

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷
C12N 11/02
C12N 11/14



[12] 发 明 专 利 说 明 书

[21] ZL 专利号 98812649.4

[45] 授权公告日 2004 年 6 月 2 日

[11] 授权公告号 CN 1152135C

[22] 申请日 1998. 12. 16 [21] 申请号 98812649. 4
[30] 优先权
[32] 1997. 12. 23 [33] DK [31] 1527/1997
[86] 国际申请 PCT/DK1998/000554 1998. 12. 16
[87] 国际公布 WO1999/033964 英 1999. 7. 8
[85] 进入国家阶段日期 2000. 6. 23
[71] 专利权人 诺沃挪第克公司
地址 丹麦鲍斯韦
[72] 发明人 M · W · 克里斯坦森 O · 科克
C · 派德森
审查员 欧阳石文

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利
商标事务所
代理人 陈文平

权利要求书 3 页 说明书 11 页 附图 1 页

[54] 发明名称 酶的固定化方法
[57] 摘要

生产在无游离水的主要为有机物的介质中使用的
固定化酶制品的方法，包括使用流化床。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 生产在无游离水的主要为有机物的介质中使用的固定化酶制品的方法，其包括：
 - a) 在流化床中使表面积为 $20 - 1000 \text{m}^2/\text{g}$ 、颗粒大小为 $200 - 1000 \mu\text{m}$ 、包含选自以下的材料的颗粒多孔载体流化：
 - (1) 无机材料，其基本不溶于亲水或疏水液体或其混合物，具有亲水表面，
 - (2) 无机材料，其基本不溶于亲水或疏水液体或其混合物，包被了有机基团而形成基本疏水性的表面，
 - (3) 有机聚合物树脂，
 - b) 通过雾化将含酶的液体介质导入流化床，使酶固定至载体上，和
 - c) 在流化床中除去载体中液体介质的挥发性成分。
2. 权利要求 1 的方法，其中所述液体以基本不发生载体结块的数量导入。
3. 权利要求 1 的方法，其中(1)的无机材料选自硅石、沸石、矾土和高岭土。
4. 权利要求 1 的方法，其中(2)的无机材料选自硅石、沸石、矾土和高岭土，其包被了有机基团而形成疏水性的表面。
5. 权利要求 1 的方法，其中(3)的有机聚合物树脂是吸附性树脂。
6. 权利要求 5 的方法，其中所述吸附性树脂是聚丙烯酸酯、聚甲基丙烯酸酯、二乙烯基苯交联的聚苯乙烯、聚氨基甲酸酯或聚丙烯。
7. 权利要求 1 的方法，其中(3)的有机聚合物树脂是离子交换树脂。

8. 权利要求 7 的方法，其中所述离子交换树脂是阴离子交换树脂。
9. 权利要求 8 的方法，其中所述阴离子交换树脂是弱碱性阴离子交换树脂。
10. 权利要求 1 的方法，其中所述液体介质是水介质。
11. 权利要求 1 的方法，其中所述酶是脂酶。
12. 权利要求 11 的方法，其中脂酶来自腐质霉属、假单胞菌属、假丝酵母菌属或根毛菌属的菌株。
13. 权利要求 12 的方法，其中所述菌株是 *Humicola lanuginosa*、南极假丝酵母或米赫根毛霉的菌株。
14. 一种有机化合物的酶法修饰方法，其包括在基本无游离水的反应介质中将根据权利要求 1 的方法生产的固定化酶制品与所述有机化合物接触。
15. 根据权利要求 14 的方法，其中所述修饰是酯交换反应，该方法包括将固定化脂酶与第一反应物和第二反应物接触，其中第一反应物是脂肪酸酯，第二反应物是另一种脂肪酸酯、醇或游离脂肪酸。
16. 权利要求 15 的方法，其中第一反应物是甘油三酯。
17. 权利要求 15 或 16 的方法，其中第二反应物是脂肪酸酯，而脂酶是位置特异的。

18. 权利要求 15 的方法，其中第一反应物和第二反应物是不同的甘油三酯或不同的甘油三酯混合物，并且脂酶是 1,3-位置特异的。
19. 权利要求 15、16 或 18 的方法，其中反应介质主要由甘油三酯组成。
20. 权利要求 17 的方法，其中反应介质主要由甘油三酯组成。
21. 权利要求 15、16 或 18 的方法，其中反应介质包含有机溶剂。
22. 权利要求 17 的方法，其中反应介质包含有机溶剂。
23. 权利要求 1 的方法，其中颗粒多孔载体的平均孔径为 10 - 500nm。
24. 生产在无游离水的主要为有机物的介质中使用的固定化酶制品的方法，其包括：
 - a) 用表面积为 $20 - 1000\text{m}^2/\text{g}$ 、颗粒大小为 $200 - 1000\mu\text{m}$ 并具有疏水性表面的颗粒多孔载体接触含酶的液体介质，使酶吸附至载体上，和
 - b) 导入吸湿物质，通过吸收过量液体防止载体结块，
 - c) 在流化床中除去所述制品中液体介质的挥发性成分和吸湿物质。

酶的固定化方法

本发明的领域

本发明涉及在基本无游离水的主要为有机物的介质中使用的固定化酶制品的生产方法，以及这种固定化酶制品在有机合成中的用途。

本发明的背景

已知固定化酶被用于有机合成。

最普通的固定化酶是在基本无游离水的主要为有机物的介质中用于酯化反应的脂酶。

EP 140542 B2 描述了如下方法：将弱离子交换树脂载体分散至含酶的液体中并用磁力搅拌器搅拌混合，使后者和前者接触，由此将酶固定在该载体上。固定后将酶-载体真空干燥。

WO 95/22606 描述了如下方法：在混合器中将含酶的液体雾化至多孔硅石载体上，使前者和后者接触，随后在环境条件下干燥过夜。

在现有技术描述的工业固定方法中，载体或支持材料置于柱状吸附容器中，将含酶的液体循环，直至酶在载体上得到充分吸附。吸附步骤之后，清空吸附柱，手工将酶-载体产品铲出至托盘(tray)中。然后于室温下将托盘置于真空中 14-16 小时，以干燥上述产品。

WO 94/26883 描述了通过将酶吸附在一种多孔材料上生产无尘酶颗粒的方法，所述材料包括 NaCl、苏打和硅石，并可任选性地给这种产品包被一层保护性外层。一般说来，酶的固定化不应和酶的颗粒化相比，因为颗粒化用于完全不同的目的，亦即，提供一种优选无尘的运输材料，利用这种材料，可通过将颗粒崩解和/或将酶溶解于水相而将酶转移至水溶液中。酶的固定化关心的是将酶产品固定在载体上时，酶在这种载体上固定但仍有功能，而且酶不会释放至其应用的溶剂中去。

本领域已知的固定化方法在生产能力上受到限制，因为它涉及繁

重的手工步骤并需要大型设备投资（如真空室），这反过来又意味着生产僵化、产品昂贵。

附图的简要描述

图 1 显示脂酶催化的酸解反应的一个实例，其中第一个反应物（反应物 1）和第二个反应物（反应物 2）如游离脂肪酸反应，在所述反应中取代基 R1 和 R2 交换。R1 和 R2 举例如下：

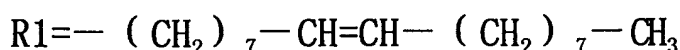


图 2 显示脂酶催化的酯交换反应的一个实例，其中第一个反应物（反应物 1）如甘油三酯和第二个反应物（反应物 2）如另一种甘油三酯反应，在所述反应中取代基 R1 和 R2 交换。R1 和 R2 举例如下：

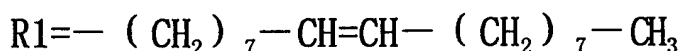
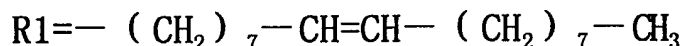


图 3 显示脂酶催化的醇解反应的一个实例，其中第一个反应物（反应物 1）如甘油三酯和第二个反应物（反应物 2）如醇反应，在所述反应中取代基 R1 和 R2 交换。R1 和 R2 举例如下：



本发明概述

通过使用标准多用途工艺设备，本发明提供了酶工业固定化的替代方法，其显著增加产量，降低劳动力成本。

因此，本发明提供在基本无游离水的主要为有机物的介质中使用的固定化酶制品的生产方法，其第一方面包括：

- a) 在流化床中使颗粒多孔载体流化，
- b) 通过雾化将含酶的液体介质导入流化床，以便酶吸附至载体上，和
- c) 在流化床中除去载体中液体介质的挥发性成分。

第二方面，所述方法包括：

- a) 用具有基本疏水性表面的颗粒多孔载体接触含酶的液体介质，以便使酶吸附于载体上，和

- b) 导入颗粒吸湿物质, 以防止载体结块,
- c) 在流化床中除去所述产品中液体介质的挥发性成分和吸湿物质。

最后, 第三方面, 所述方法包含:

- a) 通过雾化将含酶的液体介质导入至具有基本亲水性表面的颗粒多孔载体上, 以便使酶吸附于该载体上, 其中所述液体以基本不发生载体结块的数量导入, 和
- b) 在流化床中除去所述产品中液体介质的挥发性成分。

本发明的详细描述

载体

在本发明的实施方案中, 载体是颗粒多孔材料。颗粒的适宜直径大小可以是 200-1000 μm , 优选 400-700 μm ; 表面积为 20-1000 m^2/g , 优选 100-700 m^2/g ; 孔径大小为 10-500nm, 优选 100-300nm。

载体颗粒可由无机、有机或无机和有机材料组成。所述载体还可具有亲水或疏水表面。

在本发明第一个实施方案中, 载体颗粒由具有基本亲水性表面的无机材料组成, 其基本不溶于亲水或疏水液体或其混合物。优选的载体可基于硅石(如美国 Manville 的 Celite)、沸石(如德国 Degussa 的 Wessalith MS330)、矾土、陶瓷[如 Yoshihiko Hirose 等, 第 3 届国际生物催化和生物转化学术讨论会论文集 (Proceedings from 3rd International Symposium on Biocatalysis and Biotransformations, La Grande Motte, 法国, 1997) 第 238 页所公开的]和高岭土 (如美国专利 5,614,401 公开的用酸、湿热和烤干处理的高岭土)。

在本发明第二个实施方案中, 载体颗粒由第一个实施方案描述的亲水无机材料组成, 其包被了有机基团, 因此具有基本疏水性表面, 见 JP 09000257-A, 其中酸处理过的高岭土载体包被了 N-苯基- γ -氨基丙基三甲氧基甲硅烷。JP 08126489-A 描述了另一些载体, 其中一种不溶于水的载体包被了可与酶形成二硫键连接的聚合物。第三种类型

的载体见“生物方法学技术”(*Biotechnology Techniques*) 第 3 卷第 5 期第 345-348 页, 其中一种陶瓷载体包被了聚乙烯胺、聚乙烯亚胺或 3-氨基丙基三乙氧基甲硅烷, 所有这三种表面类型均可通过戊二醛交联使酶共价结合。

在本发明第三个实施方案中, 载体颗粒由具有基本疏水性表面的有机聚合树脂组成。该树脂可是吸附性树脂, 优选聚丙烯酸酯、聚甲基丙烯酸酯(如聚甲基丙烯酸甲酯)、和二乙烯基苯交联的聚苯乙烯、聚氨基甲酸酯或聚丙烯; 该树脂也可是离子交换树脂, 优选阴离子交换树脂如弱碱性阴离子交换树脂。优选的阴离子交换树脂是 Rohm & Haas 的酚型离子交换树脂 Duolite。

此外, 载体可由 DE 4429018-A 公开的再生脱乙酰壳多糖制成。

酶

根据本发明待固定化的酶可以是适于在基本无游离水的介质中使用的任何酶。最常用的酶是脂酶, 在本发明一个具体实施方案中, 脂酶可来自腐质霉属(*Humicola*) (也称作 *Thermomyces*)、假单胞杆菌属(*Pseudomonas*)、假丝酵母属(*Candida*)或根毛霉属(*Rhizomucor*) 的菌株, 优选物种 *H. Lanuginosa*(也称 *Thermomyces lanuginosa*, 参见 US 4,810,414 和 EP 305216, 上述专利以参考文献并入本文)、南极假丝酵母(*C. antarctica*)或米赫根毛霉(*R. Miehei*)。

此外, 脂酶对与底物甘油三酯的相互作用可以是位置特异的(即 1,3 特异)或非特异的。

所述酶还可在固定化方法中通过戊二醛处理进行共价交联。

含酶的液体介质

含酶的液体介质是一种亲水介质, 优选水介质。因此它可含有 20% 以上的水, 优选 40% 以上的水, 更优选 50% 以上的水, 更优选 60% 以上的水, 更优选 70% 以上的水, 更优选 80% 以上的水, 更优选 90% 以上的水, 如 95% 以上的水。该介质可含有其它有机或生物物质。因此它可以是发酵液, 或可通过利用例如超滤或通过蛋白质沉淀、分离和在其它水介质中重新溶解而获得的酶浓溶液。它还可可是溶解在水介质中的

基本纯的酶。在本发明的一个特殊实施方案中，含酶的水溶液既没有
在固定化之前采取昂贵的方法步骤如蒸发除去水，也没有加入非水溶
剂例如有机溶剂如醇类，后者例如（聚）乙二醇和/或（聚）丙二醇。

固定化方法

酶在具有亲水表面的载体上的固定化

虽不拘于理论，但认为酶在具有基本亲水性表面之载体上的固定
化不涉及酶的吸附，而是因为除去了酶所溶解的液体使酶在表面小孔
中沉积。

- i. 因此，在本发明的一个实施方案中，酶在具有基本亲水性表面之
载体上的固定化可在标准混合设备（如 Lodiger，德国）上进行，
其中在混合过程中含酶的液体通过雾化导入至干燥的多孔颗粒载
体上，例如采用与泵（如 Watson-Marlow 标准蠕动泵）连接的喷
雾器。

所述液体应当按基本不发生载体结块的量加入，这样就能随后通
过在标准流化床设备（如 Uni-Glatt 流化床设备（Glatt，德国））
中流化酶-载体产品来使之干燥，从而除去挥发性成分。

- ii. 在本发明的第二个实施方案中，酶在具有基本亲水性表面的载体
上的固定化还可在标准流化床设备（如 Uni-Glatt 流化床设备
（Glatt，德国））上进行，其中干燥的多孔颗粒载体被流化，
在室温通过雾化将含酶的液体导入流化载体，例如采用与泵（如
Watson-Marlow 标准蠕动泵）连接的喷雾器。在本实施方案中，
固定化和干燥是同时进行的。

在具有疏水表面的载体上的固定化

虽不拘于理论，但认为酶在具有基本疏水性表面之载体上的固定
化涉及酶在所述表面上的吸附。通过与表面的残基形成氢键、离子键
或共价键可使酶固定化。

- iii. 因此，在本发明的第三个实施方案中，酶在具有基本疏水性表面
之载体上的固定化可在标准混合设备上进行，其中将含酶的液体
按形成浆状物（paste）或稀浆（slurry）的量导入干燥的多孔

颗粒载体中。将该浆状物或稀浆混合一段时间，使酶吸附。吸附步骤之后将颗粒大小小于载体的吸湿颗粒物质导入上述浆状物或稀浆中。通过吸附过量液体所述物质基本防止了酶-载体的结块，从而能随后通过在标准流化床设备（如 Uni-Glatt 流化床设备（Glatt，德国））中流化酶-载体产品来使之干燥，除去挥发性成分，如果必要，一并除去吸湿物质。吸湿物质可以是能吸附过量液体的任何研细的颗粒亲水成分，例如硅石（如 Hyper Flow Celite）、高岭土、矾土、沸石或陶瓷。除去吸湿物质可通过在流化床的顶部插入一个过滤器来实现，该过滤器具有适当孔径大小，以允许吸湿物质通过而截留酶-载体。孔径大小采用 100-900 μm ，优选 200-400 μm 。

- iv. 在本发明第四个实施方案中，酶在具有基本疏水性表面的载体上的固定化还可在标准流化床设备（如 Uni-Glatt 流化床设备（Glatt，德国））上进行，其中干燥的多孔颗粒载体被流化，在室温时通过雾化将含酶的液体导入流化载体，例如采用与泵（如 Watson-Marlow 标准蠕动泵）连接的喷雾器。在本实施方案中，固定化和干燥是同时进行的。

i和iii中混合步骤的共同特征

在混合器中酶在载体上的固定化适宜在室温下进行。对于这种大小的设备适宜的混合时间可为 5-60 分钟，优选 10-30 分钟。

i、ii、iii和iv中流化床步骤的共同特征

在流化床设备中适宜的进气流量依赖于酶-载体的大小和密度、载体的量和流动床设备。此外，进气流量有一个上限，即该流量足够使酶-载体流化，但又不足以大到“吹掉”酶-载体。

除去挥发性成分的进气的适宜温度主要取决于酶的温度稳定性（失活温度）。所述温度可以是 40-90℃，优选 50-70℃，如 60℃。较高的温度可使固定化和干燥时间较短。

此外，当设备、进气流量和空气温度不变时，酶-载体固定化和/或干燥的消耗时间将依赖于酶-载体的量。固定化/干燥工艺可通过测

量进气温度和出气温度来监测。当酶-载体潮湿时，由于挥发性成分吸收热量和蒸发，出气温度比进气温度低。典型地，在固定化/干燥工艺中稳定状态的蒸发发生时，出气温度稳定在比进气温度低的一个温度，指示挥发性成分的蒸发（即吸热）以恒定速率进行。在固定化/干燥工艺的最后，出气温度开始升高并达到进气温度，指示热量吸收已经降低，因此酶载体的水分已经除去。由于使用流化床同时进行固定和干燥，所以一旦含酶的液体雾化导入流化床，干燥过程就会发生，含酶的液体输入结束后适宜的干燥持续时间可以是 5-30 分钟。

本发明一个重要方面是，所述固定化方法可通过采用其它更大的标准设备轻易地按比例扩大。因此，可调整上文给出的设备设置范围来优化更大规模的设备。

固定化酶制品的应用

根据本发明制备的固定化酶可用于在基本无游离水的介质中进行有机物质的水解、合成或修饰。所述物质可含于食品如植物或动物油/脂。

因此，本发明包括有机化合物酶法修饰的方法，其包括在基本无游离水的反应介质中将根据本发明生产的固定化酶和所述有机化合物接触。

在本发明的一个优选实施方案中，将固定化脂酶，如 1,3 特异的脂酶，用于在基本无游离水的介质中进行酯交换反应。酯交换反应可用于脂肪酸置换，包括将所述固定化脂酶与第一反应物和第二反应物接触，通过该酶催化置换反应，例如图 1-3 所示。

第一反应物可是脂肪酸酯，优选一种甘油三酯或多种甘油三酯的混合物。

第二反应物可是与第一反应物不同的另一种脂肪酸酯，优选一种甘油三酯或多种甘油三酯的混合物。此外第二反应物可是醇或游离脂肪酸。

在本发明的这个优选实施方案中，所述介质由有机溶剂组成，或

者可主要由甘油三酯组成。

本发明的所述用途适于生产食品如人造黄油或可可脂代用品。

本发明将用下列非限定性实施例来阐明。

实施例

脂酶分析

脂解活性可采用三丁酸甘油酯作为底物来测定。这种方法基于酶对三丁酸甘油酯的水解作用，作为时间的函数记录碱消耗量。

一脂酶单位（LU）定义为在标准条件下（如 30.0℃，pH7.0，阿拉伯树胶为乳化剂，三丁酸甘油酯为底物）每分钟释放 1mmol 可滴定丁酸的酶量。

AF 95/5 更为详细地描述了这种分析方法，该卷宗可从丹麦 Novo Nordisk A/S 索取，该卷宗以参考文献并入本文。

酯交换作用分析

- a) 将 200mg 三月桂酸甘油酯 (Fluka) 和 571mg 肉豆蔻酸（8 摩尔当量）(Merck) 溶解在 20ml 庚烷中。加入 3ml 饱和 NaCl 溶液，将混合物置于密闭瓶中室温搅拌 24 小时。
- b) 采用饱和 NaCl 溶液（水的活度=0.75）的气相平衡，将固定化酶（50mg）在干燥器（密闭容器）中水平衡 24 小时。
- c) 在 $T = 0$ 分钟时将水平衡的固定化酶和底物在密闭瓶中混合，密闭瓶放在 40℃ 振荡水浴中。在 $T = 0, 10, 20, 30, 40, 50$ 和 60 分钟时用注射器从密闭瓶中取出 100 μ l 样品。用丙酮/乙腈的 50/50 (% v/v) 混合物将样品稀释 (1:5 v:v)，在 HPLC 系统上分析。

HPLC 系统上的分析:

- d) HPLC 系统装备了 LiChrosphere 100 RPC18 末端封闭的 5 μ m (125 $\times$ 4 mm) 柱 (Merck)。选择乙腈/丙酮的 50/50 (% v/v) 无梯度溶液作为流动相，流速为 1ml/分钟。
- e) 注射 20 μ l 样品，在 2 巴压力和 30℃ 下通过挥发性光散射检测器

(Sedex 55, Sedere, 法国)来测定形成的产物(1,2-二月桂酰-3-肉豆蔻酰丙三醇(产物1)和1,3-二肉豆蔻酰-2-月桂酰丙三醇(产物2))。

f) 将样品测量值与1,2-二月桂酰-3-肉豆蔻酰丙三醇和1,3-二肉豆蔻酰-2-月桂酰丙三醇的外标曲线相比较,估计形成产物的量。

酯交换反应的速率可按单位计算,其中1单位定义为每分钟三月桂酰甘油酯中掺入 $1\mu\text{mol}$ 肉豆蔻酸。

另一种方法是,酯交换反应的结果可表示为三月桂酸甘油酯转化成产物1和产物2的转化百分率%,可按如下计算:

$$\% \text{转化}_{T=i} = \left[\frac{\text{产物1的摩尔数} + \text{产物2的摩尔数}}{T=0 \text{时三月桂酰甘油酯的摩尔数}} \right]_{T=i} \times 100\%$$

其中, i 表示样品从解育瓶中取出的时间(步骤c)。

实施例 1

脂酶在流化床中吸附至沸石载体上,同时除去/蒸发挥发性液体

在Uni-Glatt流化床设备(Glatt,德国)中使用双向喷雾器将400g *Humicola lanuginosa* 脂酶的溶液(693 kLU/ml)雾化至1kg沸石(Wessalith MS330; 0.5-0.9mm; Degussa,德国)上。脂酶溶液通过蠕动泵(Watson-Marlow)来供应。进气温度为 60°C ,出气温度为 40°C ,空气流量为 $100\text{ m}^3/\text{小时}$ 。固定化结束后,产品在流化床中再干燥5分钟。

固定化方法通过酯交换分析检验,测得 $T=24$ 小时后三月桂酸甘油酯转化率为53%。

实施例 2.

脂酶在流化床中吸附至硅石载体上,同时除去/蒸发挥发性液体

将94g *Humicola lanuginosa* 发酵脂酶溶液(693 kLU/ml)用100g脱矿质水稀释,在Uni-Glatt流化床设备(Glatt,德国)中使用双向喷雾器(自制)雾化至200g Celite R648(Manville,美国)上。脂酶溶液通过蠕动泵(Watson-Marlow)(流速 $238\text{g}/\text{小时}$)来供应。进气温度和出气温度与实施例1所示值相同。固定化结束后,产品在流化床中再干燥5分钟。

固定化方法通过酯交换分析检验,测得 T=24 小时后三月桂酸甘油酯转化率为 12%。

实施例 3

脂酶在混合器中吸附至吸附性树脂上,随后在流化床中采用 Hyper Flow Celite (HFC)作为干燥助剂进行干燥

将 94g *Humicola lanuginosa* 脂酶的溶液 (693 kLU/ml) 用 260g 脱矿质水稀释。将该溶液加至含 250g 吸附性树脂 (大孔二乙烯基苯交联的聚苯乙烯, Purolite AP 1090; 英国 Purolite) 的 5 升混合器 (德国 Lodiger) 中。将该悬浮液于室温 30 RPM 混合 20 分钟。加入 200 g Hyper Flow Celite (HFC) 以吸附残余液体,使该混合物在 Uni-Glatt 设备中流化。采用实施例 1 所述同样的条件,将混合物干燥 20 分钟。在此期间,在流化床顶端使用 300 μ m 过滤器截留树脂颗粒而吹走 HFC,从而将 HFC 与吸附性树脂分离开来。

产品活性:

测得 T=0 - 60 分钟的比活为 3,9U/g 产品。

实施例 4

脂酶在流化床中吸附至吸附性树脂上,同时干燥挥发性液体

将 94g *Humicola lanuginosa* 脂酶的溶液 (693 kLU/ml) 用 200g 脱矿质水稀释,在 Uni-Glatt 流化床设备 (Glatt, 德国) 中使用双向喷雾器雾化至 200g 吸附性树脂 (大孔二乙烯基苯交联的聚苯乙烯, Purolite AP 1090; 英国 Purolite) 上。脂酶溶液通过蠕动泵 (Watson-Marlow) (流速 238g/小时) 来供应。进气温度和出气温度分别是 50℃ 和 30℃。固定化结束后,产品在流化床中再干燥 5 分钟 (流速 100 m³/小时)。

固定化方法通过酯交换分析检验,测得 T=24 小时后三月桂酸甘油酯转化率为 36%。

实施例 5

脂酶在流化床中吸附至高岭土载体上，同时干燥挥发性液体

将 94g *Humicola lanuginosa* 脂酶的溶液 (693 kLU/ml) 用 300g 脱矿质水稀释，在 Uni-Glatt 流化床设备 (Glatt, 德国) 中使用双向喷雾器 (自制) 雾化至 200g 高岭土载体 (BIOFIX SC (500-250); 英国 ECC) 上。脂酶溶液通过蠕动泵 (Watson-Marlow) (流速 238g/小时) 来供应。进气温度和出气温度分别是 50℃ 和 30℃。固定化结束后，产品在流化床中再干燥 5 分钟 (流速 100 m³/小时)。

固定化方法通过酯交换分析检验，测得 T=24 小时后三月桂酸甘油酯转化率为 34%。

图1: 酸解反应

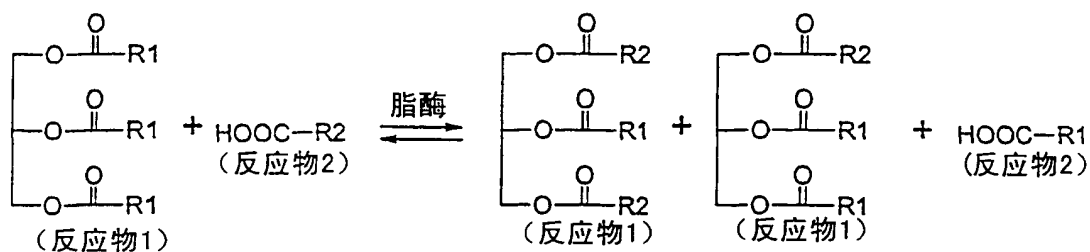


图2: 酯交换反应

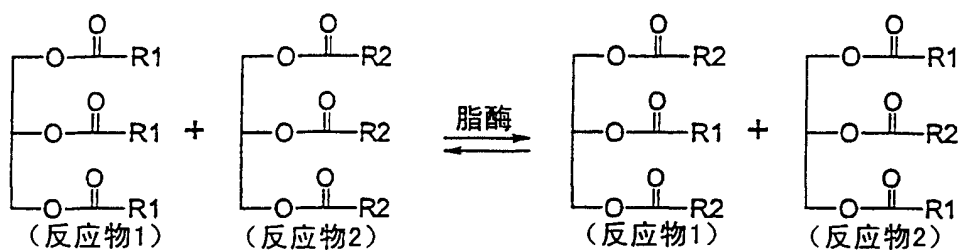


图3: 醇解反应

