

Determinación de la actividad de α -amilasa y fosfatasa ácida como marcadores biológicos en polen corbicular

José Francisco Maidana¹, Humberto Herrera¹, Mariana del Carmen Mazzola Burgos¹ & Rubén Ariel Rojas¹

(1) *Centro de Investigaciones Apícolas, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Facultad de Facultad de Agronomía y Agroindustrias, Universidad Nacional de Santiago del Estero.*

cedia@unse.edu.ar

RESUMEN: En el presente trabajo de investigación, se han analizado 37 muestras de polen corbicular, procedentes de apiarios ubicados en la provincia de Santiago del Estero, República Argentina, con el objetivo de determinar la actividad de las enzimas α -amilasa y fosfatasa ácida a fin emplearlas como marcadores biológicos en la evaluación de su calidad. En las muestras analizadas se obtuvieron los siguientes valores de media aritmética, desviación estándar y valor máximo y mínimo: α -amilasa: 302,07 UA/100g \pm 207,41 (15,21 - 775,93); fosfatasa ácida: 62,42 U/20 g \pm 31,29 (17,06 - 119,70). No hay correlación estadísticamente significativa entre la actividad de la α -amilasa y la fosfatasa ácida ($r = 0,1742$) en la totalidad de las muestras analizadas.

1 INTRODUCCIÓN

El polen es el elemento fecundante masculino de las flores y la abeja lo emplea principalmente como fuente de proteínas para el alimento larval. La abeja recolecta los microscópicos granos en su visita a cada flor, los mezcla con su saliva para hacer dos pequeñas esferas que las ubica en las cestillas del par de patas posteriores. Con su carga completa, la abeja regresa a la colmena y entrega el polen a las abejas nodrizas que lo utilizarán para alimentar a las crías y el excedente lo depositarán en las celdillas. El polen se recoge con trampas caza-polen ubicadas en el ingreso a la colmena (piquera), a través de la cual pasará la abeja para ingresar a ella. Este polen recolectado de las trampas, será posteriormente secado, limpiado y luego envasado para su comercialización. Díaz et al. (2001).

La fracción proteica del polen, contiene una apreciable cantidad de enzimas (están presentes todo tipo de enzimas) y especialmente la amilasa, invertasa, fosfatasas, transferasas, así como una gran variedad de cofactores enzimáticos, como la biotina, el glutatión, el NAD y ciertos nucleótidos. También se ha establecido que el polen ensilado (pan de abejas) contiene alfa amilasa, fosfatasa ácida y fosfatasa alcalina. Del Risco Ríos (2004).

Las fosfatasas ácidas son producidas por las raíces de las plantas para poder disponer del fósforo presente en el suelo. Armienta Aldana.

Las alfa y beta amilasa de la miel, proceden principalmente de las abejas. La procedencia de las fosfatasas ácidas, también presente en la miel,

se atribuye preferentemente al polen, pero en parte también al néctar. La actividad enzimática de la alfa amilasa en polen comercial, varía entre 46,875 y 733,57 UA/100 g de polen. Tejerina (2008).

La actividad de la fosfatasa ácida en la miel, varía entre 5,07 a 13,4 (mg de P/100 g de miel en 24 horas. Belitz y Grosch (1992).

Zalewski (1965), examinó muestras de miel, polen, cargas de polen, néctar y abejas, para determinar la actividad de fosfatasa ácida y alcalina, empleando ortofosfato disódico como sustrato, con incubación de 2,25 horas, a 37°C para miel y néctar, y 18 – 24 horas para polen. Se agregó cloroformo para controlar la acción microbiana. La actividad de la fosfatasa ácida en miel y néctar varía entre 30 – 2.140 y 15 – 2.750 $\mu\text{mol}/100$ g de peso seco, respectivamente, con un promedio para la miel de 197,2. La actividad de la fosfatasa ácida en polen varía entre 1.260 – 145.500 $\mu\text{mol}/100$ g. Esto implica que el polen es la fuente principal de fosfatasa ácida, aunque es aparente que el néctar contiene suficiente fosfatasa ácida, para responder a la actividad de la miel. Es discutible si la enzima puede pasar a través de la pared de los granos de polen intactos. Si se calienta miel a 60°C durante 10 – 60 minutos, se reduce la actividad enzimática en aproximadamente un tercio, y a 75°C, se reduce más del 80%. El almacenamiento de la miel (sin especificar la T°C), reduce de 48 al 82% de la actividad. La actividad de la fosfatasa ácida, fue incrementada más del 50% por los iones magnesio. Crane (1978).

Maidana (2010) analizó 63 muestras de miel, procedentes de apiarios ubicados en la provincia

de Santiago del Estero, República Argentina, a fin de determinar la actividad de la enzima fosfatasa ácida. Los valores obtenidos de actividad catalítica de la fosfatasa ácida, varían en un rango de 2,46 a 22,75 U/Kg.

2 MATERIALES Y METODOS

Se recolectaron 37 muestras de polen corbicular, de diferentes apiarios de Santiago del Estero, se almacenaron en frascos con tapa de rosca hermética, y luego se conservaron en refrigeración, colocándose en freezer a -18°C .

La metodología analítica para la determinación de fosfatasa ácida se basa en la hidrólisis del α -naftil fosfato, por parte de dicha enzima, a $\text{pH} = 5,2$ con liberación del fosfato y α -naftol. El naftol reacciona a su vez con un diazoreactivo presente en el sistema 4-cloro-tolueno-1,5-diazo α -naftalén-disulfonato (4-CTD), produciendo un pigmento amarillo, de modo que el aumento de la absorbancia leído a 405 nm, es proporcional a la actividad fosfatásica de la muestra, la cual se expresa en Unidades/20 g de polen. La determinación de la actividad de amilasa se basa en que el sustrato, almidón tamponado, se incuba con la muestra produciéndose la hidrólisis enzimática. Esta se detiene por el agregado de yodo, que al mismo tiempo produce color con el remanente de almidón no hidrolizado. La disminución de color respecto de un sustrato color (sin muestra) es la medida de la actividad enzimática, que se expresa en Unidades Amilolíticas/100 g de polen. Se determina la absorbancia en espectrofotómetro a 640 nm.

Para la obtención de los datos estadísticos (medidas de posición y variabilidad), se realizó el análisis estadístico con el empleo del Statgraphics 5.0.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se indican las medidas de posición y tendencia central de los valores en las 37 muestras analizadas.

Tabla 1. Márgenes que deberán emplearse para dar formato a la página.

	α -amilasa UA/100g	Fosfatasa ácida U/20 g
Muestras	37	37
Mínimo	15,21	17,06
Máximo	775,93	119,70
Media aritm.	302,07	62,42
Desv. estándar	207,41	31,29
Varianza	43021,40	979,14

El siguiente dato muestra el valor de coeficiente de correlación en las determinaciones realizadas: Fosfatasa ácida vs. α -amilasa, $r = 0,1742$.

Ya que el valor de p en la tabla ANOVA es mayor o igual a 0,10, no hay relación estadísticamente significativo entre la actividad de α amilasa y fosfatasa ácida, al 90% o más del nivel de confianza.

Los valores obtenidos en α -amilasa en las muestras analizadas varían entre 15,21 a 775,93. Mientras que como lo muestra Tejerina (2008) la actividad enzimática de la α -amilasa en el polen, varía entre 46,875 y 733,57 UA/100 g de polen.

Los valores obtenidos de fosfatasa ácida en las muestras analizadas varían entre 17,06 y 119,70 U/20g. En cambio en las mieles en experiencias realizadas con anterioridad, se obtuvieron 0,049 a 0,455 U/20 g.

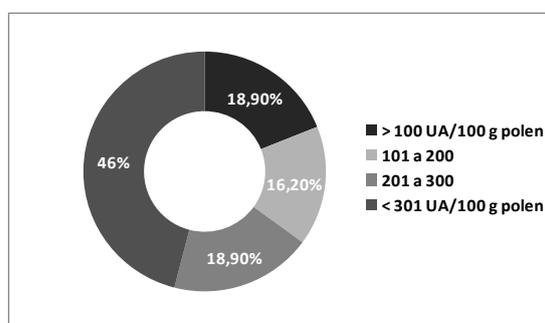


Figura 1. Rangos de actividad de la enzima α -amilasa en polen.

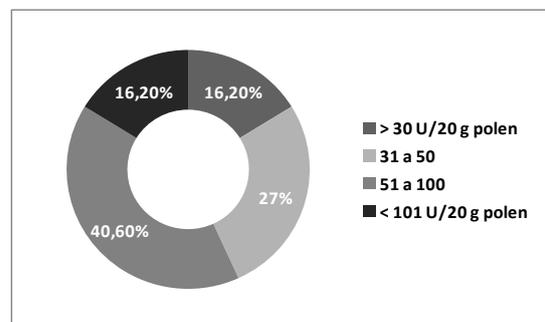


Figura 2. Rangos de actividad de fosfatasa ácida en polen.

4 CONCLUSIONES

En la totalidad de las muestras analizadas de polen corbicular se registró actividad enzimática para α -amilasa y fosfatasa ácida.

En las muestras analizadas se obtuvieron los siguientes valores de media aritmética, desviación estándar y valor máximo y mínimo: α -amilasa: $302,07 \text{ UA/100g} \pm 207,41$ (15,21 - 775,93); fosfatasa ácida: $62,42 \text{ U/20 g} \pm 31,29$ (17,06 - 119,70).

No hay correlación estadísticamente significativa entre la actividad de la α -amilasa y la fosfatasa ácida ($r= 0,1742$) en la totalidad de las muestras analizadas.

5 BIBLIOGRAFIA

Armienta Aldana Eduardo, *Proteínas Fosfatasas de origen vegetal*,

<http://www.solociencia.com/quimica/proteinas-fosfatasas-origen-vegetal.htm> Facultad de Ciencias Químico-Biológicas Universidad Autónoma de Sinaloa, Sinaloa, México, 2013.

Belitz, H. D. y Grosch, W., *Química de los alimentos*, 2^o Edición, - Editorial Acribia S.A., Zaragoza, España, 1992.

Crane, E., *Honey, A Comprehensive Survey*, 231 y 232. Bee Research Association, Gran Bretaña, 1975.

Del Risco Ríos, C.A. *Polen-Pan de abejas: composición, nutrición, acción en la salud humana y microbiología*, Cuba, 2004.

Díaz, J. C., Giral Rivera T., & Perez Piñeiro, *Apiterapia Hoy, en Argentina y Cuba*, Córdoba, Argentina, 2001.

Maidana J. F., Herera H., Mazzola M. Rojas A. & Kvapil F., *Determinación de la actividad de la enzima fosfatasa ácida en mieles de la provincia de Santiago del Estero*. VI Jornadas de Ciencia y Tecnología de Facultades de Ingenierías del NOA, San Salvador de Jujuy, Argentina, 2010.

Tejerina A. F., *Evaluación de la actividad enzimática de muestras de polen comercial*, Facultad de Agronomía y Agroindustrias, Universidad Nacional del Estero, 2008.