

Au delà d'une température et une pression spécifiques (le point critique; 31,1°C et 73,8 bars), le CO₂ devient un fluide supercritique et possède des propriétés très particulières comprises entre celles d'un fluide à l'état gazeux et d'un liquide. Il est alors caractérisé par une grande diffusivité (de l'ordre de celle des gaz) et une densité élevée (de l'ordre de celle des liquides) qui le dotent d'une capacité de transport et d'extraction importante. Le CO₂ supercritique (Sc-CO₂) a de nombreux avantages (respectueux de l'environnement, non inflammable...) et constitue une alternative intéressante aux solvants organiques.¹ Bien qu'il y ait de nombreux exemples dans la littérature d'estérification de sucres catalysée par les lipases en milieux organiques,²⁻⁴ peu de travaux décrivent la synthèse enzymatique d'esters de sucres dans le Sc-CO₂.⁵⁻⁹

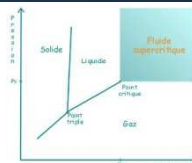
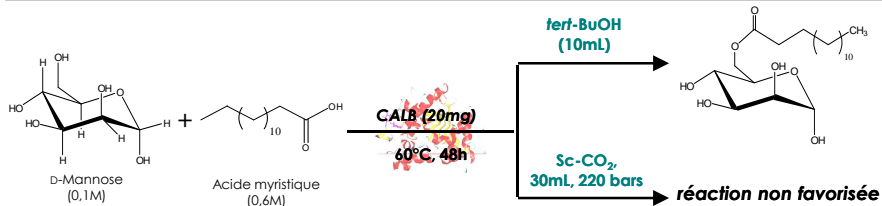


Fig 1. Diagramme de phase pression-température du CO₂

Estérification du D-Mannose catalysée par la lipase B de *Candida antarctica* immobilisée (CALB)



Rdt = 55% (α/β 90/10)

- D-Mannose non soluble
- Lipase immobilisée
- Stabilité de la lipase ?
- Solubilité des acides ?



Fig 2. Réacteur haute pression

Solubilité des acides aliphatiques dans le Sc-CO₂ à 60°C

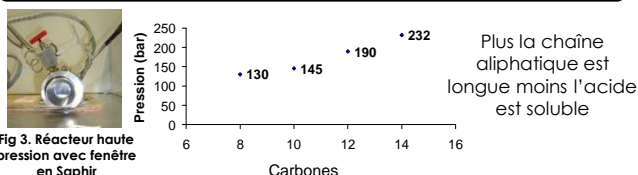
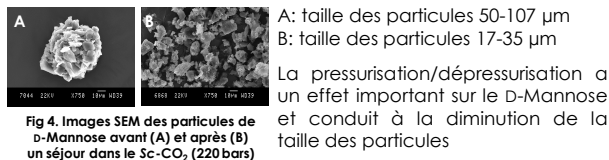


Fig 3. Réacteur haute pression avec fenêtre en Saphir

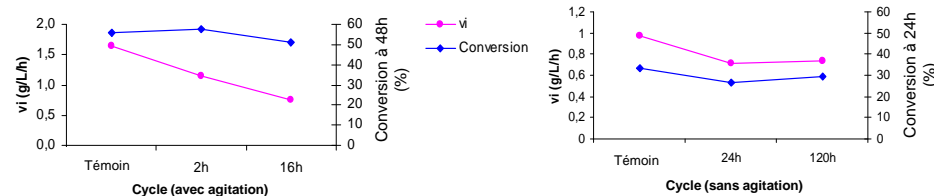
Effet du Sc-CO₂ sur le D-Mannose



Stabilité de la lipase B de *Candida antarctica* immobilisée dans le Sc-CO₂

La CALB est préalablement incubée dans le Sc-CO₂ à 200 bars et 60°C à différents temps pour plusieurs cycles de pressurisation/dépressurisation. La lipase, récupérée après dépressurisation du réacteur, est ensuite utilisée comme catalyseur dans les réactions d'estérification du D-Mannose avec l'acide myristique dans le *tert*-BuOH à 60°C et pression atmosphérique. Pour comparaison, la même réaction d'estérification est également catalysée par la lipase non incubée (non traitée = témoin). (vi = vitesse initiale)

Effet du Sc-CO₂ sur l'activité de la lipase



Activité préservée, faible effet sur le taux de conversion mais **diminution** de la vitesse initiale. Destruction du support de l'enzyme: effet de l'agitation ou de la dépressurisation?

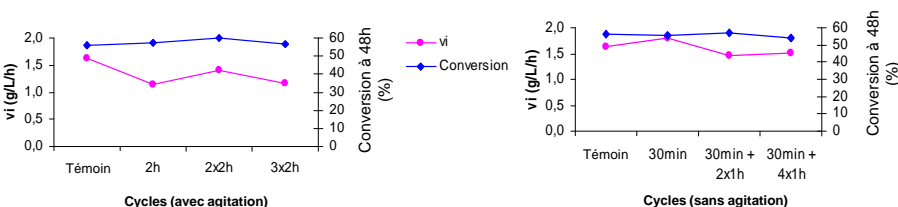
Activité préservée, faible effet sur le taux de conversion et sur la vitesse initiale. Pas d'effet de la dépressurisation

Pas d'effet du Sc-CO₂ sur l'activité de la lipase



Effet important de l'agitation conduisant à la destruction du support d'immobilisation

Effet des cycles de pressurisation/dépressurisation



Activité préservée après plusieurs cycles de pressurisation/dépressurisation. Faible effet sur la vitesse initiale et le taux de conversion

Conclusions

Cette étude préliminaire nous a permis d'évaluer l'influence de divers paramètres tels que la solubilité des acides dans le Sc-CO₂ et l'effet du Sc-CO₂ sur le D-Mannose et la CALB. La synthèse enzymatique d'esters de sucre dans le Sc-CO₂ semble être une approche prometteuse, peu décrite dans la littérature, mais d'autres facteurs doivent encore être évalués (influence de l'eau dans le milieu, pression, température...) afin de favoriser la réaction d'estérification dans un tel milieu.

Références

- ¹ P.Degn et al., *Biotechnology Letters*, 1999, **21**, 275-280
- ² J.Yu et al., *Catalysis Communications*, 2008, **9**, 1369-1374
- ³ S.Sabeder et al., *Journal of Food Engineering*, 2006, **77**, 880-886
- ⁴ M.Ferrer et al., *Enzyme and Microbial Technology*, 2005, **36**, 391-398
- ⁵ H.P.Tai et al., *Journal of Supercritical Fluids*, 2009, **48**, 36-40
- ⁶ M.Habulin et al., *Journal of Supercritical Fluids*, 2008, **45**, 338-345
- ⁷ S.Sabeder et al., *CI&CEQ*, 2006, **12**, 147-151
- ⁸ S.Sabeder et al., *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 2005, **44**, 9631-9635
- ⁹ C.Tsitsimpikou et al., *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 1998, **71**, 309-314