

DOI: 10.15593/2224-9400/2021.1.03

УДК 577.152

**В.С. Гамаюрова, Е.С. Воробьев,
К.Л. Шнайдер, Л.Э. Ржещицкая**

Казанский национальный исследовательский технологический
университет, Казань, Россия

РАСЧЕТ И АНАЛИЗ КОНСТАНТ СКОРОСТИ ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛИЗА РЕАКЦИЙ ЭТЕРИФИКАЦИИ АЛИФАТИЧЕСКИХ КИСЛОТ И БУТАНОЛА

*Реакции этерификации проводились в среде гексана, использовались алифатические кислоты ряда C_3 – C_8 , спиртовой субстрат – бутанол, в качестве биокатализатора – неиммобилизованный фермент *Lipozyme CALB*.*

Для расчета констант скорости ферментативного катализа реакций этерификации был применен метод математического моделирования, модифицированный метод Рунге – Кутты – Мерсона, обеспечивающий заданную точность решения кинетических уравнений.

Полученные данные показывают, что в исследованных системах протекают три процесса – первичная этерификация, обратная реакция – гидролиз образовавшихся эфиров и вторичная этерификация, названная нами автокатализ, который возникает за счет того, что вода, образованная при первичной этерификации, входит в гидратную оболочку активного центра фермента, увеличивая его каталитические свойства и продолжение процесса этерификации.

При этом разные кислоты и их эфиры проявляют различное соотношение констант скорости этих трех процессов.

Таким образом, полученные данные по влиянию кислот – доноров ацильных групп на суммарные скорости реакций показывают сложность и зависимость этих процессов от нескольких факторов: природы субстратов (спирта и кислоты), стерических эффектов (длина углеводородной цепи), кислотных свойств и концентрации фермента.

Ключевые слова: ферментативный катализ, этерификация, константы скорости, сложные эфиры.

**V.S. Gamayurova, E.S. Vorobiev,
K.L. Shnaider, L.E. Rzhechitskaya**

Kazan National Research Technological University,
Kazan, Russian Federation

CALCULATION AND ANALYSIS OF RATE CONSTANTS OF ENZYMATIC CATALYSIS OF ETHERIFICATION REACTIONS OF ALIPHATIC ACIDS AND BUTANOL

The reactions of esterification were carried out in a hexane medium with aliphatic acids of the C₃–C₈ series, butanol was the alcohol substrate, and the non-immobilized enzyme Lipozyme CALB was used as a biocatalyst.

The rate constants of enzymatic catalysis of esterification was calculated with the method of mathematical modeling modified by Runge – Kutta – Merson. This method provides the specified accuracy of solving kinetic equations.

The obtained data show that three processes occur in the studied systems – primary esterification, the reverse reaction – hydrolysis of the formed esters and secondary esterification, which we called autocatalysis. The autocatalytic process occurs due to the fact that water formed during primary esterification enters the hydration shell of the active center of the enzyme, increasing its catalytic properties and continuing the esterification process.

Moreover, different acids and their esters show a different ratio of the rate constants of these three processes.

Thus, the obtained data on the effect of acids as donors of acyl groups on the total reaction rates show the complexity and dependence of these processes on several factors: the nature of substrates (alcohol and acids), steric effects (length of the hydrocarbon chain), acidic properties, and enzyme concentration.

Keywords: enzymatic catalysis, esterification, rate constants, esters.

Реакции этерификации являются основным методом получения сложных эфиров, которые широко производятся в промышленных масштабах и применяются в различных областях науки и техники. Особенностью настоящего времени является все более широкое использование для осуществления реакций этерификации ферментативного катализа, который позволяет получать сложные эфиры с более высокой чистотой, что соответствует современной потребности во многих отраслях промышленности. Обзор этих работ приведен в статьях [1–3].

Кинетический анализ ферментативной этерификации в водно-органических средах проведен в ряде работ, а также рассмотрены возможные модели механизмов процесса этерификации [4–8].

В этих и аналогичных работах не рассматривается тот факт, что в активном центре фермента протекают и другие процессы. Прежде всего, липаза катализирует не только процесс этерификации, но и кон-

курентный ему процесс гидролиза сложного эфира. Кроме того, в литературе не всегда рассматривается процесс включения воды, добавленной или образовавшейся в результате синтеза, в гидратную оболочку фермента. Именно вода обеспечивает равновесие сил гидрофильно-гидрофобных, водородных связей, электростатического взаимодействия в белковой глобуле, обуславливая способность к ферментативному катализу [9, 10].

В настоящей работе методом моделирования Рунге – Кутты – Мерсона проведены расчеты констант скорости процессов этерификации алифатических кислот и бутанола в среде гексана без добавления воды.

Цель работы – математически, количественно отразить процессы, протекающие при проведении реакции этерификации в неводных средах при использовании биокатализаторов, применив метод моделирования Рунге – Кутты – Мерсона. Этот метод моделирования показал сложность процессов, протекающих в активном центре фермента, и позволил их количественно охарактеризовать: это не только первичная этерификация и гидролиз образовавшегося эфира, но и вторичная этерификация (автокатализ), что было впервые показано.

Экспериментальная часть. Реактивы. Коммерческий препарат Lipozyme CALB – неспецифическая липаза, жидкая, активность 5 KLU/g (Novozymes, Дания). Масляная, пропионовая, валериановая, каприловая кислоты – марки «ч». Ледяная уксусная кислота – марки «хч». Бутиловый спирт – марки «чда», гексан – марки «ч».

Проведение синтеза. Процесс осуществляли в органическом растворителе – гексане. Ферментные препараты липаз без дополнительной иммобилизации смешивали с органическим растворителем. Концентрация кислоты в реакционной среде составляла 0,1 ммоль/л, молярное соотношение кислоты и спирта – 1:1. Ферментативный синтез осуществляли при температуре от 30 до 40 °С в течение 4–48 ч. Конверсию кислоты в процессе синтеза определяли титриметрически по изменению количества кислоты в системе. Титрование проводили 0,1 н. спиртовым раствором NaOH (в 80%-м этиловом спирте). Контрольный образец не содержал ферментного препарата. Конверсию кислоты (B , %) рассчитывали по формуле

$$B = \frac{(K - O)}{K} \cdot 100,$$

где O – количество 0,1 н. спиртового раствора NaOH, пошедшего на титрование пробы, мл; K – количество 0,1 н. спиртового раствора NaOH, пошедшего на титрование контроля, мл.

Результаты обрабатывали с помощью пакета статистических программ Statistica 6.0. Достоверность отличий контрольных и экспериментальных результатов оценивали при помощи t -критерия Стьюдента. Погрешность измерений не превышала 7 %.

Результаты и их обсуждение. Для расчета и анализа кинетических параметров процесса этерификации сложных эфиров алифатического ряда с использованием биокатализа был применен метод моделирования кинетических характеристик реакций, позволяющий вычислять скорости, подбирая различные модели их протекания. При решении обратной задачи химической кинетики использовался модифицированный метод Рунге – Кутты – Мерсона, который позволяет решать системы дифференциальных уравнений, подбирая шаг с заданной точностью. Подробное описание решения показано в работах [11, 12]. Поиск неизвестных констант скорости реакций проводился средствами оптимизации в надстройке MS Excel «Поиск решения». Для решения поставленной задачи были предложены две кинетические модели этерификации сложных эфиров, каждая из которых включает систему из нескольких химических реакций.

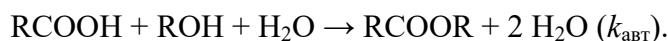
1. Первая модель описывает реакцию этерификации, как обратимую, которая протекает под воздействием фермента, и представляет собой систему, состоящую из двух процессов: реакции этерификации (константа скорости $k_{\text{этр}}$) и обратной реакции гидролиза (константа скорости $k_{\text{гид}}$):



Система кинетических дифференциальных уравнений Sys_1:

$$\begin{cases} \frac{dC_{\text{RCOOH}}}{d\tau} = -k_{\text{этр}} \cdot C_{\text{RCOOH}} \cdot C_{\text{ROH}} + k_{\text{гид}} \cdot C_{\text{RCOOR}} \cdot C_{\text{H}_2\text{O}}, \\ \frac{dC_{\text{ROH}}}{d\tau} = -k_{\text{этр}} \cdot C_{\text{RCOOH}} \cdot C_{\text{ROH}} + k_{\text{гид}} \cdot C_{\text{RCOOR}} \cdot C_{\text{H}_2\text{O}}, \\ \frac{dC_{\text{RCOOR}}}{d\tau} = k_{\text{этр}} \cdot C_{\text{RCOOH}} \cdot C_{\text{ROH}} - k_{\text{гид}} \cdot C_{\text{RCOOR}} \cdot C_{\text{H}_2\text{O}}, \\ \frac{dC_{\text{H}_2\text{O}}}{d\tau} = k_{\text{этр}} \cdot C_{\text{RCOOH}} \cdot C_{\text{ROH}} - k_{\text{гид}} \cdot C_{\text{RCOOR}} \cdot C_{\text{H}_2\text{O}}. \end{cases}$$

2. Вторая модель учитывает активирующее действие воды, выделяющейся при образовании сложного эфира и включает соответственно три процесса: первичную этерификацию (константа скорости $k_{\text{этр}}$), вторичную этерификацию, условно названную «автокаталитической» (константа скорости $k_{\text{авт}}$) и гидролиз образовавшегося эфира (константа скорости $k_{\text{гид}}$):



Система кинетических дифференциальных уравнений Sys_2:

$$\begin{cases} \frac{dC_{\text{RCOOH}}}{d\tau} = -k_{\text{этр}} \cdot C_{\text{RCOOH}} \cdot C_{\text{ROH}} - k_{\text{авт}} \cdot C_{\text{RCOOH}} \cdot C_{\text{ROH}} \cdot C_{\text{H}_2\text{O}} + k_{\text{гид}} \cdot C_{\text{RCOOR}} \cdot C_{\text{H}_2\text{O}}, \\ \frac{dC_{\text{ROH}}}{d\tau} = -k_{\text{этр}} \cdot C_{\text{RCOOH}} \cdot C_{\text{ROH}} - k_{\text{авт}} \cdot C_{\text{RCOOH}} \cdot C_{\text{ROH}} \cdot C_{\text{H}_2\text{O}} + k_{\text{гид}} \cdot C_{\text{RCOOR}} \cdot C_{\text{H}_2\text{O}}, \\ \frac{dC_{\text{RCOOR}}}{d\tau} = k_{\text{этр}} \cdot C_{\text{RCOOH}} \cdot C_{\text{ROH}} + k_{\text{авт}} \cdot C_{\text{RCOOH}} \cdot C_{\text{ROH}} \cdot C_{\text{H}_2\text{O}} - k_{\text{гид}} \cdot C_{\text{RCOOR}} \cdot C_{\text{H}_2\text{O}}, \\ \frac{dC_{\text{H}_2\text{O}}}{d\tau} = k_{\text{этр}} \cdot C_{\text{RCOOH}} \cdot C_{\text{ROH}} + k_{\text{авт}} \cdot C_{\text{RCOOH}} \cdot C_{\text{ROH}} \cdot C_{\text{H}_2\text{O}} - k_{\text{гид}} \cdot C_{\text{RCOOR}} \cdot C_{\text{H}_2\text{O}}. \end{cases}$$

Системы обыкновенных дифференциальных уравнений решались с помощью метода Рунге – Кутты – Мерсона, который позволял изменять шаг интегрирования для обеспечения заданной точности, что важно в областях с высокой скоростью реакции. По результатам расчетов строились кинетические кривые (распределение концентрации компонентов от времени реакции). Решение обратной задачи проводилось с использованием надстройки MS Excel «Поиск решения», которая предназначена для решения оптимизационных задач. В качестве подбираемых параметров решения выступали константы скорости реакции.

Достоверность аппроксимации вычисляли через критерий Пирсона, путем сравнения набора экспериментальных и расчетных значений концентраций компонентов. Для подбора неизвестных констант реакции использовался метод наименьших квадратов. В MS Excel он реализовывался через функцию СУММКВРАЗН(), которая вычисляла сумму квадратов разностей между наборами экспериментальных и расчетных значений концентрации компонентов (критерий минимизации).

Кинетический анализ проведен для реакций этерификации, в которых в качестве акцептора ацильных групп использовался бутиловый спирт, а в качестве доноров ацильных групп применялись кислоты алифатического ряда: уксусная, пропионовая, масляная, валериановая, капроновая и каприловая. Все эксперименты проводились в растворе гексана, в качестве фермента использовалась липаза Lipozyme CALB. Результаты эксперимента приведены в более ранней работе [13], в которой было показано влияние алифатических кислот с различной длиной углеводородной цепи, а следовательно, различной кислотностью, на процесс этерификации при использовании в качестве спиртового субстрата спирта алифатической природы.

Анализ кинетических параметров проводился путем сравнения расчетных величин критерия Пирсона для обеих моделей. В табл. 1 приведено сравнение расчетных критериев Пирсона для моделей Sys_1 и Sys_2 при использовании в качестве донора ацильной группы пропионовой кислоты в синтезе бутилпропионата.

Таблица 1

Сравнение расчетных кинетических параметров
с учетом критерия Пирсона и критерия оптимальности
для моделей Sys_1, Sys_2 при синтезе бутилпропионата
в зависимости от концентрации фермента Lipozyme CALB

Вариант модели	Концентрация фермента, мкл/0,1 мМ	Константы скорости, 1/моль·ч ⁻¹			Минимум	Критерий Пирсона
		$k_{1\text{этр}}$	$k_{2\text{авт}}$	$k_{3\text{гид}}$		
Sys 1	10	0,1045	—	0,0000	0,0538	0,8836
Sys 2	10	0,0447	0,3374	0,0000	0,0237	0,9378
Sys 1	20	0,1988	—	0,0000	0,0213	0,9901
Sys 2	20	0,1011	0,5332	0,0000	0,0052	0,9985
Sys 1	30	0,2454	—	0,0000	0,0300	0,9632
Sys 2	30	0,1426	0,3248	0,0267	0,0090	0,9696

По этим данным при малой концентрации фермента критерий Пирсона как показатель достоверности для модели Sys_2 на 6 % выше, чем для модели Sys_1. При концентрации фермента 20–30 мкл/0,1 мМ это превосходство составляет доли процента, но модель Sys_2 графически показывает лучшую сходимость расчетных и экспериментальных концентрационных зависимостей (рис. 1).

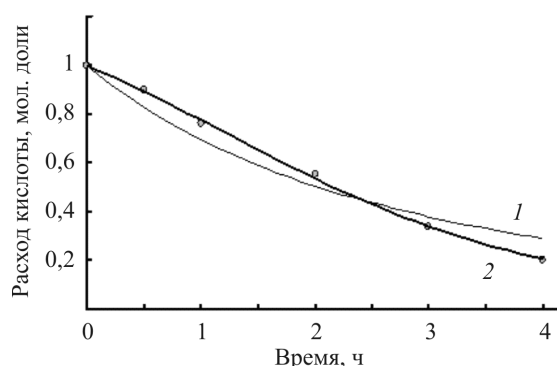


Рис. 1. Сравнение расчетных и экспериментальных данных при синтезе бутилпропионата (концентрация фермента Lipozyme CALB 20 мкл/0,1 мМ кислоты): 1 – критерий Пирсона 0,9901, критерий оптимизации 0,0213 для функции Sys_1; 2 – критерий Пирсона 0,9985, критерий оптимизации 0,0005 для функции Sys_2

Это объясняется тем, что процесс гидролиза эфира в этих условиях отсутствует, согласно расчетным данным, так как константа скорости гидролитической составляющей нулевая. Отсюда следует, что модель Sys_1 в данном случае неадекватна, а модель Sys_2 наиболее точно отражает процесс этерификации.

При использовании в качестве донора ацильных групп уксусной кислоты получены иные результаты (табл. 2).

Таблица 2

Сравнение расчетных кинетических параметров с учетом критерия Пирсона и критерия оптимальности для моделей Sys_1, Sys_2 при синтезе бутилацетата в зависимости от концентрации фермента Lipozyme CALB

Вариант модели	Концентрация фермента, мкл/0,1 мМ	Константы скорости, моль ⁻¹ ·ч ⁻¹			Минимум	Критерий Пирсона
		$k_{1\text{этр}}$	$k_{2\text{авт}}$	$k_{3\text{гид}}$		
Sys 1	10	0,3518	–	0,0713	0,0022	0,9803
Sys 2	10	0,3466	0,0000	0,0604	0,0024	0,9821
Sys 1	30	0,4178	–	0,0171	0,0000	0,9999
Sys 2	30	0,4176	0,0000	0,0168	0,0000	0,9999

Как видно по данным табл. 2, значения критерия Пирсона для обеих моделей одинаковы. В этом случае процесс автокатализа отсутствует, синтез бутилацетата с использованием фермента Lipozyme CALB может

быть описан с помощью любой из предложенных моделей. Это говорит об универсальности модели Sys 2, которая адекватно описывает процесс этерификации и в отсутствие автокатализа. На рис. 2 показана хорошая сходимость расчетной и экспериментальной концентрационной зависимости при синтезе бутилацетата.

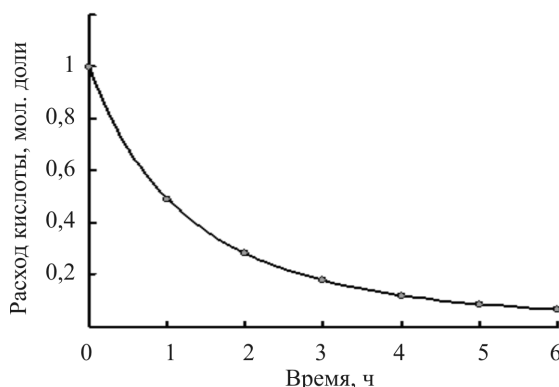


Рис. 2. Сравнение расчетных и экспериментальных данных при синтезе бутилацетата (концентрация фермента Lipozyme CALB 30 мкл/0,1 мМ кислоты)

Масляная кислота в качестве донора ацильных групп при синтезе бутилбутиратов показывает стабильные результаты. Сравнение моделей Sys_1 и Sys_2 приведено в табл. 3. Как видно из этих данных, для всех используемых концентраций фермента значение критерия Пирсона для модели Sys_2 больше, чем для модели Sys_1, хотя эта разница невелика и составляет порядка 1 %.

Таблица 3

Сравнение расчетных кинетических параметров с учетом критерия Пирсона, показателя минимизации для моделей Sys_1, Sys_2 при синтезе бутилбутирата в зависимости от концентрации фермента Lipozyme CALB

Вариант модели	Концентрация фермента, мкл/0,1 мМ	Константы скорости, моль ⁻¹ ·ч ⁻¹			Минимум	Критерий Пирсона
		$k_{1\text{этр}}$	$k_{2\text{авт}}$	$k_{3\text{гид}}$		
Sys 1	10	0,1448	—	0,0666	0,0153	0,9493
Sys 2	10	0,0844	0,4740	0,1823	0,0100	0,9542
Sys 1	20	0,1810	—	0,0800	0,0091	0,9688
Sys 2	20	0,1081	0,5118	0,1648	0,0042	0,9781
Sys 1	30	0,1903	—	0,0574	0,0118	0,9713
Sys 2	30	0,1019	0,5854	0,1477	0,0039	0,9833

Однако синтез бутилбутирата в интервале концентраций фермента Lipozyme CALB 10–30 мкл/0,1 мМ кислоты описывается с большей точностью моделью Sys_2, на это указывает и набор экспериментальных и расчетных концентрационных зависимостей (рис. 3).

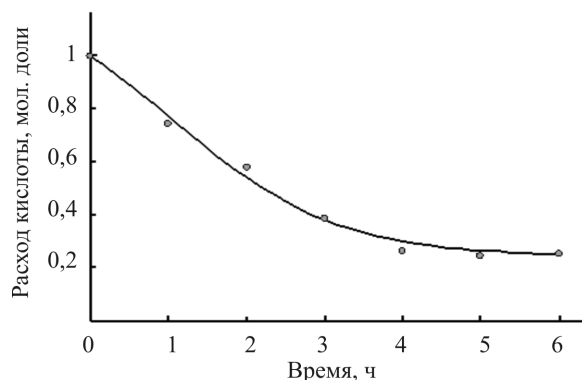


Рис. 3. Сравнение экспериментальных и расчетных данных, описываемых моделью Sys_2, при синтезе бутилбутирата (концентрация фермента Lipozyme CALB 30 мкл/0,1 мМ кислоты)

На это же указывает и приведенные на рис. 4 наборы экспериментальных и расчетных данных, описанных с помощью моделей Sys_1 и Sys_2, концентрационных зависимостей.

В целом все результаты показывают лучшее описание процессов моделью Sys_2.

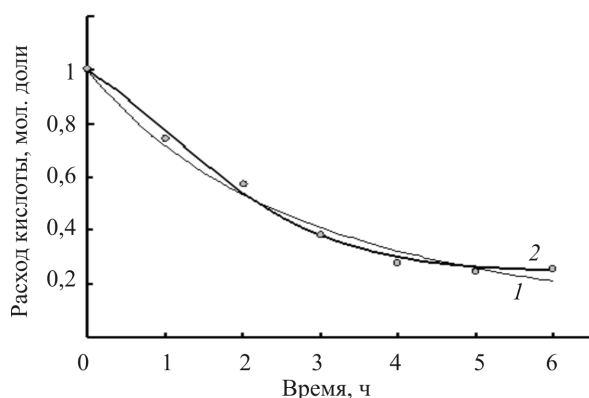


Рис. 4. Сравнение расчетных и экспериментальных данных при синтезе бутилбутирата (концентрация фермента Lipozyme CALB 30 мкл/0,1 мМ кислоты): 1 – критерий Пирсона 0,9713, критерий оптимизации 0,0118 для функции Sys_1; 2 – критерий Пирсона 0,9833, критерий оптимизации 0,0039 для функции Sys_2

В табл. 4 приведены сводные данные по константам скорости при этерификации бутилового спирта алифатическими кислотами, при температуре 35 °С при использовании модели Sys_2.

Таблица 4

Расчетные кинетические параметры этерификации бутилового спирта алифатическими кислотами при использовании фермента Lipozyme CALB

Наименование эфира	Концентрация фермента, мкл/0,1 мМ	Константы скорости, 1/моль·ч ⁻¹			Минимум	Критерий Пирсона
		$k_{1\text{этр}}$	$k_{2\text{авт}}$	$k_{3\text{гид}}$		
Бутилацетат	10	0,3466	0,0000	0,0604	0,0024	0,9821
	30	0,4176	0,0000	0,0168	0,0000	0,9999
Бутилпропионат	10	0,0447	0,3374	0,0000	0,0237	0,9378
	30	0,1426	0,3248	0,0267	0,0090	0,9696
Бутилбутират	10	0,0844	0,4740	0,1823	0,0100	0,9542
	30	0,1019	0,5854	0,1477	0,0039	0,9833
Бутилвалерат	10	0,2135	0,2103	0,0908	0,0224	0,8778
	30	0,2148	0,6969	0,0840	0,0053	0,9773
Бутилкапронат	10	0,1284	0,1620	0,0305	0,0148	0,9576
	30	0,2933	0,0018	0,0213	0,0023	0,9857
Бутилкаприлат	10	0,2080	0,0000	0,0012	0,0106	0,9740
	30	0,2801	0,0000	0,0196	0,0065	0,9665

Анализ результатов расчетов показал, что использование модели Sys_2 позволяет с высокой точностью описать процессы, в которых присутствует автокаталитическая составляющая, однако эта модель универсальна и пригодна для описания процессов, где автокатализ минимален или отсутствует. Об этом свидетельствуют результаты сводных расчетов, приведенные в табл. 4, по которым в некоторых результатах автокатализ отсутствует.

По данным табл. 4 видно, что уксусная кислота в этих экспериментах показывает наиболее высокую скорость прямой реакции этерификации, отсутствие автокатализа и низкую скорость обратной реакции. Пропионовая кислота, напротив, демонстрирует высокую скорость автокатализа и отсутствие обратной реакции – гидролиза эфира. Валериановая кислота имеет самую высокую скорость автокатализа при высокой концентрации фермента. Каприловая кислота показывает отсутствие автокатализа и малые скорости прямой и обратной реакции, особенно при низкой концентрации фермента. Причем, если проанализи-

зировать данные табл. 4 по константам скорости, то видно, что автокатализ преобладает над прямой реакцией этерификации кислот C_3-C_5 , и особенно значимо при высоких концентрациях фермента.

Таким образом, при этерификации бутанола алифатическими кислотами (см. табл. 4) протекают все три процесса: первичная этерификация, автокатализ и конкурентная им обратная реакция гидролиза. При этом разные кислоты и их эфиры показывают, как указано выше, различную склонность к этим процессам. Например, самая сильная из выбранных кислот уксусная (pK_a 4,75) в условиях эксперимента показывает самую высокую скорость прямой этерификации и не показывает автокатализа. Эфир пропионовой кислоты не склонен в условиях эксперимента к гидролизу. Самая слабая из использованных кислот каприловая (pK_a 4,89) показывает малые скорости прямой и обратной реакции этерификации и не способна к автокатализу.

Таким образом, полученные данные по влиянию кислот – доноров ацильных групп на суммарные скорости реакций этерификации показывают зависимость этих процессов от нескольких факторов: природы субстратов (спирта и кислоты), стерического эффекта (длина углеводородной цепи), кислотных свойств и концентрации фермента. Все это говорит о многофакторности процессов и усложняет их анализ.

Заключение. Применение модифицированного метода Рунге – Кутты – Мерсона для решения дифференциальных уравнений при описании процесса биокатализа реакций этерификации алифатических кислот и бутилового спирта позволило установить и количественно оценить наличие одновременного протекания трех процессов: первичной (прямой) этерификации, гидролиза образовавшегося эфира (обратной реакции) и вторичной этерификации (автокатализа). Процесс автокатализа обусловлен включением воды, образовавшейся в первичной этерификации в гидратную оболочку фермента, тем самым повышаются его каталитические свойства.

Показано, что разные кислоты обнаруживают различное соотношение констант скорости этих трех процессов. Таким образом, полученные данные о влиянии кислот на процессы, происходящие при взаимодействии кислот и спиртов в активном центре фермента, показывают сложность и зависимость этих трех процессов от нескольких факторов: природы субстратов (кислота и спирт), стерического эффекта (длина углеводородной цепи), кислотных свойств и концентрации фермента.

Список литературы

1. Применение бактериальных термостабильных липолитических ферментов в современных биотехнологических процессах: обзор / Ю.В. Самойлова, К.Н. Сорокина, А.В. Пилигаев, В.Н. Пармон // Катализ в промышленности. – 2018. – Т. 18, № 6. – С. 61–73. DOI: 10/1842/1816-0387-2018-6-61-73
2. Смирнов Е.В. Пищевые ароматизаторы: справ. – СПб.: Профессия, 2008. – 736 с.
3. Липазы в реакциях этерификации: обзор / В.С. Гамаюрова, М.Е. Зиновьева, К.Л. Шнайдер, Г.А. Давлетшина // Катализ в промышленности. – 2020. – Т. 20. – С. 216–233. doi.org/10.18412/1816-0387-2020-3-216-233
4. Шеламова С.А. Биотехнологические основы конверсии триглицеридов: монография. – Воронеж: Научная книга, 2008. – 145 с.
5. Тырсин Ю.А., Шеламова С.А. Механизм гидролиза, синтеза и перэтерификации в пищевой биотехнологии: моногр. – Воронеж: Научная книга, 2012. – 124 с.
6. Lipase-catalyzed synthesis of geranyl acetate inn-hexane with membrane-mediated water removal / K. Bartling, J.U.S. Thompson, P.H. Pfromm, P. Czermak, M.E. Rezac // Biotechnology and Bioengineering. – 2001. – Vol. 75, no. 6. – P. 676–681. doi: 10.1002/bit.1193
7. Enzymatic synthesis of fatty esters: Part I. Kinetic approach / T. Garcia, N. Sanchez, M. Martinez, J. Aracil // Enzyme and Microbial Technology. – 1999. – Vol. 25. – P. 584–590. doi: 10.1016/s0141-0229(99)00082-4
8. Enzymatic synthesis of fatty esters / T. Garcia, N. Sanchez, M. Martinez, J. Aracil // Enzyme and Microbial Technology. – 1999. – Vol. 25. – P. 591–597. doi: 10.1016/s0141-0229(99)00083-6
9. Optimization of immobilized lipase-catalyzed synthesis of wax esters by response surface methodology / I. Aissa, M. Sellami, A. Kamoun, Y. Gargouri, N. Miled // Current Chemical Biology. – 2012. – Vol. 6. – P. 77–85. doi: 10.2174/187231312799984376
10. Аксенов С.И. Вода и ее роль в регулировании биологических процессов. – М.; Ижевск: Институт компьютерных исследований, 2004. – 212 с.
11. Коробов В.И., Очков В.Ф. Химическая кинетика: введение с Mathcad/Maple/MCS. – М.: Горячая линия – Телеком, 2009. – 384 с.
12. Ерандаева Ю.В., Воробьев Е.С., Воробьева Ф.И. Расчет скорости химических реакций в Excel // Вестник Казанского технологического университета. – 2011. – Т. 11. – С. 88–91.
13. The influence of acyl donators on the enzymatic activity of lipase Lipozyme CALB in the esterification process / V.S. Gamayurova, J. Jamaï Matatz, M.N. Chernykh, S.K. Zaripova // Journal of Advanced Chemical Sciences. – 2017. – Vol. 3. – P. 478–479.

References

1. Samojlova YU.V., Sorokina K.N., Piligaev A.V., Parmon V.N. Prime-nenie bakterial'nykh termostabil'nykh lipoliticheskikh fermentov v sovremennykh biotekhnologicheskikh protsessakh [Application of thermostable lipolytic bacterial enzymes for modern biotechnological processes]. *Kataliz v promyshlennosti*, 2018, vol. 18, no. 6, pp. 61–73. DOI 10/1842/1816-0387-2018-6-61-73
2. Smirnov E.V. Pishchevye aromatizatory [Food flavoring agents]. Saint Petersburg, «Professii», 2008, 736 p.
3. Gamayurova V.S., Zinov'eva M.E., Shnaider K.L., Davletshina G.A. Li-pazy v reaktsiiakh eterifikatsii [Lipases in esterification reactions]. *Kataliz v pro-myshlennosti*, 2020, vol. 20, no. 3, pp. 216–233. doi.org/10.18412/1816-0387-2020-3-216-233
4. Shelamova S.A. Biotekhnologicheskie osnovy konversii triglitseridov [Biotechnological basics of triglyceride conversion]. Voronezh, Nauchnaia kniga, 2008, 145 p.
5. Tyrsin IU.A., Shelamova S.A. Mekhanizm gidroliza, sinteza i pereeteri-fikatsii v pishchevoi biotekhnologii [Mechanism of hydrolysis, synthesis and trans-esterification in food biotechnology]. Voronezh, Nauchnaia kniga, 2012, 124 p.
6. Bartling K., Thompson J.U.S., Pfromm P.H., Czermak P., Rezac M.E. Li-pase-catalyzed synthesis of geranyl acetate in hexane with membrane-mediated wa-ter removal. *Biotechnology and Bioengineering*, 2001, vol. 75, no. 6, pp. 676–681. doi: 10.1002/bit.1193
7. Garcia T., Sanchez N., Martinez M., Aracil J. Enzymatic synthesis of fatty esters: Part I. Kinetic approach. *Enzyme and Microbial Technology*, 1999, vol. 25, pp. 584–590. doi: 10.1016/s0141-0229(99)00082-4
8. Garcia T., Sanchez N., Martinez M., Aracil J. Enzymatic synthesis of fatty esters. *Enzyme and Microbial Technology*, 1999, vol. 25, pp. 591–597. doi: 10.1016/s0141-0229(99)00083-6
9. Aissa I., Sellami M., Kamoun A., Gargouri Y., Miled N. Optimization of im-mobilized lipase-catalyzed synthesis of wax esters by response surface methodology. *Current Chemical Biology*, 2012, vol. 6, pp. 77–85. doi: 10.2174/187231312799984376
10. Aksenov S.I. Voda i ee rol' v regulirovanii biologicheskikh protsessov [Water and its role in the regulation of biological processes]. Moscow-Izhevsk, Insti-tut komp'yuternykh issledovaniy, 2004, 212 p.
11. Korobov V.I., Ochkov V.F. Khimicheskaya kinetika: vvedenie s Math-cad/Maple/MCS [Chemical kinetics: introduction with Mathcad/Maple/MCS]. Moscow, Goriachaia liniia – Telekom, 2009, 384 p.
12. Erandaeva IU.V., Vorob'ev E.S., Vorob'eva F.I. Raschet skorosti khimi-cheskikh reaktsii v Excel [Rate calculation of chemical reactions in Excel]. *Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta*, 2011, vol. 11, pp. 88–91.

13. Gamayurova V.S., Mataz J. Jamai, Chernykh M.N., Zaripova S.K. The influence of acyl donators on the enzymatic activity of lipase Lipozyme CALB in the esterification process. *Journal of Advanced Chemical Sciences*, 2017, vol. 3, pp. 478–479.

Получено 01.02.2021

Об авторах

Гамаюрова Валентина Семеновна (Казань, Россия) – доктор химических наук, профессор кафедры пищевой биотехнологии, Казанский национальный исследовательский технологический университет (420015, г. Казань, ул. Толстого, 8/31; e-mail: gamaur@kstu.ru).

Воробьев Евгений Сергеевич (Казань, Россия) – кандидат технических наук, доцент кафедры общей химической технологии, Казанский национальный исследовательский технологический университет (420015, г. Казань, ул. К. Маркса, 68; e-mail: Vorobiev@kstu.ru).

Шнайдер Ксения Леонидовна (Казань, Россия) – кандидат химических наук, доцент кафедры пищевой биотехнологии, Казанский национальный исследовательский технологический университет (420015, г. Казань, ул. Толстого, 8/31; e-mail: 0202-84@mail.ru).

Ржещицкая Лариса Эдуардовна (Казань, Россия) – кандидат химических наук, доцент кафедры пищевой биотехнологии, Казанский национальный исследовательский технологический университет (420015, г. Казань, ул. Толстого, 8/31; e-mail: larisa.edvard@gmail.com).

About the authors

Valentina S. Gamayurova (Kazan, Russian Federation) – Doctor of Chemistry, Professor of the Food Biotechnology Department, Kazan National Research Technological University (8/31, Tolstoy str., Kazan, 420015; e-mail: gamaur@kstu.ru).

Evgeniy S. Vorob'ev (Kazan, Russian Federation) – Ph.D. in Technical Sciences, Associate Professor of the General Chemical Technology Department, Kazan National Research Technological University (68, K. Marks str., Kazan, 420015; e-mail: Vorobiev@kstu.ru).

Ksenia L. Shnaider (Kazan, Russian Federation) – Ph.D. in Chemistry Sciences, Associate Professor of the Food Biotechnology Department, Kazan National Research Technological University (8/31, Tolstoy str., Kazan, 420015; e-mail: 0202-84@mail.ru).

Larisa E. Rzhechitskaya (Kazan, Russian Federation) – Ph.D. in Chemistry Sciences, Associate Professor of Food Biotechnology Department, Kazan National Research Technological University (8/31, Tolstoy str., Kazan, 420015; e-mail: larisa.edvard@gmail.com).