

# Chapter 7

## 酶非水相催化

### Enzymatic catalysis in Non-aqueous system

# 内容 Content

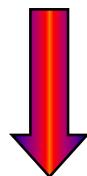
- 第一节 研究概况
- 第二节 有机介质反应体系
- 第三节 酶在有机介质中的催化特性
- 第四节 催化反应条件及其控制（了解）
- 第五节 有机介质中酶催化的应用（了解）

# 第一节 研究概况

## 一、酶催化反应的介质

“水”是酶促反应最常用的反应介质。

但对于大多数有机化合物来说，水并不是一种适宜的溶剂。许多有机化合物(底物)在水介质中难溶或不溶。



是否存在非水介质能保证酶催化?

# 1. 有机介质中的酶催化 (Organic Medium)

指酶在含有一定量水的有机溶剂中进行的催化反应。

特点:

(1) 适用于底物和(或)产物为疏水性物质的酶催化作用。

(2) 酶的底物特异性、立体选择性、区域选择性和热稳定性有所改变。

(3) 用于合成多肽、酯类的生产、甾体转化、手性药物拆分等。

## 2. 气相介质中的酶催化 (Gas Medium)

**定义：** 酶在气相介质中进行的催化反应。

**特点：** (1) 适用于底物是气体或能转化为气体的物质的酶催化反应。

(2) 气体介质的密度低，扩散容易，与在水中的催化作用有明显的不同特点。

### 3. 超临界流体介质中的酶催化

超临界流体(supercritical fluid): 是指温度和压力超过某物质临界点的流体。

特点:

- (1) 对酶的结构没有破坏作用，不影响催化反应。
- (2) 化学稳定性好，对设备无腐蚀，价格便宜。
- (3) 温度最好控制在室温附近或酶的最适温度附近。
- (4) 压力不可太高，可节约费用。

## 4. 离子液介质中的酶催化 ( Ionic fluid medium )

**离子液：**是由有机阳离子与有机（无机）阴离子构成的在室温条件下呈液态的低熔点盐类，挥发性低、稳定性好。

**特点：**具有良好的稳定性、区域选择性、立体选择性、键选择性等显著特点。

## 第二节 有机介质反应体系

酶催化反应体系主要有：

水溶液反应体系

有机介质反应体系

气相反应体系

超临界流体介质反应体系

# 一、有机介质反应体系

## 1. 非极性有机溶剂<sup>3/4</sup>微水介质体系

由非极性有机溶剂和微量的水组成的反应体系，应用广泛。

酶的状态：结晶/冻干粉/固定化酶状态，悬浮在有机相中。

## 2. 与水互溶的有机溶剂 $\frac{3}{4}$ 水单相体系

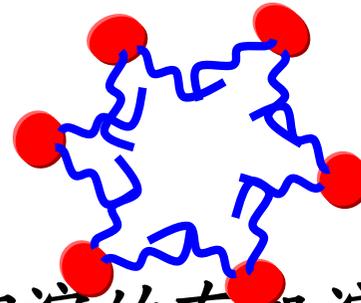
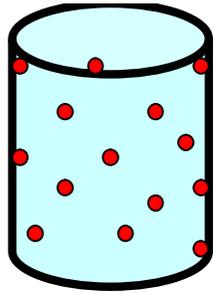
有机溶剂与水形成均匀的单相溶液体系。酶、底物和产物都能溶解在这种体系中。

## 3. 非极性有机溶剂 $\frac{3}{4}$ 水两相/多相体系

由含有溶解酶的水相和一个非极性的有机溶剂(高脂溶性)相所组成的两相体系。

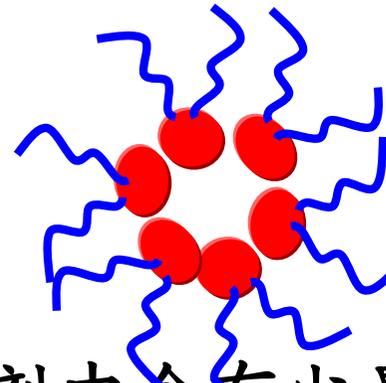
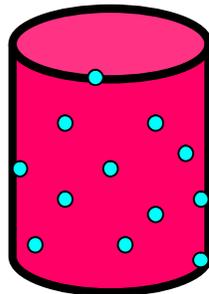
催化反应发生在两相之间的界面。

#### 4. 正胶束体系



大量水溶液中含有少量与水不相溶的有机溶剂，加入表面活性剂后形成**水包油**的微小液滴，表面活性剂的极性端朝外，非极性端朝内，有机溶剂包在液滴内部。

#### 5. 反胶束体系



大量与水不相溶的有机溶剂中含有少量水溶液，加入表面活性剂后形成**油包水**的微小液滴，表面活性剂的极性端朝内，非极性端朝外，水溶液包在液滴内部。

不管采用何种有机介质反应体系，酶催化反应的介质中都含有机溶剂和一定量的水。它们都对催化反应有显著的影响。

## 二、水对有机介质中酶催化反应的影响

### 1. 水对酶分子空间构象的影响

**必需水**（essential water）维持酶分子完整的空间构象所必需的最低水量。

不同的酶，所需的必需水量差别很大

例如： 1分子凝乳蛋白酶只需50分子水

1分子多酚氧化酶需3500分子水

## 2. 对酶催化反应速度的影响

**最适含水量**（ optimum water content ）催化反应速度达到最大时的含水量。

- ✓ 反应体系中的最适含水量随有机溶剂种类、固定化载体的特性、修饰剂种类等的变化而有所差别。

### 3. 水活度

反应水与酶催化活性的关系。

有机介质中  
的水

结合水（与酶分子紧密结合）

游离水（溶解在有机溶剂中）

结合水量 $\uparrow$ ，酶的催化活性提高

结合水量不变，酶的催化活性不变

溶液极性增加，最适含水量增加，但最佳水活度与溶液极性无关。

## 三、有机溶剂对酶催化反应的影响

### 1. 有机溶剂对酶结构域功能的影响

#### ✓ (1) 有机溶剂对酶分子表面结构的影响

酶表面结构的变化，例如：

枯草杆菌蛋白酶晶体 119个水分子结合位点

悬浮在乙腈中，99个水分子结合位点

#### ✓ (2) 有机溶剂对酶分子活性中心结合位点的影响

与底物竞争活性中心结合位点，降低酶的催化活性。

## 2. 有机溶剂对酶活性的影响

✓ 极性较强的有机溶剂，会夺取酶分子的结合水，影响酶分子微环境的水化层，从而降低酶的催化活性，甚至引起酶的变性失活。

## 3. 有机溶剂对底物和产物分配的影响

✓ 有机溶剂与水之间的极性不同，在反应过程中会影响底物和产物的分配，从而影响酶的催化反应。

# 第三节

## 酶在有机介质中的催化特性

✓ 酶在有机介质中起催化作用时，由于有机溶剂的极性与水有很大差别，对酶的表面结构、活性中心的结合部位和底物性质都会产生一定的影响，从而显示出与水相介质中不同的催化特性。

## 1. 底物专一性

在极性较强的有机溶剂中，疏水性较强底物易反应。

在极性较弱的有机溶剂中，疏水性较弱底物易反应。

## 2. 对映体选择性

在疏水性较强的有机介质中，酶的立体选择性较差。

## 3. 区域选择性

酶能够选择底物分子中某一区域的基团优先进行反应。

## 4. 键选择性

在不同的有机介质中，氨基的酰化与羟基的酰化程度有所不同。

## 5. 热稳定性

许多酶在有机介质中的热稳定性比在水溶液中的热稳定性更好。

## 6. pH值特性

酶在有机介质中的催化反应的最适pH值通常与酶在水溶液中的反应的最适pH值接近或相同。

## 某些酶在有机介质与水溶液中的热稳定性

酶	介质条件	热稳定性
猪胰脂肪酶	三丁酸甘油酯 水, pH7.0	$T_{1/2} < 26 \text{ h}$ $T_{1/2} < 2 \text{ min}$
酵母脂肪酶	三丁酸甘油酯/庚醇 水, pH7.0	$T_{1/2} = 1.5 \text{ h}$ $T_{1/2} < 2 \text{ min}$
脂蛋白脂肪酶	甲苯, 90°C, 400 h	活力剩余40%
胰凝乳蛋白酶	正辛烷, 100°C 水, pH 8.0, 55°C	$T_{1/2} = 80 \text{ min}$ $T_{1/2} = 15 \text{ min}$
枯草杆菌蛋白酶	正辛烷, 110°C	$T_{1/2} = 80 \text{ min}$
核糖核酸酶	壬烷, 110°C, 6 h 水, pH 8.0, 90°C	活力剩余95% $T_{1/2} < 10 \text{ min}$
酸性磷酸酶	正十六烷, 80°C 水, 70°C	$T_{1/2} = 8 \text{ min}$ $T_{1/2} = 1 \text{ min}$
腺苷三磷酸酶 ( $F_1$ -ATPase)	甲苯, 70°C 水, 60°C	$T_{1/2} > 24 \text{ h}$ $T_{1/2} < 10 \text{ min}$
限制性核酸内切酶 (Hind III)	正庚烷, 55°C, 30d	活力不降低
$\beta$ -葡萄糖苷酶	2-丙醇, 50°C, 30 h	活力剩余80%
溶菌酶	环己烷, 110°C 水	$T_{1/2} = 140 \text{ min}$ $T_{1/2} = 10 \text{ min}$

# 有机介质酶催化反应的优点

(1) 有机介质中由于水分子的减少，相对来说酶分子的构象表现出比水溶液中更具有“刚性”特点，因而使通过选择不同性质的溶剂来调控酶的某些特性成为可能。

(2) 由于引起酶变性的许多因素都与水的存在有关，因此在有机介质中酶的稳定性得到显著提高。

# 第四节

## 有机介质中酶催化反应的条件及其控制

(了解)

✓ 酶在有机介质中可以催化多种反应，主要包括：合成反应、转移反应、异构反应、氧化还原反应、裂合反应等。

## 主要应控制的条件有:

- 酶的种类和浓度
- 底物的种类和浓度
- 有机溶剂的种类
- 水含量
- 温度
- pH
- 离子强度

# 第五节

## 有机介质中酶催化的应用

(了解)

# 酶非水相催化的应用

酶	催化反应	应用
脂肪酶	肽合成 酯合成 转酯 聚合 酰基化	青霉素G前体肽合成 醇与有机酸合成酯类 各种酯类生产 二酯的选择性聚合 甘醇的酰基化
蛋白酶	肽合成 酰基化	合成多肽 糖类酰基化
羟基化酶	氧化	甾体转化
过氧化物酶	聚合	酚类、胺类化合物的聚合
多酚氧化酶	氧化	芳香化合物的羟基化
胆固醇氧化酶	氧化	胆固醇测定
醇脱氢酶	酯化	有机硅醇的酯化

# 1. 手性药物的拆分

目前世界上化学合成药物中的40%左右属于手性药物，有不少手性药物其两种对映体的化学组成相同，但是，其药理作用不同，药效也有很大差别。

## 手性药物两种对映体的药理作用

药物名称	S型对映体的作用	R型对映体的作用
普萘洛	$\beta$ -受体阻断剂	钠通道阻滞剂
萘普生	消炎、解热、镇痛	疗效很弱
青霉素胺	抗关节炎	突变剂
羧基苯哌嗪	镇咳	有神经毒性
反应停	镇静剂	致畸胎
酮基布洛芬	消炎	防治牙周病
喘速宁	扩张支气管	抑制血小板凝集
乙胺丁醇	抗结核病	致失明
萘必洛尔	$\beta$ -受体阻断剂	舒张血管

**注意：**手性有D/L和R/S两种分类法，二者无必然联系；  
手性与旋光性无内在联系，是两个不同概念。

## 2. 手性高分子聚合物的制备

利用脂肪酶等水解酶在有机介质中的催化作用，可以合成多种具有手性的聚合物，用作可生物降解的高分子材料，手性物质吸附剂等。

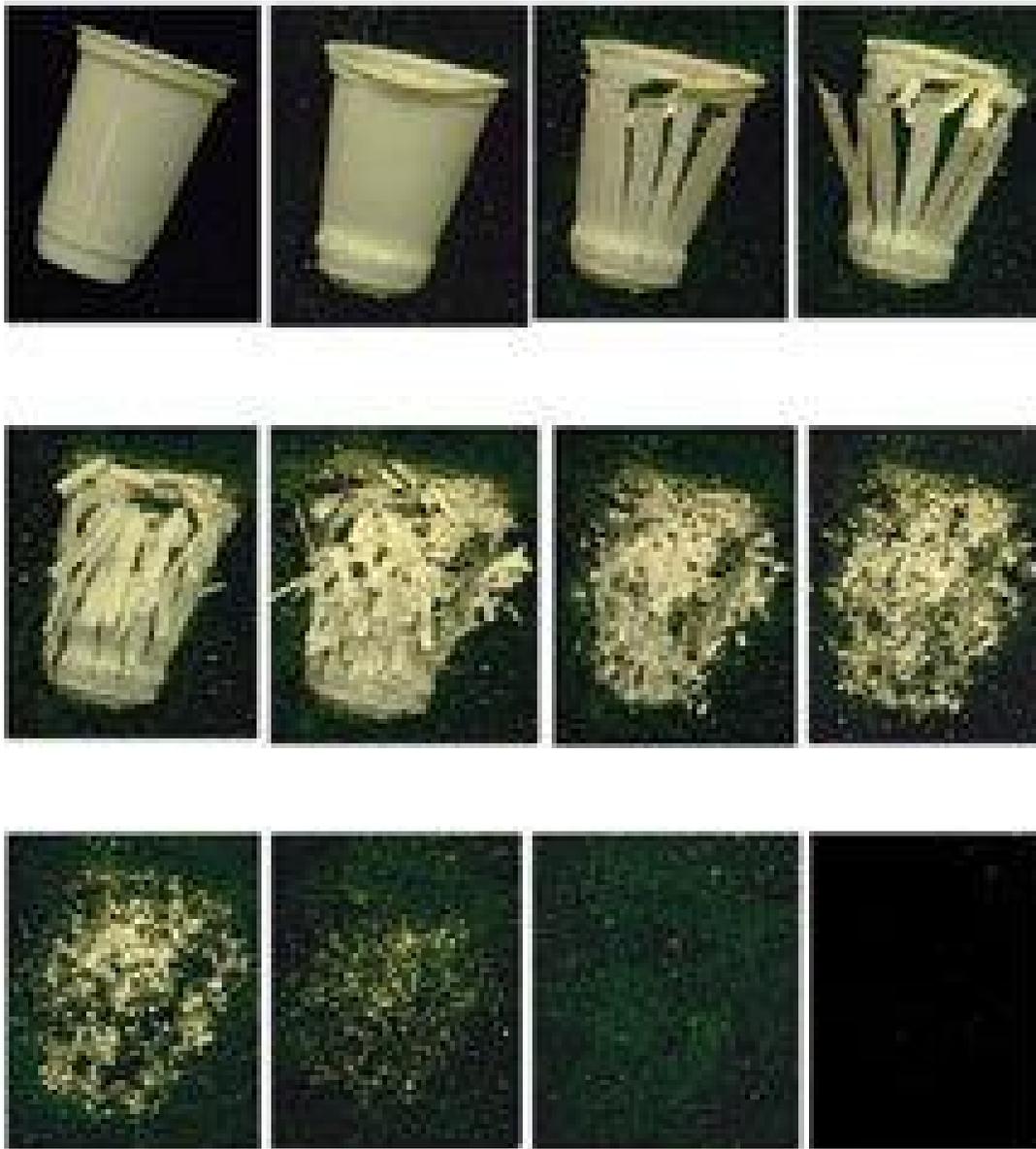
## (1) 可生物降解的聚酯的合成

例如：芳香族共聚酯（AACs）

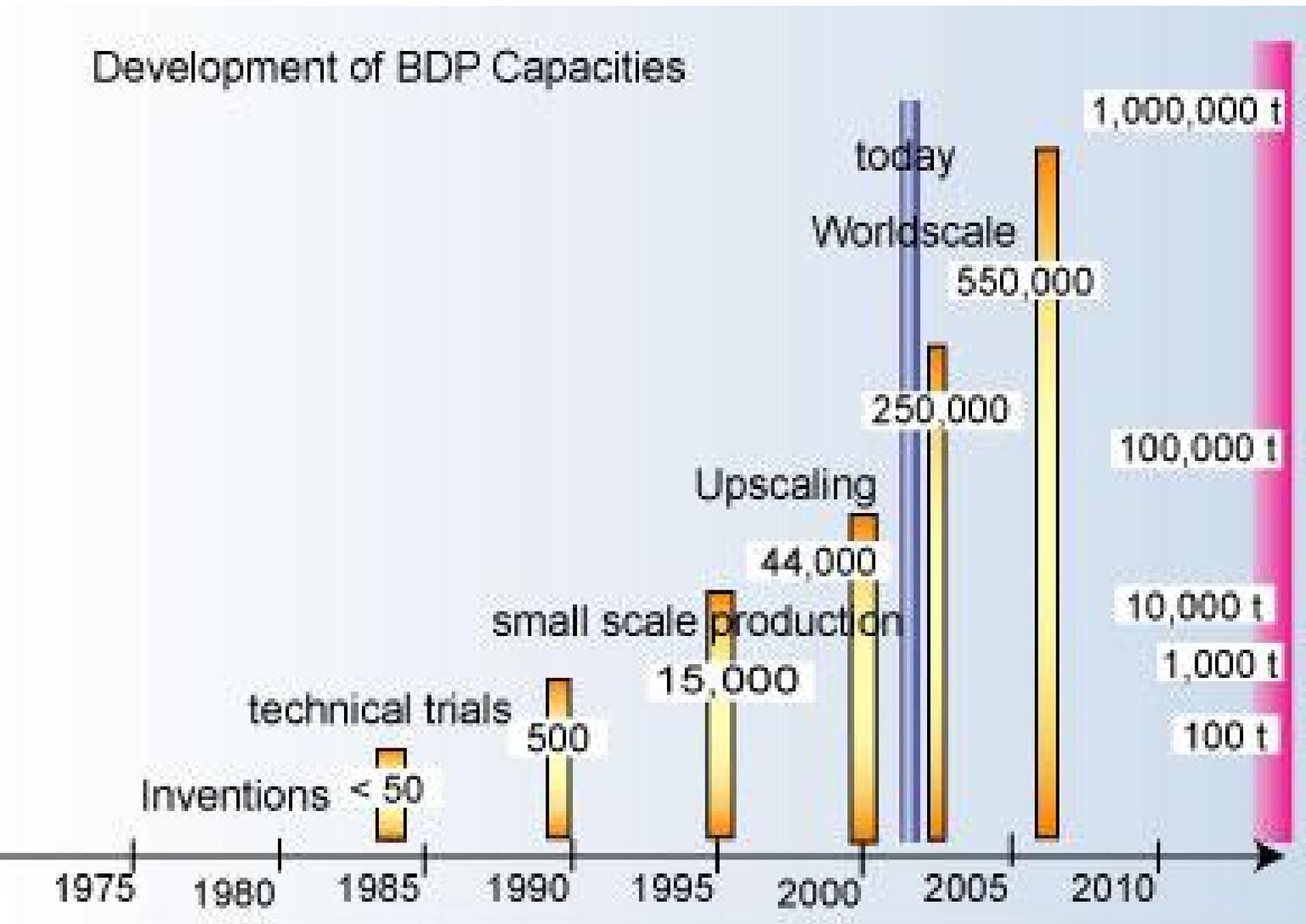
应用于农业和园艺用薄膜、食品复合包装、垃圾袋。这一领域的用于食品包装的商品已被欧盟和美国批准。[生物降解聚酯及其应用](#)

## (2) 糖酯的合成

糖酯是一大类广泛应用于食品、医药、化工等行业的非离子型表面活性剂，具有无毒、无嗅、无刺激、易生物降解等优点。



## Bioplastics: Plastics' Greener Cousin – A point of view!



可生物降解聚合物 (BDP) 的产量近年来增长迅速

### 3. 酚树脂的合成

酚树脂是一种广泛应用的酚类聚合物，可用作黏合剂、化学定影剂等。

辣根过氧化物酶在二氧六环与水混溶的均一体系中，可以催化苯酚等酚类化合物聚合，生成酚类聚合物。

## 4. 导电有机聚合物的合成

辣根过氧化物酶在与水混溶的有机介质中，催化苯胺聚合生成**聚苯胺**。

**聚苯胺具有导电性能**，可用于飞行器的防雷装置，衣物表面起到抗电作用，雷达、屏幕表面吸收微波等。

## 5. 发光有机聚合物的合成

**有机非光线性材料**的倍频效应比无机材料高几百倍，激发响应时间比无机材料快上千倍。

## 6. 食品添加剂的生产

食品添加剂——指为改善食品品质、防腐和加工工艺需要而加入食品中的物质。

食品乳化剂（单甘酯、果胶、海藻酸钠、明胶）

食品甜味剂（天苯肽，安赛蜜）

食品防腐剂（山梨酸钾、茶多酚、D-异抗坏血酸钠）

食品香料（香兰素）

食品加工（六偏磷酸钠）



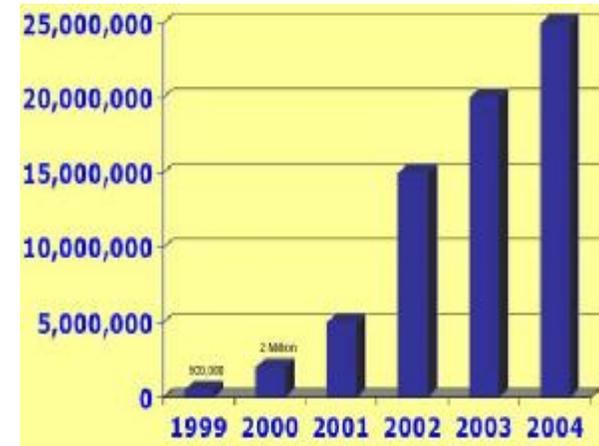
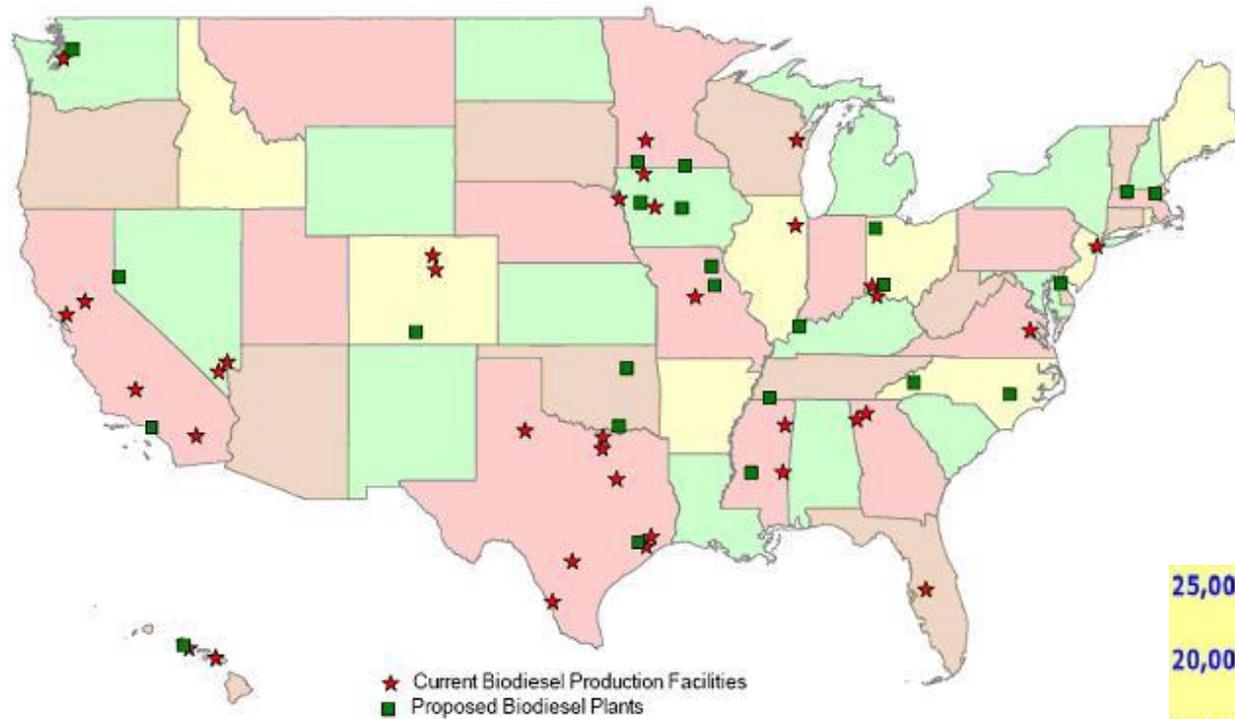
## 7. 生物柴油

是由动物、植物或微生物油脂与小分子醇类经过酯交换反应而得到的脂肪酸酯类物质。

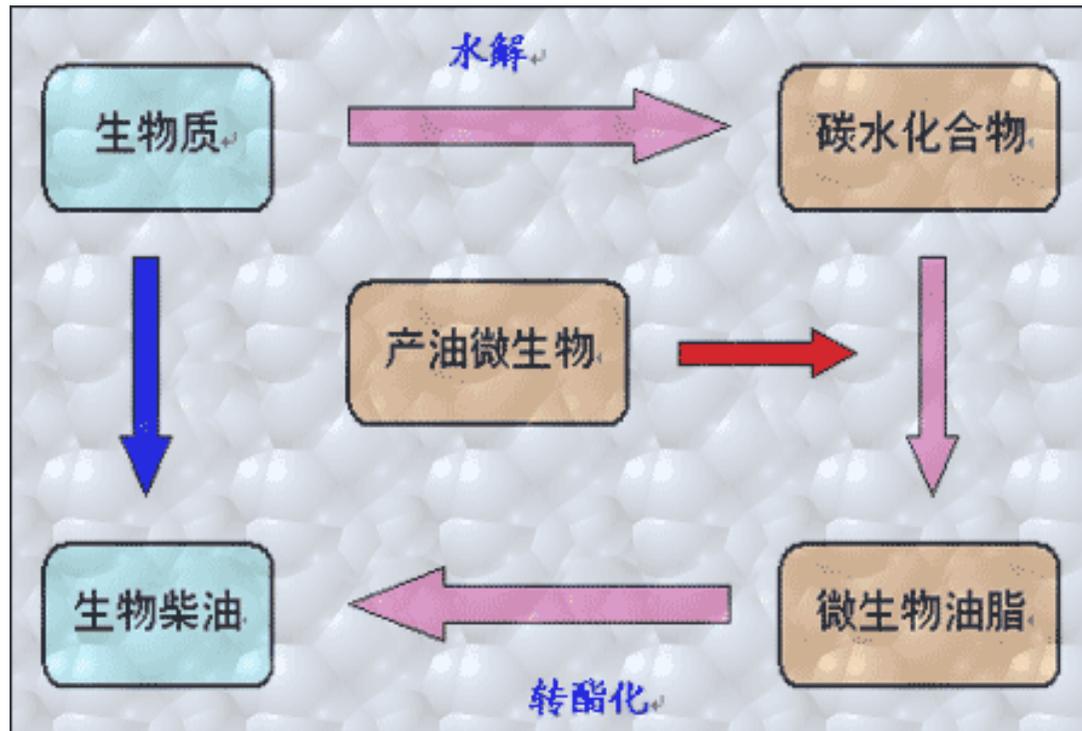
### 优点:

- (1) 具有良好的环境属性
- (2) 具有较好的低温发动机启动性能。
- (3) 具有较好的润滑性能。
- (4) 具有较好的安全性能。
- (5) 具有良好的燃料性能。
- (6) 具有可再生性能。

# 美国生物柴油发展趋势



# 从生物质到生物柴油



## 生物柴油生产装备





*Chapter is over !*