^{4-} y CO_3^{2-}. Particularmente, cuando el ión CO_3^{2-} entra en la estructura de la HA es llamado carboapatita (CHA); estos iones carbonatos (CO_3^{2-}) pueden sustituir los iones PO_4^{3-} (sustitución del tipo B) o sustituir iones OH^- (sustitución del tipo A), tornándola en una estructura similar al hueso natural y mejorando la osteogénesis para formación de nuevo tejido óseo [(2)]. Para poder manipular la HA con fines de aplicaciones biomédicas, es de vital importancia el estudio de sus características estructurales sea en forma de materiales bulk, micro o nano estructurados o en forma de recubrimientos como una película delgada.

Materiales y métodos: En este trabajo, se sintetizó el polvo de CHA en el laboratorio de biomateriales del CBPF por síntesis de vía húmeda manteniendo la reacción a 90°C y pH=7; donde el polvo de CHA tuvo una concentración de 6% wt. La preparación de las películas delgadas de CHA se realizó en un *magnetron sputtering* de ángulo recto, que es un sistema con dos *magnetrons* posicionados en eje y donde el portamuestras está posicionado en ángulo recto respecto a dicho eje. Las técnicas de caracterización que se usaron fueron: reflectividad de rayos X (XRR); difracción de rayos X (XRD); difracción de rayos X por ángulo rasante usando radiación sincrotrón (GIXRD), espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) y espectroscopía de fotoelectrones excitados por rayos X (XPS).

Resultados y discusión: De las medidas de GIXRD con tratamiento térmico *in situ* realizadas a las películas delgadas de CHA, se pudo observar que a temperatura ambiente aún presentan una fase cristalina desordenada, sin embargo, a 400°C se inicia una inducción cristalina de la película delgada que es estable en el tiempo. De las medidas FTIR se puede observar que las películas de CHA, tratadas térmicamente a 400°C, muestran las bandas de vibración de los iones carbonatos (tipo A y B), 1556 cm^{-1} y 1404 cm^{-1}, respectivamente, y fosfatos 1023 cm^{-1}, en su estructura. A partir de las medidas XPS se consiguió determinar la estequiometría de las películas delgadas de CHA tratadas térmicamente a 400°C, siendo de: $Ca_{8.4}[(PO_4)_{2.5}(CO_3)_{3.5}][(CO_3)_{0.3}(OH)_{1.7}]$.

Conclusión: Los resultados indican que partiendo de targets de CHA-6%, es posible crecer películas delgadas de HA con ligeras substituciones de iones CO_3^{2-}.

Palabras clave: Biocerámicos, carboapatita, RF *magnetron sputtering*, películas delgadas, aplicaciones biomédicas.

Agradecimientos: M. Z. PINTO agradece al CONCYTEC por el financiamiento de sus estudios de Doctorado (convenio de subvención N° 218-2014-FONDECYT), y también por la beca de Movilización Nacional e Internacional en Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica 2016-1 (Contrato de subvención N° 049-2016-FONDECYT).

Referencias bibliográficas:

1. Surmenev R. Surf Coat Technol. 2012; 206: 2035-2056.

2. Sima E, *et al*. J Biomed Mater Res A. 2010; 95A(4): 1203-1214.

3. López EO, Rossi AL, Archanjo BS, Ospina RO, Mello A, Rossi AM. Surf Coat Technol. 2015; 264: 163-174.

Síntesis y caracterización de Hidroxiapatita dopada con metales para aplicaciones biomédicas

Fred Montalvo Amanca[*1,2], *Maximiliano Moreno Zapata*[3], *Justiniano Quispe-Marcatoma*[1,2], *Carlos Vladimir Landauro*[1,2]

[1] Facultad De Ciencias Físicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima - Perú.
[2] Centro de Investigaciones Tecnológicas, Biomédicas y Medio Ambientales (CITBM), Callao - Perú.
[3] Laboratório de Física Aplicada, Centro de Desenvolvimento da Tecnologia Nuclear – CDTN, Comissão Nacional de Energía Nuclear – CNEN, Minas Gerais - Brasil.

Introducción: La Hidroxiapatita (HAP), un fosfato de calcio perteneciente al grupo de las apatitas, con formula química $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, es el componente inorgánico con mayor presencia en el tejido óseo (95%, aprox.). Al ser un biomaterial que exhibe propiedades de biocompatibilidad y osteoconducción, es ampliamente usado en medicina para recubrimientos de implantes quirúrgicos, como material de remplazo óseo, en tratamientos odontológicos como remineralización y reparación de la superficie de los dientes, a lo que se sumaría, según investigaciones recientes, su aplicación en el campo de la remediación medioambiental. El objetivo del presente trabajo es la síntesis y caracterización de hidroxiapatita pura y dopada con metales como el Hierro (Fe), Cobalto (Co), Estroncio (Sr) y Plata (Ag), para estudiar su potencial uso en aplicaciones biomédicas.

Materiales y métodos: HAP pura y dopada fueron preparadas por síntesis química mediante el método Sol-Gel, usando como precursores nitrato de calcio tetrahidratado *($Ca(NO_3)_2*4H_2O$)* y fosfato de amonio monobásico *($(NH_4)H_2PO_4$)* en solución a concentraciones de 1M y 0.48M, respectivamente. Para dopar se usaron: nitrato de cobalto hexahidratado *($Co(NO_3)_2*6H_2O$)*, nitrato de estroncio *($Sr(NO_3)_2$)*, nitrato de plata *($AgNO_3$)*, nitrato de hierro nonahidratado *($Fe(NO_3)_3*9H_2O$)*. En el proceso de síntesis se tuvo en cuenta la relación molar Ca/P=1.67 para la HAP, mientras que para HAP dopada se uso $(Ca+Me)/P$=1.67, donde *Me* representa las moles del metal dopante. Las soluciones fueron basificadas con una solución de hidróxido de amonio *($(NH_4)OH$)* manteniendo el pH entre $10<pH<11$. La solución de *$Ca(NO_3)_2*4H_2O$*, se dejó gotear sobre la solución de *$(NH_4)H_2PO_4$* bajo agitación constante, formándose un gel blanco, la mezcla resultante se dejó envejecer durante 5 días a temperatura ambiente, luego fue lavada y secada a 150° C por 4 horas; posteriormente se hicieron tratamientos térmicos. Las muestras fueron caracterizadas mediante difracción de rayos X (DRX), espectroscopía Raman. La caracterización estructural se hizo mediante el método Rietveld.

Resultados y discusión: El análisis por DRX para la síntesis, muestra que se obtuvo HAP monofásica, asimismo los tratamientos térmicos establecen que la HAP es estable tiránicamente hasta los 800° C. El refinamiento mediante el método Rietveld muestra que es posible dopar la HAP.

Conclusión: Los resultados muestran que es posible sintetizar HAP y HAP dopada con Fe, Co, Sr y Ag.

Palabras clave: Hidroxiapatita, dopaje, biomaterial.

Agradecimientos: Los autores agradecen al Vicerrectorado de Investigación y posgrado-VRIP-UNMSM por el financiamiento parcial brindado a través del Proyecto: B19130121. Así también, agradecen el financiamiento parcial brindado por el Centro de Investigaciones Tecnológicas, Biomédicas y Medioambientales (CITBM).

Referencias bibliográficas:

1. Duffo G. Materiales y materias primas [Colección Encuentro Inet] Ministerio de Educación, Instituto Nacional de Educación Tecnológica. Buenos Aires; 2011.

2. Bystrov VS, *et al.* Oxygen vacancies, the optical band gap (E_g) and photocatalysis of hydroxyapatite: Comparing modelling with measured data. Applied Catalysis B: Environmental. 2016; 196(5): 100-7. http://doi.org/10.1016/j.apcatb.2016.05.014

3. Ciobanu CS, Massuyeau F, Constantin LV, Predoi D. Structural and physical properties of antibacterial Ag-doped nano-hydroxyapatite synthesized at 100°C. Nanoscale Res Lett. 2011; 6(1): 613.



SEMINARIO INTERNACIONAL EN BIOTECNOLOGÍA PARA LA SALUD

CONCLUSIONES

Conclusiones del Seminario

El incremento de la población mundial y la globalización requieren nuevos procesos o productos biotecnológicos en beneficio de la salud –considerando el medio ambiente– centrados en la prevención, tratamiento, diagnóstico, entre otros, y su contribución socioeconómica. Para atender estos desafíos globales los países como Perú, en su Programa Transversal Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de Biotecnología, considera cuatro áreas prioritarias y diversas líneas de investigación que permitirán generar procesos o productos de alto valor socioeconómico aprovechando la biodiversidad como insumo. Así, en este evento se han presentado los resultados de investigaciones en microorganismos, algas, crustáceos, animales y vegetales relacionados con biotecnología agroalimentaria, ambiental, marina y acuícola, enzimas y procesos, farmacéutica, medicina, diagnóstico. Cabe resaltar, el mayor número de investigaciones fueron en las áreas temáticas de enzimas y procesos, farmacéutica, nanobiotecnología y biotecnología ambiental. Los temas principales fueron principios activos como polisacáridos, péptidos y enzimas a partir de microorganismos, crustáceos y plantas; asimismo, tecnologías de diagnóstico, biomateriales de carboxi e hidroxiapatita, biotratamiento de aguas y suelos, entre otros. En las investigaciones se utilizaron enfoques modernos de biología molecular e ingeniería genética, bioinformática, genómica funcional, biología sintética, nanotecnología, procesos fermentativos, entre otros, con lo cual sustentan las bases para el crecimiento sostenido de la Biotecnología.



SEMINARIO INTERNACIONAL EN BIOTECNOLOGÍA PARA LA SALUD

ANEXOS

Normas para publicación en libro de resúmenes:

RESÚMENES DE CONFERENCIA

I. Presentación:

Título del trabajo: (Con letras mayúsculas, en negrita, centrado, letra tamaño 12).

Nombre del conferencista: Nombre y apellidos (centrado, letra tamaño 11).

Filiación institucional y correo: (justificado, letra tamaño 10).

Resumen: (Máximo 550 palabras, letra tamaño 11)

Palabras Clave: Hasta cinco (letra tamaño 10).

Referencias bibliográficas: Citar un máximo de 5 referencias. Las citas serán según las normas del estilo Vancouver (letra tamaño 9).

II. Normas generales:

- Utilizar letra Arial.
- El resumen no debe extenderse más allá de una página incluyendo las referencias bibliográficas. Usar márgenes de 2.5 cm en los cuatro lados.
- En el nombre del archivo colocar apellidos del autor con letras consecutivas, según número de presentación.

III. CV de conferencista (máximo 150 palabras):

Normas para publicación en libro de resúmenes:
RESÚMENES DE PRESENTACIONES ORALES

I. Presentación:

Título del trabajo: Se recomiendan títulos breves que sugieran el contenido de su ponencia de forma atractiva y novedosa (Con letras mayúsculas, en negrita, centrado, letra tamaño 12).

Nombre de los autores: Nombre y apellido de todos los autores, ejm: María García[1], Rosa Moreno[2*]. Use números en superíndice para indicar la filiación institucional de cada autor/a. Marcar con un asterisco el nombre de quien presentará el trabajo (centrado, letra tamaño 11).

Filiación: A cada institución deberá asignarse un número diferente que servirá para indicar la filiación de cada autor (justificado, letra tamaño 10). Ejemplos:
[1] Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima - Perú.
[2] Instituto de Investigación en Ciencias de la Nutrición, Cali - Colombia.

Introducción: Breve descripción de la problemática o tema central del trabajo, así como descripción de las principales investigaciones que se han llevado a cabo sobre el tema. Al final de la introducción se describirá el objetivo del trabajo. (No dejar espacio entre párrafos, justificar, letra tamaño 10).

Materiales y Métodos: Explicar la estrategia metodológica del trabajo. Para los compuestos químicos utilizar fórmulas condensadas y su concentración en g/L o %, según convenga; escribir los nombres científicos en letra cursiva (justificado, letra tamaño 10).

Resultados y discusión: En esta sección, se podrán incluir una tabla y una figura, o dos tablas, o dos figuras. Asegúrese de escribir las unidades correctamente y que los números y símbolos sean los adecuados. Describir de forma objetiva los principales hallazgos del trabajo en coherencia con la metodología seguida. Además, debatir acerca de los hallazgos encontrados con relación a otros autores (justificado, letra tamaño 10).



Figura 1. El título y leyenda explicativa al pie de la figura (letra tamaño 9).

Tabla 1. El título encabezando de la tabla. (letra tamaño 9).

Conclusiones: Explicitar las principales según objetivos del trabajo (justificado, letra tamaño 10).

Palabras Clave: Hasta cinco (centrado, letra tamaño 10).

Agradecimientos: Colocar la fuente de financiamiento de la investigación. (justificado, letra tamaño 10).

Referencias bibliográficas. Citar un máximo 4 referencias bibliográficas. Las citas serán según las normas del estilo Vancouver. (justificado, letra tamaño 9).

II. Normas generales:

- Utilizar letra Arial, en dos columnas. No se aceptarán trabajos que carezcan de alguna de las secciones antes mencionadas, ni aquellos que estén escritos en menos de 80% del espacio de una página. Usar márgenes de 3 cm arriba y 2 cm en los otros tres lados de la página.
- Optimizar el espacio para escribir lo más importante del trabajo, no utilizar sangría, ni dejar espacios entre párrafos.
- El resumen será evaluado por el Comité Organizador del Evento y reproducido sin modificaciones.
- En el nombre del archivo del trabajo colocar apellidos del autor principal con número arábigo consecutivo, según número de trabajo presentado.
- El archivo se presentará solo en formato electrónico.

III. Líneas temáticas

1. Biotecnología agroalimentaria
2. Biotecnología ambiental
3. Biotecnología marina y acuícola
4. Biotecnología de enzimas y procesos
5. Biotecnología farmacéutica
6. Nanobiotecnología
7. Biotecnología aplicada en otras áreas de salud

Normas para publicación en libro de resúmenes: RESÚMENES DE PÓSTERES

I. Presentación:

Título del trabajo: Se recomiendan títulos breves que sugieran el contenido de su ponencia de forma atractiva y novedosa (Con letras mayúsculas, en negrita, centrado, letra tamaño 12).

Nombre de los autores: Nombre y apellido de todos los autores, ejm: María García[1], Rosa Moreno[2*]. Use números en superíndice para indicar la filiación institucional de cada autor/a. Marcar con un asterisco el nombre de quien presentará el trabajo (centrado, letra tamaño 11).

Filiación: A cada institución deberá asignarse un número diferente que servirá para indicar la filiación de cada autor (justificado, letra tamaño 10). Ejemplos:
[1] Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima - Perú.
[2] Instituto de Investigación en Ciencias de la Nutrición, Cali - Colombia.

Introducción: Breve descripción de la problemática o tema central del trabajo, así como descripción de las principales investigaciones que se han llevado a cabo sobre el tema. Al final de la introducción se describirá el objetivo del trabajo. (No dejar espacio entre párrafos, justificar, letra tamaño 10).

Materiales y Métodos: Explicar la estrategia metodológica del trabajo. Para los compuestos químicos utilizar fórmulas condensadas y su concentración en g/L o %, según convenga; escribir los nombres científicos en letra cursiva (justificado, letra tamaño 10).

Resultados y discusión: En esta sección, se podrán incluir una tabla y una figura, o dos tablas, o dos figuras. Asegúrese de escribir las unidades correctamente y que los números y símbolos sean los adecuados. Describir de forma objetiva los principales hallazgos del trabajo en coherencia con la metodología seguida. Además, debatir acerca de los hallazgos encontrados con relación a otros autores (justificado, letra tamaño 10).



Figura 1. El título y leyenda explicativa al pie de la figura (letra tamaño 9).

Tabla 1. El título encabezando de la tabla. (letra tamaño 9).

Conclusiones: Explicitar las principales según objetivos del trabajo (justificado, letra tamaño 10).

Palabras Clave: Hasta cinco (centrado, letra tamaño 10).

Agradecimientos: Colocar la fuente de financiamiento de la investigación. (justificado, letra tamaño 10).

Referencias bibliográficas. Citar un máximo 4 referencias bibliográficas. Las citas serán según las normas del estilo Vancouver. (justificado, letra tamaño 9).

II. Normas generales:

- Utilizar letra Arial, en dos columnas. No se aceptarán trabajos que carezcan de alguna de las secciones antes mencionadas, ni aquellos que estén escritos en menos de 80% del espacio de una página. Usar márgenes de 3 cm arriba y 2 cm en los otros tres lados de la página.
- Optimizar el espacio para escribir lo más importante del trabajo, no utilizar sangría, ni dejar espacios entre párrafos.
- Las dimensiones del cartel deberán ser 90x90 cm.
- El resumen será evaluado por el Comité Organizador del Evento y reproducido sin modificaciones.
- En el nombre del archivo del trabajo colocar apellidos del autor principal con número arábigo consecutivo, según número de trabajo presentado.
- El archivo se presentará solo en formato electrónico.

III. Líneas temáticas

1. Biotecnología agroalimentaria
2. Biotecnología ambiental
3. Biotecnología marina y acuícola
4. Biotecnología de enzimas y procesos
5. Biotecnología farmacéutica
6. Nanobiotecnología
7. Biotecnología aplicada en otras áreas de salud

La presentación de los pósteres se realizará los días jueves 5 y viernes 6 de marzo de las 10 h a 16h.

10:00 - 11:00 Obtención de globulinas 11S por un sistema discontinuo controlado de DF/UF cross flow
Mg. Arturo Intiquilla
UCH - Chile

11:00 - 11:20 COFFE BREAK

11:20 - 12:20 Multifuncionalidad y biodisponibilidad de péptidos bioactivos de origen alimentario
Dra. Blanca Hernández
CSIC - España

12:20 - 13:20 Efectos de compuestos bioactivos en procesos antiinflamatorios a nivel intestinal
Dr. Martín Gotteland
UCH - Chile

13:20 - 14:00 LIBRE

14:00 - 16:00 Presentación oral de trabajos/posters

16:00 - 17:00 Oportunidades de la nanobiotecnología en la formación de redes de investigación

Dr. Julio Santiago
UNMSM - Perú
Dr. Justiniano Quispe
UNMSM - Perú
Dr. Cristian Tapia
UCH - Chile
Dra. María Lienqueo
UCH - Chile
Dr. Martín Gotteland
UCH - Chile

PONENTES

Dr. Cristian Tapia
Universidad de Chile

Dra. Lilian Abugoch
Universidad de Chile

Dra. María Lienqueo
Universidad de Chile

Dr. Alexander Gamboa
Universidad de Chile

Dr. Martin Gotteland
Universidad de Chile

Dra. Beatriz Diez
Pontificia Universidad Católica de Chile

Dr. Andrés Illanes
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

Dra. Fanny Guzmán
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

Mg. Arturo Intiquilla
Universidad de Chile

Dr. Ali Seyfoddin
Auckland University of Technology

Dr. Guillermo Castro
Universidad Nacional de La Plata

Dra. Blanca Hernández
Consejo Superior de Investigaciones Científicas

Dra. Amparo Zavaleta Pesantes
Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Dra. Karim Jiménez Aliaga
Universidad Nacional Mayor de San Marcos

SEMINBIOSA 2020

Seminario Internacional en Biotecnología para la Salud

ÁREAS TEMÁTICAS

- Biotecnología agroalimentaria
- Biotecnología ambiental
- Biotecnología marina y acuícola
- Biotecnología de enzimas y procesos
- Biotecnología farmacéutica
- Nanobiotecnología
- Biotecnología aplicada en otras áreas de salud

DP3E-19121824

4 - 6 marzo 2020

Auditorio de la Biblioteca Central
Ciudad Universitaria de la UNMSM

Organizan:
Grupo de Investigación BIOMIAS

Universidad Nacional Mayor de SAN MARCOS
Universidad del Perú. Decana de América

FONDECYT

Informes e inscripciones:
biomias@unmsm.edu.pe
https://vrip.unmsm.edu.pe/biomias/

Patrocinan:
appliKon BIOTECHNOLOGY
HASSO
ercantil
Inkaceutical



Presentación

La Biotecnología, desde su surgimiento, tiene como propósito resolver los diferentes problemas que afectan a la sociedad y su entorno, en tal sentido el Seminario Internacional en Biotecnología para la Salud tiene como objetivo la difusión de las nuevas tendencias de la Biotecnología.

Este evento científico abordará diferentes áreas temáticas relacionadas al uso de microorganismos, enzimas, proteínas y otros metabolitos con potencial biotecnológico para la salud. Con este evento internacional el Vicerrectorado de Investigación de la UNMSM y el Grupo de Investigación BIOMIAS buscan promover la valorización de nuestra biodiversidad, el avance del área y la implementación de nuevas tecnologías que permitan impulsar el desarrollo socioeconómico nacional. Asimismo, se desea fortalecer la formación de redes de investigación internacional para incrementar la producción científica, generar mayor número de recursos humanos especializados y vincular la academia con los sectores productivos y la comunidad.

La comisión organizadora

Programa

Miércoles, 4 de marzo

8:00 - 9:00 Registro de asistencia e Inauguración
Dr. Felipe San Martín Howard
Vicerrector de Investigación y Posgrado
UNMSM

9:00 - 10:00 **Caracterización de bacterias productoras de moléculas de interés en salud**
Dra. Amparo Zavaleta
UNMSM - Perú

10:00 - 11:00 **Microorganismos de ambientes extremos: rol ecológico y su potencial ecológico**
Dra. Beatriz Diez
UC - Chile

11:00 - 11:20 **COFFE BREAK**

11:20 - 12:20 **Uso de enzimas en la síntesis de insumos alimentarios**
Dr. Andrés Illanes
PUCV - Chile

12:20 - 13:20 **Extracción de compuestos antimicrobianos y antioxidantes desde microalgas**
Dra. María Lienqueo
UCH - Chile

13:20 - 14:00 **LIBRE**

14:00 - 16:00 **Presentación oral de trabajos /Posters**

16:00 - 17:00 **Medicinal Cannabis, a natural drug like no other**
Dr. Ali Seyfoddin
AUT- Nueva Zelanda

Jueves, 5 de marzo

9:00 - 10:00 **Propiedades fisicoquímicas de las proteínas de la quinoa y su influencia en funcionalidad y aplicaciones tecnológicas**
Dra. Lilian Abugoch
UCH - Chile

10:00 - 11:00 **Obtención de péptidos bioactivos mediante hidrolisis enzimática secuencial**
Dra. Karim Jiménez
UNMSM - Perú

11:00 - 11:20 **COFFE BREAK**

11:20 - 12:20 **Péptidos de origen vegetal y animal: Aplicaciones, síntesis y propiedades**
Dra. Fanny Guzmán
PUCV - Chile

12:20 - 13:20 **Análisis y caracterización de proteínas y péptidos por cromatografía líquida de alta eficiencia**
Dr. Alexander Gamboa
UCH - Chile

13:20 - 14:00 **LIBRE**

14:00 - 16:00 **Presentación oral de trabajos/posters**

16:00 - 17:00 **Biopolímeros en la industria farmacéutica**
Dr. Guillermo Castro
UNLP- Argentina

Viernes, 6 de marzo

9:00 - 10:00 **Aplicaciones y usos de la nanotecnología en la liberación controlada de compuestos**
Dr. Cristian Tapia
UCH - Chile