

25 RA - USO DE L-FENILALANINA AMONIO LIASA DE *Rhodospodium toruloides* INMOVILIZADA POR ENTRAMPAMIENTO EN MEMBRANAS CELULÓSICAS.

CASTAÑEDA, M. T.1; ADACHI, O.2; HOURS, R. A.1

1. Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI; UNLP, CONICET La Plata). Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata. 47 y 115, (B1900ASH) La Plata, Argentina.

E-mail: castaneda@biotec.quimica.unlp.edu.ar

2. Departamento de Química Biológica, Facultad de Agricultura, Universidad de Yamaguchi, Yamaguchi 753-8515, Japón.

Resumen

L-Fenilalanina amonio liasa (PAL, EC 4.3.1.25) cataliza la desaminación de L-fenilalanina (L-Phe) produciendo ácido *t*-cinámico (*t*-CA) y amoníaco. PAL ha sido estudiada por su potencial uso en el tratamiento de fenilcetonuria (PKU), enfermedad congénita caracterizada por la deficiencia de las enzimas intervinientes en el metabolismo de la Phe. Como consecuencia de ello, en pacientes con PKU, la Phe se acumula en el torrente sanguíneo produciendo graves trastornos a nivel del SNC. Actualmente, el tratamiento consiste en una dieta con escaso o nulo contenido de Phe, suplementada con preparados sintéticos de aminoácidos. Dentro de los potenciales usos de PAL se encuentra la reducción del contenido de Phe en hidrolizados proteicos empleados como ingredientes alimenticios. En este trabajo se evaluó la factibilidad de uso de PAL inmovilizada por entrampamiento en membranas celulósicas, considerando su potencial empleo en la reducción del contenido de Phe en hidrolizados proteicos. Se cultivó *R. toruloides* NBRC 0559 en un medio óptimo para producción de PAL, la cual fue extraída y purificada por método de Adachi *et al.* (1990). La enzima fue posteriormente inmovilizada en membranas de celulosa (Viskase Corp., UC 8-32-25) para ser empleada en dos tipos de sistemas: a) Continuo con recirculación en columna y b) Batch con agitación. Como sustrato modelo se empleó L-Phe disuelta en buffer Tris-HCl (0,1 M, pH 8,5) con 5 mM de 2NaEDTA. La reacción se siguió espectrofotométricamente (DO₂₉₀), evaluando la producción de *t*-CA.

Los mejores resultados en cuanto a la reducción de Phe se obtuvieron empleando el sistema batch con agitación en vez del sistema continuo en columna con recirculación. Esto puede deberse al efecto de la agitación que reduce el espesor de la película estanca adyacente a la membrana, aumentando la velocidad de flujo. Uno de los factores más influyentes resultó ser el espesor de membrana, ya que empleando una membrana más fina (0,0203 mm en vez de 0,0508 mm), la velocidad de reacción aumentó considerablemente. Esto implicaría que la difusión de sustrato y/o producto a través de la membrana sería el factor limitante de la velocidad de reacción. Aplicando estas mejoras pudo lograrse la eliminación completa de una solución 0,1 mM de L-Phe en 6 h. Se concluye que PAL inmovilizada por entrampamiento en membranas celulósicas es un método alternativo viable para la reducción del contenido de Phe en soluciones diluidas. Este método podría extrapolarse a sustratos más complejos como lo son los hidrolizados proteicos.