

УДК 544.725.2:544.473:577.15

В.М. Кочкодан, Н. Хілал, В.В. Гончарук, Р. Нігматуллін

**СИНТЕЗ БУТИЛОЛЕАТУ В БІОКАТАЛІТИЧНИХ МЕМБРАННИХ РЕАКТОРАХ
З ІММОБІЛІЗОВАНОЮ ЛІПАЗОЮ**

Досліджено властивості біокаталітичних мембран з іммобілізованою ліпазою в реакції синтезу бутилолеату при етерифікації олеїнової кислоти з бутанолом в ізооктані. Біокаталітичні мембрани одержано за допомогою ковалентної або нековалентної (адсорбція, інклюзія в поруватій структурі) іммобілізації ліпази на композитних ультрафільтраційних мембранах C030F та PM30. Встановлено, що інклюзія ліпази в поруватуому підтримуючому шарі мембран дозволила одержати біокаталітичні мембрани, які забезпечували конверсію олеїнової кислоти на рівні 70—72 % при проведенні каталітичного процесу протягом 8 год. Показано, що для ефективного використання ферменту має значення як метод іммобілізації, так і розподільчий профіль іммобілізованої на мембрані ліпази.

На сьогодні ліпази, або ацилгідролази вищих тригліцеридів (КФ 3.1.1.3), широко використовуються у фундаментальних і прикладних дослідженнях [1]. Основна функція цих ферментів полягає у гідролізі ефірних зв'язків тригліцеридів з утворенням насичених кислот, дигліцеридів, моногліцеридів і гліцерину. При наявності в системі незначної кількості води ліпази також здатні каталізувати протилежну реакцію, а саме утворення ефірних зв'язків між спиртом та відповідною кислотою. Хоча синтез ефірів можна здійснити хімічним способом з використанням кислотного або основного каталізу, застосування ліпаз як каталізатора має свої переваги, що полягають у м'яких умовах проведення реакції, високій специфічності синтезу і меншому виході побічних продуктів [1].

Традиційно вивчення багатьох реакцій, що каталізуються ліпазою, проводилось в емульсійних системах [2]. Проте через складність контролю за ходом реакції та стабільністю ліпази, а також проблемністю повторного використання ферменту значні зусилля сьогодні спрямовані на одержання ліпази в іммобілізованій формі на поверхні різних носіїв [2—5], зокрема полімерних мембран, що дає змогу контролювати транспорт вихідних реагентів та продуктів реакції через пористу каталітичну основу [6—8].

При одержанні іммобілізованих на мембранах ліпаз слід враховувати особливості конкретного каталітичного процесу. В даній роботі досліджувалась ефективність роботи мембранних реакторів на основі біокаталітичних мембран в процесі синтезу бутилолеату з олеїнової кислоти

та *n*-бутанолу. Біокаталітичні мембрани були одержані за допомогою різних методів іммобілізації ліпази, а саме адсорбції ліпази на мембрані, інклюзії ліпази в мембрані при фільтруванні ферменту через її активний або підтримуючий шар, ковалентної іммобілізації ліпази на активованій мембрані.

Candida Rugosa ліпаза, тип VII (каталітична активність 700—1500 од./мг, молекулярна маса 57—60 кДа), олеїнова кислота, *n*-бутанол, глутаровий діальдегід, ізооктан, гексаметилендіамін (ГМД), фосфатний буфер (рН 7.0) були одержані від фірми Sigma-Aldrich (Dorset, UK). Іммобілізацію ліпази проводили на ультрафільтраційних мембранах із регенованої целюлози C030F фірми Microdyn-Nadir GmbH (Wiesbaden, Germany) та поліефірсульфоновій мембрані PM30 фірми Millipore Express (Watford, UK). Обидві мембрани за своєю структурою належать до композитних мембран, які складаються з тонкого активного целюлозного або поліефірсульфонового шару (для мембран C030F та PM30 відповідно), що нанесений на підтримуючу полімерну основу, пори якої за розмірами значно більші за пори активного шару. Межа молекулярно-масової затримки для обох мембран за даними виробників становила 30 кДа.

Іммобілізація ліпази шляхом адсорбції. Зразок мембрани діаметром 50 мм фіксувався на спеціальній поліметилметакрилатній рамці таким чином, щоб тільки активний шар мембрани міг контактувати з розчином ліпази, тоді як пориста основа мембрани була захищена від контакту із

© В.М. Кочкодан, Н. Хілал, В.В. Гончарук, Р. Нігматуллін, 2007

ферментом. Мембранні зразки вносили в чашки Петрі, що містили 20 мл розчину ліпази з концентрацією 1—10 мг/мл у фосфатному буфері (рН 7.0), і витримували протягом 1—12 год при 20 °С при безперервному струшуванні. Після цього мембрани виймали із розчину ліпази і споліскували двічі фосфатним буфером (рН 7). Величину адсорбованої на мембрані ліпази визначали за допомогою QuantiPro™ аналітичного набору (Sigma–Aldrich, Dorset, UK) за різницею між концентрацією ферменту в розчині до і після адсорбції, враховуючи також вміст ліпази у промивних розчинах.

Імобілізація ліпази на мембрані за допомогою фільтрування. 0.5—0.75 г ліпази вносили в 50 мл фосфатного буферу (рН 7.0) і одержаний розчин перемішували на магнітній мішалці протягом 2 год. Після центрифугування (швидкість 3000 об/хв, час — 10 хв) 2—10 мл одержаного розчину ліпази фільтрували через активний, або підтримуючий шар мембрани в мембранній комірці (Amicon, model 8200, Fisher Scientific, Loughborough, UK) при тиску 2 кПа (без перемішування). Після фільтрування ферменту мембрани двічі промивали 50 мМ фосфатним буфером (рН 7).

Ковалентна імобілізація ліпази на мембрані. Для ковалентної імобілізації ліпази на целюлозній мембрані C030F її поверхню попередньо активували. Для цього зразок мембрани обробляли 0.5 М розчином періодату натрію протягом 90 хв у темряві. Активовану мембрану обережно промивали дистильованою водою і поміщали в розчин ліпази з концентрацією 10 г/л на 24 год.

Для введення гексаметилендіамінового спейсера активований зразок мембрани вносили в 10 мл 1 %-го водного розчину ГМД на 18 год. Потім мембрану промивали дистильованою водою, активували 5 %-м розчином глютарового альдегіду протягом 1 год і обробляли ліпазою, як зазначено вище.

Каталітичний синтез бутилолеату в мембранному біореакторі. Мембранний біореактор був розроблений на базі мембранного елементу, який описаний в роботі [4]. Елемент складався з двох ідентичних циліндричних мембранних каналів висотою 2 мм, які розділені біокаталітичною мембраною з площею 19.6 см². Мембранні канали були під'єднані до початкового та приймального резервуарів. Сторона мембрани з імобілізованою ліпазою була обернена до початкового розчину, який складався із суміші олеїнової кислоти і бутанолу (по 10 мМ) в ізоктані. Чистий ізоктан використовувався як приймальна фаза. Процес ете-

рифікації починався з прокачування початкового і приймального розчинів через мембранний елемент при швидкості 5 мл/хв, що здійснювали за допомогою перистальтичного насоса (Model 313S, Watson-Marlow Bredel Pumps Ltd, UK). Завдяки різниці концентрацій між початковим і приймальним розчинами реагенти дифундують через біокаталітичну мембрану, в якій в результаті каталітичної дії імобілізованої ліпази і відбувається реакція етерифікації.

Ступінь конверсії олеїнової кислоти визначали за наступним рівнянням:

$$CK = \left(1 - \frac{C_s}{C_i}\right) \cdot 100\% ,$$

де C_i — концентрація олеїнової кислоти у початковому розчині, а C_s — сума концентрацій олеїнової кислоти у початковому розчині та приймальної фази через заданий час.

Оскільки при дифузії через мембрану можливий перенос олеїнової кислоти в приймальну фазу без трансформації, то, щоб оцінити ступінь конверсії олеїнової кислоти, для аналізу періодично відбирались зразки об'ємом 1 мл як з початкового розчину, так і з приймальної фази. Концентрацію олеїнової кислоти в пробах визначали титруванням 10 мМ розчином гідроксиду калію в *n*-бутанолі, використовуючи фенолфталеїн як індикатор.

Знімки поверхонь вихідних мембран та мембран з імобілізованою ліпазою одержали на атомно-силовому мікроскопі Explorer (TMX 2000) від Veeco Instruments (USA) за методикою, описаною в роботі [9].

Синтез бутилолеату на біокаталітичних мембранах з нековалентно імобілізованою ліпазою. Найпростіший спосіб одержання мембран з імобілізованою ліпазою полягає в проведенні адсорбції ферменту на їх поверхні [10]. Ліпаза адсорбується на поверхні мембран завдяки комбінації ван-дер-ваальсових, гідрофобних та електростатичних сил. Як правило, адсорбовані ліпази не придатні до використання у водних системах через можливу десорбцію, але в органічних розчинниках фермент практично не розчиняється і залишається адсорбованим на поверхні.

При вивченні процесу адсорбції ферменту на поверхні мембран було встановлено, що для досягнення адсорбційної рівноваги при заданих концентраціях розчину ліпази необхідно 8 год. Як видно із рис. 1, ізотерми адсорбції ліпази на поверхні мембран мають типовий Ленгмюрівський характер. При цьому величина адсорбції ліпази на поліефірсульфонової мембрані РМ30 вища порів-

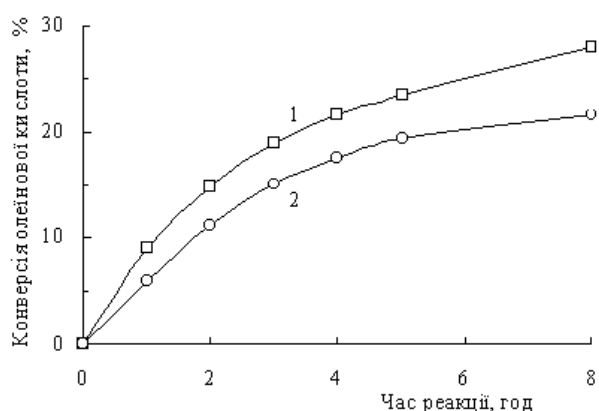
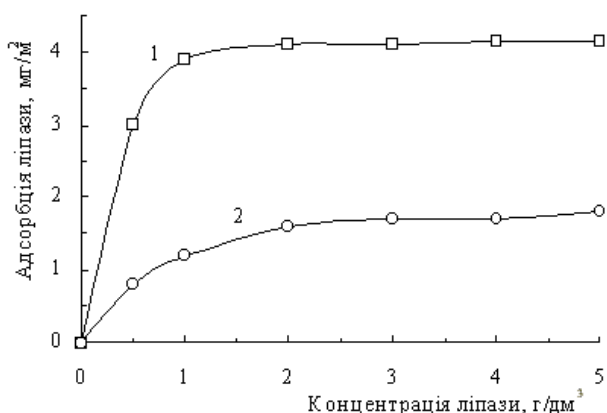


Рис. 1. Ізотерми адсорбції ліпази на мембранах РМ30 (1) та С030F (2). рН 7; температура 25 °С; час адсорбції 8 год.

Рис. 2. Залежність ступеня конверсії олеїнової кислоти від часу етерифікації на мембранах РМ30 (1) та С030F (2) з адсорбованою ліпазою. Величина адсорбції ліпази на мембранах РМ30 та С030F — 4.15 та 1.7 мг/м².

няно з аналогічною для целюлозної мембрани С030F. За хімічним складом поліефірсульфонова мембрана має на своїй поверхні як полярні, так і неполярні ділянки і загалом є більш гідрофобною, ніж целюозна мембрана. Раніше [11] було встановлено, що чим гідрофобніша мембрана, тим краще відбувається зв'язування протеїну з неполярними ділянками на її поверхні. Кількість ліпази, адсорбованої на поверхні мембрани РМ30, приблизно відповідає ємності адсорбованого моношару, яка для ліпази із *S.rugosa* має значення 3.3 мг/м² [12].

Реакційний профіль синтезу бутилолеату в мембранному біореакторі з адсорбційно-імобілізованою ліпазою показаний на рис. 2. Через

8 год реакції іммобілізовані ліпазою мембрани РМ30 та С030F забезпечують ступінь конверсії олеїнової кислоти на 28 та 21 % відповідно. Краща трансформація реагентів на біокаталітичній мембрані РМ30, очевидно, пов'язана з більшою кількістю адсорбованого ферменту, хоча загалом слід зазначити, що ступінь конверсії олеїнової кислоти на обох біокаталітичних мембранах був невисоким. Це, очевидно, пов'язано з низьким завантаженням мембран адсорбованою ліпазою. Разом з тим, як видно з табл. 1, швидкість реакції вища для ліпази, іммобілізованої на поверхні целюлозної мембрани С030F. Отже, у цьому випадку не спостерігалось активації ліпази гідрофобнішим носієм (поліефірсульфонова мембрана

Т а б л и ц я 1

Залежність масової швидкості реакції (мкмоль/год·мг ліпази)/швидкості реакції на одиницю площі мембрани (мкмоль/год·см² мембрани) від часу реакції етерифікації для біокаталітичних мембран, одержаних за допомогою різних методів іммобілізації ліпази

Біокаталітична мембрана (метод іммобілізації / завантаження ліпази, мг/м ²)	Час реакції етерифікації, год				
	1	2	3	5	8
РМ30 (адсорбція/4.2)	0.219 / 0.046	0.178 / 0.038	0.151 / 0.032	0.112 / 0.023	0.084 / 0.018
С030F (адсорбція/1.7)	0.352 / 0.030	0.329 / 0.028	0.298 / 0.026	0.228 / 0.019	0.162 / 0.014
РМ30 (фільтрування через пористу основу/680)	2.5·10 ⁻³ / 0.087	1.91·10 ⁻³ / 0.066	1.62·10 ⁻³ / 0.056	1.41·10 ⁻³ / 0.049	1.31·10 ⁻³ / 0.045
С030F (фільтрування через пористу основу/680)	1.91·10 ⁻³ / 0.066	1.54·10 ⁻³ / 0.054	1.52·10 ⁻³ / 0.052	1.34·10 ⁻³ / 0.046	1.31·10 ⁻³ / 0.044
С030F (ковалентна іммобілізація без спейсера /9.0)	0.110 / 0.026	0.044 / 0.020	0.041 / 0.019	0.035 / 0.016	0.025 / 0.011
С030F (ковалентна іммобілізація зі спейсером/6.0)	0.101 / 0.031	0.083 / 0.026	0.074 / 0.023	0.058 / 0.018	0.043 / 0.013

PM30) порівняно з більш гідрофільним (целюлозна мембрана C030F), про можливість чого зазначалось при вивченні каталітичних властивостей ліпази, іммобілізованої на поверхні полімерних матеріалів різної хімічної природи [5].

Для збільшення завантаження мембрани ліпазою використовували інклюзію ферменту в поруватій структурі мембрани за допомогою фільтрування. Цей метод ґрунтується на тому, що обидві мембрани (PM30 та C030F) є асиметричними композитними ультрафільтраційними мембранами. Композитна структура мембрани дозволяє локалізувати ліпазу між непроникним для ліпази активним шаром, через який молекули ферменту не можуть пройти, оскільки межа молекулярно-масового затримування мембран (10 кДа) нижча, ніж молекулярна маса ліпази (50—60 кДа), і проникним для ферменту широкопористим підтримуючим шаром мембрани. Мембрана завантажується ліпазою при фільтруванні водного розчину ферменту у напрямку від підтримуючого до активного шару (зворотне фільтрування).

Як видно із рис. 3, за допомогою інклюзії ліпази в поруватій структурі були одержані високоефективні біокаталітичні мембрани для синтезу бутилолеату. Значно вищі значення конверсії олеїнової кислоти на цих мембранах порівняно з мембранами з адсорбованою ліпазою (рис. 2), очевидно, пояснюються більшим завантаженням мембран ліпазою. Разом з тим, як видно із табл. 1, вищі значення питомої активності ліпази (залежність ступеня конверсії від завантаження ферменту) були одержані для мембран з адсорбованою ліпазою. Ці дані свідчать про суттєві обмеження в ма-

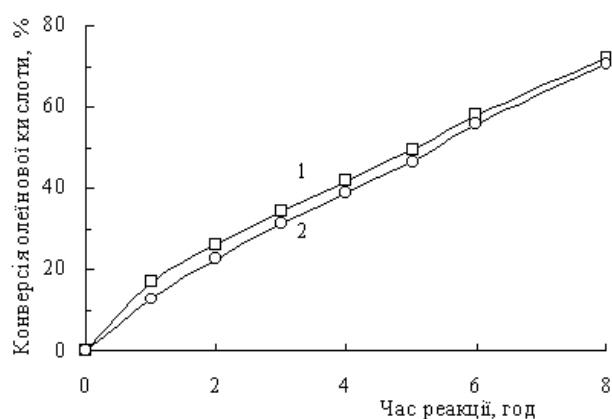


Рис. 3. Залежність ступеня конверсії олеїнової кислоти від часу етерифікації на біокаталітичних мембранах PM30 (1) та C030F (2) з ліпазою, іммобілізованою в підтримуючому пористому шарі. Завантаження ліпази 0.68 г ліпази/м².

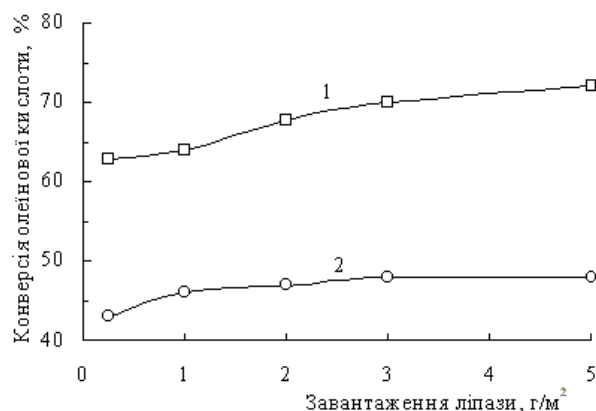


Рис. 4. Залежність ступеня конверсії олеїнової кислоти від величини завантаження ліпазою біокаталітичної мембрани. Іммобілізацію ліпази проводили фільтруванням розчину ферменту через підтримуючий (1) або активний (2) шар PM30 мембрани. Час етерифікації 8 год.

сопереносі реагентів, коли ліпаза інклюдована в порувату структуру мембрани. Таким чином, інклюзія ліпази в поруватій структурі дозволяє одержати біокаталітичні мембрани, що забезпечують вищу ступінь конверсії в реакторі завдяки кращій хімічній трансформації реагентів на одиниці площі мембрани, проте ефективність ліпази як каталізатора в цьому випадку нижча у порівнянні з ліпазою, іммобілізованою при адсорбції.

Щоб дослідити вплив величини завантаження ліпази на ступінь конверсії олеїнової кислоти, були одержані мембрани з різним завантаженням ферменту в їх поруватій структурі (рис. 4). Для порівняння також були приготовані мембранні зразки з ліпазою, яка іммобілізована тільки на поверхні активного шару мембрани. Це досягалось фільтруванням ліпази через мембрану у напрямку від активного шару до підтримуючого (звичайний тип фільтрування). Було встановлено, що коефіцієнт затримування ліпази на мембрані (відношення концентрації ліпази у фільтраті до її концентрації у початковому розчині) є однаковим і не залежить від орієнтації мембрани (звичайний чи зворотний тип фільтрування). Це дозволило одержати мембрани з еквівалентним завантаженням ліпази у поруватій структурі, а також на поверхні активного шару (після фільтрування через мембрану однакових об'ємів розчину ліпази при звичайному або зворотному типі фільтрування).

Із рис. 4 (крива 1) видно, що зростання кількості ліпази на поверхні мембрани в діапазоні від 0.024 до 0.68 г ферменту на см² приводить лише до незначного підвищення ступеня конверсії олеїнової кислоти. Це означає, що коли фермент знахо-

Т а б л и ц я 2

Структурно-морфологічні характеристики мембран з іммобілізованою ліпазою

Тип мембрани	Поверхнева шорсткість, нм	Загальна площа поверхні, Å^2	Середній діаметр пор, Å
PM30 (активний шар)	0.42	428420	13.85 ± 0.10
PM30 з іммобілізованою ліпазою (фільтрування через активний шар)	0.13	335080	8.25 ± 0.16
C030F (активний шар)	0.76	468800	12.55 ± 0.15
C030F з іммобілізованою ліпазою (фільтрування через активний шар)	0.36	436190	5.43 ± 0.18
C030F з ковалентно іммобілізованою ліпазою (без спейсера)	0.29	487500	4.52 ± 0.13
C030F з ковалентно іммобілізованою ліпазою (зі спейсером)	0.30	652200	5.61 ± 0.17

диться на поверхні мембрани у вигляді шару певної товщини, то тільки та частина ферменту, яка розміщена на зовнішній стороні цього шару і контактує з розчином, задіяна у реакції етерифікації. Таке припущення підтверджується даними, наведеними в табл. 1, які свідчать про зменшення питомої активності ферменту зі збільшенням кількості іммобілізованої на мембрані ліпази. Зменшення активності ферменту, очевидно, пояснюється як погіршенням доступу реагентів до каталітично активних центрів ліпази в товщі осадженого на мембрані ферменту, так і зменшенням розміру пор активного шару мембрани внаслідок осадження ферменту, що впливає на швидкість масопереносу реагентів через мембрану.

Дані, наведені на рис. 4, свідчать про вищі значення ступеня конверсії олеїнової кислоти для мембрани з ліпазою, іммобілізованою в поруватій структурі, порівняно з ліпазою, що нанесена на її поверхню. Вища швидкість етерифікації на мембрані з інклюзованим ферментом, очевидно, пояснюється топологічно кращим розподілом ліпази всередині поруватої структури мембрани, коли фермент іммобілізований на стінках пор фактично по всій товщині мембрани. Таке розміщення ферменту є оптимальнішим у порівнянні з ліпазою, яка знаходиться у формі гелю на поверхні активного шару мембрани.

Структурно-морфологічні характеристики поверхні мембран з іммобілізованою ліпазою, які одержані за допомогою методу атомно-силової мікроскопії, наведені в табл. 2. Як і очікувалось, значення середнього діаметру пор для вихідних мембран з однаковими величинами межі молекулярно-масової затримки є досить близькими. Проте поверхня мембрани PM30 є гладшою порівняно з мембраною C030F, про що свідчать відповідні значення величин шорсткості. В свою чергу

іммобілізація ліпази приводить до зменшення розміру пор і шорсткості поверхні біокаталітичних мембран.

Синтез бутилолеату на біокаталітичних мембранах з ковалентно іммобілізованою ліпазою. Реакційні профілі синтезу бутилолеату за допомогою мембран з ковалентно іммобілізованою ліпазою показані на рис. 5. Порівняння даних, наведених на рис. 2 і 5, свідчать, що ковалентно іммобілізована ліпаза характеризується меншою каталітичною активністю в реакції етерифікації, ніж адсорбований фермент. Це, очевидно, є наслідком жорсткого приєднання ліпази до мембрани через ковалентні зв'язки, що суттєво деформує четвертинну структуру ферменту і веде до втрати каталітичної активності. Разом з тим, ступінь конверсії олеїнової кислоти на біокаталітичних мембранах при введенні проміжного (між поверхнею мембрани і ліпазою) гексаметилендіамінового спей-

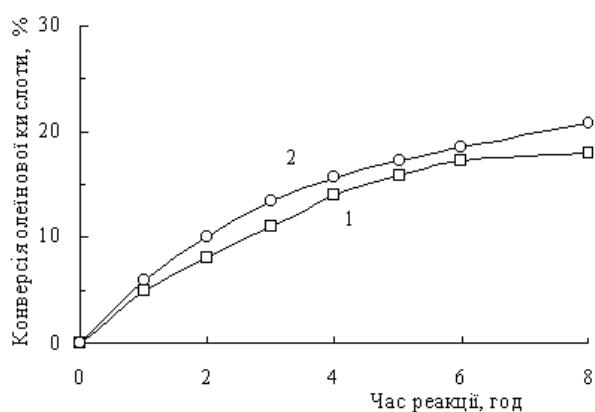


Рис. 5. Ступінь конверсії олеїнової кислоти від часу синтезу на біокаталітичних C030F мембранах з ковалентно іммобілізованою ліпазою зі спейсером (1) та без нього (2).

сера вищий порівняно з мембраною з ковалентно іммобілізованою ліпазою без спейсера (рис. 5). Слід зазначити, що кількість іммобілізованої ліпази на мембрані без спейсера була більшою, ніж для мембрани зі спейсером (9 ± 1.0 і 6 ± 0.5 мг/м² відповідно). Таким чином, мембрани з ліпазою, іммобілізованою через проміжний спейсер, характеризувались вищим ступенем конверсії олеїнової кислоти в порівнянні з мембранами без нього, навіть при меншому завантаженні ферменту. Це, очевидно, пояснюється позитивним впливом введеної проміжної ланки, яка виступає в об'єм розчину і в такий спосіб мінімізує взаємодію між ферментом і поверхнею мембрани, що може впливати на структуру активного центру ферменту і його каталітичну активність [13].

Знімки поверхонь C030F мембран з ковалентно іммобілізованою ліпазою наведені на рис. 6. Із табл. 2 видно, що середній діаметр пор для них близький до аналогічного для мембранних зразків з ліпазою, нанесеною на поверхню мембрани при фільтруванні. Одержані дані є дещо несподіваними, оскільки величина ковалентно іммобілізованої ліпази набагато менша, ніж кількість ліпази, яка осаджується на поверхні мембрани при фільтруванні 9.0 ± 1.0 мг ліпази/м² та 0.68 ± 0.05 г ліпази/м² відповідно. Можна припустити, що, незалежно від методу іммобілізації ліпази, як РМ30, так і C030F мембрани покриваються шаром іммобілізованого ферменту. При цьому величина завантаження ліпази визначає в основному товщину нанесеного шару ферменту і меншою мірою впливає на структурно-морфологічні характеристики поверхні мембрани.

Цікаво зазначити, що шорсткість поверхні мембран з ковалентно іммобілізованою ліпазою менша порівняно з аналогічною при іммобілізації шляхом фільтрування (табл. 2). Імовірно, жорстке багатоточкове зв'язування ферменту при ковалентній іммобілізації приводить до розпластання

його молекули на поверхні мембрани, в результаті чого згладжується її шорсткість. Така деформація структури ліпази негативно впливає на її каталітичну активність. Як відзначалось, введення спейсера сприяє підвищенню ефективності біокаталітичної мембрани в процесі синтезу, очевидно, завдяки кращому збереженню структури ферменту при іммобілізації. До певної міри це підтверджується слабшим згладжуванням шорсткості поверхні мембрани при іммобілізації зі спейсером (табл. 2). В свою чергу, іммобілізація ліпази на мембрані при фільтруванні практично не впливає на глобулярну структуру ферменту і величина шорсткості поверхні у цьому випадку є найвищою.

Таким чином, встановлено, що за допомогою інклюзії ліпази в широкопоруватому підтримуючому шарі мембрани можна одержати високоактивні біокаталітичні мембрани, здатні до 70—72 %-ї конверсії олеїнової кислоти при синтезі бутилолеату протягом 8 год. Для порівняння, біокаталітичні мембрани з адсорбованою чи ковалентно іммобілізованою ліпазою при тих самих умовах забезпечують ступінь конверсії ліпази 22—28 і 18—21 % відповідно. Значно вища конверсія субстрату на мембрані з ліпазою, іммобілізованою шляхом інклюзії в порувату структуру, порівняно з мембранами з адсорбованою ліпазою є результатом вищого завантаження мембрани ліпазою. Разом з тим каталітична активність адсорбованої ліпази вища, ніж інклюзованої, що свідчить про суттєві обмеження масопереносу при високих завантаженнях ферменту.

Показано, що інклюзія ліпази у широкопористому підтримуючому мембранному шарі дозволяє одержати мембрани з вищою каталітичною активністю в порівнянні з мембранами, в яких фермент іммобілізовано на поверхні активного шару мембрани. Таким чином, розподільчий профіль ліпази в мембрані відіграє важливу роль для ефективного використання іммобілізованого ферменту.

Встановлено, що ковалентно іммобілізована на мембрані ліпаза є каталітично менш активною, ніж адсорбований фермент. Це, очевидно, пояснюється конформаційними змінами четвертинної структури ліпази при ковалентному зв'язуванні, що приводить до часткової втрати її активності. Введення проміжного гексаметилендіамінового спейсера між поверх-

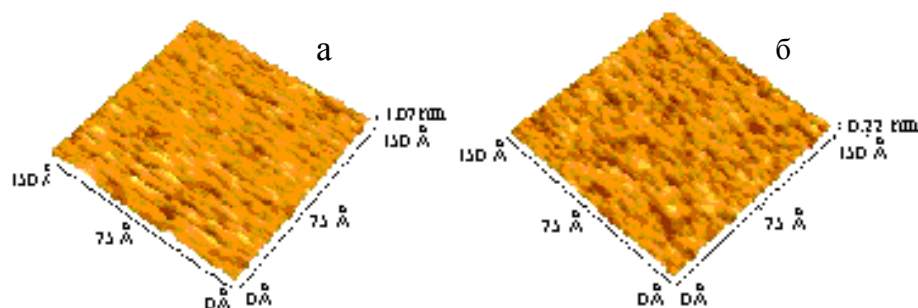


Рис. 6. Знімки поверхні C030F мембрани з ковалентно іммобілізованою ліпазою: *a* — без спейсера; *б* — зі спейсером.

нею мембрани і ковалентно іммобілізованим ферментом дозволяє підвищити каталітичну активність ліпази в реакції синтезу бутилолеату.

РЕЗЮМЕ. Исследованы свойства биокаталитических мембран с иммобилизованной липазой в реакции синтеза бутилолеата при эстерификации олеиновой кислоты с *n*-бутанолом в изоктане. Биокаталитические мембраны были получены ковалентной или нековалентной (адсорбция, инклюзия в пористой структуре) иммобилизацией липазы на композитных ультрафильтрационных мембранах C030F и PM30. Установлено, что инклюзия липазы в пористом поддерживаемом слое мембран позволяет получить биокаталитические мембраны, которые обеспечивают конверсию олеиновой кислоты на уровне 70—72 % при проведении каталитического процесса на протяжении 8 ч. Показано, что для эффективного использования фермента важное значение имеет как метод иммобилизации, так и профиль распределения иммобилизованной на мембране липазы.

SUMMARY. The catalytic properties of lipase-immobilized membranes have been studied in reaction of butyloleate synthesis through esterification of oleic acid with *n*-butanol in isooctane. Biocatalytic membranes were prepared by both covalent and non-covalent (adsorption, inclusion of enzyme in membrane structure) lipase immobilization on composite ultrafiltration membranes C030F and PM30. It was found that the lipase inclusion in the wide porous supporting layer of membrane was the most efficient method in preparing highly effective biocatalytic

membranes. The degree of oleic acid conversion using these membranes was about 70—72 % with a reaction time of 8 hours. It was shown that the distribution profile of the lipase in the membrane was important for the effective enzyme utilization.

1. Villeneuve P., Muderhwa J.M., Graille J., Haas M.J. // *J. Molec. Catal. B: Enzymatic*. -2000. -9. -P. 113—148.
2. Balcao V.M., Paiva A.L., Malcata F.X. // *Enzyme Microb. Technol.* -1996. -18. -P. 392—416.
3. Sakaki K., Giorno L., Drioli E. // *J. Membrane Sci.* -2001. -184. -P. 27—38.
4. Hilal N., Nigmatullin R., Alpatova A. // *Ibid.* -2004. -238. -P. 131—141.
5. Fernandez-Lafuente R., Armisen P., Sabuquillo P. et al. // *Chem. Phys. Lipids*. -1998. -93. -P. 185—197.
6. Sirkar K.K., Shanbhad P.V., Kovvali A.S. // *Ind. Eng. Chem. Res.* -1999. -38. -P. 3715—3721.
7. Molinari R., Santoro M.E., Drioli E. // *Ibid.* -1994. -33. -P. 2591.
8. Giorno L., Molinari R., Natoli M., Drioli E. // *J. Membrane Sci.* -1997. -125. -P. 177—187.
9. Bowen W.R., Hilal N., Lovitt R.W., Williams P.M. // *Colloid Interface Sci.* -1996. -180. -P. 350—359.
10. Tsai S.-W., Shaw S.-S. // *J. Membrane Sci.* -1998. -146. -P. 1—8.
11. Matthiasson E. // *Ibid.* -1983. -16. -P. 23—32.
12. Pronk W., van't Riet K. // *Biotechn. Appl. Biochem.* -1991. -14. -P. 146—153.
13. Stark M.B., Holmberg K. // *Biotechn. Bioeng.* -1989. -34. -P. 942—954.

Інститут колоїдної хімії та хімії води
ім. А.В. Думанського НАН України, Київ

Центр водоочисних технологій Ноттингемського університету, Великобританія

Надійшла 27.01.2006

УДК 546.431'814

С.А. Солопан, О.И. Вьюнов, А.Г. Белоус

ОСОБЕННОСТИ ПОЛУЧЕНИЯ НАНОРАЗМЕРНОГО ПОРОШКА BaSnO₃ ЗОЛЬ–ГЕЛЬ МЕТОДОМ

Синтезирован наноразмерный гомогенный порошок станната бария BaSnO₃ золь–гель методом. Особенность синтеза — получение однофазного порошка станната бария при относительно невысокой температуре (1000 °С) с использованием в качестве исходных реагентов SnCl₄·5H₂O и BaCO₃. Методом инфракрасной спектроскопии, рентгенофазового и дифференциально-термического анализов установлено, что формирование BaSnO₃ начинается при температуре 700 °С, а однофазным продукт становится после термообработки при 1000 °С. Полученный станнат бария характеризуется псевдокубической структурой типа перовскита с параметром элементарной ячейки $a=4.1160(3)$ Å.

Станнат бария используется в различных отраслях техники при изготовлении керамических материалов, в частности конденсаторов с высокими

удельными характеристиками [1, 2], при разработке нелинейных материалов [3], сенсоров влажности воздуха и т.п. [4, 5].

© С.А. Солопан, О.И. Вьюнов, А.Г. Белоус, 2007