

26 RA - CARACTERIZACIÓN Y EMPLEO DE UN BIOCATALIZADOR INMOVILIZADO PARA LA REDUCCIÓN DEL CONTENIDO DE L-FENILALANINA EN CASAMINOÁCIDOS

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

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

Resumen

L-Fenilalanina amonio liasa (PAL) cataliza la bioconversión de L-fenilalanina (L-Phe) en ácido *t*-cinámico (*t*-CA) y amoníaco. PAL reviste importancia por su potencial uso en el tratamiento de fenilcetonuria (PKU), enfermedad genética caracterizada por la incapacidad de metabolizar la Phe. Como resultado, los pacientes con PKU sufren serios daños a nivel del SNC. Hasta la actualidad, el único tratamiento posible es una dieta con bajo o nulo contenido de Phe, suplementada con preparados sintéticos de aminoácidos.

En este trabajo se caracterizó un biocatalizador inmovilizado consistente en células de la levadura *Rhodospiridium toruloides* conteniendo PAL, con el objetivo de emplearlo en la reducción de Phe en una mezcla compleja de aminoácidos (casaminoácidos).

Se cultivó *R. toruloides* en medio óptimo para la producción de PAL, las células se resuspendieron en buffer Tris-HCl (0,1 M, pH 8,5) con 1 mM de 2NaEDTA y se inmovilizaron en matriz de alginato de calcio. El biocatalizador así obtenido se caracterizó en términos de: concentración celular (5-20 mg/ml), concentración de Phe (1-10 mM), termostabilidad (20-70°C, 10 min), temperatura óptima (20-70°C, 2 h), viscosidad del AlgNa empleado (80-120 y 300-400 cP) y reutilización. Una vez fijadas las condiciones óptimas para Phe como sustrato, se empleó el biocatalizador en columna termostatizada con 35 g/l de casaminoácidos (CAA, DIAGO), conteniendo aproximadamente 5 mM de Phe. El curso de la bioconversión se siguió espectrofotométricamente (DO₂₉₀) por formación de *t*-CA. Para una solución 1 mM de Phe, no se observaron incrementos de DO₂₉₀ más allá de 10 mg/ml de biocatalizador. Con estas concentraciones celulares, se obtuvieron aumentos proporcionales para 5 y 10 mM de Phe. En cuanto a la termostabilidad, la actividad se mantuvo constante hasta los 50°C, decayó levemente a los 60°C y se inactivó completamente a 70°C. La temperatura óptima resultó ser de 50°C. La viscosidad del AlgNa empleado no influyó significativamente en la actividad PAL; sin embargo, le confirió mayor resistencia mecánica al biocatalizador. Éste fue reutilizado 6 veces sin perder actividad; luego se degradó parcialmente, probablemente debido a los reiterados impactos mecánicos ocasionados por la agitación. Finalmente, el biocatalizador se empleó con CAA como sustrato, logrando una reducción significativa de Phe luego de 6 h de tratamiento. En conclusión, el biocatalizador obtenido es capaz de reducir substancialmente el contenido de Phe en un hidrolizado complejo como lo es el CAA. El ingrediente así obtenido puede incorporarse a la dieta de pacientes con PKU.