



Abanico Veterinario. Enero-Diciembre 2022; 12:1-18. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2022.9>  
Revisión de Literatura. Recibido: 01/10/2021. Aceptado:05/03/2022. Publicado: 11/04/2022. Clave: e2021-69.  
<https://www.youtube.com/watch?v=8w9rP84Jo60>

## Quimotripsina en crustáceos: estado del arte

Crustacean chymotrypsin: estate of the art

Castellanos-Ochoa Carlos<sup>1ID</sup>, Torres-Ochoa Erika<sup>\*1ID</sup>, Pacheco-Vega Juan<sup>2ID</sup>,  
Cortés-Sánchez Alejandro<sup>3ID</sup>, Espinosa-Chaurand Daniel<sup>\*\*3ID</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Baja California Sur. Departamento Académico de Ingeniería en Pesquerías. Baja California Sur, México. <sup>2</sup>Universidad Autónoma de Nayarit. Escuela Nacional de Ingeniería Pesquera. Nayarit, México. <sup>3</sup>Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). Unidad Nayarit del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (UNCIBNOR+). Nayarit, México. \*Autor responsable: Torres-Ochoa Erika. \*\*Autor de correspondencia: Espinosa-Chaurand Daniel. Calle Dos No. 23. Ciudad del Conocimiento. Cd. Industrial. Av. Emilio M. González, C.P., 63173. Tepic, Nayarit, México. E-mail: rocate.cleric.co@gmail.com, etorres@uabcs.mx, pachecovjm@yahoo.com, alecortes\_1@hotmail.com, lespinosa@cibnor.mx

### RESUMEN

La quimotripsina en crustáceos es una enzima cuya importancia no ha sido del todo reconocida a lo largo del tiempo, a pesar de ser un componente fundamental en la digestión de las proteínas de sus alimentos. Las enzimas son componentes catalíticos básicos del metabolismo celular, de gran diversidad clasificadas acorde a la función que ejercen (hidrólisis, oxido-reducción, síntesis, isomerización, entre otros). La quimotripsina pertenece a las hidrolasas, que cataliza la ruptura de enlaces peptídicos adyacentes a los grupos carboxilo de los aminoácidos aromáticos triptófano, tirosina y fenilalanina. Desde la década de 1980 se han realizado pocos estudios relacionados con esta enzima en crustáceos, concentrando un tercio de estos (13 estudios) en los últimos cinco años. Por lo anterior, el presente artículo tiene como objetivo el presentar una revisión acerca de la información existente de estas enzimas en crustáceos desde una perspectiva general, contribuyendo a identificar las áreas de oportunidad para ampliar el conocimiento de su función y propiedades en estos invertebrados, así como las implicaciones ecológicas, etológicas, de manejo, alimentación y nutrición acuícola.

**Palabras clave:** actividad enzimática, hidrólisis, fisiología digestiva, proteasa, crustáceos.

### ABSTRACT

Chymotrypsin in crustaceans is an enzyme whose importance has not been fully recognized over time, despite being a fundamental component in the digestion of proteins in their food. Enzymes are basic catalytic components of cellular metabolism; of great diversity classified according to the function they exert (hydrolysis, oxidation-reduction, synthesis, isomerization, among others). Chymotrypsin belongs to the hydrolases, which catalyzes the breaking of peptide bonds adjacent to the carboxyl groups of the aromatic amino acids tryptophan, tyrosine and phenylalanine. Since the 1980s there have been few studies related to this enzyme in crustaceans, concentrating a third of these (13 studies) in the last five years. Therefore, the paper aims to present a review about the existing information on these enzymes in crustaceans from a general perspective, helping to identify areas of opportunity to expand the knowledge of their function and properties in these invertebrates, as well such as the ecological, ethological, management, feeding and nutrition implications of aquaculture.

**Keywords:** Enzymatic activity, digestive physiology, protease, crustaceans.



## INTRODUCCIÓN

La quimotripsina es una enzima que pertenece a las hidrolasas, las cuales rompen los enlaces covalentes incorporando agua entre los enlaces peptídicos. Posee un residuo de serina en el sitio activo, siendo esta la razón que la clasifica como una serin-endoproteasa (Di Cera, 2009; Navarrete del Toro & García Carreño, 2019). Esta enzima cataliza la hidrólisis de enlaces peptídicos adyacentes a los grupos carboxilo de los aminoácidos aromáticos triptófano, tirosina y fenilalanina (Zwilling & Neurath, 1981; Zhou *et al.*, 2011), aunque también puede hidrolizar los enlaces peptídicos a un lado de otros residuos hidrofóbicos grandes, como lo son la metionina y leucina (Zwilling & Neurath, 1981; Zhou *et al.*, 2011; Navarrete del Toro & García Carreño, 2019) para reducir el tamaño de las cadenas polipeptídicas y permitir la acción de exoproteasas (McDonald, 1985; Barrett, 1994).

Los estudios sobre este catalizador biológico se han enfocado principalmente en peces, sobre todo para buscar alternativas para la obtención de enzimas a partir de los materiales residuales generados por la industria pesquera (Zhou *et al.*, 2011). Sin embargo, los estudios en crustáceos son limitados al compararlos con los reportados en peces y organismos terrestres (Balti *et al.*, 2012; Navarrete del Toro & García-Carreño, 2019), apenas aproximadamente 36 investigaciones entre 1980 a la fecha que señalan a esta enzima y casi un tercio de ellos fueron realizados en los últimos cinco años (13 estudios), esto puede deberse a que los estudios se han canalizado y enfocado en la tripsina, ya que esta puede representar hasta el 60% de la actividad proteolítica digestiva (Cruz-Suarez, 1996; Muhlia-Almazán *et al.*, 2008).

Las primeras investigaciones sobre la detección de esta enzima no la consideraban relevante (Lee *et al.*, 1984; Glass & Stark, 1994); sin embargo, este pensamiento se ha ido modificando al encontrarse en diversos estudios sobre crustáceos la presencia de la quimotripsina (Tsai *et al.*, 1986; Tsai *et al.*, 1991; Von Elert *et al.*, 2004; Navarrete del Toro *et al.*, 2015; Torres Ochoa, 2020) (Tabla 1).

### Caracterización enzimática en crustáceos

En la mayoría de las investigaciones realizadas en crustáceos la quimotripsina no es evaluada de manera específica, sino que forma parte de una batería de protocolos de estudios enzimáticos digestivos. Así mismo, gran parte de las caracterizaciones se han hecho en crustáceos decápodos como el camarón tigre *Penaeus monodon*, el langostino de Malasia *Macrobrachium rosenbergii*, el camarón blanco *Penaeus vannamei*, la langosta común del Caribe *Panulirus argus*, la langosta roja *Panulirus interruptus* y el camarón café *Penaeus californiensis* (Tsai *et al.*, 1986; Tsai *et al.*, 1991; Hernández-Cortés *et al.*, 1997; Perera *et al.*, 2008; Bibo-Verdugo *et al.*, 2015; Navarrete del Toro *et al.*, 2015; Torres-Ochoa, 2020); pues son especies explotadas o con



potencial de ser aprovechadas en cultivos acuícolas (Espinosa-Chaurand *et al.*, 2019; Torres-Ochoa *et al.*, 2020).

**Tabla 1. Estudios realizados en crustáceos donde se aborda la presencia de la quimotripsina, período 1980-2020**

	Especie	Nombre común	Caracterización	Estudio
1.	<i>Artemesia longinaris</i>	Camarón de rostro largo	No	Fernández-Gimenez <i>et al.</i> , 2002.
2.	<i>Artemia salina</i>	Artemia	Si	Serrano, 2015
3.	<i>Caridina cantonensis</i>	Camarón abeja, camarón cristal	No	Kattakdad <i>et al.</i> , 2018
4.	<i>Daphnia magna</i>	Pulga de agua, dafnia	Si	VonElert <i>et al.</i> , 2004
5.	<i>Homarus americanus</i>	Bogavante americano	No	Brockerhoff <i>et al.</i> , 1970
6.	<i>Lithodes santolla</i>	Centolla patagónica	No	Bañuelos-Vargas <i>et al.</i> , 2018
7.	<i>Macrobrachium amazonicum</i>	Camarón de río, camarón de las amazonas	No	Da Silva <i>et al.</i> , 2014
8.	<i>Macrobrachium australiense</i>	Camarón de río, langostino	No	Bonorino & Anderson, 2009
9.	<i>Macrobrachium carcinus</i>	Acamaya	No	Manriquez-Santos <i>et al.</i> , 2018
10.	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Langostino de Malasia	No	Tsai <i>et al.</i> , 1986
11.	<i>Macrobrachium tenellum</i>	Langostino, pigua	No	Espinosa-Chaurand <i>et al.</i> , 2017; Montoya, 2018; Espinosa-Chaurand <i>et al.</i> , 2019.
12.	<i>Metacarcinus edwardsii</i>	Jaiba marmola	No	Bañuelos-Vargas <i>et al.</i> , 2018
13.	<i>Metapenaeus bennetae</i>	Camarón	No	Bonorino & Anderson, 2009
14.	<i>Metapenaeus monoceros</i>	Camarón moteado	No	Tsai <i>et al.</i> , 1986
15.	<i>Penaeus californiensis</i>	Camarón café	Si	Navarrete del Toro <i>et al.</i> , 2015; Torres-Ochoa, 2020
16.	<i>Penaeus chinensis</i>	Camarón carnoso, langostino carnoso	No	Shiet <i>et al.</i> , 2008; Xue <i>et al.</i> , 2013
17.	<i>Penaeus esculentus</i>	Camarón tigre café	No	Bonorino & Anderson, 2009
18.	<i>Penaeus indicus</i>	Camarón de la India	Si	Omondi, 2005
19.	<i>Penaeus japonicus</i>	Camarón kuruma	No	Tsai <i>et al.</i> , 1986
20.	<i>Penaeus monodon</i>	Camarón tigre	Si	Tsai <i>et al.</i> , 1986; Tsai <i>et al.</i> , 1991; Jiang <i>et al.</i> , 1991
21.	<i>Penaeus notialis</i>	Camarón rosado sureño	No	Fernández <i>et al.</i> , 1997
22.	<i>Penaeus paulensis</i>	Camarón de Sao Paulo	Si	Souza <i>et al.</i> , 2009
23.	<i>Penaeus penicillatus</i>	Camarón cola roja	No	Tsai <i>et al.</i> , 1991
24.	<i>Penaeus plebejus</i>	Camarón	No	Bonorino & Anderson, 2009
25.	<i>Penaeus schmitti</i>	Camarón blanco sureño, camarón blanco del caribe	No	Lemos <i>et al.</i> , 2002
26.	<i>Penaeus stylirostris</i>	Camarón azul	Si	Navarrete del Toro <i>et al.</i> , 2011
27.	<i>Penaeus subtilis</i>	Camarón café sureño	Si	Buarque <i>et al.</i> , 2010
28.	<i>Penaeus vannamei</i>	Camarón blanco, camarón blanco del pacifico	Si	Van Wormhoudt <i>et al.</i> , 1992; Hernández-Cortes <i>et al.</i> , 1997; Navarrete del Toro <i>et al.</i> , 2011
29.	<i>Palaemon serratus</i>	Camarón serrado	Si	Trellu & Ceccaldi, 1980
30.	<i>Panulirus argus</i>	Langosta común del caribe	Si	Perera <i>et al.</i> , 2008
31.	<i>Panulirus homarus</i>	Langosta espinosa	No	Gora <i>et al.</i> , 2018
32.	<i>Panulirus interruptus</i>	Langosta roja	Si	Bibo-Verdugo <i>et al.</i> , 2015
33.	<i>Pleoticus muelleri</i>	Langostino argentino	No	Fernández-Gimenez <i>et al.</i> , 2001
34.	<i>Portunus pellagicus</i>	Jaiba azul	No	Bonorino & Anderson, 2009
35.	<i>Scylla paramamosain</i>	Cangrejo de lodo	No	DuyKhoa <i>et al.</i> , 2019
36.	<i>Scylla serrata</i>	Cangrejo de manglar	No	Bonorino & Anderson, 2009; Serrano, 2015

En los estudios de caracterización enzimática para la identificación de la quimotripsina en crustáceos se han evaluado parámetros de temperatura óptima, termo estabilidad,



pH óptimo, estabilidad al pH, punto isoeléctrico y efecto de iones, encontrando que los intervalos de actividad pueden variar dependiendo de la especie entre los 30 a 60 °C en el óptimo, entre 0°C y 75 °C para su termo estabilidad, entre 7 y 10 en el pH óptimo y de estabilidad de pH entre los 3 y 12 puntos (Tabla 2). En el caso particular de los análisis de punto isoeléctrico en la quimotripsina, los estudios mencionan la detección de sus isoformas (Navarrete del Toro *et al.*, 2015), por ejemplo, Hernández-Cortes *et al.* (1997) identificaron un solo punto isoeléctrico en *P. vannamei*, al igual que Navarrete del Toro *et al.* (2015) en *P. californiensis*, lo que determina la presencia de una sola forma de la quimotripsina; mientras que, Tsai *et al.* (1991) reportaron la presencia de dos puntos isoeléctricos en *P. monodon* con valores de 3.0 y 3.2, lo cual indica dos isoformas. En la mayoría de las especies estudiadas se han encontrado dos isoformas de la enzima (Navarrete del Toro *et al.*, 2011); con excepciones como *Panulirus interruptus*, el cual presentó cinco isoformas (Celis, 2003).

**Tabla 2. Resultados de la caracterización de la quimotripsina en distintas especies de crustáceos, período 1980 – 2020**

Especie	pH óptimo	Temp óptima	Estabilidad al pH	Termo estabilidad	Estudio
1. <i>Artemia salina</i>	7.5	30°C	6.0-8.5	0-55°C	Serrano, 2015
2. <i>Daphnia magna</i>	7	--	3.0-12.0	--	VonElert <i>et al.</i> , 2004
3. <i>Penaeus californiensis</i>	10	50°C	3.0-10.0	30-60°C	Navarrete del Toro <i>et al.</i> , 2015; Torres-Ochoa, 2020
4. <i>Penaeus indicus</i>	8	--	--	--	Omondi, 2005
5. <i>Penaeus japonicus</i>	7	--	5.0-9.0	--	Tsai <i>et al.</i> , 1986
6. <i>Penaeus monodon</i>	7	40°C	4.0-10.0	25-70°C	Tsai <i>et al.</i> , 1986
7. <i>Penaeus paulensis</i>	8	55°C	---	25-75°C	Souza <i>et al.</i> , 2009
8. <i>Penaeus stilyrostris</i>	7	60°C	4.0-11.0	10-70°C	Navarrete del Toro <i>et al.</i> , 2011
9. <i>Penaeus subtilis</i>	8	55°C	---	25-65°C	Buarque <i>et al.</i> , 2010
10. <i>Penaeus vannamei</i>	8	60°C	4.0-11.0	10-70°C	Navarrete del Toro <i>et al.</i> , 2011
11. <i>Palaemon serratus</i>	---	30°C	---	14-30°C	Trellu & Ceccaldi, 1980
12. <i>Panulirus argus</i>	7.5	50°C	2.0-12.0	30-60°C	Perera <i>et al.</i> , 2008
13. <i>Panulirus interruptus</i>	8	55°C	3.0-12.0	25-65°C	Bibo-Verdugo <i>et al.</i> , 2015
14. <i>Scylla serrata</i>	8	30°C	6.5-8.5	0-45°C	Serrano, 2015

### Técnicas de determinación

Las técnicas utilizadas para la determinación de la actividad tipo quimotripsina en crustáceos se apoyan de distintas herramientas. Por un lado, es posible llevarla a cabo mediante el uso de sustratos sintéticos específicos, donde se utilizan las técnicas descritas por Hummel (1959), Erlanger & Edel (1964) y Del Mar *et al.* (1979); por otro lado, se pueden utilizar inhibidores enzimáticos, como los empleados por Tsai *et al.* (1986), Vega-Villasante *et al.* (1995) y Navarrete del Toro *et al.* (2015).



Es posible que la manera más simple de determinar la presencia de quimotripsina en los organismos es mediante la utilización de sustratos específicos para la enzima, como labenzoil-tirosina etil-éster (BTEE) propuesta en la investigación de [Hummel \(1959\)](#); o la 2-Nitro-4-carboxifenil-N, N-diphenilcarbamato (NCDC), mencionado por [Erlanger & Edel \(1964\)](#); o el Succinil-Ala-Ala-Pro-Phe-P-nitroanilida (SAAPNA o SAAPFNA) que fue propuesto por [Del Mar et al. \(1979\)](#). El principio mediante el cual funcionan las técnicas antes mencionadas es la detección de cambios en la interacción entre el sustrato y la enzima, que promueven la liberación de la molécula colorante que puede ser leída por medio de colorimetría en la espectrofotometría ([Hummel, 1959](#); [Erlanger & Edel, 1964](#); [Del Mar et al., 1979](#)).

Con el método de [Erlanger & Edel \(1964\)](#) ha sido reportado que no se detectó actividad de tipo quimotripsina con *P. vannamei* y *P. setiferus* ([Lee et al., 1984](#)); mientras que al usar como sustrato el BTEE ([Hummel, 1959](#)) han sido reportado resultados contradictorios ya que en especies como *H. gammarus* no se encontró actividad enzimática de quimotripsina ([Glass & Stark, 1994](#)), más en *P. bennetae*, *P. plebejus*, *M. austreliense* y *S. serrata* si se detectó actividad ([Bonorino & Anderson, 2009](#)). Por su parte el uso de SAAPNA como sustrato ([Del Mar et al., 1979](#)) es de los más utilizados hasta el día de hoy para su detección, ya que es un sustrato muy sensible a la actividad de la quimotripsina ([Tsai et al., 1986](#)), denotando su actividad en la totalidad de los estudios donde se ha utilizado, como las investigaciones realizadas en *P. vannamei* ([Le Moullac et al., 1996](#); [Hernández-Cortes et al., 1997](#)), *P. muelleri* ([Fernández-Gimenez et al., 2001](#)), *D. magna* ([Von Elert et al., 2004](#)), *P. interruptus* ([Celis-Guerrero et al., 2004](#)), *P. subtilis* ([Souza et al., 2009](#)) y *P. californiensis* ([Navarrete del Toro et al., 2015](#); [Torres-Ochoa, 2020](#)).

Así como se desea observar la actividad de la quimotripsina, también se estudia la inhibición de ésta, lo que se realiza a la par de su caracterización o presencia a través de sustratos específicos, y que tienen como fin hacer evidente la inhibición total o parcial de la hidrólisis enzimática en presencia de estas sustancias ([García-Carreño, 1992](#)). Los inhibidores enzimáticos para quimotripsina más utilizados son la quimostatina ([Tsai et al., 1986](#)); tosil-fenilalanina clorometil cetona (TPCK, por sus siglas en inglés) ([Tsai et al., 1986](#); [Hernández-Cortes et al., 1997](#); [Omondi, 2005](#); [Navarrete del Toro et al., 2015](#); [Manriquez-Santos et al., 2018](#)); carbobenzoxy-fenilalanina clorometilcetona (ZPCK, siglas en inglés) ([Lemos et al., 2000](#)); el fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF) ([Tsai et al., 1986](#); [Hernández-Cortes et al., 1997](#); [Omondi, 2005](#); [Bibo-Verdugo et al., 2015](#); [Manriquez-Santos et al., 2018](#)); inhibidor de tripsina derivado de la soya (SBTI) ([Tsai et al., 1986](#); [Manriquez-Santos et al., 2018](#)); y la Z-L-alanilglicil-L-fenilalanin-clorocetona (ZAGPCK, siglas en inglés) ([Tsai et al., 1986](#); [Chen et al., 1991](#)).

Conocer la estructura, función, características fisicoquímicas de umbrales de actividad, sustratos de reacción, así como inhibición, nos pueden ayudar a caracterizar de una



forma adecuada a esta enzima, lo que conlleva a pensar en la formulación de alimentos funcionales para las especies de interés, los posibles recursos con los que se alimentan estos organismos, o hasta su potencial como biomolécula en procesos biotecnológicos para el tratamiento y uso de diferentes sustratos. Así que, desde el conocimiento básico fisiológico hasta la aplicación industrial, el comprender a este tipo de enzima proporcionará un avance en su estudio y denotará caminos de investigación y aplicación.

### **Función y acción de la quimotripsina**

Si bien se ha tenido registro de una actividad enzimática tipo quimotripsina desde la década de 1980 con los estudios de [Galgani et al. \(1984\)](#), siempre se ha considerado como una enzima con baja actividad catalítica en los crustáceos ([García-Carreño et al., 1994](#); [Cruz-Suarez, 1996](#)); incluso se ha cuestionado su presencia en estos organismos, como en la investigación de [Lee et al. \(1984\)](#), donde especificaron que la actividad enzimática de tipo quimotripsina era inexistente en juveniles de *P. monodon*, similar a lo reportado en otras especies de crustáceos como *H. americanus* ([Brockhoff et al., 1970](#)), *Lithodesa esquispinus* y *Paralithodescam tschaticus* ([Galgani & Nagayama, 1987](#)), donde se llega a la misma conclusión. Posiblemente dado a que no se detectó en las primeras investigaciones la actividad de esta enzima, hubo una disminución del interés por estudios relacionados con ella ([García-Carreño et al., 1994](#); [Von Elert et al., 2004](#); [Omondi, 2005](#)), lo que provocó un retraso en el acervo de información de esta enzima, comparado con la tripsina ([Muhlia-Almazán et al., 2008](#)). Debido a lo anterior, se ha generado un vacío de información sobre mecanismos de acción de quimiotripsina en procesos de digestión en crustáceos ([Bibo-Verdugo et al., 2015](#); [Navarrete del Toro & García Carreño, 2019](#)).

Esta falta de información se hace más evidente al comparar la información disponible de la quimotripsina con respecto a la de tripsina; la cual ha sido la enzima digestiva más estudiada en los crustáceos y es considerada la responsable de aproximadamente el 60% de la actividad proteolítica digestiva en estos organismos ([Vega-Villasante et al., 1995](#); [Albuquerque-Cavalcanti et al., 2001](#); [Carrillo-Farnés et al., 2007](#); [Muhlia-Almazán et al., 2008](#)). La importancia que se le ha dado a la tripsina se debe principalmente a que fue la primer proteasa detectada y caracterizada en los crustáceos ([Muhlia-Almazán et al., 2008](#); [Sainz-Hernandez & Cordova-Murueta, 2009](#)). Para su detección comúnmente se utilizan las técnicas de [Erlanger et al. \(1961\)](#), el cual utiliza clorhidrato de benzoil-DL-arginin 4-nitroanilida (BAPNA); y la de [Hummel \(1959\)](#), donde se utiliza clorhidrato de tosil-arginina-metilester (TAME). Ambos métodos se desarrollaron para la detección de tripsina en otros organismos, sin embargo, se ha ratificado su utilización para la detección de la quimiotripsina en crustáceos ([Brockhoff et al., 1970](#); [Sainz et al., 2004](#); [Von Elert et al., 2004](#); [Omondi, 2005](#); [Navarrete del Toro et al., 2011](#)).



No fue hasta el desarrollo de otros sustratos, tales como el SAAPNA, que fue posible detectar la presencia de la actividad hidrolítica de la quimotripsina ([García-Carreño et al., 1994](#)). A pesar de esto, las investigaciones realizadas sobre esta enzima en crustáceos continuaban enfocándose en la detección y análisis de tripsina y dejaban de lado los análisis sobre la quimotripsina, siendo considerada como una enzima complementaria a la anterior y de baja actividad ([Muhlia-Almazán et al., 2008](#); [Sainz-Hernández & Córdova-Murueta, 2009](#)).

El probable motivo por el cual la enzima no hidroliza el sustrato BTEE es el expuesto por [Tsai et al. \(1986\)](#), donde se menciona que si bien el BTEE presenta los aminoácidos sobre los cuales la quimotripsina actúa, carece de otros aminoácidos que interactúan de manera secundaria con la enzima para que esta pueda llevar a cabo su función, esto lo menciona también [Van Wormhoudt et al. \(1992\)](#), cuando reporta que la quimotripsina de crustáceos es más reactiva a sustratos naturales que sintéticos, por la sola longitud de las cadenas polipeptídicas.

Lo anterior ha provocado que se considere a la tripsina como la proteasa responsable del mayor porcentaje de hidrólisis de proteínas ([Carrillo-Farnés et al., 2007](#); [Muhlia-Almazán et al., 2008](#)). Sin embargo, estudios posteriores consideran que la enzima que posee una mayor capacidad de hidrólisis es la quimotripsina ([Tsai et al., 1986](#); [Buarque et al., 2010](#); [Navarrete del Toro et al., 2011](#); [Gora et al., 2018](#)), y no se le ha dado mayor importancia a esta enzima. Por tal motivo, se observan vacíos de información y surgen nuevas interrogantes alrededor de la actividad de esta enzima, debido a que la falta de información obliga a los investigadores a usar modelos de actividad enzimática de otros grupos de organismos ([Navarrete del Toro & García-Carreño, 2019](#)), con lo que se establece una área de oportunidad para generar conocimiento nuevo y básico que incida sobre los estudios de la fisiología digestiva de este grupo de organismos tan importante como fuente de alimentos para el ser humano.

Dentro de las nuevas vertientes de estudio sobre la quimotripsina se encuentra su función dentro de la actividad colagenolítica ([Navarrete del Toro et al., 2015](#)), que implica revisión desde la clasificación hasta las aplicaciones, y en la actualidad a través de equipos más precisos, conocimientos generados y adaptación de las técnicas hacen factible poder llegar a resultados específicos.

La función colagenolítica de la quimotripsina le ofrece una similitud con la enzima braquiurina ([Hernández-Cortes et al., 1997](#); [Navarrete del Toro et al., 2015](#)); en este sentido [Rudenskaya \(2003\)](#) propone una aproximación para la separación de la quimotripsina y la braquiurina en dos grupos de enzimas distintas, ya que al analizar la estructura de la cadena de aminoácidos que integran a las braquiurinas se ha observado que existen diferencias con la quimotripsina en las cadenas polipeptídicas, principalmente en los aminoácidos encargados de anclar la enzima a la cadena polipeptídica a hidrolizar. Contrario a ello, [Navarrete del Toro & García-Carreño \(2019\)](#) establecen que la clasificación de la braquiurinas es incorrecta y no debería ser



considerada como un grupo de enzimas distintas a la quimotripsina, pues en los crustáceos la actividad colagenolítica de la quimotripsina es una generalidad. Debido a estas posturas distintas y la falta de información más precisa a este respecto, se sugiere que a estos grupos se les deberían llamar enzimas digestivas con actividad tipo quimotripsina (Navarrete del Toro & García-Carreño, 2019).

### Quimotripsina en crustáceos

Si bien, existen pocos estudios de la quimotripsina en las especies de crustáceos de importancia económica, esto se repite en otros grupos de organismos acuáticos como por ejemplo los peces (Lauff & Hofer, 1984; Rungruangsk-Torrissen *et al.*, 2006; Castillo-Yañez *et al.*, 2009; Hadj Ali *et al.*, 2010). En este grupo, la quimotripsina está compuesta por una sola cadena polipeptídica (Lauff & Hofer, 1984; Zhou *et al.*, 2011), al igual que en los crustáceos (Hernández-Cortes *et al.*, 1997; Navarrete del Toro *et al.*, 2015), y los estudios realizados, principalmente se han abocado a la comparación de la actividad de la quimotripsina entre organismos de este grupo, usando estándares de la enzima derivada de rumiantes (Tsukada & Blow, 1985). De acuerdo con estos estudios, se ha observado que la quimotripsina ha demostrado tener una mayor actividad hidrolítica que su símil en mamíferos (Lauff & Hofer, 1984; Celis, 2003; Rungruangsk-Torrissen *et al.*, 2006; Zhou *et al.*, 2011; Navarrete del Toro *et al.*, 2015).

Como ya se mencionó, en los crustáceos de importancia comercial las investigaciones sobre el estudio de la quimotripsina, a partir del año 2000, se han enfocado principalmente en especies como *P. chinensis* (Shi *et al.*, 2008), *P. subtilis* (Buarque *et al.*, 2010), *P. vannamei* (Navarrete del Toro *et al.*, 2011), así como también se han llevado a cabo estudios sobre esta enzima en especies que presentan potencial para ser aprovechadas en condiciones de cultivo, tales como *P. indicus* (Omondi, 2005), *P. californiensis* (Navarrete del Toro *et al.*, 2015; Torres-Ochoa, 2020), y *M. tenellum* (Espinosa-Chaurand *et al.*, 2017); esto debido a que es de gran importancia contar con información sobre dinámica enzimática y la fisiología digestiva de los organismos (Gamboa-Delgado *et al.*, 2003; Simon, 2009) para incidir y utilizar su potencial fisiológico dentro de la formulación de alimentos balanceados (Carrillo-Farnés *et al.*, 2007; Simon, 2009; Buarque *et al.*, 2010) y en consecuencia incrementar el rendimiento en los cultivos comerciales. Este potencial fisiológico digestivo en los crustáceos es evidenciado con los resultados de la actividad de quimotripsina durante la digestión de las proteínas, pues mediante su actividad se liberan polipéptidos más pequeños sobre los cuales actuarán otras enzimas para la obtención de los distintos aminoácidos presentes (Tsai *et al.*, 1991; Navarrete del Toro & García-Carreño, 2019). Se han realizado análisis de la actividad de la quimotripsina entre los organismos silvestres y organismos en sistemas de cultivo, como el realizado por Da Silva *et al.* (2014) en *M. amazonicum*, donde reportan que la actividad enzimática de quimotripsina, y en general de proteasas, es mayor en organismos en cultivo; contrario a ello, en *P.*





*californiensis*, [Torres-Ochoa \(2020\)](#) observó que la actividad de esta enzima era menor en organismos cultivados que en los organismos silvestres. Estas discrepancias podrían deberse a dos situaciones particulares, el tipo de alimento o sustrato y el momento de consumo o tiempo entre alimentaciones (inanición esporádica); se ha mencionado que la actividad quimotripsina se ha podido observar mejor a partir de sustratos más específicos, como el SAAPNA, y en diferente magnitud de acuerdo al tipo de ingrediente o dieta evaluada, lo cual en organismos cultivados es supervisado y garantizado, promoviendo una estabilidad en la dinámica y ciclo digestivo de estos organismos, contrario a lo que puede ocurrir con un organismo silvestre que consume lo que tenga a disposición, cuando lo tiene a disposición y generalmente solo uno o dos ingredientes diferentes, lo que llevaría a la posible explicación donde se desconoce totalmente el estado de alimentación y alimento de las muestras silvestres en estos estudios.

En el caso de inanición, existe la posibilidad que los organismos silvestres presenten una mayor reserva de zimógenos, los cuales solo pueden ser activados en la presencia del sustrato, por lo cual puedan estar preparados para el procesamiento de estos sustratos, mientras que los organismos alimentados presentan valores menores pues constantemente están utilizando las enzimas para los procesos digestivos ([Gora et al., 2018](#); [Torres-Ochoa, 2020](#)). [Gora et al. \(2018\)](#) realizaron un estudio con *P. homarus*, en donde evaluaron las diferencias en la actividad enzimática bajo esquemas de inanición y dietas, reportando que los organismos alimentados presentaban una actividad enzimática menor que aquellos en inanición. Lo anterior es posible debido a que los organismos silvestres puedan pasar periodos de inanición al no disponer de alimento y al encontrarlo deben ingerirlo rápidamente para evitar la competencia con otros animales. Por ello, es necesario que cuenten con una reserva alta de zimógenos, los cuales al ser activados sean capaces de hidrolizar rápidamente los alimentos para aprovechar al máximo los nutrientes disponibles.

## CONCLUSIONES

Hasta el momento la quimotripsina en los crustáceos es considerada como una enzima con nula o baja actividad dentro de la dinámica enzimática digestiva en estas especies; sin embargo, su estudio es de suma importancia para comprender sobre la biodisponibilidad de los aminoácidos sobre todo del triptófano, tirosina y fenilalanina. Así como comprender el mecanismo de hidrólisis de residuos grandes en los que se involucra la presencia de los aminoácidos esenciales para estas especies tales como la metionina y leucina. Debido al avance de las técnicas para la valoración de la actividad enzimática y uso de sustratos sintéticos como el SAAPNA, ha sido posible por un lado detectar la presencia de esta enzima en los crustáceos y, por otro comprender con más detalle la fisiología digestiva de estas especies. Lo anterior servirá para definir



directrices nutricionales en las que sea posible optimizar y aprovechar de manera eficiente los ingredientes dentro de los alimentos funcionales, establecer correlaciones de alimentación y estudiar el comportamiento en organismos, tanto silvestres como de cultivo, y permitirá explorar nuevos usos biotecnológicos de esta enzima y su posible aplicación en la hidrólisis de proteínas.

### AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Marco Antonio Cadena Roa, quien brindó su apoyo y guía para los proyectos de los cuales resultó este artículo. Se agradece el apoyo brindado por el personal del Taller de alimentos marinos de la UABCS México, a los miembros del laboratorio de alimentos de la Unidad Académica Pichilingue de la UABCS y al Laboratorio de Ecofisiología de Organismos Acuáticos de la UNCIBNOR, por el apoyo a este manuscrito como parte de la obtención de grado de licenciatura de Castellanos-Ochoa Carlos.

### LITERATURA CITADA

ALBUQUERQUE-CAVALCANTI C, García-Carreño FL, Navarrete del Toro MA. 2001. Trypsin and trypsin inhibitors from penaeid shrimp. *Journal of food biochemistry*. 26: 233-251. ISSN 0145-8884. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2002.tb00854.x>

BALTI R, Bougherra F, Bougateef A, Hayet BH, Nedjar-Arroume N, Dhulster P, Guillochon D, Nasri M. 2012. Chymotrypsin from the hepatopancreas of cuttlefish (*Sepia officinalis*) with high activity in the hydrolysis of long chain peptide substrates: purification and biochemical characterization. *Food Chemistry*. 130:475-484. ISSN 0308-8146. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.019>

BAÑUELOS-VARGAS I, Cárdenas-Chávez F, Paschke K, Román-Reyes JC, Salazar-Leyva JA, Martínez-Montaña E. 2018. Partial biochemical characterization of digestive proteases presents in the gastric juices of two chilean crustaceans, *Lithodes santolla* (Molina, 1782) and *Cancer edwardsii* (Bell, 1835). *Latin American Journal of Aquatic Research*. 46:289-300. ISSN 0718-560X. <https://doi.org/10.3856/vol46-issue2-fulltext-5>

BARRETTAJ. 1994. Classification of peptidases. *Methods in Enzymology*. 244:1-15. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(94\)44003-4](https://doi.org/10.1016/0076-6879(94)44003-4)

BIBO-VERDUGO B, Rojo-Arreola L, Navarrete del Toro MA, García-Carreño F. 2015. A chymotrypsin from the digestive Tract of California Spiny Lobster, *Panulirus interruptus*: Purification and Biochemical characterization. *Marine Biotechnology*. 17:416-427. ISSN 1436-2236. <https://doi.org/10.1007/s10126-015-9626-z>



BONORINO MS, Anderson AJ. 2009. Digestive enzyme spectra un crustacean decapods (Paleomonidae, Portunidae and Penaeidae) feeding in the natural habitat. *Aquaculture research*. 40:282-291. ISSN 1365-2109.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2008.02087.x>

BROCKERHOFF H, Hoyle RJ, Hwang PC. 1970. Digestive enzymes of the American Lobster (*Homarus americanus*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*. 27: 1357-1370. ISSN 0015-296X. <https://doi.org/10.1129/f70-160>

BUARQUE DS, Castro PF, Santos FMS, Amaral IPG, Oliveira SM, Alves KB, Carvalho LB, Bezerra RS. 2010. Digestive proteinases and peptidases in the hepatopancreas of the southern brown shrimp (*Farfantepenaeus subtilis*) in two sub-adult stages. *Aquaculture Nutrition*. 16:359-369. ISSN 1365-2095.

<https://doi.org/10.1111/j.1365-2095.2009.00673.x>

CARRILLO-FARNÉS O, Forrellat A, Guerrero-Galván S., Vega-Villasante F. 2007. A review of digestive enzyme activity in penaeid shrimps. *Crustaceana*. 80:257-275. ISSN 0011-216X. <https://doi.org/10.1163/156854007780162424>

CASTILLO-YAÑEZ FJ, Pacheco-Aguilar R, Lugo-Sánchez ME, García-Sánchez G, Quintero-Reyes IE. 2009. Biochemical characterization of an isoform of chymotrypsin from the viscera of Monterey sardine (*Sardinops sagax caerulea*), and comparison with bovine chymotrypsin. *Food Chemistry*. 112:634-639. ISSN 0308-8146.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.023>

CELISLE. 2003. Caracterización de proteasas en el sistema digestivo de la langosta roja (*Panulirus interruptus*). Tesis de maestría, Centro de Investigaciones Biológicas de Noroeste. La Paz, BCS, México. Pp. 81.

[http://dspace.cibnor.mx:8080/bitstream/handle/123456789/465/celis\\_l.pdf;sequence=1](http://dspace.cibnor.mx:8080/bitstream/handle/123456789/465/celis_l.pdf;sequence=1)

CELIS-GUERRERO L, García-Carreño FL, Navarrete del Toro MA. 2004. Characterization of proteases in the digestive system of spiny lobster (*Panulirus interruptus*). *Marine Biotechnology*. 6:262-269. ISSN 1436-2236.

<https://doi.org/10.1007/s10126-003-0032-6>

CHEN YL, Lu PJ, Tsai IH. 1991. Collagenolytic activity of crustacean midgut serine proteases: comparison with the bacterial and Mammalian enzymes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*. 100:763-768. ISSN 0305-0491. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(91\)90287-N](https://doi.org/10.1016/0305-0491(91)90287-N)



CRUZ-SUAREZ LE. 1996. Digestión en camarón y su relación con formulación y fabricación de alimentos balanceados. *Avances en nutrición acuícola. III*: 207-276.

<http://eprints.uanl.mx/id/eprint/8350>

DA SILVA FM, Ribeiro K, Vasconcelos de Freitas AC, Bezerra de Carvalho L, Cotroni W, De Souza R. 2014. Digestive proteases from wild and farmed male morphotypes of the amazon river prawn (*Macrobrachium amazonicum*). *Journal of Crustacean Biology*. 34:189-198. ISN 0278-0372. <https://doi.org/10.1163/1937240X-00002215>

DELMAR EG, Largman C, Brodrick JW, Geokas MC. 1979. A sensitive new substrate for chymotrypsin. *Analytical Biochemistry*. 99:316-320. ISSN 0003-2697.

[https://doi.org/10.1016/S0003-2697\(79\)80013-5](https://doi.org/10.1016/S0003-2697(79)80013-5)

DI CERA E. 2009. Serineproteases. *IUBMB Life*. 61: 510-515. ISSN 1521-6543.

<https://doi.org/10.1002/iub.186>

DUYKHOATN, Mai NT, Linh NK, Mi LTY, Shaharom-Harrison F. 2019. Ontogenic development of digestive enzymes of Mud Crab (*Scylla paramamosain*) during larval stages. *Thalassas: An International Journal of Marine Science*.35:655-661. ISSN 2661-3239. <https://doi.org/10.1007/s41208-019-00143-5>

ERLANGER BF, Kokowsky N, Cohen W. 1961. the preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 95: 271-278. ISSN 0003-9861. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(61\)90145-X](https://doi.org/10.1016/0003-9861(61)90145-X)

ERLANGER BF, Edel F. 1964. The utilization of a specific chromogenic inactivator in an "All or none" assay for chymotrypsin. *Biochemistry*. 3:346-349. ISSN 0006-2960.

<https://doi.org/10.1021/bi00891a008>

ESPINOSA-CHAURAND D, Vega-Villasante F, Carrillo-Farnés O, Nolasco-Soria H. 2017. Effect of circadian rhythm, photoperiod and molt cycle on digestive enzymatic activity of *Macrobrachium tenellum* juveniles. *Aquaculture*. 479:225-232. ISSN 0044-8486. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.05.029>

ESPINOSA-CHAURAND D, Carrillo-Farnés O, Vega-Villasante F, Nolasco-Soria H. 2019. Effect of protein level in diet and feeding schedule on the digestive enzymatic activity of *Macrobrachium tenellum* juveniles. *Latin American Journal of Aquatic Research*. 47:743-752. ISSN 0718-560X. <https://doi.org/10.3856/vol47-issue5-fulltext-3>



FERNÁNDEZ-GIMENEZ AV, García-Carreño FL, Navarrete del Toro MA, Fenucci JL. 2001. Digestive proteinase of red shrimp *Pleoticus muelleri* (Decapoda, Penaeoidea): Partial Characterization and relationship with molting. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 130:331-338. ISSN 1096-4959. [https://doi.org/10.1016/S1096-4959\(01\)00437-7](https://doi.org/10.1016/S1096-4959(01)00437-7)

FERNÁNDEZ I, Oliva M, Carrillo O, Van Wormhoudt A. 1997. Digestive enzyme activities of *Penaeus notialis* during reproduction and moulting cycle. *Comparative Biochemistry and Physiology part A: Physiology*. 118:1267-1271. ISSN 0300-9629. [https://doi.org/10.1016/S0300-9629\(97\)86802-8](https://doi.org/10.1016/S0300-9629(97)86802-8)

FERNÁNDEZ-GIMENEZ AV, García-Carreño FL, Navarrete del Toro MA, Fenucci JL. 2002. Digestive proteinase of *Artemesia longinaris* (Decapoda, Penaeidae) and relationship with molting. *Comparative Biochemistry and Physiology part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 132:593-598. ISSN 1096-4959. [https://doi.org/10.1016/s1096-4959\(02\)00080-5](https://doi.org/10.1016/s1096-4959(02)00080-5)

GALGANI F, Nagayama F. 1987. Digestive proteinases in five species of Lithodidae (Crustacea, Decapoda). *Comparative Biochemistry and Physiology part B: Comparative Biochemistry*. 87:103-107. ISSN 0305-0491. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(87\)90476-7](https://doi.org/10.1016/0305-0491(87)90476-7)

GALGANI FG, Benyamin Y, Ceccaldi HJ. 1984. Identification of digestive proteinases of *Penaeus kerathurus* (Forskål): a comparison with *Penaeus japonicus* Bates. *Comparative Biochemistry and Physiology part B: Comparative Biochemistry*. 78:355-361. ISSN 0305-0491. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(84\)90043-9](https://doi.org/10.1016/0305-0491(84)90043-9)

GAMBOA-DELGADO J, Molina-Paveda C, Cahu C. 2003. Digestive enzyme activity and food ingesta in juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) as a function of body weight. *Aquaculture Research*. 34:1403-1411. ISSN 1365-2109. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2003.00959.x>

GARCÍA-CARREÑO FL. 1992. Protease inhibition in theory and practice. *Biotechnology Education*. 2(4):150-153. ISSN 0717-3458. <http://www.bashanfoundation.org/contributions/Garcia-F/carrenoinhibition.pdf>

GARCIA-CARREÑO FL, Hernández-Cortes MP, Haard NF. 1994. Enzymes with peptidase and proteinase Activity from the Digestive Systems of a Freshwater and a Marine Decapod. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 42:1456-1461. ISSN 0308-8146. <https://doi.org/10.1021/jf00043a013>



GLASS HJ, Stark JR. 1994. Protein digestion in the european lobster, *Humarus gammarus* (L.) *Comparative Biochemistry and Physiology part B: Comparative Biochemistry*. 108:225-235. ISSN 0305-0491.

[https://doi.org/10.1016/0305-0491\(94\)90070-1](https://doi.org/10.1016/0305-0491(94)90070-1)

GORA A, Jayasankar V, Rehman S, Kizhakudan JK, Laxmilatha P, Vijayagopal P. 2018. Biochemical responses of juvenile rock spiny lobster *Panulirus humarus* under different feeding regimes. *Journal of Applied Animal Research*. 46:1462-1468. ISSN 0974-1844.

<https://doi.org/10.1080/09712119.2018.1533475>

HADJ ALI NE, Hmidet N, Zouari-Fakhfakh N, Ben Khaled H, Nasri M. 2010. Alkaline Chymotrypsin from Striped Seabream (*Lithognathus mormyrus*) Viscera: Purification and Characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58(17):9787-9792. ISSN 1520-5118.

<https://doi.org/10.1021/jf101667s>

HERNÁNDEZ-CORTES P, Whitaker JR, García-Carreño FL. 1997. Purification and characterization of chymotrypsin from *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda). *Journal of Food Biochemistry*. 21:497-514. ISSN 01458884.

<https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.1997.tb00202.x>

HUMMEL BCW. 1959. A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin and thrombin. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*. 37:1393- 1399.

ISSN 0576-5544. <https://doi.org/10.1139/y59-157>

JIANG ST, Moody MW, Chen HC. 1991. Purification and Characterization of proteases from the Digestive tract of grass shrimp (*Penaeus monodon*). *Journal of Food Science*.

56:322-326. ISSN 1750-3841. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1991.tb05271.x>

KATTAKDAD S, Jintasataporn O, Worawattanamateekul W, Chumkam S. 2018. Successful nursing of *Caridina cantonensis* larvae with Ca-alginate microencapsulated diet in the first feeding. *International Journal of Aquatic Science*. 9(2):66-76. ISSN 2008-8019.

[http://www.journal-](http://www.journal-aquaticscience.com/article_70646_9abea4777e424db1dea7f86cfbe3ff05.pdf)

[aquaticscience.com/article\\_70646\\_9abea4777e424db1dea7f86cfbe3ff05.pdf](http://www.journal-aquaticscience.com/article_70646_9abea4777e424db1dea7f86cfbe3ff05.pdf)

LAUFF M, Hofer R. 1984. Proteolytic enzymes in fish development and the importance of dietary enzymes. *Aquaculture*. 37:335-346. ISSN 0044-8486.

[https://doi.org/10.1016/0044-8486\(84\)90298-9](https://doi.org/10.1016/0044-8486(84)90298-9)



LEE PG, Smith LL, Lawrence AL.1984. Digestive proteases of *Penaeus vannamei* Boone: relationship between enzyme activity, size and diet. *Aquaculture*. 42:225-239. ISSN 0044-8486. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(84\)90103-0](https://doi.org/10.1016/0044-8486(84)90103-0)

LEMOS D, Ezquerro JM, Carcía-Carreño FL. 2000. Protein digestion in penaeid shrimp: digestive proteinases, proteinase inhibitors and feed digestibility. *Aquaculture*. 186:89-105. ISSN 0044-8486. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(99\)00371-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(99)00371-3)

LEMOS D, García-Carreño FL, Hernández P, Navarrete del Toro A. 2002. Ontogenic variation in digestive proteinase activity, RNA and DNA content of larval and postlarval white shrimp *Litopenaeus schmitti*. *Aquaculture*. 214:363-380. ISSN 0044-8486. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(02\)00253-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00253-3)

LEMOULLAC G, Klein B, Sellos D, Van Wormhoudt A. 1996. Adaptation of trypsin, chymotrypsin and  $\alpha$ -amylase to casein level and protein source in *Penaeus vannamei* (Crustacea Decapoda). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 208:107-125. ISSN 0022-0981. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(96\)02671-8](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(96)02671-8)

MANRIQUEZ-SANTOS TJ, Alvarez-González CA, Peña M, Camarillo-Coop S, Martínez-García R, Vega-Villasante F. 2018. Partial characterization of digestive proteases in adults of big claw river shrimp *Macrobrachium carcinus*. *Latin American Journal of Aquatic Research*. 46:525-533. ISSN 0718-560X. <https://doi.org/10.3856/vol46-issue3-fulltext-5>

MCDONALD JJ. 1985. An overview of protease specificity and catalytic mechanisms: aspects related to nomenclature and classification. *Histochemical Journal*. 17:773-785. ISSN 0018-2214. <https://doi.org/10.1007/BF01003313>

MONTOYA CE. 2018. Calidad de ingredientes proteínicos y actividad enzimática digestiva en *Macrobrachium tenellum*. Tesis de Doctora en Ciencias, Universidad de Guadalajara. Puerto Vallarta, Jalisco, México. Pp. 145. <https://www.riudg.udg.mx/handle/20.500.12104/81122>

MUHLIA-ALMAZÁN A, Sánchez-Paz A, García-Carreño FL. 2008. Invertebrate trypsins: a review. *Journal of Comparative Physiology B*. 178:655-672. ISSN 0174-1578. <https://doi.org/10.1007/s00360-008-0263-y>

NAVARRETE DEL TORO MA, García-Carreño FL, Cordova-Murueta JH. 2011. Comparison of digestive proteinases in three penaeids. *Aquaculture*. 317:99-106. ISSN 0044-8486. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.03.035>



NAVARRETE DEL TORO MA, García-Carreño FL. 2019. The toolbox for protein digestion in decapod crustaceans: a review. *Reviews in Aquaculture*. 11:1005-1021. ISSN 1753-5131. <https://doi.org/10.1111/raq.12276>

NAVARRETE DEL TORO MA, García-Carreño FL, Hernández-Cortés P, Molnar T, Graf L. 2015. Biochemical characterization of chymotrypsin from the midgut gland of yellowleg shrimp, *Penaeus californiensis*. *Food Chemistry*. 173:147-155. ISSN 0308-8146. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.160>

OMONDI JM. 2005. Digestive endo-proteases from the midgut glands of the indian white shrimp, *Penaeus indicus* (Decapoda Penaeidae) from Kenya. *Western Indian Ocean Journal of Marine Science*. 4:109-121. ISSN 2661-3239. <https://doi.org/10.4314/wiojms.v4i1.28479>

PERERA E, Moyano FJ, Díaz M, Perdomo-Morales R, Montero-Alejo V, Alonso E, Carrillo O, Galich GS. 2008. Polymorphism and partial characterization of digestive enzymes in the spiny lobster *Panulirus argus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*. 150: 247-2554. ISSN 0305-0491. <https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2008.03.009>

RUDENSKAYA GN. 2003. Brachyurins, serine collagenolytic enzymes from crabs. *Russian Journal of Bioorganic chemistry*. 9:117-128. ISSN 0045-2068. <https://doi.org/10.1023/A:1023248113184>

RUNGRUANGSK-TORRISSEN K, Moss R, Andresen LH, Berg A, Waagbo R. 2006. Different expressions of trypsin and chymotrypsin in relation to growth in Atlantic Salmon (*Salmo salar*). *Fish physiology and Biochemistry*. 32:7-23. ISSN 1573-5168. <https://doi.org/10.1007/s10695-005-0630-5>

SAINZ JC, García-Carreño FL, Hernández-Cortés P. 2004. *Penaeus vannamei* isotrypsins: purification and characterization. *Comparative Biochemistry and Physiology part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 138:155-162. ISSN 1096-4959. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2004.03.002>

SAINZ-HERNANDEZ JC, Cordova-Murueta JH. 2009. Activity of trypsin from *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*. 290:190-195. ISSN 0044-8486. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.02.034>





SERRANO AE. 2015. Properties of chymotrypsin-like enzyme in the mudcrab *Scylla serrata*, Brine shrimp *Artemia salina* and rotifer *Brachionus plicatilis*. *Der Pharma Chemica*. 7:66-73. ISSN 0975-413X. <https://www.derpharmachemica.com/pharmachemica/properties-of-chymotrypsinlike-enzyme-in-the-mudcrab-scylla-serrata-brine-shrimp-artemia-salina-and-rotifer-brachionus-p.pdf>

SHI X, Zhao X, Wang J. 2008. Molecular cloning and expression analysis of a chymotrypsin-like serine protease from the chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*. *Fish and Shellfish Immunology*. 25:589-597. ISSN 1050-4648. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2013.03.360>

SIMON CJ. 2009. Digestive enzyme response to natural and formulated diets in cultured juvenile spiny lobster, *Jasus edwardsii*. *Aquaculture*. 294: 271-281. ISSN 0044-8486 <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.06.023>

SOUZA D, Fernandes P, Silva FM, Lemos D, Bezerra L, Bezerra RS. 2009. Digestive peptidases and proteinases in the midgut gland of the pink shrimp *Farfantepenaeus paulensis* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). *Aquaculture Research*. 40: 861-870. ISSN 1365-2109. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02183.x>

TORRES-OCHOA E. 2020. Análisis del proceso digestivo de juveniles de *Farfantepenaeus californiensis* (Holmes, 1900) aclimatados a cultivo con tecnología de biofloc. Tesis de Doctorado en Ciencias, Universidad Autónoma de Baja California Sur. México. Pp. 149. [https://www.researchgate.net/publication/355105308\\_Analisis\\_de\\_proceso\\_digestivo\\_de\\_juveniles\\_de\\_Farfantepenaeus\\_californiensis\\_Holmes\\_1900\\_aclimatados\\_a\\_condiciones\\_de\\_cultivo\\_con\\_tecnologia\\_de\\_biofloc](https://www.researchgate.net/publication/355105308_Analisis_de_proceso_digestivo_de_juveniles_de_Farfantepenaeus_californiensis_Holmes_1900_aclimatados_a_condiciones_de_cultivo_con_tecnologia_de_biofloc)

TRELLU J, Ceccaldi HJ. 1980. Influence de la température sur quelques Activités Enzymatiques chez *Palaemon serratus*. *Biochemical Systematics and Ecology*. 8:171-179. ISSN 0305-1978. [https://doi.org/10.1016/0305-1978\(80\)90010-1](https://doi.org/10.1016/0305-1978(80)90010-1)

TSAI I, Chuang K, Chuan JL. 1986. Chymotrypsin in digestive tracts of crustacean decapods (shrimps). *Comparative Biochemistry and Physiology part B: Comparative Biochemistry*. 85: 235-239. ISSN 0305-0491. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(86\)90248-8](https://doi.org/10.1016/0305-0491(86)90248-8)



TSAI I, Lu P, Chuang JL. 1991. The midgut chymotrypsins of shrimps (*Penaeus monodon*, *Penaeus japonicus* and *Penaeus penicillatus*). *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology*. 1080:59-67. ISSN 0167-4838. [https://doi.org/10.1016/0167-4838\(91\)90112-D](https://doi.org/10.1016/0167-4838(91)90112-D)

TSUKADA H, Blow DM. 1985. Structure of  $\alpha$ -chymotrypsin refined at 1.68Å resolution. *Journal of Molecular Biology*. 184:703-711. ISSN 0167-4838. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(85\)90314-6](https://doi.org/10.1016/0022-2836(85)90314-6)

VAN WORMHOUDT A, Le Chevalier P, Sellos D. 1992. Purification, biochemical characterization and N-Terminal sequence of a serine-protease with chymotrypsic and collagenolytic activities in a tropical shrimp, *Penaeus vannamei* (Crustacea, decapoda). *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*. 103:675-680. ISSN 0305-0491. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(92\)90389-9](https://doi.org/10.1016/0305-0491(92)90389-9)

VEGA-VILLASANTE F, Nolasco H, Civera R. 1995. The digestive enzymes of the Pacific brown shrimp *Penaeus californiensis* II. Properties of protease activity in the whole digestive tract. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 112:123-129. ISSN 1096-4959. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(95\)00039-B](https://doi.org/10.1016/0305-0491(95)00039-B)

VONELERT E, Agrawal MK, Gebauer C, Jaensch H, Bauer U, Zitt A. 2004. Protease activity in gut of *Daphnia magna*: Evidence for trypsin and chymotrypsin enzymes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 137:287-296. ISSN 1096-4959. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2003.11.008>

XUE S, Yang W, Sun J. 2013. Role of chymotrypsin-like serine proteinase in white spot syndrome virus infection in *Fenneropenaeus chinensis*. *Fish and Shellfish Immunology*. 34:403-409. ISSN 1050-4648. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2012.10.017>

ZHOU L, Budge SM, Ghaly AE, Brooks MS, Deepika D. 2011. Extraction, Purification and Characterization of fish Chymotrypsin: a review. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*. 7:104-123. ISSN 1553-3468. <https://doi.org/10.3844/ajbb.2011.104.125>

ZWILLING R, Neurath H. 1981. Invertebrate proteases. *Methods in enzymology*. 80: 633-364. ISSN 0076-6879. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(81\)80050-X](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(81)80050-X)