

SANJA B. STOJAKOVIĆ¹
DEJAN I. BEZBRADICA²
DUŠAN Ž. MIJIN²
ZORICA D. KNEŽEVIĆ²
SLAVICA S.
ŠILER-MARINKOVIĆ²

¹Institut za zaštitu bilja
i životnu sredinu,
Beograd

²Tehnološko-metalurški fakultet,
Univerzitet u Beogradu,
Beograd

NAUČNI RAD

577.15+542.913:661.183.6/7

UTICAJ ZEOLITA I SILIKA GELA NA SINTEZU AMIL-IZOBUTIRATA KATALIZOVANU LIPAZOM IZ CANDIDA RUGOSA

Enzimski postupci sinteze estara koji se primenjuju u prehrambenoj, farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji, imaju sve veći značaj jer se svrstavaju u "zelene" postupke i dobijeni proizvodi mogu da dobiju etiketu prirodnog proizvoda. Različiti adsorbenti vode primenjuju se u ovoj reakciji jer dovode do smanjenja brzine povratne reakcije (hidrolize estera) i povećanja prinosa željenog proizvoda. U ovom radu je optimizovano vreme dodavanja adsorbenta u reakcionu smešu. Ustanovljeno je da adsorbenti pozitivno utiču na prinos amil-izobutirata samo ukoliko se dodaju pri kraju reakcije, dok dodatni adsorbent na početku reakcije dovodi do smanjenja prinosa estera. Silika gel je pokazao veći efekat na prinos estera (povećanje od 10%) od molekularnih sita (zeolita).

Enzimski postupci sinteze estara privlače sve veću pažnju zbog mnogobrojnih prednosti enzimskog postupka u poređenju sa klasičnim hemijskim postupcima koji se zasnivaju na primeni koncentrovanih kiselina kao katalizatora. Za enzimsku sintezu estara koriste se lipaze mikrobne, životinjske i biljne porekla, a reakcije se obično izvode u organskom rastvaraču jer se time povećava termostabilnost enzima i omogućava izvođenje reakcije sa supstratima koji su nerastvorni u vodi [1,2]. Najvažnije prednosti enzimski katalizovanih reakcija esterifikacije su: umereni reakcioni uslovi koji dozvoljavaju transformaciju supstrata neotopornih na ekstremne uslove, mogućnost korišćenja stereoselektivnih enzima za dobijanje optički čistih derivata u visokom prinosu bez upotrebe skupih separacionih postupaka i dobijanje čistih estara sa vrlo malim udelom primesa drugih jedinjenja [3]. Pored toga, upotreba kiselih katalizatora dovodi do povećanih troškova opreme zbog korozivnog dejstva i povećanog rizika od industrijskih havarija [4]. U novije vreme od velikog značaja je činjenica da se enzimski postupci dobijanja estara svrstavaju u "zelene" postupke i dobijeni proizvodi mogu da dobiju etiketu prirodnog proizvoda što omogućava njihovu primenu u prehrambenoj, kozmetičkoj i farmaceutskoj industriji [5,6].

U mnogobrojnim istraživanjima enzimske sinteze estara ustanovljeno je da je važan uslov postizanja visokih prinosa estara regulisanje koncentracije vode u reakcionoj smeši [7]. Određena koncentracija vode u reakcionoj smeši neophodna je za očuvanje nativne konformacije enzima, ali višak vode dovodi do pomeranja hemijske ravnoteže povratne reakcije u smeru povratne reakcije, hidrolize estera. Primenjuje se ne-

koliko strategija za optimizaciju koncentracije vode u reakcionoj smeši: podešavanje početne aktivnosti vode (a_w) na željenu vrednost pomoću zasićenog rastvora soli [8,9], uklanjanje vode dodavanjem adsorbenta u reakcionu smešu [10,11] i održavanje konstantne aktivnosti vode pomoću para soli [7,12]. Podešavanjem a_w u početnoj reakcionoj smeši ne može se sprečiti smanjenje prinosa zbog nagomilavanja vode u mikrookolini enzima. S druge strane, dodavanje para soli se izbegava, iako efikasno kontroliše a_w , jer postoji hipoteza da joni mogu da stupe u interakciju sa naelektrisanim grupama na površini enzima i dovedu do promene njegove nativne konformacije [7]. Iz navedenih razloga, najširu primenu i dalje ima dodavanje u reakcionu smešu supstanci koje efikasno adsorbiraju vodu.

Obično se koriste molekularna sita prečnika pora 0,3–0,5 nm [4,10,11,13]. Prednost ovih adsorbenata u odnosu na druge adsorbente, kao što su oksidi silicijuma ili aluminijuma, jeste činjenica da molekularna sita ne mogu adsorbovati alkohole i kiseline srednjeg i dužeg lanca [11]. Pri izboru veličine pora molekularnih sita treba voditi računa o molekularnim masama reaktanata. U radu posvećenom sintezi butil-izobutirata primećeno je da sita prečnika pora 0,4 nm adsorbiraju veće količine izobuterne kiseline nego vodu i tako smanjuju efektivnu koncentraciju ovog supstrata u reakcionoj smeši [4]. Usled toga, brzina reakcije je bila manja u smeši sa molekularnim sitima nego u kontrolnom uzorku bez sita. S druge strane, primećeno je da suviše male pore mogu dovesti do prekomernog uklanjanja vode iz reakcione smeše koje može dovesti do denaturacije lipaze [14]. Ved i Pai su za uklanjanje vode iz reakcione smeše u sintezi izoamil-acetata, izoamil-valerata i butil-acetata koristili silika gel i postigli povećanje finalnog prinosa estara [15].

U ovom radu ispitana je mogućnost povećanja prinosa amil-izobutirata u enzimski katalizovanoj reakciji primenom adsorbenata vode. Primenjena su dva adsorbenta (molekularna sita od zeolita i silika

Adresa autora: D. Bezbradica, Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Karnegijeva 4, Beograd

E-mail: dbez@tmf.bg.ac.yu

Rad primljen: Januar 30, 2008.

Rad prihvaćen: Februar 18, 2008.

gel) i upoređen je njihov efekat na prinos amil-izobutirata, aroma estra koji ima značajnu primenu u duvanskoj i prehrambenoj industriji. Ispitan je uticaj vremena dodavanja adsorbenta i način pripreme adsorbenta na povećanje prinosa estra.

EKSPERIMENTALNI DEO

Kao reagensi u reakciji sinteze estara korišćeni su amil alkohol (Lachema, Neratovice, Češka) i izobuterna kiselina (Farmitaliana Carlo Erba, Milano, Italija). Reakcija je katalizovana lipazom iz kvasca *Candida rugosa* (Sigma, St. Louis, SAD). Kao organski rastvarač korišćen je izooktan (Merck, Darmstat, Germany). Kao adsorbenti za uklanjanje vode iz reakcione smeše korišćena su molekulska sita prečnika čestica od 2–3 mm i prečnika pora 0,4 nm ("Birač", Zvornik) i silika gel prečnika čestica 3 mm.

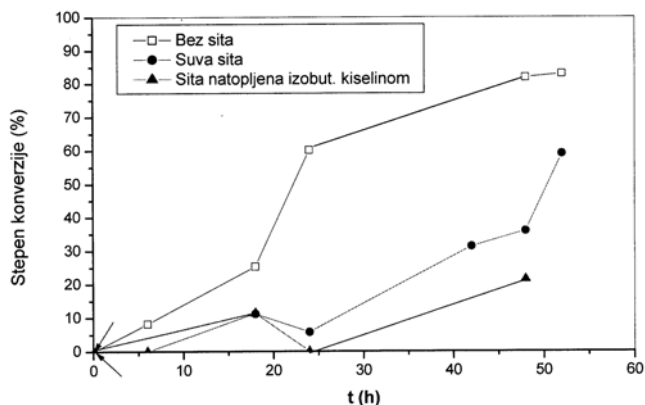
Reakcija je izvedena u reaktorima od 100 cm³. Reakcione smeše su sastojale od 2,5 mmol amil alkohola, 2,5 mmol izobuterne kiseline, 0,01 cm³ vode i 50 mg lipaze, a dopunjavana je do 10 cm³ izooktanom. Reakcija se izvodi na 45 °C uz konstantno mešanje brzinom 150 min⁻¹. Ovi reakcioni uslovi su odabrani jer je u prethodnom istraživanju ustanovljeno da se pod tim uslovima postižu maksimalni prinosi estra [16]. U reakcionu smešu je dodavano 0,8 g adsorbenta. Pre primene adsorbentata u reakciji izvršena je njihova aktivacija koja je trajala 3 sata. Silika gel je aktiviran na 105 °C, a molekulska sita od zeolita na 250 °C.

Stepen konverzije određivan je volumetrijski, titracijom neproreagovale izobuterne kiseline u prisustvu fenolfaleina kao indikatora. Enzimski reakcija je zaustavljana dodavanjem smeše etra i alkohola (odnos zapremina 1:1). Validnost ove metode potvrđena je poređenjem rezultata sa rezultatima dobijenim gasno-hromatografskim određivanjem na uređaju Varian 3400 opremljenom DB-1 kapilarnom kolonom dimenzija 5 m × 0,53 mm × 0,5 μm (Sigma-Aldrich Biotechnology LP, St. Louis, USA) i plameno jonizujućim detektorom. Kao noseći gas u gasno-hromatografskim određivanjima korišćen je azot.

PRIKAZ REZULTATA

Uticaj dodavanja molekulskih sita na prinos estra

Efekat molekulskih sita na efikasnost sinteze estara katalizovane lipazom iz *C. rugosa* ispitano je uporednim enzimskim sintezama amil-izobutirata sa ili bez molekulskih sita u reakcionoj smeši. Paralelno su izvedena tri eksperimenta: jedan eksperiment je izveden bez dodavanja adsorbenta u reakcionu smešu, drugi eksperiment je izveden uz dodavanje aktiviranih sita u reakcionu smešu, a u trećem eksperimentu korišćena je ista količina aktiviranih sita koja su prethodno zasićena izobuternom kiselinom stajanjem u



Slika 1. Uticaj molekulskih sita dodatih na početku reakcije na tok sinteze amil-izobutirata

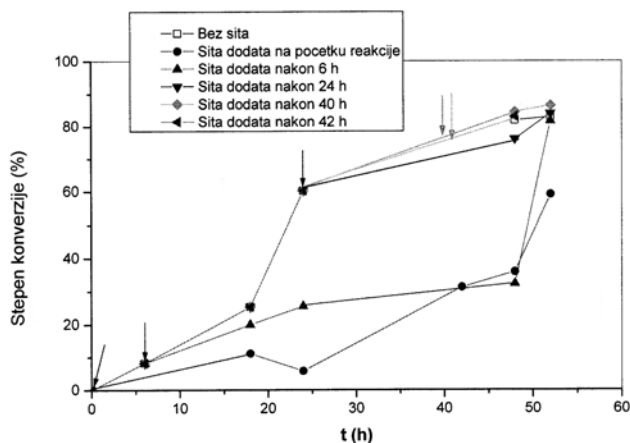
Figure 1. The effect of molecular sieves addition at the start of the reaction on the synthesis of amyl isobutyrate

izobuternoj kiselini u toku 1 h. Treći eksperiment izveden je na opisan način jer je u prethodnim istraživanjima ustanovljeno da se efekat molekulskih sita može povećati na ovaj način jer se eliminiše adsorpcija supstrata iz reakcione smeše koja smanjuje efektivnu koncentraciju supstrata u reakcionoj smeši [10]. Adsorbent je zasićen ovim supstratom pošto je ranije ustanovljeno da se izobuterna kiselina adsorbira u značajnoj meri [4].

Na slici 1, upoređeni su rezultati postignuti u reakciji enzimske sinteze amil-izobutirata izvedene na tri prethodno opisana načina. Prinos amil-izobutirata se značajno smanjuje kada se dodaju molekulska sita na početku reakcije u odnosu na reakciju bez molekulskih sita. Sintaza estra je značajno sporija, a nakon 20 sati dolazi i do pada prinosa estra. Nakon toga dolazi do rasta prinosa, ali su krajnji prinosi estra i dalje značajno manji nego u reakciji bez molekulskih sita.

Predtretman sita ima negativan uticaj na prinos amil-izobutirata. Kao što se vidi na slici 1, mnogo je niži prinos estra postignut dodatkom sita prethodno zasićenih izobuternom kiselinom (svega 21,4% za 48 h reakcije), u odnosu na prinos estra postignut dodatkom suvih sita (35,9% za 48 h). Tok reakcija sa suvim i predtretiranim sitima je vrlo sličan u toku prvih 24 sata. Međutim, rast prinosa koji sledi nakon toga sporiji je kada se koriste sita zasićena izobuternom kiselinom. Iz ovog razloga u nastavku rada korišćena su suva molekulska sita.

Pošto je prinos amil-izobutirata mnogo niži u prisustvu molekulskih sita, bez obzira na način njihove primene za reakciju, u nastavku eksperimentalnog rada je ispitana mogućnost poboljšanja efekta molekulskih sita njihovim dodavanjem u reakcionu smešu u toku reakcije. Molekulska sita su dodavana nakon 6, 24, 40 ili 42 sata reakcije. Tok sinteze prikazan je na slici 2, u poređenju sa reakcijom koja se odvijala bez prisustva molekulskih sita. Prinosi estra značajno su veći nego u slučaju kada su sita dodavana na po-



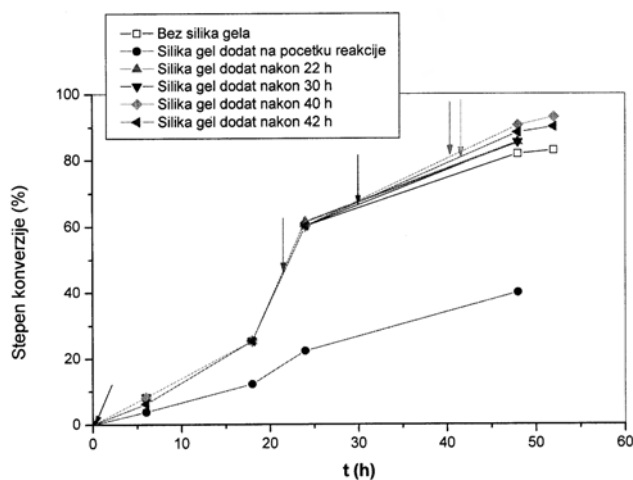
Slika 2. Uticaj vremena dodavanja molekularskih sita na tok sinteze amil-izobutirata

Figure 2. The effect of timing of molecular sieves addition on the synthesis of amyl isobutyrate

četku reakcije, a u nekim slučajevima postiže se poboljšanje u odnosu na reakciju bez sita. Može se primetiti da dodavanje molekularskih sita u reakcionu smešu pokazuje željeni efekat tek ako se dodavanje izvrši nakon 24 h od početka reakcije ili kasnije. Prinosi dobijeni u reakcijama pri dodavanju molekularskih sita nakon 24, 40 ili 42 h (84, 86 i 86,4%) veći su nego u reakciji bez sita (83%).

Uticaj dodavanja silika gela na prinos estera

Efekat silika gela na efikasnost sinteze estera ispitano je poređenjem rezultata enzimskih sinteza sa ili bez silika gela u reakcionoj smeši. Izvedeno je nekoliko eksperimenata koji su se razlikovali po vremenu dodavanja silika gela u reakcionu smešu. Pošto su eksperimenti sa molekularskim sitima pokazali da je dej-



Slika 3. Uticaj vremena dodavanja silika gela na tok sinteze amil-izobutirata

Figure 3. The effect of timing of silica gel addition on the synthesis of amyl isobutyrate

stvo adsorbenta efikasnije kada se dodaje u kasnijoj fazi reakcije, u eksperimentu sa silika gelom adsorbent je dodavan nakon 22 ili više sati reakcije. Na slici 3 upoređeni su rezultati ovih eksperimenata sa eksperimentom bez prisustva silika gela.

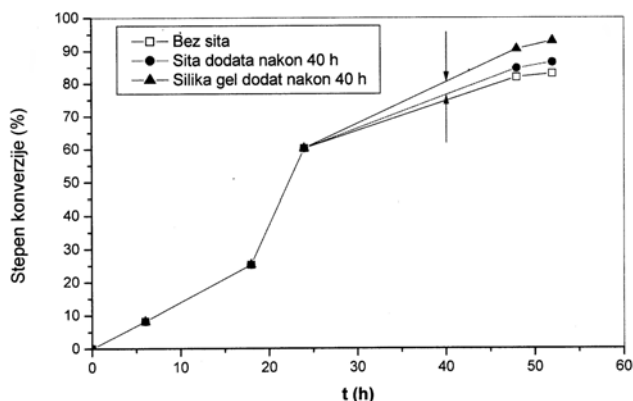
Slično kao i kod upotrebe molekularskih sita, dodavanje silika gela na početku reakcije ima negativan uticaj na sintezu estera. Na ovaj način postignut je prinos od samo 40%, verovatno zbog adsorbovanja vode iz reakcione smeše neophodne za očuvanje nativne konformacije. Međutim, u svim eksperimentima u kojima je silika gel dodat naknadno u toku reakcije došlo je do povećanja prinosa estera. Najveći prinos estera od 93% postignut je kada je silika gel dodat u reakcionu smešu 40 h nakon početka reakcije. U eksperimentima u kojima je silika gel dodat nakon 22, 30 ili 42 h postignuti su prinosi od 85,5, 85,5 i 90%. Dakle, dodavanje silika gela u reakcionu smešu je dovelo do povećanja prinosa estera između 2,5 i 10%.

DISKUSIJA

Dodavanje molekularskih sita na početku reakcije pokazuje negativan uticaj na prinos estera (slika 1). Slab prinos amil-izobutirata (na grafiku koji prikazuje uticaj dodatka sita na početku reakcije) može se objasniti time da dodata sita adsorbiraju vodu prisutnu u reakcionoj smeši što dovodi do pada enzimske aktivnosti usled razaranja monomolekularnog sloja vode oko molekula lipaze. Količina vode na početku reakcije optimalna je za sintezu estera u reakcionoj smeši bez adsorbenata [16]. Međutim, kada se u reakcionu smešu dodaju adsorbenti efektivna koncentracija vode se u okolini enzima smanjuje, što dovodi do pada aktivnosti enzima. Ovu pretpostavku potvrđuje nagli skok (na istoj krivoj posle 48 časova reakcije) koji je verovatno posledica nastajanja dovoljne količine vode u sistemu da enzim ponovo zauzme nativnu konformaciju. Primenom sita zasićenih izobuternom kiselinom postižu se još manji prinosi. Negativan uticaj prethodnog zasićenja sita supstratom može biti posledica otežanog adsorbovanja molekula vode zbog velike koncentracije izobuterne kiseline na sitima.

Primena adsorbenata pokazala je pozitivan uticaj tek kada su adsorbenti dodavani u završnom delu reakcije. Povećanje prinosa naknadnim dodavanjem adsorbenta može se objasniti pretpostavkom da je u reakcionom sistemu stvorena dovoljna količina vode pre dodavanja silika gela, tako da ona može da spreči narušavanje nativne konformacije lipaze i smanjenja njegove aktivnosti. Usled toga, adsorbenti uklanjaju samo višak vode i time favorizuju reakciju sinteze estera u odnosu na reakciju hidrolize.

Na slici 4 upoređeni su efekti molekularskih sita i silika gela (dodatih nakon 40 sati reakcije) na prinos u sintezi estera. Efekat silika gela je izraženiji pa se postiže povećanje prinosa od čak 10% u odnosu na reakciju bez adsorbenata vode. Nešto manji je efekat



Slika 4. Poređenje uticaja dva adsorbenta na prinos amil-izobutirata

Figure 4. Comparison of the effects of applied adsorbents on the yield of amyl isobutyrate

molekulskih sita jer dovode do povećanja prinosa od 3,5%. Neophodno je uporediti osnovne karakteristike dva primenjena adsorbenta da bi se objasnile primećene razlike u njihovim efektima na sintezu estara.

Molekulska sita od zeolita jesu kristalne supstance velike poroznosti, koje spadaju u klasu aluminosilikata. Kristalna struktura se formira od osnovnih blokova koje čine tetraedri sačinjeni od oksida aluminijuma i silicijuma [17]. Silika gel je porozna, amorfnja forma silikata. Sačinjen je od ogromne mreže međusobno povezanih pora mikroskopske veličine. Grubo, silika gelovi mogu se podeliti u dve grupe: silika gelovi manjih pora (oko 2 nm) i silika gelovi većih pora (oko 11 nm) [18]. Za razliku od zeolita, koji imaju pravilnu kristalnu strukturu, silika gelovi imaju veće pore sa vrlo širokom raspodelom veličina – obično između 0,5 i 300 nm. Adsorpcija vode odvija se stvaranjem Van der Waals-ovih interakcija ili kapilarnom kondenzacijom (pri većim koncentracijama vode). Adsorpcione sile su slabije nego kod zeolita što je uzrok manjem adsorpcionom kapacitetu pri malim koncentracijama adsorbata. S druge strane, pri velikim koncentracijama adsorbata, adsorpcioni kapacitet je veći nego kod zeolita zahvaljujući velikom udelu pora u zapremini ovih čestica, te određene vrste silika gela mogu adsorbovati masu vode 1,2 puta veću od sopstvene mase, a slabe adsorpcione sile omogućuju lakšu regeneraciju adsorbenta. Razmatranjem ključnih razlika u karakteristikama primenjenih adsorbenata može se doći do zaključka da je veći porast prinosa estera u reakcijama sa silika gelom posledica većeg adsorpcionog kapaciteta pri velikim koncentracijama vode u reakcionoj smeši.

ZAKLJUČAK

U ovom radu ustanovljeno je da se primenom adsorbenata vode može značajno povećati prinos u reakciji sinteze amil-izobutirata katalizovanoj lipa-

zom iz *C. rugosa*. Dodavanje adsorbenata pokazuje pozitivan efekat na prinos isključivo kada se dodavanje izvrši u završnoj fazi reakcije. Ukoliko se adsorbenti dodaju u početnim fazama reakcije dolazi do smanjenja prinosa. Ovaj efekat se može pripisati uklanjanju vode iz neposredne okoline enzima i posledičnog razaranja native konformacije lipaze. Silika gel je pokazao veći pozitivan efekat od molekulskih sita od zeolita, pa se primenom ovog adsorbenta postiže prinos amil-izobutirata veći za oko 10%. Veći uticaj na finalni prinos estera, kao i lakša i potpunija regeneracija silika gela, preporučuju ovaj adsorbent za primenu u enzimskoj sintezi estara. Postignuto povećanje prinosa smanjuje složenost i troškove separacije finalnog proizvoda i doprinosi razvoju ekonomičnijih i produktivnijih enzimskih postupaka sinteze estara.

LITERATURA

- [1] A. Zaks, A.M. Klivanov, Enzymatic catalysis in nonaqueous solvents, *J. Biol. Chem.* **263** (1988) 3194–3201.
- [2] X. Malcata, H. Reyes, H. Garcia, C. Hill, C. Amundson, Kinetics and mechanisms of reactions catalyzed by immobilized lipases, *Enzyme Microb. Technol.* **14** (1992) 426–446.
- [3] S. Hari Krishna, S. Divakar, S.G. Prapulla, N.G. Karanth, Enzymatic synthesis of isoamyl acetate using immobilized lipase from *Rhizomucor miehei*, *J. Biotechnol.* **87** (2001) 193–201.
- [4] G.D. Yadav, P.S. Lathi, Kinetics and mechanism of synthesis of butyl isobutyrate over immobilized lipases, *Biochem. Eng. J.* **16** (2003) 245–252.
- [5] L.F. Ho, S.Y. Lu, S. C. Lin, W.H. Hsu, Integrated enzyme purification and immobilization processes with immobilized metal affinity adsorbents, *Proc. Biochem.* **39** (2004) 1573–1581.
- [6] A. Larios, H.S. Garcia, R.M. Oliart, G. Valerio-Alfaro, Synthesis of flavor and fragrance esters using *Candida antarctica* lipase, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **65** (2004) 373–376.
- [7] P. Halling, Thermodynamic predictions for biocatalysis in nonconventional media: Theory, tests, and recommendations for experimental design and analysis, *Enzyme Microb. Technol.* **16** (1994) 178–206.
- [8] H.L. Goderis, G. Ampe, M.P. Feyten, B.L. Fouwe, W.M. Guffens, S.M. van Cauwenbergh, P.P. Tobback, Lipase-catalyzed ester exchange reactions in organic media with controlled humidity, *Biotechnol. Bioeng.* **30** (1987) 258–266.
- [9] C.M. Rosell, A.M. Vaidya, Twin-core packed-bed reactors for organic-phase enzymatic esterification with water activity control, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **44** (1995) 283–286.
- [10] S. Bloomer, P. Adlercreutz, B. Mattiasson, Facile synthesis of fatty acid esters in high yields, *Enzyme Microb. Technol.* **14** (1992) 546–552.
- [11] J. Giacometti, F. Giacometti, Č. Milin, Đ. Vasić-Rački, Kinetic characterisation of enzymatic esterification in a solvent system: adsorptive control of water with

- molecular sieves, *J. Mol. Catal., B: Enzym.* **11** (2001) 921–928.
- [12] J.A. Berberich, J.L. Kaar, A.J. Russell, Use of Salt Hydrate Pairs to Control Water Activity for Enzyme Catalysis in Ionic Liquids, *Biotechnol. Progr.* **19** (2003) 1029–1032.
- [13] M. Szczesna–Antczak, T. Antczak, M. Rzyska, Z. Morzejewska, J. Patura, H. Kalinowska, S. Bielecki, Stabilization of an intracellular *Mucor circinelloides* lipase for application in non–aqueous media, *J. Mol. Catal., B: Enzym.* **29** (2004) 163–171.
- [14] F. Monot, M. Borzeix, M. Bardin, P. Vandecasteele, Enzymatic esterification in organic media: role of water and organic solvent in kinetics and yield of butyl butyrate synthesis, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **35** (1991) 759–765.
- [15] J.J. Ved, J.S. Pai, Preparation of short chain esters by the lipase from *Mucor miehei* using heptane and silica gel, *Biotechnol. Těch.* **10** (1996) 855–856.
- [16] D. Bezbradica, I. Karalazić, N. Ognjanović, D. Mijin, S. Šiler–Marinković, Z. Knežević, Studies of the specificity of *Candida rugosa* lipase–catalyzed esterification in organic media, *J. Serb. Chem. Soc.* **71** (2006) 31–42.
- [17] http://www.gracedavison.com/eusilica/Adsorbents/product/zeolite_molecular_sieve.htm
- [18] http://www.gracedavison.com/eusilica/adsorbents/product/silica_g el.htm

SUMMARY

THE EFFECTS OF ZEOLITE AND SILICA GEL ON SYNTHESIS OF AMYL ISOBUTYRATE CATALYZED BY LIPASE FROM *CANDIDA RUGOSA*

(Scientific paper)

Sanja B. Stojaković¹, Dejan I. Bezbradica², Dušan Ž. Mijin², Zorica D. Knežević², S.S. Šiler–Marinković²

¹Institute for Plant Protection and Environment, Belgrade

²Faculty of Technology and Metallurgy, Belgrade

Lipase–catalyzed synthesis of esters has been widely investigated due to numerous advantages in comparison with the conventional chemical process catalyzed with concentrated acids since use of chemical catalysts leads to several problems. The most important disadvantages are corrosion of equipment, hazards of handling of the corrosive acids that are not reused, loss of conversion, yield and selectivity. The activity of water in reaction mixture seems to be one of the crucial factors affecting yield of enzymatic synthesis, since the excess of water promotes hydrolysis of the ester. Therefore, a significant part of related studies was focused on attempts to increase the yield of esters by efficient control of water activity. In our experimental work an attempt was made to regulate the activity of water by addition of water adsorbents in reaction mixture for synthesis of amyl isobutyrate. Two adsorbents were used: silica gel and molecular sieves (zeolites). The use of water adsorbents was optimized with respect to timing of adsorbent addition and pretreatment of adsorbent. The pretreatment of adsorbent with substrate did not increase the yield of ester. It was found that the timing of adsorbent addition is crucial factor. The addition in early phases of reaction leads to the decrease in ester yield compared to reaction without adsorbents. On the other hand, when the adsorbent was added in the late stage of reaction it exhibited beneficial influence on the yield of ester. The increase of yield was higher with silica gel (10%) than with molecular sieves (3.5%). These discrepancies can be ascribed to higher water adsorbing capacity of silica gel in systems with higher water content. Superior behavior of silica gel in ester synthesis in conjunction with simple process of regeneration recommends the use of this adsorbent for increasing the yield of lipase–catalyzed ester synthesis.

Key words: Lipase • Amyl isobutyrate • Zeolite • Silica gel •

Ključne reči: Lipaza • Amil–izobutirat • Zeolit • Silika gel •