催化学报
2011 Chinese Journal of Catalysis Vol. 32 No. 10

文章编号: 0253-9837(2011)10-1639-06 DOI: 10.3724/SP.J.1088.2011.10601 研究论文: 1639~1644

非水相中微生物脂肪酶催化转酯化拆分 (*R*,*S*)-α-苯乙醇

秦丽娜, 喻晓蔚*, 徐 岩*

江南大学生物工程学院工业生物技术教育部重点实验室, 江苏无锡 214122

摘要: 研究了非水有机溶剂体系中脂肪酶不对称转酯化拆分 (*R*,*S*)-α-苯乙醇反应, 比较了 15 种不同微生物来源的脂肪酶, 从中优选出催化活性及对映选择性较高的脂肪酶 Lipase PS, 系统考察了影响该酶催化不对称转酯化反应的关键因素, 获得了优化的催化拆分工艺条件. 结果表明, 脂肪酶 Lipase PS 在非水反应体系中, 以正己烷为反应介质, 初始水活度为 0.75, 底物苯乙醇和乙酸乙烯酯浓度分别为 0.3 和 0.6 mol/L, 加酶量 5 mg/ml, 35 °C, 200 r/min, 反应 14 h 后, 底物 (*R*,*S*)-α-苯乙醇的转化率达 44.7%, 产物 (*R*)-乙酸苯乙酯的光学纯度达 98.6%. 水活度可影响酶对底物的转化率和对映选择性.

关键词: 脂肪酶; 转酯化; (*R*,*S*)-α-苯乙醇; 对映选择性; 水活度; (*R*)-乙酸苯乙酯

中图分类号: O643/Q814 **文献标识码**: A

收稿日期: 2011-06-01. 接受日期: 2011-07-31.

*通讯联系人. 电话: (0510)85918201; 传真: (0510)85864112; 电子信箱: biosean@yahoo.com.cn, bioyuxw@yahoo.com.cn

基金来源: 国家自然科学基金 (20802027); 国家高技术研究发展计划 (863 计划, 2010AA101501); 国家重点基础研究发展计划 (973 计划, 2011CB710800); 中央高校基本科研业务费专项资金 (JUSRP11014); .

Asymmetric Transesterification Resolution of (*R*,*S*)-α-Phenylethanol in a Non-aqueous Medium by Microbial Lipase

QIN Lina, YU Xiaowei*, XU Yan*

Key Laboratory of Industrial Biotechnology of the Ministry of Education, School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China

Abstract: By utilizing lipases that come from different microorganisms as catalyst, vinyl acetate as acyl donor, the asymmetric transesterification resolution of (*R*,*S*)-α-phenylethanol in non-aqueous media was conducted. Among the 15 enzymes investigated, lipase PS from *Burkholderia cepacia* showed higher activity and enantioselectivity. The effects of substrate concentration, reaction medium, enzyme dosage, reaction time, temperature, and water activity on the reaction were investigated. The results indicated that the optimal reaction conditions were as follows. The reaction was carried out with 5 mg/ml lipase PS, 0.3 mol/L (*R*,*S*)-α-phenylethanol, and 0.6 mol/L vinyl acetate in hexane. The mixture was then shaken under 35 °C and 200 r/min with the initial water activity of 0.75 for 14 h. Under the optimal conditions, the substrate conversion could reach 44.7% with 98.6% ee of (*R*)-phenylethyl acetate. Water activity was found to be an important factor to the product enantioselectivity and substrate conversion.

Key words: lipase; transesterification; (*R*,*S*)-α-phenylethanol; enantioselectivity; water activity; (*R*)-phenylethyl acetate

Received 1 June 2011. Accepted 31 July 2011.

**Corresponding author. Tel: +86-510-85918201; Fax: +86-510-85864112; E-mail: biosean@yahoo.com.cn, bioyuxw@yahoo.com.cn*

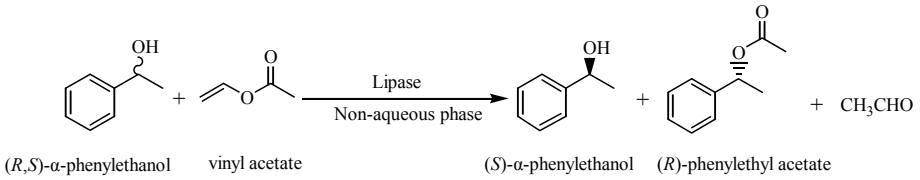
This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (20802027), the National High Technology Research and Development Program of China (863 Program, 2010AA101501), the National Basic Research Program of China (973 Program, 2011CB710800), and the Fundamental Research Funds for the Central Universities (JUSRP11014).

光学纯的 α-苯乙醇衍生物是一类重要的手性模块, 常用作医药、精细化学品、天然产品等的合成中间体[1,2]. 其 *R* 和 *S* 两种对映异构体各有不同的应用价值, (*R*)-α-苯乙醇作为香料被大量用于化妆品行业中, 还可应用于溶剂变色染料、眼科防腐剂、胆固醇肠道吸收抑制剂等[3,4]; (*S*)-α-苯乙醇常用作许多

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

药物的合成前体, 如免疫增强剂左旋咪唑、治疗哮喘的药物 (*S*)-异丙肾上腺素、抗抑郁药物取舍林等[5]. 因此它的拆分备受关注. 目前, α-苯乙醇的单一对映体可通过不对称合成、化学拆分和酶法拆分等制得. 其中酶催化动力学拆分具有规模易放大, 环境友好, 产品符合绿色、安全等食品级要求等优点, 因而广受重视[6].

微生物脂肪酶是一种多功能的生物催化剂, 在反应中不需要辅助因子, 多数可作用于非天然底物, 立体选择性方面表现出多样性, 因而在有机合成领域占有重要的位置[7]; 而不同来源的脂肪酶的用途及作用机制存在很大差异[8]. 其中霉菌脂肪酶多数具有高度的 1,3-位专一选择性, 常用于油脂加工, 以提高油脂质量. Yasuda 等[9]采用根霉脂肪酶进行辛酸甲酯、月桂酸甲酯和棕榈酸甲酯等水解反应, 取得较好的效果. Khare 等[10]利用固定化根霉脂肪酶, 通过酯交换反应对豆油进行改良, 提高了豆油的营养价值. 酵母及细菌脂肪酶在手性拆分中应用较多. 文献[11,12]利用来自酵母的脂肪酶进行酯的合成及水解反应, 得到高光学纯度的产物; Tomic 等[13]研究了来自细菌的脂肪酶对二级醇及其酯拆分立体选择性的影响. 因此, 酶源是目前生物催化研究的重点, 找到最适酶源的脂肪酶是手性醇拆分的关键. 本文旨在研究不同来源的脂肪酶对 α-苯乙醇立体选择性的影响, 采用 15 种不同微生物来源的脂肪酶在转酯化拆分 (反应原理见图式 1) 体系中进行了考察, 优选最适脂肪酶, 建立最优拆分工艺, 得到高光学纯度的产物.



(*R*,*S*)-α-phenylethanol vinyl acetate (*S*)-α-phenylethanol (*R*)-phenylethyl acetate

图式 1 脂肪酶催化转酯化拆分 (*R*,*S*)-α-苯乙醇

Scheme 1. Lipase-catalyzed transesterification resolution of (*R*,*S*)-α-phenylethanol.

目前, 多数手性拆分 α-苯乙醇的研究采用来源于动物及微生物的脂肪酶. Suan 等[3]利用来自假单胞菌及南极假丝酵母的固定化脂肪酶在填充床反应器中酯化拆分 α-苯乙醇, 经体系优化后底物的 ee 值达 96%. 严祥辉等[14]通过壳聚糖修饰的 MCM-48 固定的假单胞菌脂肪酶转酯化拆分 α-苯乙醇, 在最佳体系中产物的 ee 值高于 98%. 文献[2,4,15]利用脂肪酶在不同离子液中转酯化拆分 α-苯乙醇, 产物的 ee 值均达 99%; 但离子液体比较昂贵, 难以大规模应用. 本文利用脂肪酶在有机相中进行手性拆分, 比离子液体系更经济; 另外, 水分是酶维持高活性所必须的. 因此, 本文考察了水活度对于脂肪酶在催化拆分 α-苯乙醇中的影响, 旨在控制水活度以提高脂肪酶对底物的特异性选择.

1 实验部分

1.1 脂肪酶及试剂

(*R*,*S*)-α-苯乙醇购于上海百灵威科技有限公司. (*S*)-α-苯乙醇等标准品 (色谱纯) 均购于 Sigma 公司. 其它试剂 (分析纯) 购于中国医药集团上海公司. 使用的商品化脂肪酶如下: Lipase A “Amano” 6 来源于黑曲霉 (*Aspergillus niger*), 酶活力 395.8 U/mg; Lipase R 来源于青霉 (*Penicillium*), 酶活力 118.7 U/mg; Newlase F 3G 来源于根霉 (*Rhizopus sp*), 酶活力 20.8 U/mg; Lipase PS 来源于布克氏菌 (*Burkholderia cepacia*), 酶活力 8562.5 U/mg; Lipase F-Ap 15 来源于爪哇曲霉 (*Aspergillus javanicus*), 酶活力 229.2 U/mg; Lipase G 来源于青霉 (*Penicillium camemberti*), 酶活力 83.3 U/mg; Lipase AY 来源于皱褶假丝酵母 (*Candida rugosa*), 酶活力 312.5 U/mg. 以上几种脂肪酶购自 Amano Pharmaceutical 公司. Lipozyme TL IM 来源于柱状假丝酵母 (*Candida cylindracea*), 酶活力 3208.3 U/mg; Lipozyme RM IM 为固定化的米黑根毛霉 (*Rhizomucor miehei*) , 酶活力 1833.3 U/mg; Novozym 435 来源于南极假丝酵母 (*Candida antarctica*), 酶活力 7375 U/mg; Lipopan F BG 来源于 *Fusarium oxysporum*, 酶活力 187.5 U/mg; Lipopan S BG 来源于米曲霉 (*Aspergillus oryzae*), 酶活力 20.8 U/mg. 以上几种脂肪酶购自 Novo Nordisk 公司. Lipase A 来源于南极假丝

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

酵母, 酶活力 2562.5 U/mg, 购自 Fluka 公司; CCl 来源于假丝酵母, 酶活力 1270.8 U/mg, 购自 Sigma 公司; RCL 为实验室自制华根霉脂肪酶 (*Rhizopus chinensis)*, 酶活力 1229.2 U/mg.

酯化活力是指一定温度下每分钟消耗 1 μmol 的 α-苯乙醇所需的酶量.

1.2 脂肪酶催化转酯化拆分 α-苯乙醇反应

催化转酯化反应在具塞反应瓶中进行. 加入 10 ml 预脱水的有机介质及一定浓度的苯乙醇和乙酸乙烯酯, 添加适量的微生物脂肪酶, 在 200 r/min 的恒温摇床中反应一定时间. 每个条件下进行 3 次平行实验.

反应结束后, 取适量的反应液于离心管中, 于 4 °C 和 12000 r/min 条件下离心 5 min, 取上层清液除水, 过 0.45 μm 的微孔滤膜, 用戴安 P 680 型高效液相色谱仪检测, 手性柱 Chiralcel OD-H, 250 mm × 4.6 mm, 流动相 *V*(正己烷):*V*(异丙醇) = 90:10, 流速 0.4 ml/min, 检测波长 254 nm, 温度 16 °C. 底物 α-苯乙醇的 *R* 型及 *S* 型对映体的保留时间分别为 16.5 和 18.6 min, 产物酯的 *R* 型及 *S* 型对映体的出峰时间分别为 12.5 和 14.9 min.

底物转化率 $X = (C_0–C_1)/C_0$; (*R*)-乙酸苯乙酯的 $ee_p = (C_R–C_S)/(C_R+C_S)$; (*S*)-α-苯乙醇的 $ee_s = (C_S–C_R)/(C_S+C_R)$. 其中 C_0 及 C_1 分别代表反应前后底物醇的浓度, C_R 和 C_S 分别为转化后醇或酯 (*R*)-, (*S*)-异构体的浓度, ee_s 和 ee_p 分别为底物 (*S*)-α-苯乙醇和产物 (*R*)-乙酸苯乙酯的对映体过量值.

2 结果与讨论

2.1 微生物脂肪酶的优选

本文选择了 15 种分别来源于细菌、霉菌和酵母等具有一定酯化能力的脂肪酶, 考察它们催化转酯化拆分 α-苯乙醇的效果. 通过添加适量的脂肪酶, 分别在各酶较适条件下, 以正己烷为溶剂, 进行 α-苯乙醇的转酯化反应. 待底物充分反应后, 检测各脂肪酶催化产物的 ee_p, 选择催化 α-苯乙醇转酯化反应的最适脂肪酶, 结果列于表 1. 由表可见, 所有脂肪酶对 α-苯乙醇的转酯化都具有一定的活性. 但是, 除 Lipase PS 和 Novozym 435 外, 其他脂肪酶对该底物的拆分效果都不够理想. Lipase PS 和 Novozym 435 两种酶对 α-苯乙醇的立体选择性及转化率均较高, ee_p 均高于 90%, 其中前者的立体选择性略高. 其它 13 种酶在有机相中进行手性物质的酯化拆分反应也见诸报道, 但催化拆分该底物时效果较差[16]. 因 Lipase PS 对 α-苯乙醇手性拆分的立体选择性最高, 因此下文均以 Lipase PS 为催化剂进行实验.

优化反应条件以获得高光学纯度的 α-苯乙醇是常用的方法, 但影响脂肪酶选择性的因素很多, 如底物浓度、溶剂、酰基供体的比例、加酶量、时间、

表 1 不同脂肪酶催化转酯化拆分 α-苯乙醇的拆分效果

Table 1 Kinetic resolution of α-phenylethanol by transesterification reaction with different lipases

Enzyme	Source	ee_p (%)	Conversion (%)	Stereoselectivity
Lipase A “Amano”6 (pH 6.0, 40 °C)	*Aspergillus niger*	43.4	1.9	*R*
Lipase R (pH 7.0, 30 °C)	*Penicillium*	69.9	0.7	*R*
Newlase F 3G (pH 7.0, 40 °C)	*Rhizopus sp*	15.3	0.1	*R*
Lipase PS (pH 7.0, 50 °C)	*Burkholderia cepacia*	97.1	42.4	*R*
Lipase F-Ap 15 (pH 6.5, 40 °C)	*Aspergillus javanicus*	17.2	1.1	*R*
Lipase G (pH 5.6, 40 °C)	*Penicillium camemberti*	–12.4	0.4	*S*
Lipase AY (pH 7.0, 45 °C)	*Candida rugosa*	15.9	1.9	*R*
Lipozyme TL IM (pH 7.0, 40 °C)	*Candida cylindracea*	84.4	15.4	*R*
Lipozyme RM IM (pH 7.0, 40 °C)	*Rhizomucor miehei*	78.2	8.8	*R*
Novozym 435 (pH 7.0, 60 °C)	*Candida antarctica*	93.3	45.4	*R*
Lipopan F BG (pH 7.0, 40 °C)	*fusarium oxysporum*	19.5	0.9	*R*
Lipopan S BG (pH 7.0, 40 °C)	*Aspergillus oryzae*	24.7	0.1	*R*
Lipase A (pH 7.4, 40 °C)	*Candida antarctica*	78.1	12.3	*R*
CCl (pH 7.2, 40 °C)	*Candida cylindracea*	–93.8	6.1	*S*
RCL (pH 8.0, 40 °C)	*Rhizopus chinensis*	28.7	5.9	*R*

Reaction conditions: (*R*,*S*)-α-phenylethanol 0.3 mol/L, vinyl acetate 0.6 mol/L, solvent hexane, lipase 10 mg/ml, rotation speed 200 r/min, 24 h.
ee_p— ee value of (*R*)-phenylethyl acetate (product).

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

温度、水活度等. 本文考察了上述因素对脂肪酶催化转酯化拆分 α-苯乙醇的影响.

2.2 溶剂对 Lipase PS 酶转酯化反应的影响

非水相生物催化拆分反应体系中, 溶剂对反应速率及立体选择性具有很大的影响. 对于这类催化拆分反应而言, 疏水性强的溶剂, 拆分反应的效果较好. 这主要是由于疏水性溶剂可以维持酶分子周围的水, 而酶分子的结合水是其维持结构并保持生理活性的基础. 本文根据 log*P* 值由低到高 (log*P* 值越大疏水性越强), 分别选取乙酸乙酯、二氯甲烷、三氯甲烷、正己烷、正庚烷和乙酸乙烯酯等 6 种有机溶剂, 考察了 Lipase PS 酶对底物 α-苯乙醇拆分的立体选择性, 结果列于表 2. 可以看出, 以正己烷、正庚烷和乙酸乙烯酯为溶剂时, 底物转化率较高. 其中在正己烷中时底物 ee 值较高. 因此, 下文均以正己烷作为反应介质.

表 2 Lipase PS 作用下不同有机溶剂对 α-苯乙醇转酯化的影响

Table 2 Transesterification of α-phenylethanol catalyzed by lipase PS in different solvents

Solvent	log*P*	Conversion (%)	ee_s (%)	Stereoselectivity
Ethyl acetate	0.68	29.8	36.1	*R*
Dichloromethane	1.25	42.4	64.6	*R*
Trichloromethane	2.0	39.9	58.7	*R*
n-Hexane	3.5	45.6	72.6	*R*
n-Heptane	4.0	46.7	70.9	*R*
Vinyl acetate	—	45.9	63.4	*R*

Reaction conditions: (*R*,*S*)-α-phenylethanol 0.3 mol/L, vinyl acetate 0.6 mol/L, lipase PS 10 mg/ ml, rotation speed 200 r/min, 37 °C, 24 h.

2.3 酰基供体与底物摩尔比对拆分反应的影响

对于该转酯化反应而言, 酰基供体的浓度直接影响酶催化反应的平衡. 因此, 考察了乙酸乙烯酯与苯乙醇的摩尔比对脂肪酶催化转酯化的影响, 结果示于图 1. 由图可见, 随着酰基供体比例的提高, 底物转化率和 ee_s 值先升后降. 这可能是由于随着酰基供体比例的提高, 反应平衡向正方向进行; 但过高的比例引起底物抑制且降低了反应速率, 导致转化率和 ee_s 值下降. 这与文献[1]中脂肪酶在超临界中催化转酯化拆分 α-苯乙醇的变化趋势一致.

2.4 酶浓度对拆分反应的影响

增加酶的用量可以缩短相同转化率下所需要的反应时间, 但同时会增加工艺的成本. 因此需要确定合适的酶浓度. 图 2 为 Lipase PS 浓度对 α-苯乙醇拆分反应的影响. 由图可见, 在一定的酶量范围内, α-苯乙醇转化率和立体选择性随酶量的增加而显著提高; 当达到一定酶浓度 (约 5.0 mg/ml) 时, 底物的立体选择性和转化率基本不变. 因为酶浓度的变化不会影响反应终点, 即足够的反应时间也可达到终点; 但过多的酶浓度可能造成体系的扩散限制, 因此继续增加酶浓度, 不会使底物及产物的立体选择性继续升高. 由此可知, 对于 0.3 mol/L α-苯乙醇的反应体系中, 5 mg/ml 的酶浓度较为合适.

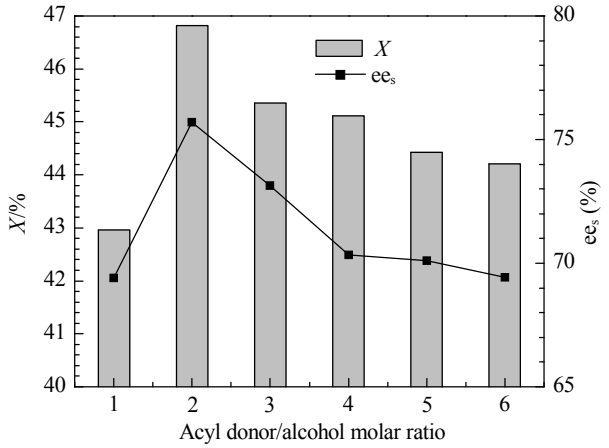


图 1 酰基供体与底物的摩尔比对拆分反应的影响

Fig. 1. Influence of acyl donor/alcohol molar ratio on transesterification resolution of α-phenylethanol. Reaction conditions: (*R*,*S*)-α-phenylethanol 0.3 mol/L, solvent hexane, lipase PS 10 mg/ml, rotation speed 200 r/min, 37 °C, 24 h. ee_s—ee value of (*S*)-α-phenylethanol (substrate).

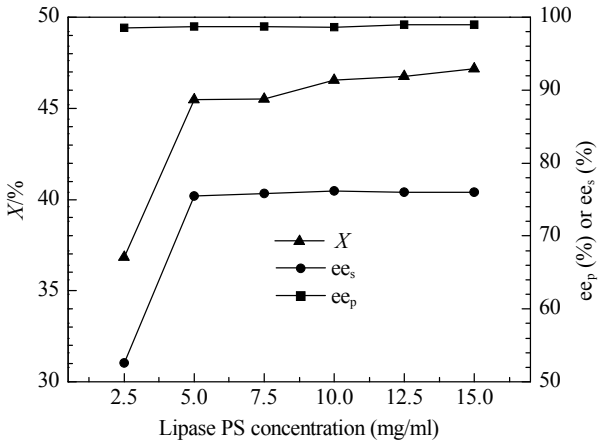


图 2 酶浓度对 α-苯乙醇拆分反应的影响

Fig. 2. Effects of enzyme concentration on transesterification resolution of α-phenylethanol. Reaction conditions: (*R*,*S*)-α-phenylethanol 0.3 mol/L, vinyl acetate 0.6 mol/L, solvent hexane, rotation speed 200 r/min, 37 °C, 24 h.

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.5 Lipase PS 酶拆分 α-苯乙醇的过程曲线

在上述优化条件下测量了 α-苯乙醇的反应过程曲线, 结果示于图 3. 可以看出, 反应 14 h 后, α-苯乙醇转化率和 ee_s 值增加缓慢, 趋于恒定 (分别可达 44.2% 和 97.8%). 最佳的拆分反应时间为 14 h. 因此, 利用 Lipase PS 催化的不对称转酯化拆分混旋苯乙醇可获得高光学纯度的 (*R*)-乙酸苯乙酯, 再经水解可得到 *R*-苯乙醇.

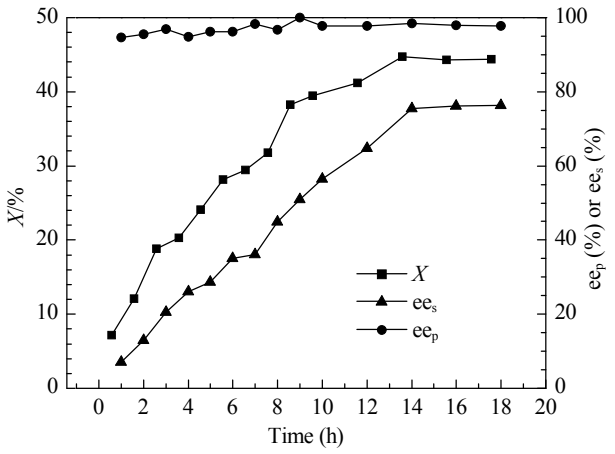


图 3 α-苯乙醇的反应过程曲线

Fig. 3. Reaction curves of transesterification resolution of α-phenylethanol. Reaction conditions: (*R*,*S*)-α-phenylethanol 0.3 mol/L, vinyl acetate 0.6 mol/L, solvent hexane, lipase PS 5 mg/ml, rotation speed 200 r/min, 37 °C.

2.6 温度对拆分反应的影响

在生物催化的立体化学反应中, 温度对反应选择性的影响很大[17]. 本文进一步考察了温度对 Lipase PS 酶转酯化拆分 α-苯乙醇反应的影响, 结果示于图 4. 可以看出, 随着温度的升高, 底物的转化率和立体选择性逐渐提高, 至 35 °C 时分别达最高; 但当温度高于 40 °C 后, 二者均逐渐降低. 这可能是由于高温使酶的结构变得柔韧, 活性降低所致. 可见温度直接影响了酶催化反应的对映选择性, 适宜的温度有利于保持酶的选择性[17]. 在 35 °C 进行拆分反应比较适宜.

2.7 水活度对拆分反应的影响

在非水相酶催化拆分反应中, 微生物脂肪酶需要一定量的结合水以维持其活性构象, 保持催化活性. 文献[18~20]研究了不同初始水活度条件下多种脂肪酶催化酯合成反应, 发现不同来源的脂肪酶催化所需的最适水活度不同. Han 等[21]通过水合盐来

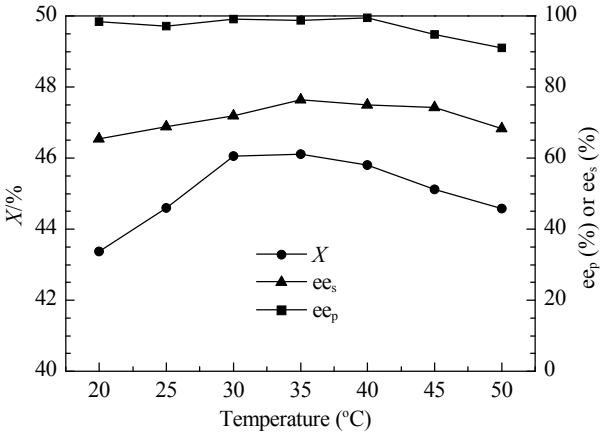


图 4 温度对转酯化拆分 α-苯乙醇反应的影响

Fig. 4. Effects of temperature on transesterification resolution of α-phenylethanol. Reaction conditions: (*R*,*S*)-α-phenylethanol 0.3 mol/L, vinyl acetate 0.6 mol/L, solvent hexane, lipase PS 5 mg/ml, rotation speed 200 r/min, 14 h.

控制体系含水量以合成不同种类的溶血磷脂, 发现如果不控制体系水活度的大小, 很难得到产物溶血磷脂酰乙醇胺. 由此可知, 水活度在脂肪酶催化拆分反应中具有重要的作用. 本文采用饱和盐溶液预平衡的方法控制脂肪酶、反应底物及介质的初始水活度[19], 并在上述优化拆分条件下, 考察了催化拆分 α-苯乙醇的反应效果, 结果列于表 3. 由表可见, 随着水活度的提高, 底物转化率和 ee 值呈上升趋势; 当其达到一定值而继续增加时, 底物转化率和立体选择性降低. 这可能是由于当反应体系中含有的水分子太少时, 酶分子具有较强的刚性构象, 故在催化拆分反应中表现出较低的催化活性和立体选择性; 而当体系中的含水量达到一定量时, 酶分子可获得足够的水来维持酶分子催化所需的最适柔性状态, 故其催化能力乃至底物的立体选择性提高; 但进一步增加水活度时, 过多的水使酶分子的构象变得过

表 3 水活度对脂肪酶催化拆分反应的影响

Table 3 Effects of initial water activity (α_w) on transesterification resolution of α-phenylethanol

α_w	Saturated salt solution	*X*/%	ee_p (%)	ee_s (%)
0.11	LiCl	39.4	94.2	62.8
0.33	$MgCl_2$	42.7	95.7	72.6
0.53	$Mg(NO_3)_2$	42.8	94.3	72.3
0.75	NaCl	44.7	98.6	80.1
0.86	KCl	42.5	90.3	68.2
0.97	K_2SO_4	36.9	96.7	56.8

Reaction conditions: (*R*,*S*)-α-phenylethanol 0.3 mol/L, vinyl acetate 0.6 mol/L, solvent hexane, lipase PS 5 mg/ml, rotation speed 200 r/min, 35 °C, 14 h.

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

于柔性, 其立体选择性反而降低. 还可以看出, NaCl 饱和盐溶液 (α_w = 0.75) 处理后的反应体系中, 脂肪酶催化转酯化合成乙酸苯乙酯的收率较高, 底物的转化率和产物的 ee 值分别达 44.7% 和 98.6%.

2.8 底物浓度对拆分反应的影响

根据米氏方程可知, 底物浓度较低时, 反应速率与底物浓度成正比, 不存在底物抑制现象. 当底物浓度达到一定程度时, 反应速率将不随底物浓度的提高再加快, 而存在最适底物浓度. 本文在上述优化反应条件下, 考察了 α-苯乙醇浓度对反应的影响, 结果示于图 5. 可以看出, 当底物浓度低于 0.3 mol/L 时, 底物转化率随着其浓度的增加而略有下降; 进一步增加底物浓度, 底物转化率和 ee 值快速下降. 这可能是高浓度的底物影响了酶的对映选择性反应, 反而促进非对映选择性反应[22]. 因此 α-苯乙醇的最适浓度为 0.3 mol/L, 此时产物的 ee 值达 98.6%.

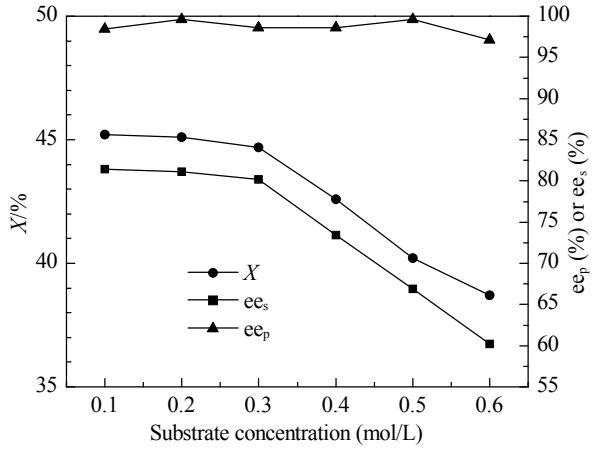


图 5 α-苯乙醇浓度对反应的影响

Fig. 5. Effect of α-phenylethanol concentration on the reaction. Reaction conditions: solvent hexane, lipase PS 5 mg/ml, rotation speed 200 r/min, 35 °C, α_w = 0.75, 14 h.

3 结论

通过筛选不同来源的微生物脂肪酶催化转酯化拆分 α-苯乙醇, 证明在非水相中, 来自布克氏菌的脂肪酶 PS 对 α-苯乙醇具有较高的立体选择性, 催化拆分 α-苯乙醇, 可获得具有较高 ee 值的产物. 反应中水活度的控制能促进催化效率及酶的立体选择性, 因为适当的水分子可使酶分子的结构处于催化的最适状态, 发挥其最大催化特性.

参 考 文 献

1 Fessner W D, Anthonsen T. Modern Biocatalysis. Darmstadt: Wiley-VCH Press, 2009. 109
2 单海霞, 陆杨, 李在均, 李明, 陶丽华, 党渭铭. 化学学报 (Shan H X, Lu Y, Li Z J, Li M, Tao L H, Dang W M. *Acta Chim Sin*), 2010, **68**: 1010
3 Suan C L, Sarmidi M R. *J Mol Catal B*, 2004, **28**: 111
4 Shah S, Gupta M N. *Bioorg Med Chem Lett*, 2007, **17**: 921
5 帕特尔. 立体选择性生物催化. 方唯硕 译. 北京: 化学工业出版社 (Patel R N. Stereoselective Biocatalysis. Fang W Sh transl. Beijing: Chem Ind Press), 2004. 328
6 Heinsman N W J T, Franssen M C R, Van der Padt A, Boom R M, Van't Riet K, De Groot A. *Biocatal Biotransform*, 2002, **20**: 297
7 Ghanem A, Aboul-Enein H Y. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2004, **15**: 3331
8 Houde A, Kademi ALeblanc D. *Appl Biochem Biotechnol*, 2004, **118**: 155
9 Yasuda M, Ogina H, Kiguchi T, Kotani T, Takakura S, Ishibashi T, Nakashima T, Fukuda H, Ishikawa H. *J Biosci Bioeng*, 1999, **88**: 571
10 Khare S K, Nakajima M . *Food Chem*, 2000, **68**: 153
11 Zhang H, Onal G, Wijesundera C, Xu X. *Process Biochem*, 2009, **44**: 534
12 王普, 祝加男, 何军邀. 催化学报 (Wang P, Zhu J N, He J Y. *Chin J Catal*), 2010, **31**: 651
13 Tomic S, Bertoša B, Kojic-Prodic B, Kolosvary I. *Tetrahedron: Asymmetry*, 2004, **15**: 1163
14 严祥辉, 薛屏. 宁夏大学学报 (自然科学版)(Yan X H, Xue P. *J Ningxia Univ* (*Nat Sci Ed*)), 2009, **30**(1): 50
15 Habulin M, Knez Z. *J Mol Catal B*, 2009, **58**: 24
16 李小路, 王栋, 徐岩, 耿亚维, 陈聪, 王楠. 催化学报 (Li X L, Wang D, Xu Y, Geng Y W, Chen C, Wang N. *Chin J Catal*), 2009, **30**: 951
17 Vander Padt A, Sewalt J J W, Ágoston S M I, Van't Riet K. *Enzyme Microb Technol*, 1992, **14**: 805
18 Valivety R H, Hailing P J, Peilow A D, Macrae A R. *Biochim Biophys Acta*, 1992, **1122**: 143
19 Chowdary G V, Prapulla S G. *Process Biochem*, 2002, **38**: 393
20 Ma L, Persson M, Adlercreutz P. *Enzyme Microb Technol*, 2002, **31**: 1024
21 Han J J, Rhee J S. *Enzyme Microb Technol*, 1998, **22**: 158
22 张媛媛, 宗敏华, 娄文勇, 林颖敏, 吴虹. 催化学报 (Zhang Y Y, Zong M H, Lou W Y, Lin Y M, Wu H. *Chin J Catal*), 2005, **26**: 106

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net