**Bioconversión de ácido clorogénico de extractos de Yerba Mate utilizando koji con actividad CHasa**

Butiuk AP (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

La yerba mate (Ilex paraguariensis) es una planta autóctona de la región central del Mercosur, y es tradicionalmente utilizada como infusión. La yerba mate contiene un elevado contenido de ácido clorogénico (ACG), tanto en palos (residuos de la industria yerbatera), como en las hojas. El ACG es el éster de ácido cafeico (AC) y el ácido L-quínico (AQ). La clorogenato hidrolasa (CHasa, EC 3.1.1.42), es una enzima que cataliza la hidrólisis del ACG, liberando AQ y AC, químicos finos que no se producen en nuestro país. El AC, es ampliamente utilizado debido a su reconocida capacidad antioxidante, y el AQ es considerado un intermediario clave en la síntesis de nuevos fármacos. CHasa es producida por diferentes especies de hongos filamentosos (género *Aspergillus*) en forma intracelular, cuando son cultivados mediante fermentación en medio líquido o sobre sustratos sólidos (FSS), suplementados con materiales vegetales ricos en ACG. De estudios previos se determinó que cuando cepas de *Aspergillus* sp fueron cultivadas sobre residuos de yerba mate, produjeron un material sólido con actividad CHasa, denominado “koji de yerba mate (KYM)”. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad del koji de *Aspergillus* sp con actividad CHasa, como biocatalizador naturalmente inmovilizado, para producir, a partir de extractos acuosos de Yerba Mate, la bioconversión del ACG. *A.* *niger* AKU 3302 y *A. sojae* AKU 3312 fueron cultivados en medio Czapek líquido a 30°C, durante 48 h, con agitación, en frascos Erlenmeyers. El contenido de cada Erlenmeyer fue utilizado para inocular bandejas de madera conteniendo muestras de yerba mate estéril. Las bandejas fueron incubadas a 25 °C hasta que el micelio fúngico se desarrolló. El KYM obtenido fue recolectado y utilizado como relleno de una columna de vidrio (5 x 60 cm), equilibrada con buffer fosfato de sodio (BFS, pH 6,5). A continuación, se hizo circular a través de la columna, una solución al 2,5% (p/v) de mate cocido instantáneo en BFS, a un caudal constante de 5 mL/min y a 30 ºC. La determinación cuantitativa de AQ se realizó por espectrofotometría. La concentración de AQ inicial en la solución de alimentación fue de 12,79 µmol AQ/mL. Luego de la circulación del extracto de yerba mate a través del biorreactor, el ACG inicialmente presente fue convertido en AC y AQ, alcanzándose una concentración de AQ de 68,58 µmol AQ/mL, luego de 24 h de recirculación. Se confirmó la eficacia del KYM como biocatalizador inmovilizado para la bioconversión del ACG de la yerba mate, en AQ y AC. La Yerba Mate puede ser utilizada como materia prima tanto para la extracción de ácido clorogénico, como para la preparación del koji de *Aspergillus* sputilizado en su bioconversión, siendo este un proceso novedoso y de bajo impacto ambiental.

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, ácido cafeico, ácido quinico, *Aspergillus*, biocatalizador naturalmente inmovilizado.