



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

Purificación de exoproteasas de *Pseudomonas* sp. por el sistema acuoso bifásico polietilenglicol/citrato para la obtención de hidrolizados proteicos de semillas de *Lupinus mutabilis* “Tarwi”

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

AUTOR

Omar Santiago PILLACA PULLO

Lima, Perú

2018



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Pillaca O. Purificación de exoproteasas de *Pseudomonas* sp. por el sistema acuoso bifásico polietilenglicol/citrato para la obtención de hidrolizados proteicos de semillas de *Lupinus mutabilis* “Tarwi” [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2018.



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato



105

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

PURIFICACIÓN DE EXOPROTEASAS DE *Pseudomonas* sp. POR EL SISTEMA ACUOSO BIFÁSICO POLIETILENGLICOL/CITRATO PARA LA OBTENCIÓN DE HIDROLIZADOS PROTEICOS DE SEMILLAS DE *Lupinus mutabilis* "TARWI"

Que presenta el Bachiller en Farmacia y Bioquímica:

OMAR SANTIAGO PILLACA PULLO

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

dieciocho (18) sobresaliente

en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica y Título Profesional de Químico Farmacéutico(a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 18 de enero de 2018.

M. Elizabeth Gonzales Loayza
Dra. María Elizabeth Gonzales Loayza
Presidente

Julio Reynaldo Ruiz Quiroz
Mg. Julio Reynaldo Ruiz Quiroz
Miembro

Juan José Ponce Cobos
Q.F. Juan José Ponce Cobos
Miembro

Edgar Robert Tapia Manrique
Mg. Edgar Robert Tapia Manrique
Miembro

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"



RESUMEN

Las proteasas de *Pseudomonas* sp. fueron purificadas mediante sistemas acuosos bifásicos (ATPS) constituidos por polietilenglicol (PEG) y citrato, se realizaron dos diseños experimentales $2^3 + 4$ para evaluar los parámetros: peso molecular de PEG, concentración de PEG, concentración de citrato (M_{PEG} , C_{PEG} , C_{Sal} respectivamente) y pH; se analizaron las respuestas Coeficiente de Partición, Rendimiento de Actividad, Factor de Purificación y Selectividad (K, Y, FP y S respectivamente). El mejor rendimiento de la purificación se obtuvo con el sistema compuesto por $M_{PEG} = 10,000$ g/mol, $C_{PEG} = 22\%$ (w/w), $C_{Sal} = 12\%$ (w/w), pH = 8,0; las respuestas obtenidas fueron $K = 4,9$, $Y = 84,5\%$, $FP = 15,1$ y $S = 26,1$ con un valor de *Tie – Line Length* (TLL) de 52,74% (w/w). Además, se evaluó el uso de cinco líquidos iónicos como aditivos en el ATPS, pero ninguno influyó en la mejora del rendimiento de purificación. Por otra parte, se realizó una hidrólisis de proteínas de semilla de *Lupinus mutabilis* utilizando las proteasas purificadas de *Pseudomonas* sp. (PPPs) y la Alcalasa[®] 2.4L consiguiendo un grado de hidrólisis de 15 y 22 % respectivamente. Estas diferencias se deben principalmente al grado de pureza y el tipo de enzimas usadas durante la hidrólisis de las proteínas de semilla.

Palabras Clave: ATPS, *Pseudomonas* sp., hidrolizado proteico, proteasas.

ABSTRACT

The proteases of *Pseudomonas* sp. were purified by aqueous biphasic systems (ATPS) compound of polyethylene glycol (PEG) and citrate, two experimental designs $2^3 + 4$ were performed to evaluate the parameters: molecular weight of PEG, concentration of PEG, concentration of citrate (MPEG, CPEG, CSal respectively) and pH; the responses Partition Coefficient, Yield of activity, Purification Factor and Selectivity (K, Y, FP and S respectively) were analyzed. The best purification performance was obtained with the system composed of MPEG = 10, 000 g/mol, CPEG = 22% (w/w), CSal = 12% (w/w), pH = 8,0; the responses obtained were K = 4,9, Y = 84,5%, FP = 15,1 and S = 26,1 with Tie – Line Length (TLL) value of 52,74% (w/w). In addition, the use of five ionic liquids as additives in the ATPS was evaluated, but none influenced the improvement of purification performance. On the other hand, a hydrolysis of *Lupinus mutabilis* seed proteins was carried out using the purified proteases of *Pseudomonas* sp. (PPPs) and Alcalase[®] 2.4L reaching a degree of hydrolysis of 15 and 22% respectively. These differences are mainly due to the degree of purity and the type of enzymes used during the hydrolysis of seeds protein.

Key-words: ATPS, *Pseudomonas* sp., protein hydrolyzate, proteases.