

EVALUACIÓN ELECTROFORÉTICA Y CATALÍTICA DEL PRODUCTO UREASA IPM

Aliuska Estrada Martínez (dimitrov@granma.inf.cu),
Isela Ponce Palma, Pedro L. Fonseca Palma,
Luis J. Escalona Cruz.
IIA "Jorge Dimitrov",
Departamento de Zootecnia,
Carretera a Manzanillo, Km. 16 ½, Bayamo,
Provincia Granma, Cuba, GP:2140

Artículo recibido: 22 de octubre 2001

Artículo aceptado: 22 de abril 2002

RESUMEN

El comportamiento electroforético y catalítico de la Ureasa IPM fue determinado como criterio para la evaluación de la calidad del producto, obtenido a partir de la *Canavalia ensiformis*. Los resultados revelan una Ureasa IPM con calidad comparable a la de otras ureasas extraídas de diferentes fuentes, la cual justifica la posibilidad de su utilización en los laboratorios.

Palabras clave: Ureasa IPM, *Canavalia ensiformis*.

ABSTRACT

The electrophoretic and catalytic behavior of the Urease IPM was determined as a point of view for the evaluation of the quality of the product, obtained from *Canavalia ensiformis*. The results reveals a Urease IPM with quality like to other urease products extracted from different sources, which justifies the possibility of its utilization in the laboratories.

Key words: Ureasa IPM, *Canavalia ensiformis*.

INTRODUCCIÓN

La ureasa 3.5.1.5 (amidohidrolasa) fue la primera enzima aislada en forma cristalina a partir de extractos de la *Canavalia ensiformis* (Fabaceae), o simplemente canavalia, una de sus mejores fuentes (Worthington, J., 1993. Worthington Manual). Entre sus usos se encuentran la determinación de urea en los laboratorios clínicos por la ayuda que representa para el diagnóstico de enfermedades ulcerosas, urinarias y gastritis crónica (Revista Biomédica, 2000. 11 (3)) y diferentes ensayos de la industria alimenticia como la determinación de nitrógeno no proteico (NNP).

Con el objetivo de tener un criterio de evaluación de la calidad de la ureasa IPM, producto obtenido en laboratorios del IIA "Jorge Dimitrov" a partir de extractos de *Canavalia ensiformis*, se determinó su comportamiento electroforético y catalítico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Corrida electroforética

A una muestra representativa del producto ureasa IPM en solución glicerol al 50% se le realizó electroforesis sobre acetato de celulosa (Margni, R.A., 1983. Inmunología e Inmunoquímica). Como patrón de referencia se utilizó ureasa de frijol de soya comercializada por la firma BDH.

Ensayo enzimático

La actividad enzimática fue determinada cualitativa y cuantitativamente y se utilizó como muestra ureasa en forma de harina, tomada aleatoriamente (Tejada, I. 1992. Control de Calidad y Análisis de Alimentos para Animales, 234 pp.). La técnica cualitativa se basó en las variaciones de pH producidas por la formación de amonio cuando la ureasa en solución se pone en contacto con urea,

en esta técnica se mide la cantidad de HCl necesario para regresar la solución al pH original, que es el criterio que se propone para establecer la calidad de la ureasa en tres categorías: muy buena, regular y mala. Para la cuantificación del nitrógeno obtenido a partir de la urea por la acción de la ureasa, se siguió el procedimiento de destilación y titulación descrito en el método de Kjeldahl (AOAC, 1975. Official methods of analysis of the association of official analytical Chemistry). La actividad enzimática se estableció como la cantidad de ureasa necesaria para convertir en nitrógeno 1 mg de urea (Tejada, I. 1992. Control de Calidad y Análisis de Alimentos para Animales, 234 pp.), el ensayo experimental se realizó por triplicado y a los resultados obtenidos se les determinó la desviación estándar (\pm DS).

RESULTADOS

El producto ureasa IPM mostró un comportamiento similar al producto ureasa comercializado por la firma BDH atendiendo a su comportamiento electroforético, para ambos, en el perfil electroforético se destacó una banda, con igual distancia de migración (Figura 1).

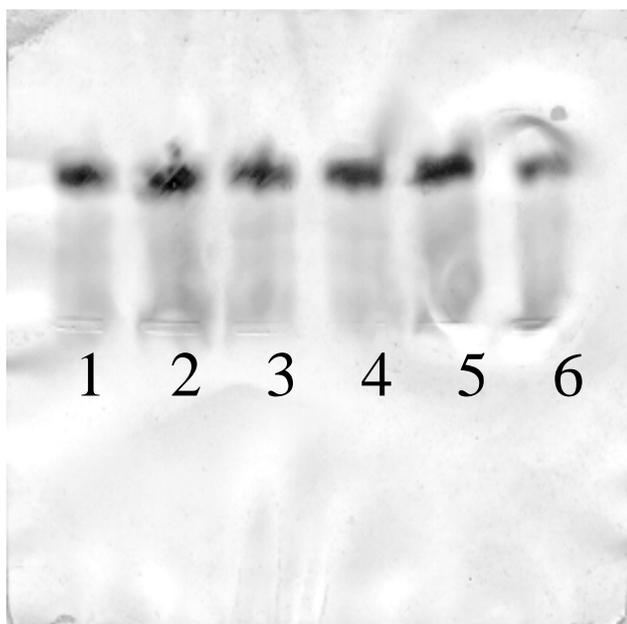


Figura 1. Perfil electroforético del producto ureasa IPM con ureasa comercializada por la firma BDH como patrón de referencia (1,3,5 ureasa IPM; 2,4,6 ureasa BDH).

La actividad enzimática, en su determinación cualitativa, resultó muy buena, categoría máxima según la técnica empleada. El análisis cuantitativo reveló que son necesarios 0.41 ± 0.02 mg de ureasa IPM para convertir en nitrógeno 1 mg de urea en 30 minutos a 28°C en bufer fosfato a pH 7, lo que corresponde a aproximadamente 1.4 EU/mg, que representa la capacidad que tiene 1mg de preparado enzimático de hidrolizar urea por minuto en las condiciones experimentales empleadas. Este resultado se encuentra en los límites de los valores de actividad registrados en la literatura para esta enzima (Fluka, 2002. Laboratory chemicals and analytical reagents; Sigma, 1999. Biochemicals and Reagents for Life Science Research; Merck, 2000. Reactivos, Productos químicos; BDH, 2001. Chemicals, Reagents and Life Science Products), la ureasa comercializada por la firma BDH, extraída del frijol de soya, muestra 1.7 EU/mg a 30°C en buffer fosfato a pH 7.0 (BDH, 2001. Chemicals, Reagents and Life Science Products); la ureasa extraída de judías sable, se comercializa en el mundo liofilizada y posee actividad de 5 EU/mg a pH 6.1 y 30°C (Merck, 2000. Reactivos, Productos químicos); la ureasa también de Canavalia, en solución glicerol, presenta una actividad de 1 EU/mg a pH 7 y 25°C (Sigma, 1999. Biochemicals and Reagents for Life Science Research); la ureasa BioChemika actúa a razón de 8 EU/mg y liofilizada presenta actividad de 300 EU/mg a pH 8.0 y 25°C (Fluka, 2001. Laboratory chemicals and analytical reagents). Por las razones descritas es posible considerar que la diferencia en el valor de la actividad de la enzima ureasa IPM referente a los productos ureasa comercializados en el mundo se debe a la acción conjunta de un grupo de factores entre los que se destacan la fuente y proceso de extracción, que en todos los casos no es similar, y proporciona un producto más o menos concentrado según la situación particular, lo que de hecho regula la cantidad de enzima activa que contiene 1 mg de preparado enzimático. Es necesario señalar como responsables fundamentales de estas diferencias, las condiciones específicas de reacción como pH,

temperatura, concentración de sustrato, pues la actividad de las enzimas está condicionada por estos parámetros de los cuales existen valores óptimos que le confieren su máxima potencialidad catalítica y la velocidad máxima de la reacción enzimática.

Los resultados de este estudio permiten concluir que la enzima Ureasa IPM

presenta calidad comparable a las enzimas de su tipo utilizadas en los laboratorios, según su poder catalítico y movilidad electroforética, de manera que contribuyen a justificar la posibilidad de su utilización en los laboratorios clínicos o de la industria alimenticia.