



Abanico Veterinario. Janeiro-Dezembro 2022; 12:1-18. <http://dx.doi.org/10.21929/abavet2022.9>
Revisão da Literatura. Recebido: 01/10/2021. Aceito:05/03/2022. Publicado: 11/04/2022. Chave: e2021-69.
<https://www.youtube.com/watch?v=8w9rP84Jo60>

Quimotripsina em crustáceos: estado da arte

Crustacean chymotrypsin: estate of the art

Castellanos-Ochoa Carlos^{1ID}, Torres-Ochoa Erika^{*1ID}, Pacheco-Vega Juan^{2ID},
Cortés-Sánchez Alejandro^{3ID}, Espinosa-Chaurand Daniel^{**3ID}

¹Universidad Autónoma de Baja California Sur. Departamento Académico de Ingeniería en Pesquerías. Baja California Sur, México. ²Universidad Autónoma de Nayarit. Escuela Nacional de Ingeniería Pesquera. Nayarit, México. ³Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT). Unidad Nayarit del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (UNCIBNOR+). Nayarit, México. *Autor responsável: Torres-Ochoa Erika. **Autor para correspondência: 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

RESUMO

A quimotripsina em crustáceos é uma enzima cuja importância não foi totalmente reconhecida ao longo do tempo, apesar de ser um componente fundamental na digestão das proteínas em seus alimentos. As enzimas são componentes catalíticos básicos do metabolismo celular, de grande diversidade, classificados de acordo com a função que desempenham (hidrólise, oxidação-redução, síntese, isomerização, entre outras). A quimotripsina pertence às hidrolases, que catalisam a clivagem das ligações de peptídeos adjacentes aos grupos carboxil dos aminoácidos aromáticos triptofano, tirosina e fenilalanina. Desde os anos 80, poucos estudos foram realizados sobre esta enzima em crustáceos, sendo que um terço destes (13 estudos) foi concentrado nos últimos cinco anos. Portanto, o presente artigo visa apresentar uma revisão das informações existentes sobre estas enzimas em crustáceos sob uma perspectiva geral, contribuindo para identificar áreas de oportunidade para expandir o conhecimento de sua função e propriedades nestes invertebrados, bem como as implicações ecológicas, etológicas, de manejo, alimentação e nutrição aquícola.

Palavras-chave: atividade enzimática, hidrólise, fisiologia digestiva, protease, 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 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.



INTRODUÇÃO

A quimotripsina é uma enzima que pertence às hidrolases, que quebram laços covalentes incorporando água entre os laços peptídeos. Possui um resíduo de serina no local ativo, razão pela qual é classificado como endoprotease de serina (Di Cera, 2009; Navarrete del Toro & García Carreño, 2019). Esta enzima catalisa a hidrólise de ligações de peptídeos adjacentes aos grupos carboxil dos aminoácidos aromáticos triptofano, tirosina e fenilalanina (Zwilling & Neurath, 1981; Zhou *et al.*, 2011), embora também possa hidrolisar ligações peptídeas no lado de outros grandes resíduos hidrofóbicos, tais como metionina e leucina (Zwilling & Neurath, 1981; Zhou *et al.*, 2011; Navarrete del Toro & García Carreño, 2019) para reduzir o tamanho das cadeias de polipéptidos e permitir a ação de exoproteases (McDonald, 1985; Barrett, 1994).

Os estudos sobre este catalisador biológico concentraram-se principalmente nos peixes, principalmente para buscar alternativas de obtenção de enzimas a partir de resíduos gerados pela indústria pesqueira (Zhou *et al.*, 2011). Entretanto, os estudos em crustáceos são limitados quando comparados com aqueles relatados em peixes e organismos terrestres (Balti *et al.*, 2012; Navarrete del Toro & García-Carreño, 2019), apenas cerca de 36 investigações entre 1980 até hoje que apontam para esta enzima e quase um terço delas foram realizadas nos últimos cinco anos (13 estudos), isto pode ser devido ao fato de que os estudos foram canalizados e focalizados na tripsina, já que esta pode representar até 60% da atividade proteolítica digestiva (Cruz-Suarez, 1996; Muhlia-Almazán *et al.*, 2008).

As primeiras pesquisas sobre a detecção desta enzima não a consideraram relevante (Lee *et al.*, 1984; Glass & Stark, 1994); entretanto, este pensamento tem mudado à medida que a presença de quimotripsina tem sido encontrada em vários estudos sobre crustáceos (Tsai *et al.*, 1986; Tsai *et al.*, 1991; Von Elert *et al.*, 2004; Navarrete del Toro *et al.*, 2015; Torres Ochoa, 2020) (Tabela 1).

Caracterização enzimática em crustáceos

Na maioria das pesquisas realizadas sobre crustáceos, a quimotripsina não é avaliada especificamente, mas faz parte duma bateria de protocolos de estudo de enzimas digestivas. Da mesma forma, grande parte da caracterização foi feita em crustáceos decápodes como o camarão tigre *Penaeus monodon*, o camarão malaio *Macrobrachium rosenbergii*, o camarão branco *Penaeus vannamei*, a lagosta comum do Caribe *Panulirus argus*, a lagosta vermelha *Panulirus interruptus* e o camarão marrom *Penaeus californiensis* (Tsai *et al.*, 1986; Tsai *et al.*, 1991; Hernández-Cortes *et al.*, 1997; Perera *et al.*, 2008; Bibo-Verdugo *et al.*, 2015; Navarrete del Toro *et al.*, 2015; Torres-Ochoa, 2020); por serem espécies exploradas ou com potencial para serem exploradas em culturas aquícolas (Espinosa-Chaurand *et al.*, 2019; Torres-Ochoa *et al.*, 2020).



Tabela 1. Estudos em crustáceos abordando a ocorrência de quimotripsina, período 1980-2020

Espécie	Nome comum	Caracterização	Estudo
1. <i>Artemesia longinaris</i>	Camarão de cara longa	Não	Fernández-Gimenez <i>et al.</i> , 2002.
2. <i>Artemia salina</i>	Artemia	Sim	Serrano, 2015
3. <i>Caridina cantonensis</i>	Camarão abelha, camarão vidro	Não	Kattakdad <i>et al.</i> , 2018
4. <i>Daphnia magna</i>	Pulga d'água, Daphnia	Sim	VonEiert <i>et al.</i> , 2004
5. <i>Homarus americanus</i>	Lagosta americana	Não	Brockerhoff <i>et al.</i> , 1970
6. <i>Lithodes santolla</i>	Caranguejo aranha da Patagônia	Não	Bañuelos-Vargas <i>et al.</i> , 2018
7. <i>Macrobrachium amazonicum</i>	Camarão de rio, camarão da Amazônia	Não	Da Silva <i>et al.</i> , 2014
8. <i>Macrobrachium australiense</i>	Camarão de rio, langostim,	Não	Bonorino & Anderson, 2009
9. <i>Macrobrachium carcinus</i>	Acamaya	Não	Manriquez-Santos <i>et al.</i> , 2018
10. <i>Macrobrachium rosenbergii</i>	Camarão malaio	Não	Tsai <i>et al.</i> , 1986
11. <i>Macrobrachium tenellum</i>	Camarões, pigua	Não	Espinosa-Chaurand <i>et al.</i> , 2017; Montoya, 2018; Espinosa-Chaurand <i>et al.</i> , 2019.
12. <i>Metacarcinus edwardsii</i>	Caranguejo Marmola	Não	Bañuelos-Vargas <i>et al.</i> , 2018
13. <i>Metapenaeus bennetae</i>	Camarão	Não	Bonorino & Anderson, 2009
14. <i>Metapenaeus monoceros</i>	Camarão pintado	Não	Tsai <i>et al.</i> , 1986
15. <i>Penaeus californiensis</i>	Camarão marrom	Sim	Navarrete del Toro <i>et al.</i> , 2015; Torres-Ochoa, 2020
16. <i>Penaeus chinensis</i>	Camarão de carne, camarões de carne	Não	Shiet <i>et al.</i> , 2008; Xue <i>et al.</i> , 2013
17. <i>Penaeus esculentus</i>	Camarão tigre marrom	Não	Bonorino & Anderson, 2009
18. <i>Penaeus indicus</i>	camarão indiano	Sim	Omondi, 2005
19. <i>Penaeus japonicus</i>	Camarão Kuruma	Não	Tsai <i>et al.</i> , 1986
20. <i>Penaeus monodon</i>	Camarão Tigre	Sim	Tsai <i>et al.</i> , 1986; Tsai <i>et al.</i> , 1991; Jiang <i>et al.</i> , 1991
21. <i>Penaeus notialis</i>	Camarão rosa do sul	Não	Fernández <i>et al.</i> , 1997
22. <i>Penaeus paulensis</i>	Camarão de São Paulo	Sim	Souza <i>et al.</i> , 2009
23. <i>Penaeus penicillatus</i>	Camarão de cauda vermelha	Não	Tsai <i>et al.</i> , 1991
24. <i>Penaeus plebejus</i>	Camarão	Não	Bonorino & Anderson, 2009
25. <i>Penaeus schmitti</i>	Camarão branco do sul, camarão branco do Caribe	Não	Lemos <i>et al.</i> , 2002
26. <i>Penaeus stylirostris</i>	Camarão azul	Sim	Navarrete del Toro <i>et al.</i> , 2011
27. <i>Penaeus subtilis</i>	Camarão marrom do sul	Sim	Buarque <i>et al.</i> , 2010
28. <i>Penaeus vannamei</i>	Camarão branco, camarão branco do Pacífico	Sim	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>	Camarão branco do sul	Sim	Trellu & Ceccaldi, 1980
30. <i>Panulirus argus</i>	Lagosta comum do Caribe	Sim	Perera <i>et al.</i> , 2008
31. <i>Panulirus homarus</i>	Lagosta espinhosa	Não	Gora <i>et al.</i> , 2018
32. <i>Panulirus interruptus</i>	Lagosta vermelha	Sim	Bibo-Verdugo <i>et al.</i> , 2015
33. <i>Pleoticus muelleri</i>	Camarão argentino	Não	Fernández-Gimenez <i>et al.</i> , 2001
34. <i>Portunus pellagicus</i>	Caranguejo azul	Não	Bonorino & Anderson, 2009
35. <i>Scylla paramamosain</i>	Caranguejo de lama	Não	DuyKhoa <i>et al.</i> , 2019
36. <i>Scylla serrata</i>	Caranguejo manguê	Não	Bonorino & Anderson, 2009; Serrano, 2015

Estudos de caracterização enzimática para a identificação de quimotripsina em crustáceos avaliaram parâmetros de temperatura ótima, estabilidade térmica, pH ótimo, estabilidade de pH, ponto isoelétrico e efeito iônico, descobrindo que as faixas de atividade podem variar dependendo da espécie entre 30 e 60 °C a ótimo, entre 0 °C e 75 °C para estabilidade térmica, entre 7 e 10 a ótimo pH e estabilidade de pH entre 3 e 12 pontos (Tabela 2). No caso particular da análise isoelétrica pontual da quimotripsina,



os estudos mencionam a detecção de suas isoformas (Navarrete del Toro *et al.*, 2015), por exemplo, Hernández-Cortes *et al.* (1997) identificaram um único ponto isoelétrico em *P. vannamei*, assim como Navarrete del Toro *et al.* (2015) em *P. californiensis*, que determina a presença de uma única forma de quimotripsina; enquanto, Tsai *et al.* (1991) relataram a presença de dois pontos isoelétricos em *P. monodon* com valores de 3,0 e 3,2, indicando duas isoformas. Na maioria das espécies estudadas, foram encontradas duas isoformas da enzima (Navarrete del Toro *et al.*, 2011); com exceções como *Panulirus interruptus*, que apresentou cinco isoformas (Celis, 2003).

Tabela 2. Resultados da caracterização da quimotripsina em diferentes espécies de crustáceos, período 1980 - 2020

Espécie	pH ótimo	Temperatura ótima	Estabilidade de pH	Thermo estabilidade	Estudo
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 determinação

As técnicas utilizadas para a determinação da atividade do tipo quimotripsina em crustáceos são suportadas por diferentes ferramentas. Por um lado, é possível realizá-lo utilizando substratos sintéticos específicos, onde são utilizadas as técnicas descritas por Hummel (1959), Erlanger & Edel (1964) e Del Mar *et al.* (1979); por outro lado, podem ser utilizados inibidores enzimáticos, como os empregados por Tsai *et al.* (1986), Vega-Villasante *et al.* (1995) e Navarrete del Toro *et al.* (2015).

É possível que a maneira mais simples de determinar a presença de quimotripsina em organismos seja utilizando substratos específicos para a enzima, como o éster etílico de etil-tirosina labenzoyl-tirosina (BTEE) proposto na pesquisa de Hummel (1959); ou 2-Nitro-4-carboxifenil-N,N-difenilcarbamato (NCDC), mencionado por Erlanger & Edel (1964); ou Succinil-Ala-Ala-Pro-Phe-P-nitroanilida (SAAPNA ou SAAPFNA) que foi



proposto por [Del Mar et al. \(1979\)](#). O princípio pelo qual as técnicas acima funcionam é a detecção de mudanças na interação entre substrato e enzima, que promovem a liberação da molécula de corante que pode ser lida por meio da colorimetria em espectrofotometria ([Hummel, 1959](#); [Erlanger & Edel, 1964](#); [Del Mar et al., 1979](#)).

Com o método de [Erlanger & Edel \(1964\)](#), foi relatado que nenhuma atividade semelhante à quimotripsina foi detectada com *P. vannamei* e *P. setiferus* ([Lee et al., 1984](#)); enquanto que ao usar BTEE ([Hummel, 1959](#)) como substrato, foram relatados resultados contraditórios, pois não foi encontrada atividade da enzima quimotripsina em espécies como *H. gammarus* ([Glass & Stark, 1994](#)), mas foi detectada atividade em *P. bennetae*, *P. plebejus*, *M. austreliense* e *S. serrata* ([Bonorino & Anderson, 2009](#)). O uso do SAAPNA como substrato ([Del Mar et al., 1979](#)) é um dos mais utilizados até hoje para sua detecção, por ser um substrato muito sensível à atividade quimotripsina ([Tsai et al., 1986](#)), mostrando sua atividade em todos os estudos em que foi utilizado, como a pesquisa realizada em *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](#)) e *P. californiensis* ([Navarrete del Toro et al., 2015](#); [Torres-Ochoa, 2020](#)).

Assim como se deseja observar a atividade da quimotripsina, também é estudada a inibição da quimotripsina, que é realizada juntamente com sua caracterização ou presença através de substratos específicos, e cuja finalidade é tornar evidente a inibição total ou parcial da hidrólise enzimática na presença dessas substâncias ([García-Carreño, 1992](#)). Os inibidores enzimáticos mais utilizados para a quimotripsina são chymostatin ([Tsai et al., 1986](#)); tosyl phenylalanine chloromethyl ketone (TPCK) ([Tsai et al., 1986](#); [Hernández-Cortes et al., 1997](#); [Omondi, 2005](#); [Navarrete del Toro et al., 2015](#); [Manriquez-Santos et al., 2018](#)); carbobenzoxifenilalanina clorometil-cetona (ZPCK) ([Lemos et al., 2000](#)); fluoreto de fenilmetilsulfonil (PMSF) ([Tsai et al., 1986](#); [Hernández-Cortes et al., 1997](#); [Omondi, 2005](#); [Bibo-Verdugo et al., 2015](#); [Manriquez-Santos et al., 2018](#)); inibidor de tripsina derivado da soja (SBTI) ([Tsai et al., 1986](#); [Manriquez-Santos et al., 2018](#)); e Z-L-allaniglycyl-L-phenylalanine-chloroketone (ZAGPCK, acrónimos em inglês) ([Tsai et al., 1986](#); [Chen et al., 1991](#)).

Conhecer a estrutura, função, características físico-químicas dos limiares de atividade, substratos de reação, assim como inibição, pode nos ajudar a caracterizar esta enzima de forma adequada, o que nos leva a pensar na formulação de alimentos funcionais para as espécies de interesse, nos possíveis recursos com os quais estes organismos se alimentam, ou mesmo em seu potencial como biomolécula em processos biotecnológicos para o tratamento e uso de diferentes substratos. Assim, desde o conhecimento fisiológico básico até a aplicação industrial, a compreensão deste tipo de enzima proporcionará um avanço em seu estudo e denotará caminhos de pesquisa e aplicação.



Função e ação da quimotripsina

Embora a atividade enzimática do tipo quimotripsina tenha sido registrada desde os anos 80 com os estudos de [Galgani et al. \(1984\)](#), sempre foi considerada como uma enzima com baixa atividade catalítica em crustáceos ([García-Carreño et al., 1994](#); [Cruz-Suarez, 1996](#)); sua presença nesses organismos foi até questionada, como na pesquisa de [Lee et al. \(1984\)](#), onde especificaram que a atividade enzimática do tipo quimotripsina era inexistente nos juvenis de *P. monodon*, semelhante ao que tem sido relatado em outras espécies de crustáceos como *H. americanus* ([Brockhoff et al., 1970](#)), *Lithodesa esquispinus* e *Paralithodescam tschaticus* ([Galgani & Nagayama, 1987](#)), onde se chega à mesma conclusão. Possivelmente porque a atividade desta enzima não foi detectada nas primeiras investigações, houve uma diminuição do interesse em estudos relacionados a ela ([García-Carreño et al., 1994](#); [Von Elert et al., 2004](#); [Omondi, 2005](#)), o que causou um atraso no corpo de informações sobre esta enzima, em comparação com a tripsina ([Muhlia-Almazán et al., 2008](#)). Como resultado, há uma falta de informação sobre os mecanismos de ação da quimotripsina nos processos de digestão de crustáceos ([Bibo-Verdugo et al., 2015](#); [Navarrete del Toro & García Carreño, 2019](#)).

Esta falta de informação torna-se mais evidente quando se comparam as informações disponíveis sobre a quimotripsina com relação à tripsina; que tem sido a enzima digestiva mais estudada em crustáceos e é considerada responsável por aproximadamente 60% da atividade proteolítica digestiva nestes organismos ([Vega-Villasante et al., 1995](#); [Albuquerque-Cavalcanti et al., 2001](#); [Carrillo-Farnés et al., 2007](#); [Muhlia-Almazán et al., 2008](#)). A importância dada à tripsina deve-se principalmente ao fato de ter sido a primeira protease detectada e caracterizada em crustáceos ([Muhlia-Almazán et al., 2008](#); [Sainz-Hernandez & Cordova-Murueta, 2009](#)). Para sua detecção, as técnicas de [Erlanger et al. \(1961\)](#), que usa benzoil-arginina 4-nitroanilida cloridrato (BAPNA); e [Hummel \(1959\)](#), onde é usado o cloridrato de tosil-arginina metiléster (TAME), são comumente usadas. Ambos os métodos foram desenvolvidos para a detecção da tripsina em outros organismos, entretanto, seu uso foi ratificado para a detecção da quimotripsina em crustáceos ([Brockhoff et al., 1970](#); [Sainz et al., 2004](#); [Von Elert et al., 2004](#); [Omondi, 2005](#); [Navarrete del Toro et al., 2011](#)).

Não foi até o desenvolvimento de outros substratos, como o SAAPNA, que foi possível detectar a presença da atividade hidrolítica da quimotripsina ([García-Carreño et al., 1994](#)). Apesar disso, as pesquisas sobre essa enzima em crustáceos continuaram a se concentrar na detecção e análise da tripsina, deixando de lado a análise da quimotripsina, que era considerada uma enzima complementar com baixa atividade ([Muhlia-Almazán et al., 2008](#); [Sainz-Hernández & Córdoba-Murueta, 2009](#)).

A razão provável pela qual a enzima não hidrolisa o substrato BTEE é a declarada por [Tsai et al. \(1986\)](#), onde é mencionado que embora o BTEE tenha os aminoácidos sobre os quais a quimotripsina atua, falta-lhe outros aminoácidos que interagem de forma



secundária com a enzima para que possa desempenhar sua função, isto também é mencionado por [Van Wormhoudt et al. \(1992\)](#), quando relatam que a quimotripsina de crustáceos é mais reativa aos substratos naturais do que aos sintéticos, devido apenas ao comprimento das cadeias de polipeptídeos.

Isto levou a que a tripsina fosse considerada a protease responsável pela maior porcentagem de hidrólise de proteínas ([Carrillo-Farnés et al., 2007](#); [Muhlia-Almazán et al., 2008](#)). Entretanto, estudos subsequentes consideram que a enzima com maior capacidade de hidrólise é a quimotripsina ([Tsai et al., 1986](#); [Buarque et al., 2010](#); [Navarrete del Toro et al., 2011](#); [Gora et al., 2018](#)), e a esta enzima não foi dada maior importância. Por esta razão, são observadas lacunas de informação e surgem novas questões em torno da atividade desta enzima, pois a falta de informação obriga os pesquisadores a utilizarem modelos de atividade enzimática de outros grupos de organismos ([Navarrete del Toro & García-Carreño, 2019](#)), estabelecendo assim uma área de oportunidade para gerar novos e básicos conhecimentos que afetam os estudos da fisiologia digestiva deste grupo de organismos que são tão importantes como fonte de alimento para os seres humanos.

Entre as novas áreas de estudo da quimotripsina está seu papel na atividade colagenolítica ([Navarrete del Toro et al., 2015](#)), que envolve uma revisão desde a classificação até as aplicações, e hoje em dia, equipamentos mais precisos, conhecimentos gerados e adaptação de técnicas tornam viável a obtenção de resultados específicos.

A função colagenolítica da quimotripsina lhe confere uma semelhança com a enzima braquyurina ([Hernández-Cortes et al., 1997](#); [Navarrete del Toro et al., 2015](#)); neste sentido, [Rudenskaya \(2003\)](#) propõe uma abordagem para a separação da quimotripsina e da braquiurina em dois grupos distintos de enzimas, pois ao analisar a estrutura da cadeia de aminoácidos que compõem as braquiurinas, observou-se que existem diferenças com a quimotripsina nas cadeias de polipeptídeos, principalmente nos aminoácidos responsáveis pela ancoragem da enzima à cadeia de polipeptídeos a serem hidrolisados. Ao contrário disso, [Navarrete del Toro & García-Carreño \(2019\)](#) afirma que a classificação das braquyurinas é incorreta e não deve ser considerada como um grupo de enzimas distintas da quimotripsina, já que nos crustáceos a atividade colagenolítica da quimotripsina é uma generalidade. Devido a estas diferentes posições e à falta de informações mais precisas a este respeito, sugere-se que estes grupos sejam denominados como enzimas digestivas com atividade semelhante à quimotripsina ([Navarrete del Toro & García-Carreño, 2019](#)).



Quimotripsina em crustáceos

Embora existam poucos estudos de quimotripsina em espécies de crustáceos economicamente importantes, esta é replicada em outros grupos de organismos aquáticos como peixes (Lauff & Hofer, 1984; Rungruangsk-Torrissen *et al.*, 2006; Castillo-Yañez *et al.*, 2009; Hadj Ali *et al.*, 2010). Neste grupo, a quimotripsina é composta de uma única cadeia de polipeptídeos (Lauff & Hofer, 1984; Zhou *et al.*, 2011), como nos crustáceos (Hernández-Cortes *et al.*, 1997; Navarrete del Toro *et al.*, 2015), e os estudos se concentraram principalmente na comparação da atividade de quimotripsina entre organismos deste grupo, utilizando padrões de enzimas derivadas de ruminantes (Tsukada & Blow, 1985). Segundo esses estudos, observou-se que a quimotripsina demonstrou ter uma atividade hidrolítica superior à de sua contraparte mamífera (Lauff & Hofer, 1984; Celis, 2003; Rungruangsk-Torrissen *et al.*, 2006; Zhou *et al.*, 2011; Navarrete del Toro *et al.*, 2015).

Como mencionado acima, em crustáceos comercialmente importantes, a pesquisa sobre o estudo da quimotripsina, desde 2000, tem se concentrado principalmente em espécies como *P. chinensis* (Shi *et al.*, 2008), *P. subtilis* (Buarque *et al.*, 2010), *P. vannamei* (Navarrete del Toro *et al.*, 2011), assim como estudos sobre esta enzima também foram realizados sobre espécies que mostram potencial a ser exploradas em condições de cultivo, como *P. indicus* (Omondi, 2005), *P. californiensis* (Navarrete del Toro *et al.*, 2015; Torres-Ochoa, 2020), e *M. tenellum* (Espinosa-Chaurand *et al.*, 2017); isto porque é de grande importância ter informações sobre dinâmica enzimática e fisiologia digestiva dos organismos (Gamboa-Delgado *et al.*, 2003; Simon, 2009) para influenciar e usar seu potencial fisiológico na formulação de rações (Carrillo-Farnés *et al.*, 2007; Simon, 2009; Buarque *et al.*, 2010) e conseqüentemente aumentar o rendimento das culturas comerciais. Este potencial fisiológico digestivo em crustáceos é evidenciado pelos resultados da atividade de quimotripsina durante a digestão de proteínas, pois sua atividade libera polipéptidos menores sobre os quais outras enzimas atuam para obter os diferentes aminoácidos presentes (Tsai *et al.*, 1991; Navarrete del Toro & García-Carreño, 2019).

Foram realizadas análises da atividade da quimotripsina entre organismos silvestres e organismos em sistemas de cultivo, como a realizada por Da Silva *et al.* (2014) em *M. amazonicum*, onde relatam que a atividade enzimática da quimotripsina, e proteases em geral, é maior em organismos cultivados; em contraste, em *P. californiensis*, Torres-Ochoa (2020) observaram que a atividade desta enzima era menor em organismos cultivados do que em organismos silvestres. Estas discrepâncias podem ser devidas a duas situações particulares, o tipo de alimento ou substrato e o momento do consumo ou tempo entre a alimentação (fome esporádica). Tem sido mencionado que a atividade de quimotripsina tem sido melhor observada a partir de substratos mais específicos, como o SAAPNA, e em magnitude diferente de acordo com o tipo de ingrediente ou dieta avaliada, que em organismos cultivados é supervisionada e garantida,



promovendo estabilidade na dinâmica e no ciclo digestivo desses organismos. Ao contrário do que pode ocorrer com um organismo selvagem que consome tudo o que está disponível, quando está disponível e geralmente apenas um ou dois ingredientes diferentes, o que levaria à possível explicação de onde o status alimentar e alimentar das amostras selvagens nestes estudos é totalmente desconhecido.

No caso da fome, existe a possibilidade de organismos silvestres apresentarem uma maior reserva de zymogens, que só podem ser ativados na presença do substrato, de modo que possam ser preparados para o processamento desses substratos, enquanto os organismos alimentados apresentam valores mais baixos, pois estão constantemente usando enzimas para processos digestivos (Gora *et al.*, 2018; Torres-Ochoa, 2020). Gora *et al.* (2018) realizaram um estudo com *P. homarus*, onde avaliaram as diferenças na atividade enzimática sob inanição e esquemas dietéticos, relatando que os organismos alimentados apresentaram menor atividade enzimática do que aqueles sob inanição. Isto é possível porque os organismos selvagens podem passar por períodos de fome quando o alimento não está disponível e quando o encontram, devem ingeri-lo rapidamente para evitar competição com outros animais. Portanto, é necessário que eles tenham uma alta reserva de zymogens, que quando ativados são capazes de hidrolisar rapidamente os alimentos para aproveitar ao máximo os nutrientes disponíveis.

CONCLUSÕES

Até agora, a quimotripsina em crustáceos é considerada como uma enzima com pouca ou nenhuma atividade dentro da dinâmica enzimática digestiva destas espécies; entretanto, seu estudo é de suma importância para entender a biodisponibilidade dos aminoácidos, especialmente triptofano, tirosina e fenilalanina. Assim como compreender o mecanismo de hidrólise de grandes resíduos envolvendo a presença de aminoácidos essenciais para estas espécies, como metionina e leucina. Devido aos avanços nas técnicas de avaliação da atividade enzimática e do uso de substratos sintéticos como o SAAPNA, foi possível, por um lado, detectar a presença desta enzima em crustáceos e, por outro, compreender com mais detalhes a fisiologia digestiva destas espécies. Isto servirá para definir diretrizes nutricionais nas quais é possível otimizar e fazer uso eficiente dos ingredientes em alimentos funcionais, estabelecer correlações de alimentação e estudar o comportamento tanto em organismos selvagens quanto cultivados, e nos permitirá explorar novos usos biotecnológicos desta enzima e sua possível aplicação na hidrólise de proteínas.



AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Marco Antonio Cadena Roa, que forneceu apoio e orientação para os projetos que resultaram neste artigo. O apoio fornecido pelo pessoal da Oficina de Frutos do Mar da UABCS México, pelos membros do laboratório de alimentos da Unidade Académica Pichilingue da UABCS e do Laboratório de Ecofisiologia de Organismos Aquáticos da UNCIBNOR, pelo o apoio a este manuscrito como parte do bacharelato 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, AndersonAJ. 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 sagaxcaerulea*), 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_I.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* (Forsk.) 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-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 α -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

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 α -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/ajbbbsp.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)

[Errata Erratum](#)

<https://abanicoacademico.mx/revistasabanico-version-nueva/index.php/abanico-veterinario/errata>