**Obtención de Koji de yerba mate con actividad CHasa: Influencia del tipo de residuo, nutrientes y tiempo**

Butiuk AP (1), Matvichuk MJ (1), Martos MA (1), Adachi O (2), Hours RA (3)

1. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales (FCEQyN), UNaM, Félix de Azara 1552, Posadas, Misiones, Argentina.
2. Departamento de Química Biológica, Facultad de Agricultura, Universidad de Yamaguchi, Yamaguchi, Japón.
3. Centro de Investigación y Desarrollo en Fermentaciones Industriales (CINDEFI, UNLP, CONICET La Plata), Facultad de Ciencias Exactas, UNLP. 47 y 115, La Plata, Buenos Aires, Argentina.

anabutiuk@fceqyn.unam.edu.ar

El proceso de fermentación sobre sustrato sólido (FSS) ha sido ampliamente utilizado para la obtención de enzimas microbianas, por su bajo costo y simplicidad, permitiendo además el aprovechamiento de subproductos de la agro-industria. La clorogenato hidrolasa (CHasa, EC 3.1.1.42) es una enzima microbiana, inducible, de interés industrial que cataliza la hidrólisis del ácido clorogénico (ACG), liberando cantidades equimolares de ácidos quínico (AQ) y cafeico (AC), químicos finos de interés industrial. La yerba mate (Ilex paraguariensis) contiene altos niveles de ACG, y puede ser utilizada como sustrato e inductor para la producción de la enzima CHasa por hongos filamentosos*.* El objetivo del presente trabajo fue cultivar hongos del género *Aspergillus* sobre residuos de yerba mate mediante FSS para la obtención de un material fúngico sólido con actividad CHasa (koji), y evaluar el efecto de diferentes factores sobre la producción de la enzima. Las cepas de *A. niger* AKU 3302 y *A. sojae* AKU 3312 fueron cultivadas en frascos Erlenmeyers conteniendo medio Czapek líquido a 30°C, durante 48 h, con agitación. El contenido total de cada Erlenmeyer, compuesto por pellets y medio de cultivo semi-agotado, fue utilizado para inocular bandejas de madera conteniendo residuos de yerba mate (YM) estéril. Las bandejas fueron incubadas a 30°C durante 7 días. Se determinó el efecto del tipo de residuo de YM sobre la producción de la enzima: a) mezcla compuesta por 80% del derrame en tolva y molino y 20% polvo de descarte (RTM80/PD20); b) 100% polvo de descarte (PD) y c) 100 % garrote molido y tamizado (GMT). Posteriormente se evaluó, el efecto del tiempo de fermentación (7 y 14 días) y el agregado de sacarosa (5 y 10 g/L) y NO3Na (0 y 2 g/L) al sustrato sólido, utilizando en este último caso un diseño factorial 22. La actividad CHasa del koji producido a partir del crecimiento de *A. niger* AKU 3302 y *A. sojae* AKU 3312 sobre RTM80/PD20 durante 7 días, fue de ~2,06 UE/gkoji y ~1,21 UE/gkoji, respectivamente. *A. niger* AKU 3302 fue seleccionado para los estudios posteriores. La producción de la enzima fue despreciable cuando los cultivos se realizaron sobre PD o GMT. La actividad CHasa del koji obtenido a los 14 días de cultivo fue de 0,64 UE/gkoji, valor este inferior al obtenido a los 7 días. El diseño factorial 22 reveló que la sacarosa influyó significativamente y de manera positiva sobre la producción de la enzima (P< 0,05), mientras que la influencia del nitrógeno no fue significativa (P>0,05). El mayor valor de actividad CHasa del koji, con 10 g/L de sacarosa fue de 3,67 ± 0,18 UE/gkoji.

Se preparó un koji *de A. niger* AKU 3302 con elevada actividad CHasa, utilizando residuos de la industria yerbatera como soporte e inductor, para su uso posterior como biocatalizador naturalmente inmovilizado.

*Agradecimientos*: esta investigación fue parcialmente financiada por el Instituto Nacional de la Yerba Mate (INYM, Argentina) y por el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), a través de un proyecto PIO CONICET-INYM.

Palabras Clave:Ilex paraguariensis, *Aspergillus*, fermentación sobre sustrato sólido, diseño factorial, biocatalizador inmovilizado.