



Hidrólisis enzimática en medios no acuosos: el caso de sustratos altamente hidrofóbicos

Mauricio Mora¹, Jessica González¹, Leonardo Ríos¹, Sofía Morán¹, Sandra Pérez¹, Jonathan Dordick² y Eduardo Bárzana¹

¹Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, UNAM, México D.F. 04510

²Department of Chemical and Biological Engineering, Rensselaer Polytechnic Institute, Troy, NY 12180-3590

La obtención de productos de hidrólisis en medios orgánicos apolares se ve muchas veces limitada por la baja solubilidad del agua. Conocer los fenómenos dominantes en estos sistemas es de utilidad. Un sustrato altamente hidrofóbico y de interés industrial son los diésteres de luteína obtenidos de extractos de plantas y en particular de la flor de cempasuchil (*Tagetes erecta*). El producto desesterificado (luteína libre) presenta aplicaciones novedosas dentro del campo de los nutraceuticos por su efecto antioxidante y como tratamiento para evitar el daño oxidativo de la mácula ocular. Usualmente su obtención se lleva a cabo por un proceso de saponificación posterior a la extracción del diéster con hexano. Contar con un proceso de extracción-reacción mediado por lipasas activas en el hexano, que elimine la etapa de saponificación y simplifique la purificación de la luteína libre, resulta de interés.

En el estudio aquí reportado se emplearon dos lipasas comerciales inmovilizadas (Novozym 435 y Lipozyme RM IM amablemente donadas por Novo México) para conocer el efecto de la actividad acuosa (a_w) del biocatalizador sobre la rapidez de hidrólisis de diésteres de luteína en hexano. Con fines comparativos se llevaron a cabo también estudios preliminares con CO_2 en condiciones supercríticas (CO_2SC) como medio de reacción.

Contrario a lo esperado de acuerdo con la ley de acción de masas, ambas lipasas presentaron una relación inversa entre el contenido de agua y la rapidez inicial de reacción. Este comportamiento se mantuvo al emplear tolueno, isooctano o CO_2SC , por lo que el estudio representa el primer reporte sobre el papel crítico del agua en este tipo de sustratos con alta hidrofobicidad.

Se propone un modelo de adsorción en el cual el agua y los sustratos compiten por sitios no específicos en la superficie del soporte. De esta manera, se prevé que altos a_w 's resultan en la formación de una barrera hidrofílica que retrasa la difusión del sustrato hidrofóbico al sitio activo de la enzima. Esto fue confirmado al observar que, para enzima termoinactivada, la adsorción del sustrato se reduce al incrementar a_w . Cálculos y mediciones estequiométricas indican que la reacción no está limitada en agua aún a un $a_w=0.13$, condición a la cual la reacción de hidrólisis es prácticamente despreciable para otros sistemas. Interesantemente, las mayores tasas de reacción y de conversión se presentaron al emplear CO_2SC , abriendo nuevas oportunidades para su uso como medio de reacción, con importantes ventajas ecológicas sobre los disolventes orgánicos.