

# 新型脂肪酶介孔材料复合微反应器的研究进展

王佳<sup>1</sup>, 姜玉莹<sup>1</sup>, 刘津欢<sup>1</sup>, 付纯刚<sup>2</sup>, 钱昆<sup>2\*</sup>, 鄂义峰<sup>2</sup>

<sup>1</sup>锦州医科大学药学院, 辽宁 锦州

<sup>2</sup>锦州医科大学化学教研室, 辽宁 锦州

Email: SssscarLet48@163.com, \*skyearth20032003@163.com

收稿日期: 2020年11月6日; 录用日期: 2020年11月19日; 发布日期: 2020年11月26日

## 摘要

在药学领域中, 脂肪酶这种天然手性催化剂经常被用于制备光学对映体药物。脂肪酶催化具有高活性, 高反应性等特点, 但却容易在高温、强酸、强碱中变性甚至失活。特别是, 脂肪酶只有在油水都存在的界面才能被活化。如果能通过制备反应器的方法, 将脂肪酶保护在某些特殊材料中, 并创设油水双亲反应活性体系, 则能够保护酶, 并使其反应活性和稳定性得到提升。微型反应器还有利于酶的回收利用, 从而降低对环境的污染。不同于常见的固定化酶方法包埋法、吸附法、共价结合法和交联法等, 微反应器法可以随着材料学的进步而不断发展。近年来, 选择不断发展创新的介孔材料作为容器, 固载酶, 从而搭建酶反应器平台的方法, 取得了一系列成果。

## 关键词

脂肪酶, 催化反应, 介孔材料, 固定化酶, 微反应器

# Research Progress of Novel Lipase Mesoporous Composite Microreactor

Jia Wang<sup>1</sup>, Yuying Jiang<sup>1</sup>, Jinhuan Liu<sup>1</sup>, Chungang Fu<sup>2</sup>, Kun Qian<sup>2\*</sup>, Yifeng E<sup>2</sup>

<sup>1</sup>School of pharmacy, Jinzhou Medical University, Jinzhou Liaoning

<sup>2</sup>Department of chemistry, Jinzhou Medical University, Jinzhou Liaoning

Email: SssscarLet48@163.com, \*skyearth20032003@163.com

Received: Nov. 6<sup>th</sup>, 2020; accepted: Nov. 19<sup>th</sup>, 2020; published: Nov. 26<sup>th</sup>, 2020

## Abstract

In pharmaceutical field, the natural chiral lipase often works as the catalyst to prepare optical

\*通讯作者。

文章引用: 王佳, 姜玉莹, 刘津欢, 付纯刚, 钱昆, 鄂义峰. 新型脂肪酶介孔材料复合微反应器的研究进展[J]. 药物化学, 2020, 8(4): 91-99. DOI: 10.12677/hjmce.2020.84011

enantiomers. Lipase catalysis has the characteristics of high activity and high reactivity, but it is easy to denature and even inactivate in high temperature, strong acid and strong base. In particular, lipase can be activated at the interface of oil and water. The lipase can be protected in some special materials by the method of reactor. And the active system of oil-water amphiphilic reaction can be created, when the enzyme can be protected and its reaction activity and stability can be improved. Micro reactor is also conducive to the recovery and utilization of enzymes, so as to reduce environmental pollution. The micro reactor method can be developed with the progress of materials science which is quite different from the common immobilized enzyme methods, such as embedding, adsorption, covalent binding and cross-linking. In recent years, a series of achievements have been made in the method of selecting the constantly developing and innovative mesoporous materials as framework to immobilize enzymes and build enzyme reactor platform.

## Keywords

Lipase, Catalytic Reaction, Mesoporous Materials, Immobilized Enzyme, Microreactor

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

脂肪酶(Lipase)又称甘油三酯水解酶,可以催化甘油酯水解为甘油和脂肪酸。脂肪酶来源广泛,存在于动植物与微生物中,值得注意的是,动物体内的脂肪酶大多存在于动物的胰脏中,且具有较高的专一性,而植物中的脂肪酶则大多存在于植物的种子中,微生物性脂肪酶多为分泌性胞外酶[1]。此外,脂肪酶在药学领域中具有广泛应用,这是因为脂肪酶能够参与催化水解、酯化、转酯和氨解等反应,并且有些脂肪酶参与催化拆分醇和胺,有利于具有光学活性的手性药物的拆分,得到新的光学纯化物,为新药研究开辟道路[2]。

介孔材料是一类孔道孔径在 2~50 nm 范围内的多孔材料。介孔材料具有高度有序的孔道结构,孔径大小可连续调节,比表面积极大,孔道狭小但分布均匀等优点。介孔材料根据孔道空间分布特征可分为无序介孔材料和有序介孔材料,无序介孔材料孔道分布不均匀、孔径较大;而有序介孔材料自问世以来因其孔道结构规则并且分布均匀,稳定性高,孔径可连续调节等优点而被广泛关注。根据化学组成可将介孔材料分为硅基介孔材料和非硅基介孔材料;硅基介孔材料目前的合成技术较为成熟,且可通过掺杂其他元素来增加材料的性能[3],如纯二氧化硅的介孔材料的疏水性较强,而掺杂了铝或其他元素制成的铝硅酸盐分子筛具有较强的亲水性,因而可通过这一特性来根据溶剂的性质改变介孔材料的表面特性[4]。

脂肪酶自身具有一个很大的缺陷,它必须在油水双亲体系中才能发挥其活性,因而反应条件较为严苛,并且易污染产品,不能够循环利用,运用在工业生产中成本较高不利于产品纯化;脂肪酶的改造成成为当今研究重点[5][6],目前提出的有利用价值的是将酶固定在介孔材料孔道中制成脂肪酶介孔材料复合微反应器。通过对介孔材料的研究讨论,硅基有序介孔材料是目前运用最为广泛的一类材料;利用它孔道大小与脂肪酶分子大小相适应、材料表面性质可调节因而有效阻止酸碱进入破坏脂肪酶结构,并能够选择通过反应物质的特点来进行脂肪酶的固定,可增强脂肪酶的热稳定性和水稳定性,提高脂肪酶反应活性,有利用脂肪酶回收利用,降低污染。

## 2. 脂肪酶的催化反应

脂肪酶的来源虽广泛，但它们的立体结构都十分相似，且都以相同的方式进行折叠，有相同的活性中心——丝氨酸残基；催化部位埋在分子中，并由一个 $\alpha$ -螺旋所形成的“盖子”结构包裹，外表面亲水，而内表面疏水；当脂肪酶在油-水界面时活化，“盖子”结构打开(如图1)，活性部位暴露，底物进入与活性部位结合，进行反应[7][8]。由于脂肪酶是天然的手性催化剂，具有高的立体选择性，高效专一，并且反应条件温和，不需要辅酶，不对反应物产生太大的破坏性等优势，不光对光学药物的合成有巨大潜力，也对于工业、食品、化学等方面的应用也十分广泛[9]。

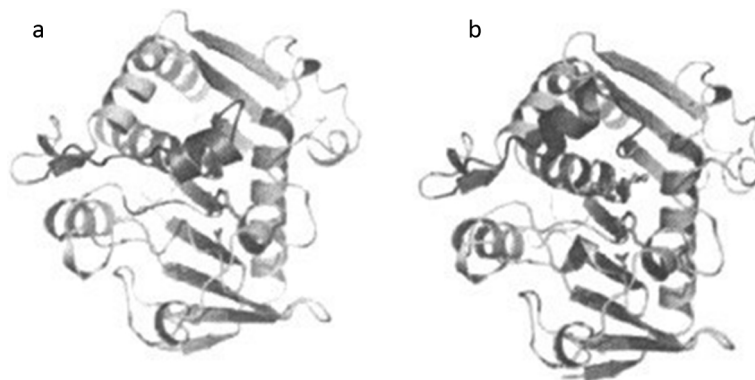


Figure 1. “Lid” closed (a) and “lid” open (b) [7]

图1. “盖子”关(a)和“盖子”开(b) [7]

经过查阅大量文献，总结出脂肪酶的催化反应的应用如表1。

Table 1. Application of lipase catalyzed reactions

表1. 脂肪酶的催化反应的应用

酶	反应物	溶剂	产物	参考文献
固定化黑曲霉脂肪酶	维生素 C、棕榈酸	丙酮	维生素 C 棕榈酸酯(90.4%)	[10]
固定化脂肪酶 <sup>1</sup>	月桂酸、甘油	叔丁醇	单月桂酸甘油酯(90%)	[11]
固定化脂肪酶 <sup>1</sup>	乙醇、山梨酸	叔丁醇	山梨酸乙酯(97.4%)	[12]
大孔树脂固定化脂肪酶	油酸、薄荷醇	无溶剂体系	油酸薄荷醇酯(94.6%)	[13]

注：1：Novozyme 435 是由诺维信公司生产的型号为 435 的固定化脂肪酶。

由表1可知，脂肪酶在各方面的生产中占据重要地位，其中非水相体系的脂肪酶催化反应应用广泛，只要控制好反应条件，脂肪酶不仅可以催化酯水解，同时也能够催化酯的合成；在非水相体系大多为有机溶剂中，能够增大各种底物的溶解度，有效规避水相中的副反应的发生；扩大了酶应用范围，不再局限于单一的溶剂，一个反应能够应用不同种类溶剂，且转化效率都较为提高；某些有机溶剂也能够活化特定的脂肪酶活性，但同样的也会抑制脂肪酶[14]，因而游离脂肪酶在商业化应用中很少，固定化酶的出现为脂肪酶的发展应用打开了新方向。

## 3. 固定化脂肪酶的兴起

1999 年彭立凤等人利用脂肪酶特殊的立体手性结构，能够识别对映体，并通过催化水解与醇酰化、胺分解等反应的特性来催化进行光学手性药物的合成[15]，而且脂肪酶本身能够达到对外消旋药物的两个对映体以不同速率去反应，进行动力学拆分也能够合成药物的中间体；并能够催化前手性底物，直接为

光学活性药物构建手性中心,这一特性主要运用于大环内酯类药物的合成。但这里利用的酶为游离性的脂肪酶,虽然拆分效率高、价格便宜,但却不能够重复使用,不能长时间存在。2017年刘文强等人通过研究提出利用固定化酶来进行光学手性药物的拆分,克服了游离酶的不足,提高酶的稳定性和可回收性,延长酶的使用寿命,推动了动力学拆分手性药物的发展[16]。

以固定化脂肪酶来代替游离脂肪酶应用于生物柴油的生产工艺[17],有更高的经济效益,也复合国家提出的绿色能源战略,但目前急需寻求的是廉价而高效的生产方式,提出了从酯化工艺的优化和寻求新的生物反应器以及优化运行装置、研究固定化酶催化油转化的动力学参数等方式来降低生产成本,目前工业上主要应用高分子材料来吸附固定脂肪酶,但载体与酶却不能牢固的结合在一起,因而新型固定化酶材料的寻找是目前需要解决的首要任务。

2016年 Sankaran 等人提出固定化脂肪酶对比游离脂肪酶具有易分离产品简化提纯工艺、可重复利用酶从而降低成本、产品易于从反应中回收、脂肪酶更加稳定等优点[18]。酶大部分属于蛋白质,在高温、高压、强酸、强碱等条件下极易变性或者失活,并且酶不能够回收利用,易污染产品;而脂肪酶本身是一个很特殊的酶,它有一个很大的缺点就是它只有在水/油界面才能够被活化,单纯的水或油存在的体系中它的催化效率很低,并且不稳定,因而我们需要利用一些特殊的介孔材料来固定它,从而使酶能够回收利用,提升它的稳定性和催化效率。

#### 4. 固定脂肪酶的常用方法

固定化酶的技术已经研究了几十年,近几年也在不断的进,越来越多的优质的材料被发现。通过查阅大量文献,固定化酶常用的传统方法整理如表 2,但固定化酶的技术远不止这几种。

**Table 2.** Common methods of immobilized enzymes

**表 2.** 固定化酶的常用方法

方法	优点	缺点	参考文献
包埋法	不改变酶空间构象,回收率高	只适用于小分子物质	[19] [20] [21]
吸附法	操作简单便捷,不破坏酶活性	结合不牢易从载体上脱落	[22] [23] [24]
共价结合法	与载体结合稳固,稳定性好	易致结构改变、活性中心受损	[25] [26]
交联法	操作简单,结合较为牢固	易降低酶活性	[27]

吸附法:利用载体对酶分子的吸附力,酶分子通过范德华力等弱作用力与载体结合,要求载体具有一定的吸附作用,并且由于结合较弱,易从载体上脱落。

包埋法:将酶包埋于具有网格结构的聚合物载体孔隙中,本方法不涉及酶化学结构的改变,结合不稳固并且要求酶分子体积不能过大;和吸附法共同属于物理方法

共价结合法:通过载体表面活性基团与酶分子上的相关基团发生偶联反应,与酶分子结合较牢固,但涉及酶分子结构的改变,易使酶变性

交联法:是一种无载体固定方法,利用双功能或多功能试剂,使酶分子间互相结合在一起形成化学键,从而产生固定化酶,并且可通过使用不同交联剂是固定化酶有不同的性质,此方法易破坏酶活性中心,使酶失活。

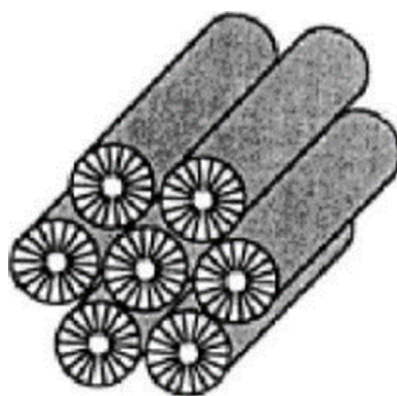
#### 5. 新型脂肪酶介孔材料复合微反应器的研究

固定化酶的关键是载体材料,而载体材料本身应具备较高的机械稳定性、热稳定性和化学稳定性,与酶有较高的结合能力但不导致酶变性甚至失活,并且不溶于固定化过程所应用的所有溶剂,且成本相

对较低而且无污染。多孔硅是目前认为的较为合适的载体,因其属于硅基介孔材料,合成技术相对成熟,孔径大小能够契合酶分子,对酶的吸附能力较强因而具有很大发展空间[28]。但其他新型材料也引起人们广泛关注,如超大孔分子筛以及其他无机载体材料,但它们的合成技术还相对不成熟且较为复杂,因而应用不如介孔材料广泛。

### 5.1. 介孔分子筛 MCM-41 孔道中脂肪酶的固定

MCM-41 是一种六方相硅基介孔分子筛(如图 2);它的合成方法目前常用的较简便的水自热合成法,此方法分为两个阶段:第一阶段利用双亲性质的表面活性剂有机分子与可聚合无机单体分子或无机源在高压水热环境下自组装生成有机物与无机物的六方相液相织态结构,第二阶段利用高温热处理或其他化学方法除去有机表面活性剂,所留下的空间即为介孔孔道(如图 3) [30],常用的表面活性剂为阳离子型季铵盐类表面活性剂。



MCM-41

Figure 2. Schematic diagram of MCM-41 molecular sieve [29]

图 2. MCM-41 分子筛示意图[29]

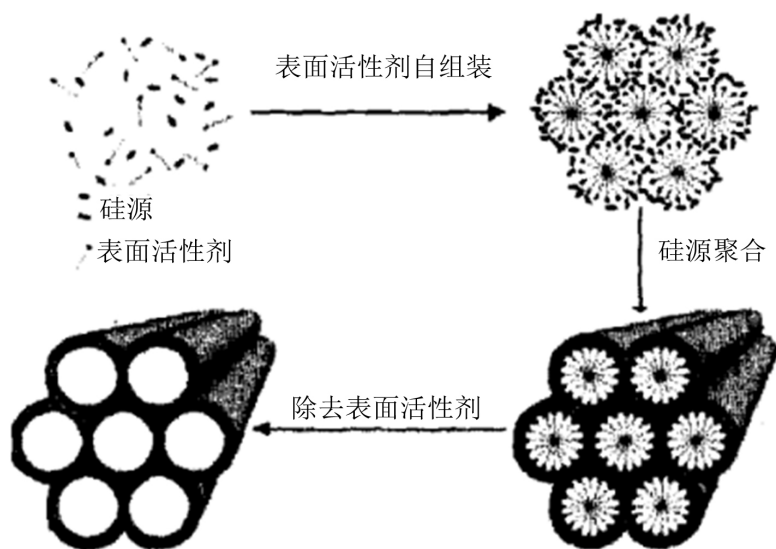


Figure 3. Schematic diagram of synthesis process of mesoporous molecular sieve [29]

图 3. 介孔分子筛合成过程示意图[29]

MCM-41 分子筛最大的特点是可以通过改变表面活性剂中脂肪链的长度来调节分子筛孔径大小, 孔径可在 1.5~30 nm 之间调节, 目前利用较为广泛的最经典的孔径为 4 nm; MCM-41 还可通过掺杂其他离子如 Ti、B、Fe 等获得其他物物理化学性质。王艳君曾利用微乳“油包水”技术制备 MCM-41 溶胶, 之后将得到的溶胶放到微型池中进行纳米化, 得到纳米级的 MCM-41 分子筛, 最后采用吸附法将脂肪酶固定在 MCM-41 分子筛孔道上。经过一系列表征, 固定化脂肪酶与游离脂肪酶在 70℃ 磷酸缓冲液反应一段时间后, 在常温下分别测定它们的活性, 游离酶活性明显下降, 而固定化脂肪酶活性仍能够保持在 80% 以上, 证明固定化酶的热稳定显著提升; 固定化脂肪酶与游离脂肪酶相比转化率提升, 因为游离脂肪酶易在反应体系中聚集, 与反应物的接触面积降低, 而固定化脂肪酶将酶分子固定在孔道中从而分散开, 增大接触面积, 也保护脂肪酶分子构象, 使其不易失活[29]。

## 5.2. 介孔分子筛 SBA-15 孔道中脂肪酶的固定

SBA-15 分子筛具有与 MCM-14 分子筛相同的圆柱孔状结构, 但与之不同的是 SBA-15 的柱状孔之间存在微孔, 孔道结构高度有序, 呈二维六方相结构, 且孔壁较厚, 孔径大而分布均一(如图 4)。制备 SBA-15 的方法, 与 MCM-14 一样均是利用水热法合成, 但不同的是 SAB-15 是在酸性条件下, 以聚氧乙烯 - 聚氧丙烯 - 聚氧乙烯三嵌段共聚物(P123)非离子表面活性剂为模板, 正硅酸乙酯为硅源合成的[31]; 孔径可在 4.6~30 nm 之间调节, 具有较高的热稳定性和水稳定性, 内表面存在大量硅基。2018 年张晓凤等人通过对脂肪酶的研究发现酸性脂肪酶相比于碱性环境下的脂肪酶具有更高的催化活性, 并且对于土曲霉 *Aspergillus terreus* 的盖子区域和底物结合口袋区域的定点突变研究, 发现了酸性环境下催化活性更高的脂肪酶, 为今后研究打开了新方向, 也因此更加契合 SBA-15 分子筛性质, 为脂肪酶提供了良好的酸性催化环境[32]。

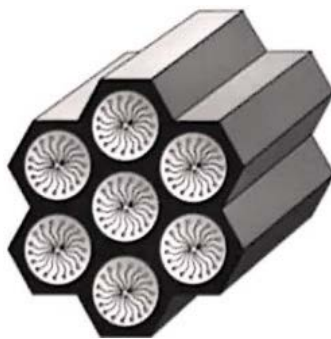


Figure 4. Schematic diagram of SBA-15 molecular sieve [31]

图 4. SBA-15 分子筛示意图[31]

## 5.3. SBA-16 分子筛固载脂肪酶设想

SBA-16 是利用水自热法, 以三嵌段共聚物聚氧乙烯醚 - 聚氧丙烯醚 - 聚氧乙醚为模板剂, 正硅酸乙酯为硅源, 壳聚糖为添加剂, 在酸性条件下合成的; 实验温度对 SBA-16 的形貌有较大影响, 因此实验应严格控制温度, 并且应避免使用磁力搅拌, 否则会使反应体系无法合成完整形貌 SBA-16 分子筛[33], 通过一系列实验表征可确定 SBA-16 具有三维立体结构, 其基本形貌为球形, 拥有立方形孔道, El-Nahass 曾用 SBA-16 来固载过氧化酶, 利用吸附法将过氧化酶固定在其孔道上[34], 同理 SBA-16 一样可以用来固载脂肪酶, 可以使脂肪酶具有较高稳定性, 增强脂肪酶活性, 同时避免了强酸强碱进入造成酶失活或变性, 能够使脂肪酶在反应体系中存在较长时间。SBA-16 属于硅基介孔分子筛, 对脂肪酶有较强的吸附

能力, 参照谷桂娜固定脂肪酶的方法, 可以采用吸附法将脂肪酶固定到 SBA-16 分子筛孔道上, 制成一个微反应器, 利用酶导向作用, 能够精准催化反应。

#### 5.4. 新型材料固载脂肪酶的前景

介孔分子筛的孔径大小极大限制了它对大分子物质的处理能力, 目前研究的超大孔分子筛拥有较大的表面积和低密度骨架, 能够吸附大分子物质, 在工业中运用越来越广泛。2012 年钱昆等人以四丁基氢氧化磷为模板剂, 利用浓溶胶法——将合成分子筛材料混合均匀在红外灯下浓缩制成溶胶, 之后将溶胶体系放入带聚四氟乙烯内衬的反应釜中, 170℃ 反应 5 h, 所得产物用丙酮、去离子水交替洗涤, 干燥, 放置一晚, 得到白色粉末即为超大孔分子筛 ITQ-33; 反应过程中水分和铝加入量影响产物品化, 水分过低, 铝加入稍过量易产生其他杂质, 而铝过量则使产物难以成形。ITQ-33 在 400℃ 也保持良好晶化度, 骨架结构完整, 当在氧气氛围下脱去模板剂后产物具有吸附能力[35], 可以用来固载酶类物质, 使酶在高温环境下也能够保持活性, 大大降低工业成本。2015 年 Qian 等人利用水热合成法, 以苜基三乙基溴化铵为模板剂合成了超大孔锆硅分子筛 ITQ-44, 由 18 元环通道相交联形成三维孔隙结构, 具有更高的热稳定性, 在 500℃ 中能够保持完整骨架不变形, 拥有比 ITQ-33 更广的应用范围[36]。

### 6. 总结与展望

固定化酶所具有的优点有: 1) 固定化酶回收利用率高, 可降低成本。2) 固定化酶极易从反应中分离, 不需要复杂的提纯, 且产率高、质量好。3) 酶经固定化后稳定性提高。4) 固定化酶的催化反应过程更易控制。5) 固定化酶具有一定的机械强度, 不易在工业生产中被器械破坏。6) 固定化酶与游离酶相比更耐高温耐酸碱[37]。通过一系列对脂肪酶介孔材料复合微反应器的研究讨论, 目前主要作为固定脂肪酶的容器的介孔材料多为硅基有序介孔材料, 固定方法一般是将脂肪酶通过吸附的方式放入介孔材料孔道中, 制成微型反应器。新型的载体材料被不断地探索和发现, 对此酶固定化技术也不断创新发展, 未来应该是寻求定向、高效、由简到精的酶固定化技术, 不单仅仅限于一种酶, 而能够做到多种酶多种材料的稳定平衡, 打破酶专一性, 能够做到多组分共同催化, 并且将这些技术能够成功运用到各个行业中去, 这是未来需要不断研究发展的目标。

### 基金项目

感谢国家自然科学基金项目批准号: 21701069; 辽宁省自然基金指导计划, 2019-ZD-0607; 大学生创新创业项目, 《分子筛孔道限域的离子液体载药前体制备技术》, 201910160028; 吉林省教育学会“十三五”科研规划课题, JLXH13514649 对本文章的支持。

### 参考文献

- [1] 余诚玮, 邓施璐, 温志刚, 等. 米糠及其脂肪酶的研究进展[J]. 食品质量安全检测学报, 2019, 10(2): 297-305.
- [2] 李远锋, 张银, 韩双艳, 等. 黑曲霉表面展示南极假丝酵母脂肪酶 B 催化仲醇动力学拆分[J]. 化学与生物工程, 2018, 35(5): 53-58.
- [3] 宋华, 冯化林, 孙兴龙. 介孔材料合成研究进展[J]. 工业催化, 2010, 18(9): 1-6.
- [4] Davis, M.E. (2002) Ordered Porous Materials for Emerging Applications. *Nature*, **417**, 813-821. <https://doi.org/10.1038/nature00785>
- [5] 刘书来. 脂肪酶催化的研究进展[J]. 化工科技市场, 2003, 26(4): 16-20.
- [6] 何慧艳. 脂肪酶的固定化及固定化酶的应用[J]. 中国高新技术企业, 2011(36): 78-79.
- [7] 陈晟, 陈坚, 吴敬. 微生物脂肪酶的结构与功能研究进展[J]. 工业微生物, 2009, 39(5): 53-58.
- [8] 孙宏丹, 孟秀春, 贾莉, 等. 微生物脂肪酶及其相关研究进展[J]. 大连医学院学报, 2001, 23(4): 292-295.

- [9] 胡兴翠, 刘建华. 微生物脂肪酶特性及工业应用[J]. 基因组学与应用生物学, 2019, 38(8): 3572-3579.
- [10] 徐文婷, 毕武丹, 丛方地, 等. 固定化脂肪酶 ANL 非水催化合成 L-抗坏血酸棕榈酸酯[J]. 生物加工过程, 2018, 16(4): 36-39.
- [11] 严子君, 张鑫, 吴祚鹭, 等. 脂肪酶 Novozym 435 催化合成单月桂酸甘油酯[J]. 大学化学, 2020, 35(4): 119-124.
- [12] 郑建永, 黄丽娟, 蓝星, 等. 有机相脂肪酶催化合成山梨酸乙酯的研究[J]. 浙江工业大学学报, 2018, 46(3): 288-291.
- [13] 李雪玉, 周海燕, 周华, 等. 大孔树脂修饰固定化脂肪酶催化合成 L-薄荷醇酯[J]. 高校化学工程学报, 2018, 32(5): 1134-1139.
- [14] 汪玲. 微生物脂肪酶的性质及应用[J]. 生物化工, 2020, 6(3): 161-163.
- [15] 彭立凤, 赵汝淇. 脂肪酶在催化合成光学活性药物中的应用[J]. 国外医药抗生素分册, 1999, 20(4): 160-166.
- [16] 刘文强, 李莉. 手性药物及其中间体拆分方法的研究进展[J]. 药学报, 2018, 53(1): 37-46.
- [17] Zhao, X.B., Qi, F., Yuan, C.L., *et al.* (2015) Lipase-Catalyzed Process for Biodiesel Production: Enzyme Immobilization, Process Simulation and Optimization. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, **44**, 182-197. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.12.021>
- [18] Sankaran, R., Show, P.L. and Chang, J.S. (2016) Biodiesel Production Using Immobilized Lipase: Feasibility and Challenges. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, **10**, 896-916. <https://doi.org/10.1002/bbb.1719>
- [19] Gao, X., Ding, Y., Sheng, Y.D., *et al.* (2019) Enzyme Immobilization in MOF-Derived Porous NiO with Hierarchical Structure: An Efficient and Stable Enzymatic Reactor. *ChemCatChem*, **11**, 2828-2836. <https://doi.org/10.1002/cctc.201900611>
- [20] Le, T.T., Murugesan, K., Lee, C.S., *et al.* (2016) Degradation of Synthetic Pollutants in Real Wastewater Using Laccase Encapsulated in Core-Shell Magnetic Copper Alginate Beads. *Bioresource Technology*, **216**, 203-210. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.05.077>
- [21] Nadar, S.S. and Rathod, V.K. (2017) Facile Synthesis of Glucoamylase Embedded Metal-Organic Frameworks (Glucoamylase-MOF) with Enhanced Stability. *International Journal of Biological Macromolecules*, **95**, 511-519.
- [22] Zdarta, J., Pinelo, M., Jesionowski, T., *et al.* (2018) Upgrading of Biomass Monosaccharides by Immobilized Glucose Dehydrogenase and Xylose Dehydrogenase. *ChemCatChem*, **10**, 5164-5173. <https://doi.org/10.1002/cctc.201801335>
- [23] Pang, S., Wu, Y.W., Zhang, X.Q., *et al.* (2016) Immobilization of Laccase via Adsorption onto Bimodal Mesoporous Zr-MOF. *Process Biochemistry*, **51**, 229-239. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2015.11.033>
- [24] Gao, J., Wang, Y., Du, Y.J., *et al.* (2017) Construction of Biocatalytic Colloidosome Using Lipase-Containing Dendritic Mesoporous Silica Nanospheres for Enhanced Enzyme Catalysis. *Chemical Engineering Journal*, **317**, 175-186. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.02.012>
- [25] Yassin, M.A., Gad, A.A.M., Ghanem, A.F., *et al.* (2019) Green Synthesis of Cellulose Nanofibers Using Immobilized Cellulase. *Carbohydrate Polymers*, **205**, 255-260. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.10.040>
- [26] Hermanova, S., Zarevucka, M., Bousa, D., *et al.* (2015) Graphene Oxide Immobilized Enzymes Show High Thermal and Solvent Stability. *Nanoscale*, **7**, 5852-5858. <https://doi.org/10.1039/C5NR00438A>
- [27] Xia, G.H., Cao, S.L., Xu, P., *et al.* (2017) Preparation of a Nanobiocatalyst by Efficiently Immobilizing *Aspergillus niger* Lipase onto Magnetic Metal-Biomolecule Frameworks (BioMOF). *ChemCatChem*, **9**, 1794-1800. <https://doi.org/10.1002/cctc.201700070>
- [28] Hartmann, M. and Kostrov, X. (2013) Immobilization of Enzymes on Porous Silicas—Benefits and Challenges. *Chemical Society Reviews*, **42**, 6277-6289. <https://doi.org/10.1039/c3cs60021a>
- [29] 王艳君. 介孔分子筛 MCM-41 的合成及其孔道中脂肪酶的固定化研究[D]: [硕士学位论文]. 杭州: 浙江大学, 2006.
- [30] 鲁奇林, 李雨擎. MCM-41 分子筛的水热合成、改性及其应用研究进展[J]. 现代化工, 2019, 39(4): 40-44.
- [31] 王海鑫, 陈赓, 高龙, 等. 介孔分子筛 SBA-15 的研究进展[J]. 广东化工, 2018(1): 100, 110.
- [32] 张晓凤, 喻晓蔚, 徐岩. 定点突变提高土曲霉 *Aspergillus terreus* 脂肪酶的催化活性[J]. 生物工程学报, 2018, 34(7): 1091-1105.
- [33] 秦靖杉, 刘宇, 姜男哲. SBA-16 的形貌可控合成研究[J]. 新型化工材料, 2017, 45(3): 163-165.
- [34] El-Nahass, M.N., El-Keiy, M.M. and Ali, E.M.M. (2018) Immobilization of Horseradish Peroxidase into Cubic Mesoporous Silicate, SBA-16 with High Activity and Enhanced Stability. *International Journal of Biological Macromolecules*, **116**, 1304-1309.
- [35] 钱昆, 宋晓伟, 徐达, 等. 以季磷化合物为模板剂合成超大孔分子筛 ITQ-33[J]. 高等学校化学学报, 2012, 33(10):



---

2141-2145.

- [36] Qian, K., Wang, Y.L., Liang, Z.Q., *et al.* (2015) Germanosilicate Zeolite ITQ-44 with Extra-Large 18-Rings Synthesized Using a Commercial Quaternary Ammonium as a Structure-Directing Agent. *RSC Advances*, **5**, 63209-63214. <https://doi.org/10.1039/C5RA09942K>
- [37] DiCosimo, R., McAuliffe, J., Poulouse, A.J., *et al.* (2013) Industrial Use of Immobilized Enzymes *Chemical Society Reviews*, **42**, 6437-6474. <https://doi.org/10.1039/c3cs35506c>