

## 纳米-微米复合孔泡沫陶瓷固定化脂肪酶

黄 磊 , 程振民

(华东理工大学化学工程联合国家重点实验室, 上海 200237)

**摘要 :** 考察了泡沫陶瓷的孔径分布和表面性质对脂肪酶固定化的影响。研究表明, 泡沫陶瓷的纳米孔孔径分布非常适合脂肪酶的固定化, 对固定化酶的催化效率有决定性的影响。经 1 h 的定化, 泡沫陶瓷固定化酶的活性达商业化硅藻土固定化酶的 1.33 倍, 体积活力为其 2.63 倍, 蛋白载量为 45.36 mg/g 陶瓷, 比活为 1 215.39 U/g, 活力回收为 41.2%。泡沫陶瓷固定化脂肪酶在有机相乙酸乙酯合成中表现优良, 连续使用 5 次, 每次反应 3 h, 乙酸转化率均在 93% 左右。

**关键词 :** 泡沫陶瓷; 脂肪酶; 酶固定化; 酯合成; 载体

中图分类号 : O643 文献标识码 : A

## Immobilization of Lipase on Nano- and Microporous Ceramic Foam

HUANG Lei, CHENG Zhenmin\*

(State Key Laboratory of Chemical Engineering, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237, China)

**Abstract :** The effect of pore size distribution and superficial properties of the ceramic foam was investigated. The nanopore size distribution of the ceramic foam was very suitable to immobilize lipase and had crucial effect on the catalytic efficiency of the immobilized lipase. After 1 h immobilization, the lipase activity per gram carrier on the ceramic foam was 1.33 times that on commercial diatomite, and the volume activity was 2.63 times. The protein loading was 45.36 mg/g, specific activity 1 215.39 U/g, and activity recovery 41.2%. The batch operation stability of the immobilized lipase on the ceramic foam was good in the synthesis of ethyl acetate in an organic phase. The acetic acid conversion in the 5-batch continual operation was maintained at nearly 93% after 3 h reaction in each batch.

**Key words :** ceramic foam; lipase; enzyme immobilization; ester synthesis; carrier

设计和开发新的载体材料是酶固定化技术发展的一个重要研究领域<sup>[1]</sup>。无机材料因价格低, 具有比有机高分子材料更好的物化稳定性及抗微生物降解性, 在酶固定化技术研究中受到了极大的关注。

目前, 用于酶固定化的载体多为颗粒状。小颗粒载体具有较大的比表面积和较短的内扩散行程, 但是却不利于固定化酶的提取分离, 也不适用于搅拌釜反应器和流化床反应器, 同时合成的催化剂还存在密度低及剪切磨损问题。新型的结构催化剂, 如以膜、纤维和泡沫陶瓷<sup>[2]</sup>为载体的催化剂, 由于同时具有较高的比表面积和孔隙率, 可在保留小颗

粒催化剂优点的同时克服其不足<sup>[3]</sup>。本文采用作者的专利技术<sup>[4]</sup>制备了一种具有纳米-微米复合孔结构的无机多孔材料——泡沫陶瓷, 用硅烷偶联剂对其进行表面改性处理后, 成功地应用于脂肪酶的固定化。该泡沫陶瓷采用注模成型工艺制备, 抗压强度高, 比表面积较大, 孔隙率高<sup>[5]</sup>, 形状和大小可通过模具灵活调控, 这些特点使之很有潜力用作整体式结构生物催化剂的载体。本文着重探讨了泡沫陶瓷的微孔结构对脂肪酶固定化过程的影响, 考察了脂肪酶的固定化时间以及固定化酶的总活性、体积活力、活性回收率和操作稳定性等。

收稿日期: 2007-07-20。第一作者: 黄磊, 男, 1969年生, 博士。

联系人: 程振民。Tel: (021) 64253529; E-mail: zmcheng@ecust.edu.cn。

基金来源: 新世纪优秀人才支持计划(NCET-04-0412)。

## 1 实验部分

### 1.1 泡沫陶瓷的制备

取 100~200 目的氧化铝粉末 20~23 g, 高岭土 8~9 g, 长石粉 20~22 g, 加入 5~8 g 乙醇(95%)溶液作消泡剂, 加入 55~60 g 水搅拌均匀, 然后边搅拌边加入约 100 g 质量比为 0.3% 的聚丙烯酰胺溶液, 使之絮凝沉淀. 搅拌 3~5 min 后迅速加入 5~8 g 的 30% 的  $\text{Al}(\text{H}_2\text{PO}_4)_3$  溶液, 随即再搅拌约 10 s. 将得到的料浆注入高 10 mm、内径为 60 mm 的柱形模具内成型, 并置阴凉处干燥 48 h 左右. 按以下步骤进行烧结: 从室温以  $4\text{ }^\circ\text{C}/\text{h}$  的速率升温到  $500\text{ }^\circ\text{C}$ , 保温老化 30 min, 从  $500\text{ }^\circ\text{C}$  升温到  $950\text{ }^\circ\text{C}$ , 升温速率为  $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{h}$ , 保温 1 h 后, 在 25 min 内升温到  $1200\text{ }^\circ\text{C}$ , 保温 2 h. 用作固定化酶载体时, 用钢锯把泡沫陶瓷切割成边长 5~10 mm 的块状, 其质量控制 在 200~250 mg.

### 1.2 泡沫陶瓷孔结构的表征

用压汞仪(AutoPore IV 9500, 美国麦克仪器公司)测定泡沫陶瓷的孔径分布. 仪器测定的孔径范围为  $5.5\text{ nm}\sim 360\text{ }\mu\text{m}$ , 最大压头  $32\,267\text{ Pa}$ , 低压下的汞填充压力为  $3\,654\text{ Pa}$ , 低压和高压的平衡稳定时间均为 10 s, 泡沫陶瓷样品的质量均为 0.2 g.

### 1.3 泡沫陶瓷的酸洗处理

将一定量的陶瓷块置于  $2\text{ mol/L}$  的盐酸中, 密闭, 放入  $95\text{ }^\circ\text{C}$  的恒温水浴摇床中, 以  $100\text{ r/min}$  的速率处理 5 h. 用去离子水冲洗后, 在  $110\text{ }^\circ\text{C}$  的烘箱内干燥 4 h 以上, 冷却至室温, 放入硅胶干燥器内保存待用.

### 1.4 泡沫陶瓷的表面改性

向体积比为 1:1 的乙醇/水溶液中滴加草酸溶液, 调节 pH 值至  $3.5\sim 4$ <sup>[6,7]</sup>. 取一定质量的上述溶液, 加入硅烷偶联剂 KH-570, 配制成 KH-570 质量浓度为 0.2% 的改性液. 取 30 ml 改性液, 放入约 200 mg 泡沫陶瓷块, 密闭, 置于  $30\text{ }^\circ\text{C}$  摇床中, 以  $100\text{ r/min}$  振荡 5 h, 然后依次用无水乙醇和蒸馏水清洗 2~3 次, 放入  $100\sim 110\text{ }^\circ\text{C}$  烘箱干燥 8 h, 冷却至室温备用. 批量处理时 KH-570 的用量为泡沫陶瓷总质量的 0.8%~1.5%, 一般取 1%.

### 1.5 脂肪酶的固定化

将改性的陶瓷块或相同质量的硅藻土作为载体置于用  $0.025\text{ mol/L}$  pH=8.0 的磷酸缓冲液配制的脂肪酶(扩张青霉脂肪酶,  $2\,950\text{ U/g}$ , 深圳绿微康

生物工程公司生产)溶液中, 于  $30\text{ }^\circ\text{C}$  恒温水浴中固定一定时间. 给酶量为每克载体担载 12.5 g 酶, 酶液浓度为每毫升缓冲液溶解 0.333 g 酶粉, 摇床速率为  $150\text{ r/min}$ . 固定化过程结束后, 用磷酸缓冲液洗涤 3~4 次, 然后置于室温下的干燥器内, 干燥 24 h 以上备用.

### 1.6 脂肪酶的活性测定

采用 NaOH 中和滴定法测定脂肪酶的活性, 具体步骤参见文献[8]. 乳化条件为: 橄榄油和 4% 聚乙二醇(PEG)水溶液的体积比为 1:2, 乳化机(FM200, 上海弗鲁克公司)转速  $17\,000\text{ r/min}$ . 主要测定条件为:  $0.025\text{ mol/L}$  pH 8.0 的磷酸缓冲溶液 5 ml, 乳化液 4 ml, 反应温度  $30\text{ }^\circ\text{C}$ , 反应时间 10 min. 滴定终点由空白样的 pH 值确定. 在测定条件下每分钟催化产生  $1\text{ }\mu\text{mol}$  脂肪酸所需的酶量为一个活力单位( $U = \mu\text{mol}/\text{min}$ ). 固定化酶的活性定义为单位质量载体上的酶活力( $U/\text{g}$ ).

### 1.7 蛋白质含量测定

酶蛋白浓度用 Bradford 法<sup>[9]</sup>测定, 蛋白载量根据固定化前后溶液中的蛋白质含量和洗涤液中的蛋白质含量来计算.

### 1.8 乙酸乙酯合成的间歇操作稳定性

在 100 ml 具塞烧瓶中加入正庚烷 15 ml, 乙酸 0.175 ml, 无水乙醇 0.222 ml, 组成非水相反应体系<sup>[8]</sup>. 加入 4 g 的 5A 分子筛作吸水剂, 置于  $36\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $150\text{ r/min}$  的摇床中, 预热 5 min. 加入一块质量为 0.352 g 的陶瓷固定化酶, 酶加入量相对于乙酸质量为  $108\text{ U/g}$ , 立即计时, 反应 3 h 后测定乙酸转化率. 取 0.5 ml 样品, 加入 10 ml 蒸馏水, 以 1% 酚酞为指示剂, 用  $0.025\text{ mol/L}$  NaOH 标准溶液滴定. 根据反应开始前和反应一定时间后样品中的乙酸含量计算乙酸转化率. 用正庚烷清洗用过的固定化酶块 3~4 次, 重复测定乙酸转化率.

## 2 结果与讨论

### 2.1 泡沫陶瓷的整体性

酶固定化研究的一个重要目的是推进酶催化的工业应用, 因此固定化酶的制备必须有利于工业生物反应器的设计. 本文以泡沫陶瓷固定化酶为整体式结构催化剂, 为其应用于工业生物反应器进行了基础性研究. 本研究中, 泡沫陶瓷的整体性主要表现在以下三个方面: 第一, 一块泡沫陶瓷的质量为 200~300 mg, 和有关文献报道的颗粒群的质量<sup>[10]</sup>

以及本实验硅藻土的质量相仿;第二,泡沫陶瓷平均孔径约为  $45\ \mu\text{m}$ ,微孔体积不足陶瓷块体积的  $1/1\ 000\ 000$ ;第三,本研究中反应混合物的体积一般为  $10\sim 15\ \text{ml}$ ,陶瓷块的体积相对较大.因此,在本实验中泡沫陶瓷载体具备一定的整体性质.工业设计的可连续操作的生物反应器均使用整块柱状泡沫陶瓷为固定床.本实验室的冷模实验表明,以上述整块陶瓷制品做固定床的反应器对橄榄油乳化液具有较好的流体力学性能.在固定化酶的再生过程和分离过程中整体式催化剂的优势是非常明显的.比如,在本文的酶固定化实验中,可以很方便地用镊子将陶瓷固定化酶从反应混合物或酶溶液中取出来,而不像其它的小颗粒载体固定化酶那样,需要较繁琐的离心分离或过滤操作.

## 2.2 泡沫陶瓷的结构表征

用压汞仪抽样测定泡沫陶瓷的孔径分布,结果如图 1 所示.泡沫陶瓷孔径呈双峰分布,小峰和大峰对应的最可几孔径分别为  $77\ \text{nm}$  和  $45\ \mu\text{m}$ ,其总孔容为  $0.475\ \text{ml/g}$ ,大部分由微米孔提供,总比表面积为  $7.038\ \text{m}^2/\text{g}$ ,83%由  $95\ \text{nm}$  以下的纳米孔提供.泡沫陶瓷的孔隙率为  $0.56$ .微米孔可大幅减小扩散传质的阻力<sup>[11]</sup>,使多孔陶瓷具有良好的流体力学性能.纳米孔可为生物酶(绝大多数酶分子的直径为  $2\sim 20\ \text{nm}$ )的固定化提供适宜的纳米环境,从根本上克服了单一微米孔陶瓷比表面积较小的缺点.通过改变氧化铝粉料的粒度、搅拌速率和时间等方法,泡沫陶瓷的孔隙率最高可达  $0.60$ <sup>[4]</sup>;其透水率为普通商业微孔陶瓷的  $6\sim 21.6$  倍<sup>[5]</sup>.计算表明,用于猪胰脂肪酶固定化的泡沫陶瓷的有效比表面积是中性活性炭的 87 倍.由于同时具有较大的比表面积和有利于物质快速传递的大孔道结构,泡

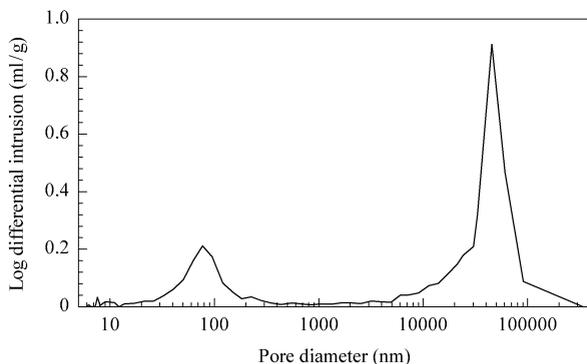


图 1 纳米-微米泡沫陶瓷的孔径分布

Fig 1 Pore size distribution of nano-microporous ceramic foam

沫陶瓷在大分子参与的多相催化领域具有很好的应用前景<sup>[12]</sup>.

## 2.3 孔径的适宜性:减小扩散限制作用

多孔材料固定化酶常常由于微孔的扩散限制降低了酶的表现活性,增大孔径能减小扩散阻力,但也使载体的比表面积减小,因此载体的孔径及其分布必须在二者之间做出平衡,做到“适宜”.据报道<sup>[13]</sup>,将脂肪酶固定在无机多孔载体上,当孔径低于  $100\ \text{nm}$  时,酶活性与孔径相关,而当孔径大于  $100\ \text{nm}$  时,固定化酶的活性与孔径无关,表明当孔径大于  $100\ \text{nm}$  时,扩散限制作用可以忽略.因此,本泡沫陶瓷将纳米孔分布的上限控制在  $100\ \text{nm}$  左右较适宜.考虑到底物扩散分离层的存在,克服扩散限制作用的最小孔径应为  $40 + 2d$  ( $d$  表示分子直径,  $\text{nm}$ )<sup>[13]</sup>.猪胰脂肪酶的直径为  $8\ \text{nm}$ ,其载体最适宜孔径应为  $56\ \text{nm}$ .有研究指出<sup>[13]</sup>,要获得最大的比表面积同时有效克服扩散限制,孔径须为酶分子直径的  $5\sim 10$  倍,因此脂肪酶固定化所需载体孔径大致为  $50\sim 100\ \text{nm}$ .

综上所述,本泡沫陶瓷的纳米孔大部分分布在  $50\sim 100\ \text{nm}$ ,可以较好地减小扩散限制作用.测定泡沫陶瓷内扩散限制的破碎实验结果表明,当陶瓷块研碎后,陶瓷固定化酶的活性不但没有提升反而下降了,说明泡沫陶瓷内部的扩散限制作用很弱或不存在.活性下降可能是因为陶瓷内较大的纳米孔在研碎过程中遭到破坏.

## 2.4 孔径的适宜性:平衡蛋白载量和蛋白利用率

用大孔材料固定酶,容易出现局部区域酶聚集,遮蔽酶分子的活性中心,从而降低固定化酶的活性回收率.因此,适宜的孔径应能在蛋白载量和活性回收率之间做出平衡.通常对于柔性较强的酶分子,单分子层的固定化酶因能保持酶的构象稳定性和较低的酶聚集度,活力较高.但像脂肪酶这类刚性较强的分子,单分子层分散却不一定是必须的<sup>[13]</sup>,脂肪酶的多分子层吸附固定是可行的.以物理作用连接载体的酶的多分子层涂覆固定化,分子层数一般为  $2\sim 4$  层为宜<sup>[13]</sup>,这样既可保持较高酶总活性,又不致使酶的比活损失过多.假定载体孔道为圆柱形,脂肪酶分子平均直径为  $10\ \text{nm}$  左右,固定化以后孔内残余空间直径假定为 1 个酶分子直径,则固定 2 层约需孔径  $50\ \text{nm}$ ,三层为  $70\ \text{nm}$ ,四层为  $90\ \text{nm}$ .本实验泡沫陶瓷的纳米孔最可几孔径为  $77\ \text{nm}$ ,且大部分分布在  $50\sim 100\ \text{nm}$ ,这样酶在

孔内的分布多为 2~4 层,其中 3 层分布的数量最多.因此,本泡沫陶瓷的孔径分布宜于提高固定化酶的活性和回收率.

## 2.5 酶固定化时间

图 2 考察了在其他条件相同的情况下,固定化时间对酶活性的影响.因为泡沫陶瓷孔隙率高和平均孔径大,酶分子能够迅速渗透到泡沫陶瓷的内部,故仅 20 min 固定化酶的活性即达最高值的 60%,4 h 后,酶吸附达到平衡,固定化酶的活性基本上保持稳定. Kamori 等<sup>[10]</sup>用相同的有机功能团修饰的粒径为 155  $\mu\text{m}$  的多孔陶瓷颗粒固定脂肪酶,发现固定化时间长达 10~15 h. 对比实验表明,本泡沫陶瓷的纳米-微米孔结构大大减小了酶分子的扩散阻力,加速了脂肪酶的固定化过程.

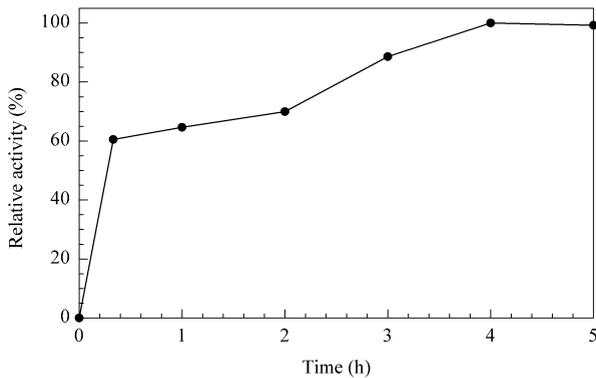


图 2 固定化时间对固定化脂肪酶活性的影响

Fig 2 Effect of immobilization time on enzyme activity of the immobilized lipase

(Immobilization conditions: 2950 U/g raw lipase, 0.025 mol/L pH 8.0 phosphate buffer, 12.5 g raw lipase/g ceramic foam, 0.333 g raw lipase/ml phosphate buffer, 30  $^{\circ}\text{C}$ , 150 r/min.)

## 2.6 固定化酶的活性

为了考察载体的微孔结构对固定化脂肪酶活性的影响,在相同的固定化条件下,以硅藻土(粒径 2~3 mm)和泡沫陶瓷为载体制备了固定化脂肪酶.固定化脂肪酶的活性测定结果和两种载体的主要结构参数如表 1 所示.

虽然实验中使用的是含有大量杂蛋白的粗酶粉,游离酶和固定化酶的活性均较低,但这并不妨碍对载体特性的考察.压汞分析表明,硅藻土的孔径呈单峰分布,最可几孔径为 679 nm. 根据 2.3 节分析可知,硅藻土的孔径分布对脂肪酶固定化的适宜性较差.因此,虽然硅藻土的总比表面积高达 26.149  $\text{m}^2/\text{g}$ ,孔隙率也略高于泡沫陶瓷,但固定化酶的活性却只有后者的 75%.这是由于:第一,硅藻土的中值孔径(体积)只有陶瓷 1 的 1.25%,以直管模型计算,前者流体流动的阻力是后者的 80 倍<sup>[17]</sup>;第二,孔径分布在 50~100 nm 对脂肪酶的固定化较适宜,在该区间内,硅藻土的比表面积仅有 1.785  $\text{m}^2/\text{g}$ ,而泡沫陶瓷却高达 2.493  $\text{m}^2/\text{g}$ ,即硅藻土能高效固定化脂肪酶的比表面积仅为泡沫陶瓷的 71.6%;第三,泡沫陶瓷的疏水性表面在酶固定化时更易吸附脂肪酶,在活性测定时可打开遮蔽脂肪酶活性中心的疏水性盖子而表现出超活性<sup>[18]</sup>.由此可见,泡沫陶瓷较适宜的孔径分布和表面性质是其固定化酶获得了较高活性的主要原因.

## 2.7 固定化酶的体积活力

设备小型化是现代化工过程发展的趋势,因此研究固定化酶的体积活力<sup>[19]</sup>(即单位体积的固定化酶所具有的活力单位数)具有重要意义.本文以固定床反应器为例,分析了以固体陶瓷和硅藻土为载体的固定化酶在固定床反应器中的体积活力.泡沫陶瓷以整块陶瓷柱作固定床,硅藻土固定化酶通过装填堆积形成固定床.实验测得硅藻土和泡沫陶瓷的堆积密度分别为 0.557 和 1.095  $\text{g}/\text{cm}^3$ ,结合表 1 中固定化酶的单位质量载体活性数据,计算两固定床的体积活力.结果表明,硅藻土固定化酶的体积活力仅为泡沫陶瓷 1 的 38%,即在相同反应条件下为获得相同的生产能力,泡沫陶瓷固定化酶反应器的床层体积为硅藻土固定化酶反应器床层体积的 38%.由此可见,整体式泡沫陶瓷对提高固定化酶的体积活力有十分明显的作用.实际上,由于小颗

表 1 载体结构对固定化脂肪酶活性的影响

Table 1 Effect of carrier structure on activity of immobilized lipase

Carrier	Activity (U/g)	Total pore area ( $\text{m}^2/\text{g}$ )	Median pore diameter (volume, nm)	Median pore diameter (area, nm)	Porosity (%)
Ceramic foam 1 <sup>a</sup>	56.0	7.038	46565.1	51.3	56.0
Ceramic foam 2 <sup>b</sup>	48.8	3.312	48439.1	104.2	56.4
Diatomite <sup>c</sup>	42.0	26.149	584.0	15.1	57.3

<sup>a</sup> Modified only with KH-570.

<sup>b</sup> Treated first with hydrochloric acid and then with KH-570.

<sup>c</sup> The diameter of diatomite particles was 2~3 mm, and the lipase was adsorbed on it without surface modification.

粒床层的孔隙率一般不超过 0.5, 而本泡沫陶瓷的孔隙率最高可达 0.6, 会进一步降低床层阻力。

## 2.8 固定化酶的活力回收

固定化酶的活力回收指标定量反映了固定化酶在催化反应过程中对酶蛋白的利用率, 其计算方法为<sup>[20]</sup>: 活力回收 = 固定化酶总活力/加入酶的总活力  $\times 100\%$ 。此处, 固定化酶的总活力是指每克被固定的酶蛋白所具有的活力单位数 (U/g); 加入酶的总活力是指所用酶粉的活力 (本文为 2 950 U/g)。测定结果如表 2 所示。

由表 2 可知, 经 1 h 的固定化, 陶瓷 1 固定化酶的比活为 1 215.39 U/g, 活力回收率为 41.20%, 明显优于陶瓷 2 固定化酶。这与二者的孔径分布有

关。根据压汞分析, 经热酸处理后, 泡沫陶瓷 2 的 40 nm 以下的小孔几乎全部消失, 最可几孔径由 77 nm 增大为 95 nm, 孔径分布的合理性降低。陶瓷 2 比表面积仅为陶瓷 1 的 47.1%, 但酶载量却因扩孔作用增大至 51.39 mg/g。计算表明, 陶瓷 2 单位面积的平均酶载量是陶瓷 1 的 2.24 倍, 酶的聚集可导致陶瓷 2 固定化酶活力回收降低。陶瓷 2 的酶载量和高贵等<sup>[21]</sup>用硅藻土固定化酶的结果 (52 mg/g) 非常接近, 其活力回收为  $1\ 301/2\ 465 \times 100\% = 52.8\%$ 。Kamori 等<sup>[10]</sup>的研究结果表明, KH-570 改性的疏水性表面能选择性地吸附粗酶溶液中的脂肪酶, 从而提高所固定的酶蛋白的纯度, 进而提高了泡沫陶瓷固定化酶的活力回收。

表 2 固定化脂肪酶的活力回收  
Table 2 Activity recovery of immobilized lipase

Carrier	Total activity (mg/g ceramic)	Protein loading (mg/g ceramic)	Specific activity (U/g protein)	Activity recovery (%)
Ceramic foam 1	55.38	45.36	1215.39	41.20
Ceramic foam 2	48.03	51.39	934.62	31.68

The immobilization time was 1 h. Main measurement conditions of the total activity: 0.025 mol/L pH 8.0 phosphate buffer, 30 °C, 10 min.

## 2.9 固定化酶的间歇操作稳定性

本课题组的前期研究工作表明<sup>[5]</sup>, 当将泡沫陶瓷固定化酶应用于橄榄油水解反应时, 第一次使用后酶活力大幅度下降, 但连续多次反应后, 其活力基本稳定在初始值的 60%。这主要是由于第一次反应后, 陶瓷中较小的微孔被橄榄油乳化颗粒堵塞, 而余下的较大孔在以后的测定中不容易被堵塞且容易清

洗掉。此外, 泡沫陶瓷的透水率测试也进一步说明了材料的传递性质是影响固定化酶活力的决定性因素。

图 3 给出了本实验在有机相酯化合成反应中固定化酶间歇操作稳定性的测试结果。可以看出, 酶活性在第一次使用后没有大幅度下降, 经连续 5 次反应, 其活性基本稳定在 93% 左右。由于底物不需要乳化, 故不存在上述堵孔现象。另外, 也可以排除脂肪酶大量脱落导致固定化酶活性下降的可能性。因此, 可以认为泡沫陶瓷的微孔结构是影响酶活力的主要原因。

## 3 结论

本文合成的具有纳米-微米复合孔结构的泡沫陶瓷, 其纳米孔孔径分布适合脂肪酶的固定化, 可在提高蛋白载量、减小扩散限制作用以及提高酶活性回收率之间做出平衡。经热酸处理后的泡沫陶瓷, 40 nm 以下的纳米孔消失, 纳米孔的平均孔径增大, 固定化酶的活力和活力回收都明显下降。这说明纳米孔结构对固定化酶的催化性能具有重要影响。该固定化酶在间歇操作的乙酸乙酯合成反应中具有较好的稳定性。

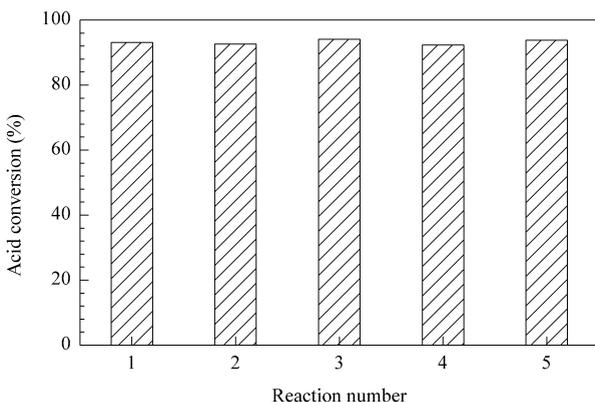


图 3 固定化酶在乙酸乙酯合成反应中的间歇操作稳定性

Fig 3 Batch operation stability of immobilized lipase in synthesis of ethyl acetate

(Reaction conditions: 0.2 mol/L acetic acid and 0.25 mol/L ethanol in 100 ml heptane, 4 g molecular sieve of 5A type, 0.352 g ceramic foam carrying lipase, 36 °C, 150 r/min.)

## 参 考 文 献

- 1 拜永孝,李彦锋,马应霞,周林成,马鹏程. 化学通报 ( Bai Y X, Li Y F, Ma Y X, Zhou L Ch. *Chem Online* ), 2005, **68**( 2 ): w027
- 2 Kovalenko G A, Komova O V, Simakov A V, Khomov V V, Rudina N A. *J Mol Catal A*, 2002, **182-183**: 73
- 3 Centi G, Dittmeyer R, Perathoner S, Reif M. *Catal Today*, 2003, **79-80**: 3
- 4 陈良,程振民,黄磊( Chen L, Cheng Zh M, Huang L ) CN 200510027087. 2. 2005
- 5 黄磊,程振民. 化工学报( Huang L, Cheng Zh M. *J Chem Ind Eng ( China )* ), 2006, **57**( 4 ): 912
- 6 吉小利,王君,李爱元,徐国财. 安徽理工大学学报(自然科学版)( Ji X L, Wang J, Li A Y, Xu G C. *J Anhui Univ Sci Technol ( Natur Sci )* ), 2004, **24**( 5 ): 83
- 7 施卫贤,杨俊,王亭杰,金涌. 物理化学学报( Shi W X, Yang J, Wang T J, Jin Y. *Acta Phys-Chim Sin* ), 2001, **17**( 6 ): 507
- 8 葛清秀,陈建平,黄祖新,柳荣金,孙斌. 食品工业科技( Ge Q X, Chen J P, Huang Z X, Liu R J, Sun B. *Sci Technol Food Ind* ), 2006, **27**( 2 ): 156
- 9 Bradford M M. *Anal Biochem*, 1976, **72**( 1-2 ): 248
- 10 Kamori M, Hori T, Yamashita Y, Hirose Y, Naoshima Y. *J Mol Catal B*, 2000, **9**( 4-6 ): 269
- 11 de Lathouder K M, Bakker J, Kreutzl M T, Kapteijn F, Moulijn J A, Wallin S A. *Chem Eng Sci*, 2004, **59**( 22-23 ): 5027
- 12 吴俊升,李晓刚,杜伟,董超芳. 催化学报( Wu J Sh, Li X G, Du W, Dong Ch F. *Chin J Catal* ), 2006, **27**( 9 ): 755
- 13 Cao L Q. *Carrier-Bound Immobilized Enzyme: Principle, Application and Design*. Weinheim: Wiley-VCH, 2005. 57, 62, 178, 450
- 14 陈敏恒,丛德滋,方图南,齐鸣斋. 化工原理,第二版. 北京:化学工业出版社( Chen M H, Cong D Z, Fang T N, Qi M Z. *Chemical Engineering Principles*. 2nd Ed. Beijing: Chem Ind Press ), 1999. 39
- 15 Fernandez-Lafuente R, Armisen P, Sabuquillo P, Fernández-Lorente G, Guisán J M. *Chem Phys Lipids*, 1998, **93**( 1-2 ): 185
- 16 安德列亚斯 S 博马留斯,贝蒂娜 R 里贝尔. 生物催化—基础与应用. 孙志浩,许建和译. 北京:化学工业出版社( Andreas S B, Betina R R. *Biocatalysis: Fundamentals and Applications*. Sun Zh H, Xu J H transl. Beijing: Chem Ind Press ), 2006. 64
- 17 罗贵民. 酶工程. 北京:化学工业出版社( Luo G M. *Enzyme Engineering*. Beijing: Chem Ind Press ), 2003. 91
- 18 高贵,韩四平,王智,翁梁,王柏婧,冯雁,曹淑桂. 吉林大学学报(自然科学版)( Gao G, Han S P, Wang Zh, Weng L, Wang B J, Feng Y, Cao Sh G. *J Jilin Univ ( Sci Ed )* ), 2002, **40**( 3 ): 324

( Ed ZhShT )