

УДК 577.154.2+542.952+579.22

КАТАЛИТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛИПАЗЫ *rPICHIA/LIP*, АДСОРБИРОВАННОЙ НА УГЛЕРОДНЫХ НАНОТРУБКАХ, В РЕАКЦИИ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОГО СИНТЕЗА СЛОЖНЫХ ЭФИРОВ

П.В. Нуруллина^{1,2*}, Л.В. Перминова², Г.А. Коваленко²

(¹ Новосибирский государственный технический университет; ² Институт катализа СО РАН; *e-mail: nvpolina1@gmail.com)

Иммобилизацию рекомбинантной липазы *rPichia/lip* проводили путем адсорбции фермента на агрегированных углеродных нанотрубках, немодифицированных (УНТ) или допированных азотом (N-УНТ). Гетерогенные биокатализаторы, приготовленные таким способом, исследовали в реакции низкотемпературного синтеза сложных эфиров, протекающей в органических растворителях при комнатной температуре. Изучали влияние текстуры и морфология УНТ, а также содержание азота в допированных N-УНТ, на каталитические свойства иммобилизованной липазы, такие как активность, специфичность и стабильность. Было обнаружено, что активность биокатализаторов и удельная активность адсорбированного фермента увеличились в 1,5–1,6 раза при повышении содержания введенного в УНТ азота (2 и 5 мас.% N). При исследовании специфичности в реакции этерификации насыщенных жирных кислот (гептановая, стеариновая) алифатическими спиртами (*n*-бутанол, *n*-гексадеканол) было показано, что максимальная скорость наблюдалась в реакции синтеза *n*-бутил гептаноата. Приготовленные биокатализаторы обладали высокой стабильностью в периодическом процессе низкотемпературного синтеза сложных эфиров, при этом сохраняли не менее 80–85% активности кондиционированных биокатализаторов в течение 36 реакционных циклов (720 ч).

Ключевые слова: липаза, адсорбция, углеродные нанотрубки, синтез сложных эфиров.

Процессы низкотемпературного синтеза сложных эфиров с участием гетерогенных биокатализаторов, приготовленных путем иммобилизации липаз (К.Ф. 3.1.1.3), привлекают пристальное внимание исследователей как с научной, так и с практической точек зрения. Данные процессы удовлетворяют всем требованиям «зеленой» химии, и ферментативная этерификация рассматривается как альтернатива традиционному органическому синтезу [1]. Известно, что сложные эфиры обладают высокой коммерческой ценностью и востребованы на рынке со стороны косметической, пищевой и фармацевтической промышленности, где эти продукты используют в качестве отдушек, эмульгентов, поверхностно-активных веществ и эмульгаторов.

Современные наноструктурированные углеродные материалы, в том числе углеродные нанотрубки (УНТ), в настоящее время активно изучаются как носители для адсорбционной иммо-

билизации различных ферментов [2–11]. УНТ, допированные азотом [12], представляют собой новый углеродный материал, возможности применения которого для иммобилизации ферментов не изучены. Полученные на основе УНТ материалы используют для создания биокаталитических и биомиметических систем, например высокоспецифичных биосенсоров [2–6].

Результаты по иммобилизации липаз с использованием углеродных нанотрубок, функционализированных путем введения карбокси-, amino-, эфирных групп, а также магнитных частиц, описаны в работах [7–10]. Азот (N), введенный в углеродные нанотрубки в процессе их синтеза, находится в четырех формах: азот пиридиновый, пирольный, графитоподобный и азот, связанный с кислородом [12]. Представленные в данной работе систематические исследования по влиянию введенного в УНТ азота на каталитические свойства адсорбированной липазы проведены впервые.

В работах [7–11] исследованы адсорбционная емкость УНТ, а также свойства адсорбированных липаз. Максимальная величина адсорбции липазы В из *Candida antarctica* составляет 250 мг/г [7]. Рекombинантная липаза из *Thermomyces lanuginosus*, адсорбированная на макропористом углеродном аэрогеле в количестве 100–200 мг/г, исследована в процессах гидролиза и переэтерификации триглицеридов [11].

Цель настоящей работы – сравнение каталитических свойств (активности, специфичности и стабильности) адсорбированной рекombинантной липазы *rPichia/lip* в реакциях синтеза сложных эфиров насыщенных жирных кислот (гептановой, стеариновой) и алифатических спиртов (бутанола, гексадеканола), протекающих в органических растворителях при комнатной температуре. В качестве адсорбентов использованы углеродные нанотрубки (УНТ), в том числе допированные азотом (N-УНТ). Каталитические свойства адсорбированной рекombинантной липазы изучены в зависимости от текстуры и морфологии УНТ, а также от содержания азота, введенного в углеродные нанотрубки.

Экспериментальная часть

В качестве адсорбентов использовали многослойные углеродные нанотрубки (УНТ), агрегированные в виде гранул неправильной формы, полученные в процессах высокотемпературного (700 °С) пиролиза углеводородов (этилена, пропан-бутана), в том числе в смеси с аммиаком на нанесенных Fe-содержащих катализаторах, как описано в работах [12, 13]. Текстуры адсорбентов изучали методом азотной порометрии на приборе AUTO-PORE 9200 и ASAP 2400 V3.07 (Micromeritics Instrument Corporation). Содержание азота в N-УНТ (в мас.%) определяли методом РФЭС, как описано в [14]. Сканирующую электронную микроскопию (СЭМ) проводили на приборе JSM 6460 LV (JEOL, Япония).

Липаза *rPichia/lip* в виде лиофильно высушенного препарата была получена сотрудниками ВНИИ Биохимии СО РАН, как описано в [15]. Адсорбцию липазы проводили в следующих условиях. Навеску сухих агрегированных углеродных нанотрубок (0,02–0,10 г) заливали буферным раствором липазы *rPichia/lip*, pH 7,0 (1,0–5,0 мл) с начальной концентрацией белка 0,1–12,0 мг/мл и выдерживали 24 ч, периодически перемешивая при комнатной температуре.

Концентрацию липазы в растворе (мг/мл) определяли, измеряя концентрацию белка с помощью красителя Кумасси-250 [16]. Количество адсорбированной липазы (величина адсорбции, мг/г) рассчитывали по навеске УНТ или N-УНТ (г), объему раствора фермента (мл), а также изменению концентрации белка (мг/мл) в процессе адсорбции липазы на углеродном материале. Приготовленные таким способом биокатализаторы быстро промывали 3 раза буферным раствором (pH 7,0) и сушили до суховоздушного состояния в течение 1–2 сут при комнатной температуре.

Реакцию этерификации гептановой и стеариновой кислот с *n*-бутанолом и *n*-гексадеканолом (цетиловым спиртом) проводили с участием биокатализаторов, приготовленных адсорбцией липазы *rPichia/lip* на УНТ и N-УНТ, в условиях, описанных в [15]. Начальная концентрация кислоты (субстрат S_1) в большинстве экспериментов составляла $0,25 \pm 0,03$ моль·л⁻¹ (стандартные условия) или $0,12 \pm 0,02$ моль·л⁻¹ (при определении специфичности). Спирт (субстрат S_2) использовали в двойном мольном избытке. Скорость реакции (моль·л⁻¹·с⁻¹) определяли титриметрически, используя спиртовые растворы NaOH с известной концентрацией, по уменьшению концентрации S_1 в реакционной среде, приготовленной с применением органического растворителя – смеси гексана и диэтилового эфира в соотношении объемных частей 1:1. Скорость реакции измеряли при содержании биокатализаторов в реакционной среде, равном 0,8; 2,1 и 4,2 мас.%. Биокаталитическую активность выражали в международных единицах активности (ЕА, 1 ЕА = 1 мкмоль/мин) и рассчитывали на 1 г биокатализатора, учитывая его содержание в реакционной среде. Удельную активность адсорбированной липазы (ЕА/мг) рассчитывали по величинам ферментативной активности биокатализатора (ЕА/г) и адсорбции липазы (мг/г). Сложные эфиры, синтезированные в процессе ферментативной этерификации, обозначали как $C_x|C_y$, где x и y – число атомов углерода в кислоте и спирте соответственно. Например, $C_7|C_4$ – *n*-бутил гептаноат, $C_{18}|C_4$ – *n*-бутил стеарат, $C_7|C_{16}$ – *n*-гексадеканол гептаноат. Продукты реакции этерификации анализировали методом хроматомасс-спектрометрии на приборе «Agilent 7000B GC/MS», как описано в [18].

Стабильность биокатализаторов определяли в периодическом процессе низкотемпературного

синтеза сложных эфиров в реакторе смешения при комнатной температуре. Каждый реакционный цикл заканчивали тогда, когда достигалась максимальная для данных условий величина конверсии S_1 , затем реакционную среду декантировали. Биокатализаторы несколько раз промывали органическим растворителем в течение 20–24 ч, затем заливали свежеприготовленной реакционной средой и проводили следующий реакционный цикл. Дополнительно было показано, что липаза не десорбируется с УНТ в органический растворитель. В каждом реакционном цикле скорость реакции этерификации определяли по начальному линейному участку кинетической кривой. Активность биокатализаторов (ЕА/г), рассчитывали по начальной скорости реакции, объему реакционной среды и навеске биокатализатора. Стационарную активность определяли как среднее всех значений, измеренных в 3–8 реакционных циклах. Операционную стабильность биокатализаторов (ч) определяли путем суммирования времени их работы в реакциях низкотемпературного синтеза сложного эфира.

Результаты и обсуждение

В табл. 1 приведены результаты азотной померетрии. Все изученные адсорбенты обладают близкими по величине текстурными параметрами. В их пористой структуре преобладают мезопоры, а микропоры отсутствуют, т.е. изученные адсорбенты представляют собой мезопористые материалы. Удельная поверхность ($S_{уд.}$) углеродных нанотрубок (УНТ1), полученных пиролизом пропан-бутана на катализаторах Fe, Mo / Al_2O_3 [13], составляет 180 м²/г, средний диаметр пор 16 нм. Текстурные параметры неазотированных УНТ (УНТ2) и азотированных УНТ (N-УНТ2),

полученных пиролизом этилена и его смесей с аммиаком (25 и 60 об.% NH_3) на катализаторах Fe, Ni / Al_2O_3 [12], имеют очень близкие значения: значения $S_{уд.}$ составляют 150 и 160 м²/г, а средний диаметр пор равен 11–13 нм. При увеличении содержания азота суммарный объем пор (V_{Σ}) и их средний диаметр (D) уменьшаются незначительно (табл. 1). На СЭМ-изображениях приготовленных биокатализаторов видно, что изученные УНТ1 и УНТ2 различаются морфологией – длиной нанотрубок и типом их переплетения в процессе образования агрегатов (рис. 1).

При сравнении адсорбционных свойств УНТ было найдено, что величина адсорбции липазы *rPichia/lip* увеличивается пропорционально удельной поверхности нанотрубок, т.е. чем больше поверхность, тем больше адсорбция липазы (табл. 2). На основании анализа формы изотерм адсорбции липазы на УНТ2 и N-УНТ2 (рис. 2, а) и проведенных расчетов сделаны выводы (аналогичные описанным в работе [11]), что при концентрации белка в диапазоне 4–8 мг/мл образуется плотный слой из молекул адсорбированной липазы (степень заполнения поверхности адсорбатом $\theta \approx 1$). Электронно-микроскопические изображения адсорбированной на УНТ липазы, приведенные в [11], подтвердили данные расчеты. Образование первого адсорбционного слоя соответствует величине адсорбции, равной в среднем 100 мг/г (рис. 2, а, область серого цвета). Адсорбция липазы, превышающая 100 мг/г, свидетельствует об образовании второго адсорбционного слоя, аналогично описанному в работе [11]. Видно, что при высоких концентрациях белка (>10 мг/мл) немодифицированные УНТ2-0 обладают максимальной адсорбцион-

Т а б л и ц а 1

Текстурные характеристики углеродных нанотрубок (УНТ)

Шифр (катализатор пиролиза углеводородов)	Содержание азота N, мас. %	Удельная поверхность, $S_{уд.}$, м ² /г	Суммарный объем пор, V_{Σ} , см ³ /г	Средний диаметр пор, нм
УНТ1 (Fe,Mo/ Al_2O_3)	0	179	0,70	15,6
УНТ2-0 (Fe,Ni/ Al_2O_3)	0	154	0,47	13,0
N-УНТ2-2 (Fe,Ni/ Al_2O_3)	2,1	162	0,49	13,0
N-УНТ2-5(Fe,Ni/ Al_2O_3)	5,1	157	0,38	10,7

Т а б л и ц а 2

Каталитические свойства липазы *rPichia/lip*, адсорбированной на углеродных нанотрубках

Шифр	Величина адсорбции*, мг/г	Стационарная активность биокатализатора, ЕА/г	Удельная активность адсорбированной липазы, ЕА/мг	Специфичность, отн.ед.**	
				эфир С18 С4	эфир С7 С16
УНТ1	137,5	222,9	1,6	–	–
УНТ2-0	93,6	90,0	1,0	0,65	0,30
N-УНТ2-2	106,1	97,2	0,9	0,84	0,33
N-УНТ2-5	109,0	118,1	1,1	1,00	0,38

*Начальная концентрация липазы в растворе 4,0–5,0 мг/мл.

**Скорость синтеза эфира – *n*-бутил гептаноата, максимальна и принята за 1,00.

ной емкостью; величина адсорбции составляет 200 мг/г (рис. 2, *a*).

Исследование влияния текстурных параметров и морфологии изученных УНТ на каталитические свойства адсорбированной липазы *rPichia/lip* (табл. 2) показали, что активность биокатализатора и удельная активность адсорбированного фермента становятся в 1,5–2,0 раза выше, если фермент адсорбируют на УНТ1 (длинных и своеобразно переплетенных, как показано на рис. 1, *a*). Вероятно, благодаря наличию у данного адсорбента более крупных пор практически отсутствуют диффузионные ограничения для массопереноса субстратов к иммобилизованной липазе.

Впервые были проведены сравнительные исследования по влиянию содержания азота, введенного в углеродные нанотрубки, на каталитические свойства адсорбированной липазы *rPichia/lip* (табл. 2, рис. 2). Для УНТ2 и азотированных N-УНТ2 было обнаружено, что до образования первого адсорбционного

слоя (при $\theta \leq 1$) активность биокатализаторов и удельная активность адсорбированной липазы не зависят от содержания азота (рис. 2, *b*). При $\theta > 1$ влияние введенного азота на каталитические свойства проявляется более отчетливо. Так, активность липазы *rPichia/lip*, адсорбированной на азотированных углеродных нанотрубках, увеличивается пропорционально содержанию азота в N-УНТ2 (рис. 2, *b*). Удельная активность липазы, адсорбированной на N-УНТ2-5, в 2–4 раза выше, чем при адсорбции на УНТ2-0 (без азота). Известно, что допированные азотом углеродные нанотрубки, имеющие бамбукообразную структуру, более гидрофильны по сравнению с неазотированными УНТ [12]. Этими специфическими особенностями разных углеродных нанотрубок можно объяснить различия в строении адсорбционных слоев из молекул липазы. Например, при введении азота в УНТ доля молекул липазы с правильной ориентацией активного центра фермента по отношению к его субстратам увеличивается, соответственно, увеличивается и ферментативная

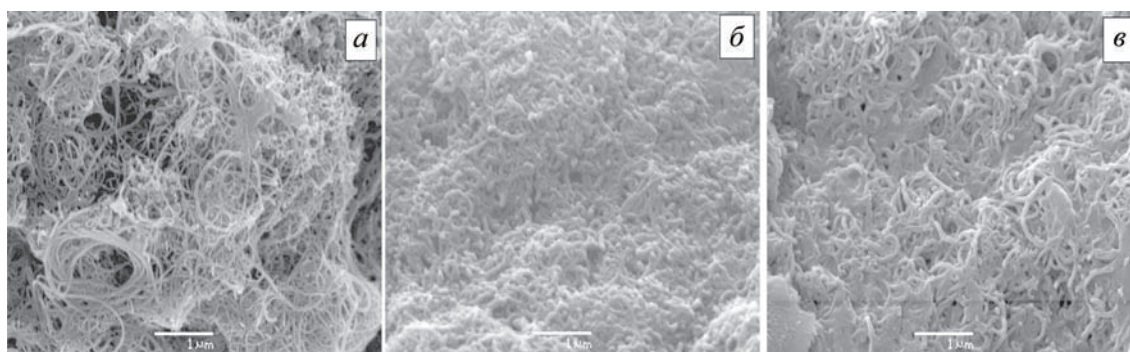


Рис. 1. Электронно-микроскопические изображения биокатализаторов, приготовленных адсорбцией липазы *rPichia/lip* на углеродных нанотрубках: *a* – УНТ1, *b* – УНТ2-0, *c* – N-УНТ2-5

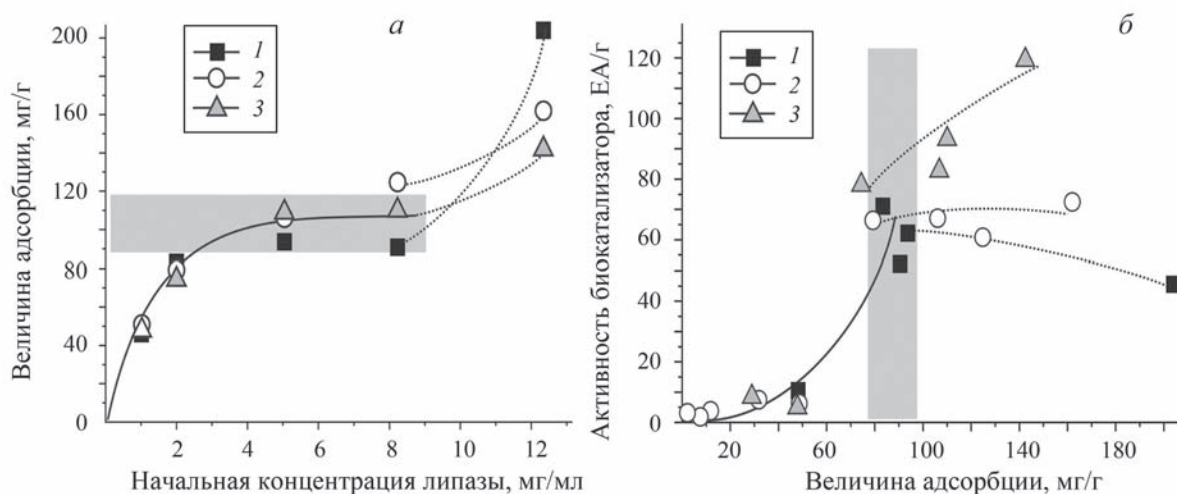


Рис. 2. Зависимости (а) величины адсорбции липазы (в мг белка, адсорбированного на 1 г адсорбента) на УНТ2 и N-УНТ2 от начальной концентрации белка в растворе и (б) активности биокатализаторов от величины адсорбции липазы при различном содержании азота (мас.%) в углеродных нанотрубках: 1 – без азота, 2 – 2,1; 3 – 5,1. Серым цветом обозначена область образования первого адсорбционного слоя ($\theta \approx 1$)

активность. Были начаты исследования по влиянию содержания азота в углеродных нанотрубках на специфичность адсорбированной липазы *rPichia/lip*, для этого сравнивали скорости этерификации в разных парах субстратов S_1 (кислота) и S_2 (спирт) в зависимости от количества атомов углерода в их молекулах (C_x и C_y соответственно), аналогично описанному в работе [17]. Обнаружено, что максимальная скорость реакции (принята за 1,00) наблюдается при этерификации гептановой (энантовой) кислоты *n*-бутанолом. Наиболее существенные различия с изученным биокатализатором, приготовленным иммобилизацией липазы *rPichia/lip* на мезопористом силикагеле (SiO_2) [17], наблюдаются при замене *n*-бутанола (C_4) на *n*-гексадеканол (C_{16}). При такой замене скорость этерификации гептановой кислоты липазой, адсорбированной на УНТ, уменьшается в 2,6–3,3 раза, тогда как для SiO_2 – всего в 1,4 раза [17]. Было также обнаружено, что при замене спиртов C_4 на C_{16} уменьшение скорости этерификации гептановой кислоты зависит от наличия введенного в УНТ азота. Так, для УНТ (без азота) и N-УНТ (5,1 мас.% N) скорость данной реакции уменьшается в 3,3 и 2,6 раз соответственно. При замене гептановой кислоты на стеариновую (C_7 на C_{18}), скорость их этерификации бутанолом одинакова, тогда как для SiO_2 этот показатель уменьшается в 1,3 раза [17]. Обнаружено, что липаза *rPichia/lip*, адсорбированная на N-УНТ2-5 с максимальным содержанием азота (5,1 мас.%), этерифицирует

различные жирные кислоты алифатическими спиртами с максимальной скоростью (табл. 2, рис. 2, б). Таким образом, химическая природа адсорбента (УНТ, N-УНТ или SiO_2) оказывает существенное влияние на каталитические свойства адсорбированной липазы *rPichia/lip*, изменяя, вероятно, конформацию молекулы адсорбированного фермента.

Приготовленные биокатализаторы были испытаны в периодическом процессе низкотемпературного синтеза эфиров, в том числе бутилового эфира гептановой кислоты (*n*-бутил гептаоата). В первых (1–3) циклах наблюдается многократное повышение активности высушенных катализаторов (стадия кондиционирования), благодаря аккумуляции воды как продукта реакции в микроокружении адсорбированной липазы. Затем в течение 20 циклов наблюдается практически постоянная активность кондиционированных биокатализаторов (стадия стационарности). После 25–30-го цикла этерифицирующая активность начинает медленно падать. После 720 ч работы (36 циклов) активность уменьшается на 15–20% по сравнению с активностью кондиционированных биокатализаторов, вероятно, из-за инактивации адсорбированного фермента. Таким образом, биокатализаторы, приготовленные адсорбцией липазы *rPichia/lip* на УНТ, обладают высокой ферментативной активностью и операционной стабильностью, что позволяет организовать вполне конкурентоспособные, альтернативные процессы низкотемпе-

ратурного синтеза ценных продуктов – сложных эфиров.

Заключение

Гетерогенные биокатализаторы, приготовленные путем адсорбции рекомбинантной липазы *rPichia/lip* на углеродных нанотрубках, немодифицированных (УНТ) и допированных азотом (N-УНТ), были систематически исследованы в реакции низкотемпературного синтеза сложных эфиров. Было обнаружено, что текстура и морфология УНТ, а также химический состав УНТ влияют на каталитические свойства адсорбированной липазы, такие как ферментативная активность, специфичность и стабильность. Впервые были проведены сравнительные исследования по влиянию содержания азота, введенного в углеродные нанотрубки, на каталитические свойства адсорбированной липазы *rPichia/lip*. Было найдено, что активность биокатализаторов и удельная активность адсорбированной липазы повышались в 2–4 раза при увеличении содержания азота в УНТ (до 5 мас.%). При исследовании специфичности было показано, что максимальная скорость наблюдалась в реакции этерификации гептановой кислоты (С7) с *n*-бутанолом (С4),

продуктом которой являлся сложный эфир – *n*-бутил гептаноат. При замене *n*-бутанола на *n*-гексадеканол (С4 на С16) скорость этерификации гептановой кислоты уменьшалась приблизительно в 3 раза.

Приготовленные биокатализаторы обладали высокой операционной стабильностью в периодическом процессе низкотемпературного синтеза сложных эфиров и сохраняли не менее 80 % активности кондиционированного биокатализатора в течение 36 реакционных циклов (720 ч).

Авторы выражают благодарность сотрудникам ВНИИ Биохимии СО РАН А.Б. Беклемишеву и М.Б. Пыхтиной за предоставленный препарат рекомбинантной липазы *rPichia/lip*. Авторы также выражают благодарность сотрудникам Института катализа СО РАН, О.Ю. Подъячевой и В.В. Чеснокову, за предоставленные образцы углеродных нанотрубок.

Работа выполнена по Проекту ББФ

№ АААА-А17-117041710075-0 «Научные основы каталитических и биотехнологических процессов превращения возобновляемого сырья для химии и энергетики»

Конфликта интересов нет.

Дополнительных материалов нет.

Дополнительной информации нет.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Grunwald P. (2009) *Biocatalysis*. L., P. 1, 231, 968.
2. Botta L., Bizzarri B. M., Crucianelli M., Saladino R. // *J. Mater. Chem.* 2017. Vol. B 5. N 32 (DOI: 10.1039/C7TB00764G).
3. Cang-Rong J.T., Pastorin G. // *Nanotechnology*. 2009. Vol. 20. N 25. P. 255102 (DOI: 10.1088/0957-4484/20/25/255102).
4. Asuri P., Bale S.S., Pangule R.C., Shah D.A., Kane R.S., Dordick J.S. // *Langmuir*. 2007. Vol. 23. N 24. P. 12318.
5. Prato M., Kostarelos K., Bianco A. // *Acc Chem Res*. 2008. Vol. 41. N 1. P. 60.
6. Shobha D.R. J., Narayanan S. S. // *Biosens. Bioelectron.* 2008. Vol. 23. P. 1686.
7. Pavlidis V., Tsoufis T., Enotiadis A., Gournis D., Stamatis H. // *Adv. Eng. Mater.* 2010. Vol. 12. N 5. P. 179 (DOI: 10.1002/adem.200980021).
8. Tan H., Feng W., Ji P. // *Bioresour Technol.* 2012. Vol. 115. P. 172 (DOI: 10.1016/j.biortech.2011.10.066).
9. Qing Shi, Dong Yang, Yanlei Su, Jian Li, Zhongyi Jiang, Yanjun Jiang, Weikang Yuan // *J. Nanoparticle Res.* 2007. Vol. 9. P.1205 (DOI: 10.1007/s11051-006-9200-8).
10. Wei Feng, Xiuchan Sun, Peijun Ji // *Soft Matter*. 2012. Vol. 8. P. 7143 (DOI: 10.1039/C2SM25231G).
11. Kovalenko G.A., Perminova L.V., Krasnikov D.V., Kuznetsov V.L. // *J. Porous Mater.* 2017 (DOI: 10.1007/s10934-017-0512-0).
12. Субоч А.Н., Кубис Л.С., Стонкус О.А., Свиницкий Д.А., Аюшеев А.Б., Исмагилов З.Р., Подъячева О.Ю. // *Химия в интересах устойчивого развития*. 2017. Т. 25. С. 85.
13. Чесноков В.В., Зайковский В.И., Чичкань А.С., Буянов Р.А. // *Кинетика и катализ*. 2010. Т. 51. С. 310.
14. Podyacheva O.Y., Cherepanova S.V., Romanenko A.I., Kibis L.S., Svintsitskiy D.A., Boronin A.I., Stonkus O.A., Suboch A.N., Puzynin A.V., Ismagilov Z.R. // *Carbon*. 2017. Vol. 122. P. 475 (DOI: 10.1016/j.carbon.2017.06.094).
15. Коваленко Г.А., Перминова Л.В., Беклемишев А.Б., Мамаев А.Л. // *Актуальная биотехнология*. 2017. № 2 (21). С. 21.
16. Bearden J. // *Biochim. Biophys. Acta*. 1978. Vol. 533. P. 525.
17. Перминова Л.В., Коваленко Г.А., Чуканов Н.В., Патрушев Ю.В. // *Известия РАН. Серия хим.* 2017. № 11. С. 2194 (DOI: org/10.1007/s11172-017-2002-6).
18. Kovalenko G.A., Perminova L.V., Beklemishev A.B. // *Reaction kinetics, Mechanisms and Catalysis*. 2019 (DOI: 10.1007/s11144-019-01648-z).

Поступила в редакцию 10.09.2019

Получена после доработки 12.10.2019

Принята к публикации 14.11.2019

CATALYTIC PROPERTIES OF rPICHIA/LIP LIPASE ADSORBED ON CARBON NANOTUBES IN THE REACTION OF LOW-TEMPERATURE SYNTHESIS OF ESTERS

P.V. Nurullina^{1,2*}, L.V. Perminova², G.A. Kovalenko²

(¹ Novosibirsk State Technical University; ² Institute of Catalysis, Novosibirsk, Russia; *e-mail: nvpolina1@gmail.com)

Immobilization of recombinant rPichia/lip lipase was performed by adsorption of this enzyme on aggregated carbon nanotubes, unmodified (CNT) or nitrogen-doped (N-CNT). Heterogeneous biocatalysts such prepared were investigated in the reaction of synthesis of esters proceeding in organic solvents under ambient condition. The texture and morphology of unmodified CNTs, as well as nitrogen content of doped N-CNTs were found to influence the catalytic properties of the adsorbed lipase such as enzyme activity, specificity and stability. Activity of the biocatalysts and specific activity of the immobilized lipase increased by 1.5–1.6 times as the content of nitrogen inside CNTs increased (from 2 to 5 wt% N). Study on the immobilized lipase specificity in the esterification of saturated fatty acids (heptanoic, stearic) with aliphatic alcohols (*n*-butanol, *n*-hexadecanol) showered, that the maximum reaction rate was observed in the synthesis of *n*-butyl heptanoate. In the batch etherification process, the prepared biocatalysts had a high operational stability and retained at least 80% of the initial activity for 36 reaction cycles (720 h).

Key words: lipase, adsorption, carbon nanotubes, synthesis of esters.

Сведения об авторах Нуруллина Полина Владимировна – магистрант Новосибирского Государственного технического университета (nvpolina1@gmail.com); Перминова Лариса Валентиновна – науч. сотр. Института катализа СО РАН, Новосибирск, канд. хим. наук (perminova@catalysis.ru); Коваленко Галина Артемьевна – вед. науч. сотр. Института катализа СО РАН, Новосибирск, докт. хим. наук (galina@catalysis.ru).