

# SINTESIS CATALIZADAS POR LIPASAS: OPTIMIZACION DE LAS CONDICIONES DE OPERACION

Georgina Sandoval<sup>ad</sup>, David Guieysse<sup>a</sup>, Wouter Slotema<sup>ac</sup>, Jean-Stéphane Condoret<sup>b</sup>, Adrie Straathof<sup>c</sup>, Alain Marty<sup>a</sup>.  
<sup>a</sup>DGBA-INSA 135 av Ranguueil, 31077 Toulouse, France. marty@insa-tlse.fr. <sup>b</sup>ENCIACET 31078 Toulouse, France.  
<sup>c</sup>Kluyver Lab. Delft University, The Netherlands. <sup>d</sup>CIATEJ, av Normalistas 800, 44270 Guadalajara, Jal.  
georgina@confluencia.net.

*Palabras clave: síntesis enzimática, ingeniería de solventes, termodinámica.*

**Introducción.** Las lipasas son enzimas quimio- regio y enantio-selectivas, estables y activas en solventes orgánicos. Estas características hacen de las lipasas biocatalizadores versátiles con una gran diversidad de aplicaciones en las industria alimentaria, farmacéutica, cosmética, de polímeros y de lubricantes entre otras. El uso eficiente de estas enzimas para catalizar reacciones de síntesis en medios no acuosos implica analizar y optimizar diversos factores: medio reaccional, soporte enzimático y concentraciones de sustratos.

En este trabajo se presentan algunas herramientas y estrategias para optimizar las condiciones de operación de reacciones de síntesis catalizadas por lipasas.

**Metodología.** Para la elección racional del solvente desde un punto de vista cinético, se ha desarrollado un modelo basado en actividades termodinámicas.<sup>[1]</sup> Los efectos del medio reaccional<sup>[2]</sup> y del soporte enzimático sobre la conversión al equilibrio y la estabilidad del reactor también se analizaron. Desde el punto de vista de pertinencia económica se realizó la optimización global de un proceso enzimático para la producción continua de oleamida.<sup>[3]</sup>

**Resultados y discusión.** SELECCIÓN RACIONAL DEL SOLVENTE: El modelo TABEK (Thermodynamic Activity-Based Enzyme Kinetics)<sup>[1]</sup> permite reducir drásticamente el número de experimentos necesarios para la elección del solvente. Este modelo utiliza actividades termodinámicas en lugar de las concentraciones de sustratos y con los parámetros cinéticos determinados en un solvente dado, es capaz de predecir la cinética en otros solventes (cuadro 1).

*Cuadro 1. Velocidad inicial de transesterificación (micomo/min/h) de 2-bromo-p-tolil acetato con octanol catalizada por la lipasa de B. cepacia a 30 °C en diferentes solventes a  $aw=0.04$*

Solvente	Vi (predicción)	Vi (experimental)
Octano*	92	93 ± 7
Tolueno	10.7	11.9 ± 0.03
Ciclohexano	65.8	58.5 ± 0.9
Isooctano	102	107 ± 4

\* Predicciones de Vi con los parámetros cinéticos del octano.

**EFFECTOS SOBRE EL EQUILIBRIO:** En el caso complejo de los sistemas sin solvente, se analizó el efecto de la relación molar de sustratos, encontrándose que el perfil de conversiones observadas al equilibrio es el resultado de los efectos combinados de los cambios de coeficientes de actividad, la partición del agua entre el soporte enzimático y la

fase líquida y la ley de acción de masas.

**ESTABILIDAD DEL PROCESO CONTINUO:** En un reactor enzimático continuo se puede acumular agua y otros componentes polares producidos por la reacción de síntesis, afectando a la vez la cinética y el equilibrio. Para evitar este fenómeno y mantener una conversión estable, contrariamente a lo recomendado para procesos discontinuos, encontramos que es mejor utilizar solventes hidrofílicos que permitan evacuar los compuestos polares o soportes enzimáticos hidrofóbicos que eviten la acumulación de compuestos polares (fig 1).

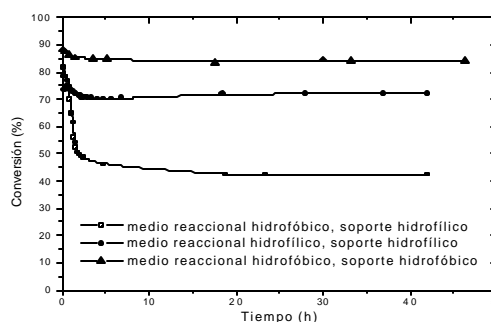


Fig. 1. Esterificación de ac. oleico con etanol en medio sin solvente.

**OPTIMIZACION GLOBAL DE UN PROCESO ENZIMATICO:** Se logró una producción de oleamida en reactor continuo de 100g/L/h, de 4 a 100 veces superior a otros procesos descritos en la literatura. La productividad fue de 4.5 ton/kg enzima/año, con lo cual el costo de la enzima representa solamente 4% del costo del producto, haciendo el proceso económicamente viable.

**Conclusiones.** Para la optimización de reacciones de síntesis enzimática se debe poner especial atención a la estabilidad y viabilidad económica del proceso y no solo elegir las mejores condiciones desde el punto de vista cinético como se hace generalmente.

## Bibliografía.

- Sandoval G, Condoret JS, Marty A. (2001). Thermodynamic Activity Based Enzyme Kinetics: an efficient tool for nonaqueous enzymology. *AIChE J.* 47(3): 718-726.
- Sandoval G, Condoret JS, Monsan P, Marty A. (2002). Esterification by immobilized lipase in solvent-free media: kinetic and thermodynamic arguments. *Biotechnol Bioeng.* 78(3): 313-320.
- Slotema WF, Sandoval G, Guieysse D, Straathof AJJ, Marty A. (2003). Economically pertinent continuous amide formation by direct lipase-catalyzed amidation with ammonia *Biotechnol Bioeng.* 82(6): 664-669.