



华夏英才基金学术文库

王建龙 著

生物固定化技术 与水污染控制



科学出版社

www.sciencep.com

内 容 简 介

本书全面、系统地论述了生物固定化技术的原理、方法及其在水污染控制中的应用。全书共 10 章,分为基础篇和应用篇。基础篇主要内容包括:生物固定化技术的原理与方法、固定化对微生物生理及代谢活性的影响、固定化微生物应用的理论及工程分析等;应用篇主要内容包括:固定化微生物用于废水好氧及厌氧生物处理、生物脱氮、处理重金属离子、处理难降解有毒有机污染物以及环境分析与监测等。本书理论与实用并重,内容丰富、新颖,实用性强。

本书可供从事环境保护、食品发酵、医药合成、有机化工等研究领域的科技人员和高等院校相关专业师生参考。

图书在版编目(CIP)数据

生物固定化技术与水污染控制/王建龙著. —北京:科学出版社,2002

ISBN 7-03-009314-3

I. 生… II. 王… III. 水污染-污染控制-生物技术 IV. X52

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2001)第 17023 号

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

漂 海 印 刷 厂 印 刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2002 年 7 月第 一 版 开本:B5(720×1000)

2002 年 7 月第一次印刷 印张:21 1/4

印数:1—2 500 字数:399 000

定价:40.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈北燕〉)

前 言

生物固定化技术是现代生物工程领域中的一项新兴技术,是使生物催化剂(酶、微生物细胞、动植物细胞、细胞器等)更广泛、更有效使用的一种重要手段。生物催化剂通过物理或化学方法固定化后,其催化性能得以改善,使用效率大大提高。现在,固定化生物催化剂的研究如雨后春笋般迅猛发展。它已由原来的单一固定化酶、固定化微生物细胞发展到固定化动植物细胞、固定化细胞器、固定化原生质体、固定化微生物分生孢子以及酶与微生物、好氧微生物与厌氧微生物的联合固定化等,其应用研究涉及食品与发酵工业、化学合成工业、医疗诊断、环境污染治理与检测、能源开发等各个领域,充分展示了固定化生物催化剂的美好发展前景。固定化生物催化剂的成功研制,开辟了生物催化剂实际应用的新途径。

作者长期从事与生物固定化技术理论及应用相关的研究工作,在国内外学术期刊上发表论文百余篇,并先后负责或参加了多项课题的研究,主要包括:国家自然科学基金项目(水体颗粒物和难降解有机物的特性及控制技术原理,难降解有机物生物处理新技术及其作用机理,废水生物脱氮新工艺及其机理的研究)、国家科技攻关项目(生物自固定化技术及其在焦化等工业废水处理中的应用)、“863”项目(生物传感器快速测定 BOD 仪的研制)、国际科学基金项目(Production of citric acid from molasses by immobilized *Aspergillus niger* integrated with *in-situ* product separation)、中国博士后科学基金项目(固定化微生物降解邻苯二甲酸酯类化合物的研究)、国家教委博士点基金项目(改善难降解有机物生物降解性能的研究)、与香港科技大学合作研究项目(复合生物反应器处理废水特性的研究)等。研究内容涉及固定化方法的改进及新的固定化技术的开发、固定化技术在食品与发酵工业中的应用、废水生物处理及生物传感器的研制等多个方面。

本书是一本论述生物固定化技术原理及其在水污染控制中应用的学术专著,是作者多年来研究成果的系统总结,并力求反映该学科领域中的最新研究成果及发展动向。全书分为基础篇和应用篇两部分。基础篇为生物固定化技术原理与方法,较全面、系统地论述了生物固定化技术的发展背景,固定化技术的原理、方法,固定化对微生物生理及代谢活性的影响,固定化生物催化剂应用的理论及工程分析等。应用篇为生物固定化技术在水污染控制中的应用,主要论述废水好氧、厌氧生物处理,生物硝化与反硝化,重金属离子的生物吸附,难降解有毒有机污染物的生物治理,环境污染监测生物传感器等。特别是固定化技术在难降解有机污染物治理中的应用方面,作者从微生物学、分子生物学和遗传学等角度对各类物质的降

解机理、代谢调控进行了深入论述。固定化技术为充分发挥高效菌种或遗传工程菌在难降解有毒有机污染物治理中的降解潜力,防止其泄露而引起生态问题提供了一个十分重要的方法。

目前国内尚无同类专著出版。与国外出版的同类书籍相比,本书具有以下特点:

(1)理论与实用并重 既重视方法技术的介绍,又重视基础理论的探讨;

(2)实用性强 书中所述各类固定化方法均经过作者实验验证;

(3)内容丰富、新颖 作者查阅、整理了国内外相关研究论文数百篇,并加入作者的最新研究成果;

(4)适用面广 由于固定化技术应用十分广泛,因此本书可供从事环境保护、食品发酵、医药合成、化学分析、有机化工、生化工程等相关研究领域的科技人员及高等院校相关专业师生参考。

本书的出版得到华夏英才基金的支持,在此表示感谢!作者十分感谢两位导师——周定教授和钱易教授的悉心指导;感谢清华大学环境科学与工程研究院院长郝吉明教授对本书出版给予的极大关心与支持;感谢清华大学环境科学与工程系以及环境模拟与污染控制国家重点联合实验室的有关领导和师生们的帮助;也非常感谢家人的理解、关心与支持。

由于作者水平有限,书中缺点、错误和不足之处在所难免,恳请读者不吝指教。

王建龙

2001年11月

目 录

基础篇 生物固定化技术原理与方法

第一章 概论	(1)
第一节 固定化技术的发展背景	(1)
第二节 固定化生物催化剂的定义	(2)
第三节 固定化方法分类	(2)
一、载体结合法	(3)
二、交联法	(4)
三、载体分隔法	(4)
四、系统截留法	(6)
第四节 生物催化剂固定化机理	(6)
第五节 生物催化剂固定化方法的比较	(6)
第六节 固定化生物催化剂的优越性及其应用	(7)
一、固定化生物催化剂的优点	(7)
二、固定化生物催化剂的应用领域	(8)
三、固定化生物催化剂在工业上的应用实例	(10)
参考文献	(11)
第二章 固定化微生物原理及方法	(12)
第一节 吸附法固定化微生物	(13)
一、吸附载体	(13)
二、吸附法固定化微生物的方法	(13)
第二节 包埋法固定化微生物	(15)
一、天然高分子多糖作为包埋材料	(16)
二、合成高分子化合物作为包埋材料	(24)
第三节 交联法固定化微生物	(28)
一、戊二醛交联法	(28)
二、螯合法	(29)
三、物理交联法	(31)
第四节 膜截留固定化技术	(33)
一、概述	(33)

二、中空纤维的类型	(34)
三、中空纤维生化反应器的结构及运行方式	(34)
四、中空纤维生化反应器的优点及局限性	(36)
第五节 联合固定化技术	(37)
一、联合固定化方法	(37)
二、联合固定化生物催化剂的类型	(39)
三、联合固定化微生物的代谢模式	(40)
第六节 固定化微生物大规模制备技术	(42)
一、概述	(42)
二、挤压法	(43)
三、乳化技术	(46)
四、旋转喷射技术	(47)
第七节 微生物固定化方法的改进	(48)
参考文献	(51)
第三章 固定化对微生物生理及代谢活性的影响	(53)
第一节 理论分析	(53)
一、固定化微生物应用系统分析	(53)
二、影响固定化细胞性能的因素	(53)
第二节 固定化试剂对微生物活性的影响	(55)
一、聚丙烯酰胺法中固定化试剂对微生物活性的影响	(55)
二、海藻酸钙法中固定化试剂对细胞活性的影响	(58)
三、PVA - H_3BO_3 法中固定化试剂对细胞活性的影响	(59)
参考文献	(60)
第四章 固定化微生物应用的理论及工程分析	(61)
第一节 固定化生物催化剂的传质问题	(61)
一、外扩散	(62)
二、内扩散	(63)
三、有效扩散系数的测定	(64)
四、影响固定化细胞内有效扩散系数的因素	(68)
五、氧气在固定化细胞凝胶内的扩散	(73)
六、溶质在固定化细胞凝胶内的扩散	(74)
七、改进固定化细胞扩散性能	(75)
第二节 固定化细胞颗粒反应动力学模型	(76)
一、模型的建立	(76)
二、模型的分析	(79)

三、举例	(81)
第三节 固定化细胞用于连续发酵的理论分析	(82)
一、游离微生物的连续培养分析	(82)
二、固定化细胞的连续发酵分析	(85)
三、固定化细胞体系与游离细胞体系的比较	(87)
参考文献	(90)

应用篇 生物固定化技术在水污染控制中的应用

第五章 废水好氧生物处理	(91)
第一节 概述	(91)
第二节 复合生物反应器	(92)
一、复合生物反应器处理废水的研究概况	(92)
二、复合生物反应器的理论分析	(99)
三、复合生物反应器的实验研究	(104)
第三节 膜生物反应器原理及工艺	(112)
一、概述	(112)
二、膜生物反应器的组成	(113)
三、膜生物反应器的工艺特点	(113)
四、膜生物反应器的分类	(114)
五、影响膜通透量的主要因素	(115)
第四节 微生物的附着机理	(117)
一、固(载体)-液界面的相互作用	(117)
二、微生物对界面的响应	(119)
三、微生物的最初吸附	(119)
四、生物膜生长与脱落	(120)
第五节 影响生物膜形成的因素	(121)
一、环境因素	(121)
二、微生物性能	(122)
三、载体表面性能	(123)
第六节 固定化细胞中氧气传递过程分析	(124)
一、氧气传递过程分析	(124)
二、氧气在固定化细胞内扩散模型的建立	(125)
三、氧气在固定化细胞颗粒内浓度分布计算	(126)
四、改善固定化细胞内供氧方法的研究	(127)
第七节 好氧颗粒污泥	(128)

一、好氧污泥颗粒化	(128)
二、影响颗粒化的环境因素	(129)
三、颗粒化对微生物生理的影响	(129)
四、好氧颗粒污泥的特征	(130)
第八节 生物强化技术	(130)
一、生物强化技术产生的背景及其意义	(130)
二、生物强化技术的实现	(131)
三、生物强化技术在水污染治理中成功应用的实例	(135)
四、生物强化技术失败原因的探讨	(137)
参考文献	(137)
第六章 废水厌氧生物处理	(139)
第一节 概述	(139)
一、厌氧生物处理的发展过程	(139)
二、厌氧工艺的特点	(140)
第二节 厌氧生物处理的基础知识	(141)
一、厌氧消化阶段的划分	(141)
二、厌氧反应热力学分析	(145)
三、厌氧消化过程的微生物学	(147)
四、厌氧消化动力学	(150)
第三节 UASB 反应器	(152)
一、UASB 的结构	(152)
二、UASB 的特点和功能	(153)
三、UASB 的应用	(155)
四、UASB 的发展	(156)
第四节 折流式厌氧反应器	(158)
一、概述	(158)
二、ABR 的工作原理	(158)
三、ABR 的类型	(160)
四、ABR 的水力特性	(162)
五、ABR 的启动	(163)
六、ABR 中污泥的颗粒化	(164)
七、ABR 处理各种浓度废水的研究现状	(182)
八、ABR 的发展前景	(184)
第五节 厌氧颗粒污泥	(185)
一、概述	(185)

二、颗粒污泥	(185)
三、微生物组成	(193)
四、颗粒化初期及形成	(198)
五、颗粒化的几种假说	(200)
参考文献	(206)
第七章 生物硝化和反硝化	(208)
第一节 概述	(208)
第二节 生物硝化的各种新工艺	(208)
一、SHARON 工艺	(208)
二、ANAMMOX 工艺	(210)
三、De-ammonification 工艺	(212)
四、OLAND 工艺	(212)
五、同时硝化反硝化工艺	(213)
第三节 固定化微生物反硝化工艺	(216)
一、生物反硝化的基本原理	(216)
二、生物反硝化的微生物学	(217)
三、生物反硝化过程	(218)
四、生物反硝化过程中 NO 的产生与转化	(220)
五、反硝化过程中的反应计量学	(221)
六、固定化细胞反硝化反应动力学	(223)
七、同时反硝化和产甲烷	(228)
参考文献	(231)
第八章 重金属离子的生物吸附	(233)
第一节 水中重金属离子的常规去除方法	(233)
一、化学沉淀法和电解法	(233)
二、离子交换法和膜分离技术	(233)
三、活性炭吸附	(234)
第二节 生物吸附法及其优越性	(234)
第三节 生物吸附的原理	(235)
第四节 影响生物吸附的因素	(237)
一、pH 值的影响	(237)
二、温度的影响	(238)
三、竞争离子的影响	(238)
四、金属离子初始浓度的影响	(239)
五、吸附剂粒径的影响	(239)

六、活生物体生物积累过程中各种因素的影响	(240)
第五节 吸附平衡方程和动力学模型	(240)
第六节 生物吸附剂及其预处理	(243)
一、生物吸附剂的来源及要求	(243)
二、生物吸附剂的预处理	(244)
第七节 生物吸附法在含重金属废水处理中的应用	(245)
第八节 重金属生物吸附技术的研究方向	(246)
参考文献	(247)
第九章 难降解有毒有机污染物的生物处理	(248)
第一节 概述	(248)
第二节 难降解有机物的生物降解原理	(249)
一、微生物种群变化	(249)
二、酶的诱导	(249)
三、隐性基因的表达	(250)
四、变异	(250)
五、遗传物质转移	(251)
第三节 有毒有机污染物降解的生物学基础	(252)
一、微生物种群间的协同作用	(252)
二、微生物菌群的生态学意义	(253)
第四节 邻苯二甲酸酯类化合物	(257)
一、PAEs 降解微生物	(257)
二、PAEs 好氧生物降解	(258)
三、PAEs 厌氧生物降解	(259)
四、PAEs 代谢基因的调控与定位	(260)
第五节 卤代烃类	(261)
一、卤代芳烃	(261)
二、卤代脂肪烃	(271)
第六节 农药	(273)
一、农药分子结构与微生物降解的关系	(274)
二、农药的浓度与生物降解的关系	(275)
三、降解农药的微生物	(276)
第七节 洗涤剂	(277)
一、表面活性剂 LAS 废水的特点及其危害	(278)
二、LAS 生物降解特性	(279)
第八节 石油污染物	(284)

一、石油组分的生物降解	(284)
二、环境因素对生物降解的影响	(287)
第九节 难降解有机物生物处理新技术	(289)
一、生物强化技术	(289)
二、固定化细胞技术	(290)
三、酶技术	(291)
四、基因工程菌(GEMs)及其应用	(292)
第十节 固定化微生物治理难降解有机污染物的研究	(293)
一、固定化技术在难降解有机污染治理中的应用	(293)
二、固定化技术用于难降解有机物治理的优越性	(298)
参考文献	(299)
第十章 环境污染监测生物传感器	(301)
第一节 生物传感器的基础知识	(301)
一、生物传感器的基本组成和工作原理	(301)
二、生物传感器的分类	(303)
三、生物传感器的特点	(304)
第二节 BOD 生物传感器	(304)
一、BOD 的涵义	(304)
二、BOD 的定义及标准测定方法	(304)
三、有关 BOD 涵义的讨论	(305)
四、BOD 传感器的原理和研究现状	(307)
五、BOD 生物传感器及 BOD 其他快速测定仪器的开发情况	(314)
第三节 其他生物传感器	(316)
一、酚类传感器	(316)
二、阴离子表面活性剂传感器	(317)
三、水体富营养化监测传感器	(317)
四、检测硝酸盐、亚硝酸盐及氨氮的生物传感器	(317)
五、检测有毒有害物质的生物传感器	(318)
六、抗体传感器	(319)
七、空气和废气监测传感器	(319)
第四节 DNA 生物传感器及其在环境监测中的应用	(321)
一、核酸杂交生物传感器的原理	(321)
二、污染物的检测	(324)
参考文献	(325)

基 础 篇

生物固定化技术原理与方法

第一章 概 论^[1~18]

第一节 固定化技术的发展背景

最早的固定化可以追溯到古代,人们在酿造工业中添加各种固形物,使微生物附着在其表面,以提高微生物的酿造效果。

1916年,Nelson和Griffin发现蔗糖酶吸附在骨炭微粒上仍保持与游离酶同样的活性。现在所讲的固定化则主要是以此为开端。随后,人们为了更有效地利用酶,积极地进行各种固定化技术研究和开发。

1956年,Mita通过离子键结合法将过氧化氢酶固定在DEAE-纤维素上;1958年,Grubhofer和Schleith通过重氮化共价结合法将多种酶固定在聚氨基苯乙烯树脂上;1963年,Bernfeld和Wan利用聚丙烯酰胺包埋法固定了多种酶;1964年,Quiocho和Richards利用戊二醛交联法固定了羧酸酐酶;1969年,日本的千烟一郎等将固定化酰化氨基水解酶用于DL-氨基酸的光学分离,生产L-氨基酸,成功地实现了固定化酶的工业应用。

固定化微生物细胞的工业应用以日本的千烟一郎等于1973年利用聚丙烯酰胺凝胶包埋固定化具有高活性天门冬氨酸酶的大肠杆菌(*Escherichia coli*)生产L-天门冬氨酸为标志。接着,他们于1974年又成功地固定了含延胡索酸酶的产氨短杆菌(*Brevibacterium ammoniagenes*)用于生产L-苹果酸。

在我国,固定化生物催化剂的研究始于20世纪70年代初期,中国科学院微生物研究所和上海生物化学研究所同时开始了固定化酶的研究工作。1973年,中国科学院微生物所固定化酶研究小组首先成功地将黑曲霉葡萄糖淀粉酶吸附到DEAE-SephadexA50上。随后,应用SESA与甘蔗渣纤维素进行醚化反应得到ABSE-纤维素,通过载体苯氨基重氮化偶联葡萄糖淀粉酶。70年代后期,许多单位相继开展了固定化酶和固定化细胞的应用研究。1978年,全国首届酶工程会议

后,固定化生物催化剂的研究和应用迅速扩展到全国各地,并取得了一些可喜的成绩。

现在,固定化生物催化剂技术如雨后春笋般迅猛发展。它已由原来的单一固定化酶、固定化微生物细胞发展到固定化动植物细胞、固定化细胞器、固定化原生质体、固定化微生物分生孢子以及酶与微生物细胞、好氧微生物与厌氧微生物的联合固定化(co-immobilization)等。其应用研究已涉及食品与发酵工业、化学合成工业、医疗诊断、环境净化、能源开发等各个领域,充分展示了固定化生物催化剂美好的发展前景。

第二节 固定化生物催化剂的定义

“固定化生物催化剂(immobilized biocatalysts)”这一术语于 1983 年首次出现在美国著名的杂志 *Enzyme Microbial. Technol.* 上,国内也很快采用。然而,到目前为止,尚没有任何权威机构对固定化生物催化剂做出准确的定义。本书参照 1971 年召开的首届国际酶工程会议对“固定化酶”所做的定义,对固定化生物催化剂定义如下:“固定化生物催化剂是指用物理或化学方法限制或定位在某一特定空间范围内,保留了其固有的催化活性,能被重复和连续使用的酶、微生物细胞、动植物细胞、细胞器等生物催化剂。”

因此,固定化生物催化剂包括:

- (1) 吸附在固体表面的生物催化剂;
- (2) 包埋的生物催化剂;
- (3) 系统截留的生物催化剂;
- (4) 颗粒化或絮凝的生物催化剂。

第三节 固定化方法分类

固定化(immobilization)技术是使生物催化剂更广泛、更有效应用的一种重要手段。任何一种限制生物催化剂自由流动的技术都可以用于制备固定化生物催化剂。目前,用于制备固定化生物催化剂的方法种类繁多,新方法也层出不穷。加之不同的研究者采用不同的分类方法,因此很难对此作出精确分类。综合考虑生物催化剂与载体间的作用力、固定化生物催化剂的状态、载体的来源及固定化生物催化剂的制备过程等因素,并参照 Kennedy 等对酶固定化方法的分类,对生物催化剂固定化方法进行分类,见图 1-1。

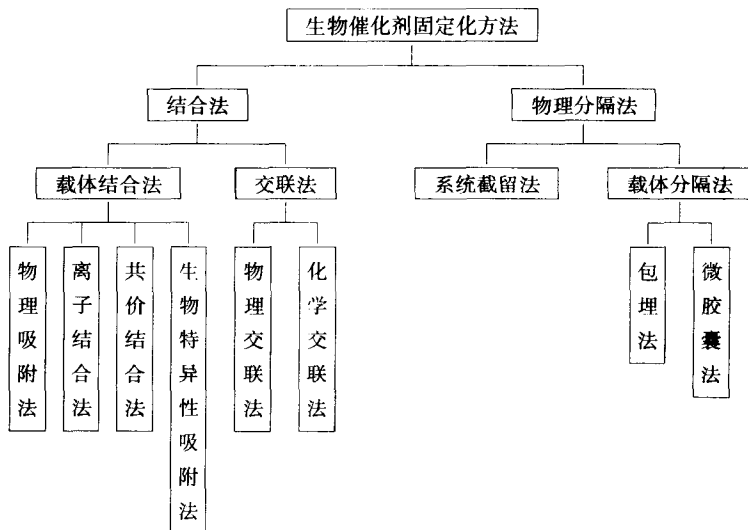


图 1-1 生物催化剂固定化方法分类

一、载体结合法

载体结合法是基于生物催化剂与载体之间通过物理吸附、离子结合、共价结合及生物特异性吸附等作用将生物催化剂固定在不溶性载体上,根据生物催化剂与载体间的作用方式,载体结合法又可分为以下四类:

1. 物理吸附法

利用吸附载体将生物催化剂吸附到其表面,从而制得固定化生物催化剂的方法,称为物理吸附法。生物催化剂与吸附载体之间的作用包括范德华力、氢键及静电作用。常用的吸附载体有:活性炭、木屑、多孔玻璃、多孔陶瓷、塑料、硅藻土、硅胶、纤维素等。

吸附法固定化微生物细胞时,pH 值、细胞壁的组分、载体的性质等均影响细胞与载体之间的相互作用。用吸附法固定微生物细胞是一个十分复杂的过程。只有当细胞的性质、载体的特征及细胞与载体间的作用等参数配合恰当时才能形成稳定的微生物细胞-载体复合物,应用于实际系统。

2. 共价结合法

利用氨基酸上的一些残基(如氨基、羧基、巯基、咪唑基、羟基等)与经过化学修饰而活化的载体之间通过共价键结合的方法,称为共价结合法。其特点是结合力强、不易脱落、热稳定性增加,但存在操作复杂、反应条件不易控制、活性损失较大等问题。

3. 离子结合法

利用生物催化剂与离子交换树脂间形成离子键而实现固定化的方法,称为离子结合法。通过调节 pH 值而使生物催化剂(其实质为蛋白质)带不同电荷,从而与阳离子或阴离子交换树脂进行静电作用形成稳定的生物催化剂-载体复合物。影响生物催化剂与载体结合强度的因素有:载体的性质、培养物的菌龄、细胞的初始浓度、吸附前细胞的制备方法、溶液的 pH 值、离子强度、温度等。用离子结合法固定在树脂上的细胞仍能存活,人工固定化活细胞的首例就是采用该法。

4. 生物特异性吸附法

生物特异性吸附法是指利用细胞与特殊的天然高分子物质间的生物特异性作用来实现固定化,在亲和色谱的基础上发展起来的一类固定化方法。主要用于酶的固定化。

二、交 联 法

交联法又称无载体固定化法,该法不利用载体,生物催化剂之间依靠物理的或化学的作用相互结合。因此,交联法又分为化学交联法和物理交联法。

1. 化学交联法

化学交联法是指利用醛类、胺类、水合金属氧化物等具有双功能或多功能基团的交联剂与生物催化剂之间形成共价键相互联结形成不溶性的大分子而加以固定化的方法。

2. 物理交联法

物理交联法是指在微生物培养过程中,适当改变细胞悬浮液的培养条件(如离子强度、温度、pH 值等),使微生物细胞间发生直接作用而颗粒化(pelletization)或絮凝(flocculation)来实现固定化的方法。影响微生物细胞颗粒化的因素有:搅拌强度、培养基组成、pH 值、溶解氧浓度、添加剂等。加入少量的絮凝剂将有助于微生物细胞的聚集。物理交联法的优点是细胞密度大、固定化条件温和,但是其机械强度差、细胞堆积密度大导致物质传递尤其是氧传递困难。

三、载体分隔法

载体分隔法是指依靠载体对生物催化剂的物理阻挡来实现生物催化剂的固定化。载体分隔法又可分为包埋法和微胶囊法。

1. 包埋法

将生物催化剂限制在聚合网络中的方法称为包埋法。按形成聚合网络的前体物(precursor)的尺寸,包埋法又可以分为三类,如图 1-2 所示。

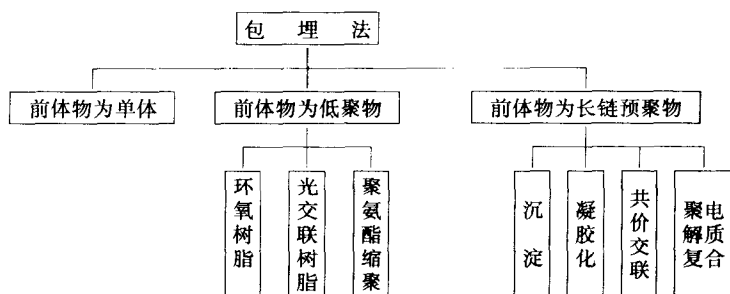


图 1-2 包埋法按聚合网络的前体物分类

(1) 前体物为单体的聚合网络

由两种含 $\begin{array}{c} \diagup \quad \diagdown \\ \text{C}=\text{C} \\ \diagdown \quad \diagup \end{array}$ 的小分子单体物质(其中之一为交联剂)共聚而成,最常用的单体是丙烯酰胺。

此法的特点是凝胶强度好,包埋的生物催化剂量多,但包埋聚合局部过热,活性较低,成球较难。丙烯酰胺单体有毒。

(2) 前体物为低聚物的聚合网络

用光照或其他方法使低聚物或预聚体进一步聚合而形成聚合物网络,如光交联树脂包埋法。最常用的光交联树脂的预聚体是聚乙二醇或聚丙三醇的衍生物。

(3) 前体物为长链预聚物的聚合网络

使高分子物质从可溶态转化为不溶态来实现固定化。根据采用的不溶化手段,该法又可分为四类:

①沉淀 网络的形成不需要化学反应,而是由聚合物混合液与沉淀剂混合后发生相分离来实现固定化,如用三醋酸纤维素作载体物质的固定化方法。

②凝胶化 通过物理方法(如冷却)或化学方法(如离子移位、化学反应)使可溶性高分子化合物不溶化,从而实现对生物催化剂的固定化,这类高分子物质包括海藻酸钠、卡拉胶、琼脂、聚乙烯醇等。

③聚电解质复合 由一种多元强酸聚电解质和一种多元强碱聚电解质通过静电作用结合成聚电解质复合物来形成网络,常用的聚电解质有 KPVS(碱性)、PDDA(碱性)、TGCI(酸性)等。

④共价交联 利用引入了功能基的聚合物相互化学交联或它们与低相对分子质量功能基试剂化学交联形成聚合网络来实现固定化。例如,在主链上引入了侧巯基的 PVA,在氧存在时,链与链之间以 S—S 共价键进行交联、骨胶原与戊二醛的交联等。

2. 微胶囊固定化法

微胶囊固定化法是指通过乳化作用(emulsification)将生物催化剂包埋在各种

多聚物制成的半透性微胶囊内的方法。

四、系统截留法

系统截留法利用各种半透膜(如渗析膜、超滤膜、反渗透膜、中空纤维膜等)将生物催化剂以可溶形式限定在一定的空间范围内,或将过滤、离心、沉淀后的生物催化剂返回到生物反应器中循环使用。其中,中空纤维膜(hollow fiber membrane)生化反应器最有实用价值。

第四节 生物催化剂固定化机理

由上述可以看出,生物催化剂与载体结合制备固定化生物催化剂时,生物催化剂与载体相互作用的机理可能有以下几种:

- (1) 带电荷酶或细胞和带电荷的载体之间的静电相互作用。
- (2) 细胞表面的氨基($-\text{NH}_2$)和羧基($-\text{COOH}$)与载体表面上的反应基团之间形成离子键。
- (3) 细胞表面的氨基或羧基和载体表面上的羟基等形成部分共价键。
- (4) 包埋载体的孔径比生物催化剂更小,因而将生物催化剂保留在载体内,同时,底物可以进去,反应产物可以出来。
- (5) 细胞表面的基团和载体上经化学修饰而特意接枝上去的基团之间形成共价键。

第五节 生物催化剂固定化方法的比较

尽管固定化方法多种多样,但没有一种理想的、普遍适用的方法。化学固定化法(包括化学交联法和共价结合法)涉及细胞的化学修饰,但化学试剂的毒性对细胞会有损害,因此,不适用于制备固定化活细胞。但由于细胞与细胞或细胞与载体间的结合力强,所以操作稳定性高。交联法和聚电解质复合包埋法的突出优点是可以获得很高的细胞密度,但由于缺乏良好的机械强度而不能得到广泛应用。载体结合法(除共价结合法外)的固定操作简单,条件温和,且载体可以再生;但细胞与载体之间的结合力较弱,因此,操作稳定性不好。微胶囊法的条件温和,且具有可逆性,但微胶囊较脆,因而难以在实际中获得应用(但可用于医疗诊断和化学分析)。半透膜法(包括膜包埋和膜分隔法)集反应和分离于一体,膜表面较大,又具有选择性,因而具有很大潜力;但膜的性质、膜反应器的设计与操作运行方面还存在许多问题。包埋法有较好的综合性能,催化活性保留和存活力都较高,且包埋体