

科研与开发

固定化 *E. Coli* JM109(pBR322-MAT) 细胞 催化合成 S-腺苷蛋氨酸

牛卫宁, 左晓佳, 尚晓娅, 丁焰, 钦传光
(西北工业大学生命科学院, 陕西 西安 710072)

摘要:通过 PCR 从大肠杆菌 (*E. Coli*-K12) 基因组 DNA 中扩增出甲硫氨酸腺苷转移酶 (MAT) 基因, 构建了能高效表达 MAT 的重组大肠杆菌 *E. Coli* JM109(pBR322-MAT)。选择海藻酸钙 (CA) 凝胶包埋固定化重组大肠杆菌, 研究发现最佳 $\rho(\text{CA})$ 为 20 g/L 的水溶液, 最适细胞包埋量为 0.15 g(湿细胞)/mL(凝胶), 连续反应 5 批次后固定化细胞酶活力为初始最高酶活力的 91%。对于固定化细胞催化合成 SAM, 在最佳条件下底物 ATP 的转化率超过 95%。

关键词:固定化细胞; S-腺苷蛋氨酸; 重组细胞; 大肠杆菌; 全细胞催化

中图分类号: TQ426.97

文献标识码: A

文章编号: 0253-4320(2009)03-0038-04

Biosynthesis of S-adenosylmethionine by immobilized whole cell of *E. Coli* JM109 (pBR322-MAT)

NIU Wei-ning, ZUO Xiao-jia, SHANG Xiao-ya, DING Yan, QIN Chuan-guang
(Faculty of Life Science, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072, China)

Abstract: The methionine adenosyltransferase (MAT) gene is cloned from the genome of *E. Coli*-K12, and the recombinant *E. Coli* JM109(pBR322-MAT) strain which can highly express MAT is constructed. The whole cells of *E. Coli* JM109 (pBR322-MAT) are immobilized in Ca-alginate (CA) gel. The optimal mass concentration of CA is 20 g/L and the optimal cell loading by direct entrapment is 0.15 g of wet weight cells per mL gel. After 5 batches of reaction, the enzyme activity decreases to 91% of the initial. For the biosynthesis of S-adenosylmethionine by immobilized cell, the conversion rate based on the amount of ATP can be over 95% under the optimal conditions.

Key words: immobilized cell; S-adenosylmethionine; recombinant cell; *Escherichia coli*; whole-cell catalyst

S-腺苷蛋氨酸 (SAM) 广泛存在于生物体活细胞内^[1], 已作为药物和保健品广泛使用^[2-3]。目前 SAM 的工业化生产方法主要有微生物发酵法以及体外酶促转化法^[4-7]。发酵法存在着生产周期长、底物转化率低、纯化工艺复杂以及能耗高等缺点。体外酶促转化法克服了发酵法的不足, 同时生产成本较低, 因而是较为有效的工业化生产方法。国内已具备酶法生产的能力, 但是体外酶促转化法存在酶活性低、酶分离纯化烦琐以及酶活性损失较大等问题^[8-9]。笔者所在实验室建立了固定化细胞催化合成 SAM 的方法, 并且申请了专利^[10]。笔者构建了高效表达 MAT 的重组大肠杆菌 *E. Coli* JM109 (pBR322-MAT), 使用海藻酸钙凝胶为固定化细胞包

埋材料, 并对多种影响因素进行了优化考察。

1 实验部分

1.1 主要材料和试剂

大肠杆菌 *E. Coli* K-12、*E. Coli* DH5 α 以及 *E. Coli* JM109 均为笔者所在实验室保存。质粒 pMD18-T 购于 TaKaRa 公司, 质粒 pBR322 购于 Promega 公司。

质粒 DNA 抽提试剂盒、基因组 DNA 提取试剂盒、DNA 胶回收试剂盒, 北京博大泰克公司; T₄ DNA 连接酶、Taq DNA 聚合酶和各种限制性内切酶, Takara 公司; SAM 标准品, Sigma 公司; 聚乙烯醇 (PVA) (1750 \pm 50), 上海生工生物工程技术有限公司。

收稿日期: 2008-11-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (20802057); 中国博士后科学基金项目 (20070411144); 西北工业大学青年科技创新基金 (W016212); 西北工业大学科技创新基金 (W016143)

作者简介: 牛卫宁 (1977-), 男, 博士, 讲师, 主要从事生物化工研究, 029-88491840, niuweiming@126.com; 钦传光 (1965-), 男, 博士, 教授, 主要从事药物化学研究, 通讯联系人, qinchg@nwpu.edu.cn。

公司;其他所有试剂均为分析纯。

1.2 菌体培养

大肠杆菌 *E. Coli* K-12、*E. Coli* DH5 α 以及 *E. Coli* JM109 分别于 LB 培养基(0.5% 酵母粉,1% 蛋白胨,1% 氯化钠;以上均为质量分数)中在 37℃ 和 180 r/min 下培养 8~12 h,离心备用。

重组大肠杆菌 *E. Coli* JM109(pBR322-MAT)在含有 15 μ g/mL 四环素的 LB 培养基中 30℃ 培养 12~16 h,使菌体生长达到稳定期,然后于 4℃ 和 6 000 r/min 离心 10 min,获得的菌体用 100 mmol/L Tris-HCl 缓冲液(pH 7.0)悬浮洗涤后,离心收获菌体备用。

1.3 重组菌 *E. Coli* JM109(pBR322-MAT)的构建

以大肠杆菌 *E. Coli* -K12 的基因组 DNA 为模板,通过 PCR 扩增获得 MAT 基因片段。上下游引物分别为 5'-CGCCGAGATGGGTATAACAT-3' 和 5'-TAATCTGCGGTGAAACGTGAT-3'。PCR 反应条件为:94℃ 变性 5 min;94℃ 60 s,57℃ 退火 45 s,72℃ 90 s,循环 35 次;72℃ 延伸 10 min。

将扩增的 MAT 基因片段连接到克隆载体 pMD18-T 上,得到质粒 pMD18-T-MAT。然后用 *Eco* RI 和 *Pst* I 双酶切质粒 pMD18-T-MAT 和 pBR322,连接酶切后的片段构建重组质粒 pBR322-MAT。将重组质粒转化到 *E. Coli* JM109 感受态细胞中,获得重组菌 *E. Coli* JM109(pBR322-MAT)。

1.4 固定化细胞的制备

聚乙烯醇(PVA)固定化细胞:配制 w (PVA) = 10% 的水溶液 10 mL,再加入 0.02 g 海藻酸钠充分溶解,然后与 3 g 重组大肠杆菌湿细胞混合均匀,使用 6 号针头注射器滴入 w (CaCl₂) = 2% 的饱和硼酸溶液中,边滴入边搅拌,在 4℃ 冰箱中固化 8 h, φ (甲苯) = 10% 的水溶液通透处理 1 h,清洗后备用。在 PVA-硼酸法包埋微生物细胞中添加少量海藻酸钙,不仅容易成球,还可防止粘连现象^[11]。

海藻酸钙(CA)固定化细胞:配制 w (海藻酸钠) = 2% 的水溶液 10 mL,然后与 2 g 的细胞混合均匀,使用 6 号针头注射器滴入 w (CaCl₂) = 2% 的水溶液中,4℃ 静置固化 4 h, φ (甲苯) = 10% 的水溶液通透处理 1 h,洗涤后备用^[12]。

明胶固定化细胞:将保温于 37℃ 的 w (明胶) = 10% 的水溶液 10 mL 与 3 g 重组大肠杆菌细胞混匀,铺成 2 mm 厚的膜,4℃ 冷却 2 h,切成 2 mm 左右的小块,加入 φ (戊二醛) = 0.5% 的水溶液交联 30 min, φ (甲苯) = 10% 的水溶液通透处理 1 h,洗涤后

备用^[13]。

1.5 酶活性测定

酶活性用高效液相色谱(HPLC)测定后计算,色谱条件为:色谱柱 Kromasil C18(5 μ m,4.6 \times 250 mm);检测波长 260 nm;流动相(在 900 mL 纯水中加入 40 mmol 乙酸钠和 50 mL 甲醇,使用乙酸溶液调 pH 4.6,定容至 1 L);流速 0.6 mL/min。酶活力单位定义为:在该反应条件下,37℃、1 min 催化形成 1 μ mol SAM 所需要的酶量为 1 个活力单位(U)。

1.6 固定化细胞催化合成 SAM

取 10 mL 固定化细胞加到 10 mL SAM 合成反应液(100 mmol/L Tris、100 mmol/L KCl、70 mmol/L MgSO₄、35 mmol/L *L*-Met、35 mmol/L ATP、0.8 mol/L 对甲基苯磺酸钠,pH 6.5)中,35℃ 200 r/min 反应 8 h,10 000 r/min 离心 15 min 收集上清液,HPLC 分析。

2 结果与讨论

2.1 甲硫氨酸腺苷转移酶的表达以及活性测定

PCR 扩增了长度为 1815 bp 的甲硫氨酸腺苷转移酶(MAT)基因片段,其中包括了 MAT 基因的启动子区和编码区。然后构建了组成型表达 MAT 的重组菌 *E. Coli* JM109(pBR322-MAT)。在 30℃ 条件下培养重组大肠杆菌至稳定期(12~16 h),MAT 酶活性测定结果表明重组菌的酶活性为 5.5 U/g 湿菌体,原始菌株 *E. Coli* K-12 的酶活性为 0.035 U/g 湿菌体,重组菌的酶活性比原始菌提高了 157 倍。而韦平等^[14]使用诱导型表达载体 pET11c 表达的大肠杆菌 MAT 酶活性仅为原始菌株的 7 倍。Markham 等^[15]构建了 MAT 酶活性比野生菌 *E. Coli* -K12 高 80 倍的重组大肠杆菌 EWH205/PCC27-37,但是重组菌 MAT 酶的表达量仅为 2 mg/g 湿细胞。

2.2 重组菌固定化条件的选择

研究发现游离大肠杆菌细胞催化合成 SAM 时细胞容易衰亡和裂解,难以重复利用。而固定化细胞虽然能够提高生物催化剂的稳定性,但固定化细胞的载体有可能降低生物催化剂的催化活性。不同固定化方法和载体的比较结果如表 1。

表 1 不同固定化方法对 MAT 酶活力的影响

固定化载体	凝胶质量浓度/g·L ⁻¹	凝胶包埋湿细胞量/g·L ⁻¹	MAT 酶活性回收率/%	5 批次后酶活力保留/%
聚乙烯醇	100	300	61	—
海藻酸钙	30	200	52	91
明胶	100	300	38	84

聚乙烯醇包埋细胞的酶活性回收率为 61%，但是其在反应过程中具有严重的溶胀现象，从第 2 批次开始就逐渐破损，最后形成胶状不溶物。利用海藻酸钙包埋法以及明胶-戊二醛交联法获得的固定化细胞均具有较好的稳定性，但是明胶-戊二醛交联法获得的固定化细胞的酶活性回收率仅为 38%，并且戊二醛容易被细胞氧化生成深黄色物质，带入产品中。故海藻酸钙包埋法是合适的选择。

以 10 mL 不同质量浓度的海藻酸钙 (CA) 包埋 2 g *E. Coli* JM109 (pBR322-MAT) 细胞，测定固定化细胞酶活力。由表 2 结果可知，当 $w(\text{CA}) = 2\%$ 时固定化细胞酶活力最高， $w(\text{CA})$ 超过 2% 时，固定化细胞的酶活力降低，这主要是由于包埋载体过多，包埋过于紧密，影响了产物以及底物的扩散，导致固定化细胞催化活力下降。

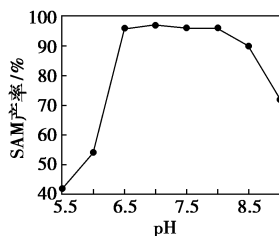
表 2 海藻酸钙质量浓度对固定化细胞活力的影响

CA 质量分数/%	1	1.5	2	2.5	3
相对酶活力/%	57	83	100	86	79

以 $w(\text{CA}) = 2\%$ 的海藻酸钙包埋不同量的大肠杆菌细胞，发现当重组大肠杆菌细胞质量浓度低于 150 g/L 时，酶活力随着细胞含量的增加而提高；当超过 150 g/L 时，随着细胞含量的增加反而降低了固定化细胞的催化活力，这主要是因为随着细胞量的增加，载体强度变弱，导致细胞泄露^[16]。因此 $w(\text{CA}) = 2\%$ 的海藻酸钙包埋的细胞质量浓度以 150 g/L 为宜。

2.3 固定化细胞催化合成 SAM

2.3.1 反应体系 pH 对固定化细胞催化合成 SAM 的影响



反应条件(10 mL): 35 mmol/L ATP, 35℃, 10 mL 固定化细胞, 200 r/min, 8 h

图 1 pH 对固定化细胞催化合成 SAM 的影响

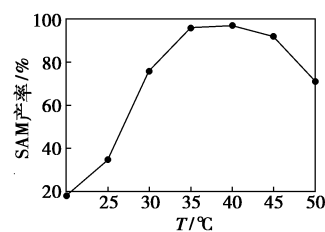
图 1 为 pH 对固定化细胞催化合成 SAM 反应的影响，研究表明当 pH 低于 6.0 时，MAT 酶活性较低，SAM 产率较低；随着 pH 的升高，SAM 的产率逐渐提高，当 pH 在 6.5~8.0 的范围内 SAM 产率均在

95% 以上；当 pH 高于 8.5 时，MAT 酶活性降低，并且产物 SAM 在碱性条件下不稳定，有一定程度的降解，导致 SAM 的产率下降。

固定化细胞催化合成 SAM 的 pH 稳定范围较宽，这可能是因为细胞外部包埋了一层固定化材料，加强了对细胞的保护而使其对环境的敏感性降低了，反应液 pH 的影响会大大减弱^[12]。考虑到 SAM 在酸性条件下稳定性较好，在该研究中固定化细胞催化合成 SAM 的 pH 6.5 为最佳。

2.3.2 反应体系温度对固定化细胞催化合成 SAM 的影响

反应体系温度对固定化细胞催化反应的影响如图 2 所示，可以看出当反应温度低于 30℃ 时，MAT 酶活性较低，反应进程较慢。当温度达到 35℃ 时固定化细胞酶活力增高，相应的 SAM 产率达到 96%。当温度继续升高至 40℃，SAM 的产率基本不变。温度提高加快了反应进程，而细胞内的 MAT 酶在固定化材料的保护下对温度的敏感度降低，不易失活。当温度超过 45℃ 时 SAM 的转化率下降。考虑到 SAM 在较低的温度下更稳定以及在工业化生产中较低的温度有助于降低能耗。因此研究中选择反应温度为 35℃。



反应条件(10 mL): 35 mmol/L ATP, pH 6.5, 10 mL 固定化细胞, 200 r/min, 8 h

图 2 温度对固定化细胞催化合成 SAM 的影响

2.3.3 底物浓度对固定化细胞催化合成 SAM 的影响

使用大肠杆菌 MAT 游离酶催化催化合成 SAM 的反应中，当底物浓度超过 1 mmol/L 时会产生产物抑制现象^[17]。Park 等^[18]研究发现在催化合成 SAM 的反应液中加入一定浓度的对甲基苯磺酸钠 (*p*TsONa) 可以解除 MAT 的产物抑制现象。在本研究中，在反应液中加入 400~800 mmol/L *p*TsONa 可以将 10~35 mmol/L 的底物 ATP 几乎完全转化；当底物浓度达到 40 mmol/L 时，底物 ATP 的转化率仅为 83.1%，并且增加 *p*TsONa 的量至 1.0 mol/L，反应的转化率反而降低至 73.2%。因此在本研究中反

应底物 ATP 浓度 35 mmol/L 为最佳。

2.3.4 固定化细胞用量对催化反应的影响

按照 1.4 节方法,制备菌体质量浓度为 150 g/L 的海藻酸钙固定化小球,在 10 mL 的 SAM 合成反应体系中加入不同体积的固定化小球,35℃ 200 r/min 反应 8 h,结果显示随着固定化细胞用量的增加,反应体系中重组 MAT 酶含量越高,则 SAM 的产率逐渐升高。当固定化细胞用量超过 10 mL 时,反应体系中 MAT 酶的量相对过量,所以 SAM 产率趋于稳定。因此在 10 mL 的 SAM 反应体系中固定化细胞用量 10 mL 为最佳。

2.3.5 反应转速对固定化细胞催化合成 SAM 的影响

考察了不同转速条件下固定化细胞催化合成 SAM 的反应。结果显示,随着转速的升高固定化细胞催化合成 SAM 的产率也增高,当转速达到 200 r/min 时,SAM 的产率超过 95%。固定化细胞催化反应时,转速不仅会影响固定化细胞的传质性能,还会影响到固定化细胞小球的稳定性。加快搅拌可以解除传质限制,使反应充分进行。但是过高搅拌转速时将提高固定化细胞的破碎程度,使其转化稳定性降低。综合以上 2 个因素,选择 200 r/min 为最佳转速。在该条件下可以将 35 mmol/L 的底物 ATP 在 8 h 内完全转化,且此时固定化细胞基本没有破损。

2.3.6 固定化细胞重复利用稳定性研究

在 10 mL 的反应体系中加入 10 mL 固定化小球,35℃ 200 r/min 反应 8 h,滤出转化液,蒸馏水充分洗涤固定化细胞,加入下批反应液继续转化,考察固定化细胞转化活力的稳定性。在前 5 批反应中,固定化细胞酶活性先上升后缓慢下降。先上升可能是固定化细胞适应了转化体系,适当浓度的底物激活了酶的转化能力,后来又持续缓慢下降,可能是因为酶蛋白变性失活的累积效应。反应 5 批次后固定化细胞酶活性为最高酶活性的 91%,当反应进行 6 批次以上时,由于固定化细胞小球有轻微的溶胀,加快了细胞的流失以及酶活性的损失,因此当反应进行到第 8 批次时,酶活性明显下降,为最高酶活性的 78%。

3 结语

构建了重组大肠杆菌 *E. Coli* JM109(pBR322-MAT),表达的重组 MAT 酶活性比原始菌提高了 157 倍。研究了不同固定化方法和材料对 MAT 酶活性的影响,最终确定海藻酸钙(CA)为较好的包埋载

体,最佳 ρ (CA)为 20 g/L;最适细胞包埋量每 mL 凝胶为 0.15 g 湿细胞;固定化细胞重复使用 5 批次后酶活性仍可保留 91%。使用固定化重组大肠杆菌催化合成 SAM,其最适转化条件为:底物浓度(ATP) 35 mmol/L、pH 6.5、35℃、转速 200 r/min、10 mL 固定化细胞/10 mL 反应液、8 h。在上述条件下底物 ATP 的转化率超过 95%。与直接利用游离菌体细胞转化相比,该法具有反应温度和 pH 范围宽、酶活性稳定、固定化细胞能反复利用、酶活性损失少等优点,为大规模、低成本、高效率生产 SAM 提供了一条新的途径。

参考文献

- [1] Grillo M A, Colombatto S. S-adenosylmethionine and its products[J]. *Amino Acids*, 2008, 34: 187 - 193.
- [2] Lu S C. S-adenosylmethionine[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2000, 32: 391 - 395.
- [3] Bottiglieri T. S-adenosyl-L-methionine(SAMe): From the bench to the bedside-molecular basis of a pleiotropic molecule[J]. *Am J Clin Nutr*, 2002, 76(5): 1151S - 1157S.
- [4] 林水玉,徐碧玉,金志强. S-腺苷蛋氨酸研究进展[J]. *生命科学*, 2005, 9(4): 37 - 42.
- [5] Zhang Jianguo, Wang Xuedong, Zheng Yu, et al. Enhancing yield of S-adenosylmethionine in *Pichia pastoris* by controlling NH_4^+ concentration [J]. *Bioprocess Biosyst Eng*, 2008, 31: 63 - 67.
- [6] Hu Xiao-Qing, Chu Ju, et al. A novel feeding strategy during the production phase for enhancing the enzymatic synthesis of S-adenosyl-L-methionine by methylotrophic *Pichia pastoris* [J]. *Enzyme Microb Technol*, 2007, 40: 669 - 674.
- [7] He Junyun, Deng Juanjuan, Zheng Yinghua, et al. A synergistic effect on the production of S-adenosyl-L-methionine in *Pichia pastoris* by knocking in of S-adenosyl-L-methionine synthase and knocking out of cystathionine- β -synthase[J]. *J Biotechnol*, 2006, 126: 519 - 527.
- [8] 罗星. 酶促转化法和微生物发酵法制备 S-腺苷甲硫氨酸的研究[D]. 吉林: 吉林大学, 2008.
- [9] 席玥. 酶法生产 S-腺苷甲硫氨酸的研究[D]. 吉林: 吉林大学, 2005.
- [10] 西北工业大学. 一种利用整细胞催化合成腺苷甲硫氨酸的方法: 中国, 200810017357.5[P]. 2008 - 10 - 15.
- [11] 李峰, 吕锡武, 严伟. 聚乙烯醇作为固定化细胞包埋剂的研究[J]. *中国给水排水*, 2006, 16(12): 14 - 17.
- [12] 穆晓清, 徐岩, 聂尧, 等. 固定化细胞生物催化制备(S)-苯基乙醇的研究[J]. *生物加工过程*, 2007, 5(2): 11 - 16.
- [13] 蒋丽丽, 刘均忠, 沈俞, 等. 用固定化 L-赖氨酸脱羧酶细胞制备 1,5-戊二胺[J]. *精细化工*, 2007, 24(1): 1080 - 1084.
- [14] 韦平和, 公剑, 王旻. 大肠杆菌 S-腺苷甲硫氨酸合成酶基因的克隆与表达[J]. *中国药科大学学报*, 2000, 31(6): 470 - 473.
- [15] Markham G D, Hafner E W, Tabor C W, et al. S-adenosylmethionine synthetase from *Escherichia coli* [J]. *J Biol Chem*, 1980, 255(19): 9082 - 9092.

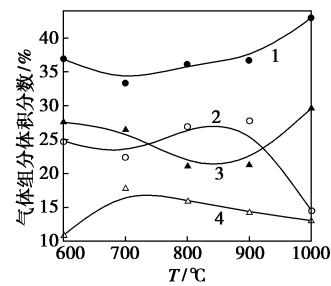
由气袋进行收集,以做进一步分析之用。气体产物的体积含量采用4通道的Agilent 3000微型气相色谱仪进行分析。

由于生物油中氧元素含量较高,在无氧条件下生物油中大部分组分可发生内部气化,因此首先研究生物油的无氧气化实验。为了了解生物油的热解气化机理,对生物油在不同温度(600、700、800、900、1 000℃)下的气化特性进行分析,其中载气 N_2 的流量保持在100 mL/min左右;为了了解气体产物的停留时间对生物油气化特性的影响,对不同载气(N_2)流量(50、75、100 mL)下生物油的气化特性;同时为了了解氧元素的存在对气体产物品质的影响,引入气化剂 O_2 ,通过不同添加量分析合成气中主要气体产物的析出特性。最后综合分析温度、载气量以及气化剂 O_2 等对生物油的热解气化特性的影响规律,对生物油的热解气化过程进行优化分析。

2 结果和讨论

2.1 温度对生物油气化特性的影响

不同温度下生物油热解气化气体产物的主要组成特性见图1,其绝对产量见表1(采用氮平衡法计算得到热解主要产物产气量)。合成气中主要含有 CO 、 H_2 ,同时还含有大量的 CO_2 和 CH_4 ,而 C_{2-3} 气体组分的含量很少($<1\%$),不再深入分析。从图1可看出合成气中各组分随着热解温度的变化呈现明显的规律。首先随着热解温度的升高,合成气中 H_2 的含量先增加,并在800~900℃取得最大值,约占合成气的25%左右,而随着温度的进一步升高(1 000℃), H_2 的含量快速降低。这可能是由于高温下,生物油分解较为彻底, H_2 与部分含氧基团发生氧化反应转化成为 H_2O 。合成气的另一重要组分 CO 的含量随着温度的升高先降低后升高,而 CO_2 的含量明显升高,这主要由于生物油中含有大量有机羧酸,羧基($-COOH$)的分解是 CO_2 的主要来源,随着温度升高,羧基的分解使得 CO_2 呈现快速增加的趋势。生物油气化的合成气中还含有一定量的 CH_4 ,其随着热解温度的升高而逐渐升高,并在约700℃有最大值,而后随温度继续升高而降低。



1— CO_2 ; 2— H_2 ; 3— CO ; 4— CH_4

图1 不同温度下生物油气化合成气主要产物组成特性(无 N_2 和 H_2O)

表1 生物油气化的主要产物的气化率

T/℃	600	700	800	900	1000
H_2 质量分数/%	0.39	0.70	1.43	1.39	0.78
CH_4 质量分数/%	1.38	4.52	6.81	5.76	5.66
CO 质量分数/%	6.09	11.70	15.67	14.93	22.39
CO_2 质量分数/%	12.91	23.25	42.55	40.73	51.27
气化效率/%	20.77	40.17	66.45	62.81	80.09
$H_2 + CO$ 产率/ $mL \cdot g^{-1}$	42.19	78.62	129.99	125.39	121.48

由于便携气相色谱仪分析的仅为合成气中各主要气体产物的体积含量,而不是绝对产量,根据氮平衡法计算得到气体产物的绝对产量及生物油的气化率,结果见表1。可知气化温度的升高有利于生物油气化气产率的提高。当热解温度为600℃时,生物油的气化效率较低(约20%),而随着热解温度的升高,生物油气化的气体产物的产率快速增加,当热解温度从600℃升高到1 000℃时,生物油的气化产率很高,达到生物油的80%。然而合成气中的 H_2 和 CO 是生物质制备高品位燃料所需要的主要组分,而 CO_2 是碳元素的最终利用产物,是产物中不能被利用的部分, CH_4 还需进一步重整,以提高 H_2 和 CO 的含量,从气体产物中 H_2 和 CO 的产率(mL/g)可知气化温度为800℃左右时,生物油气化有最高的合成气品质及产率。

2.2 载气流量对生物油热解气化的影响

生物质气化过程中气体的停留时间和气化温度一样是影响气化特性的重要参数,在本文实验系统中

(上接第41页)

- [16] 沈立新,魏东芝,张嗣良,等. 固定化 *E. coli* BL21(pTrc-gsh)细胞催化合成谷胱甘肽[J]. 华东理工大学学报, 2002, 28(1): 24-27.
- [17] Park J, Junzhe Tai, Roessner C A, et al. Enzymatic synthesis of S-adenosyl-L-methionine on the preparative scale[J]. Bioorg Med Chem, 1996, 4(12): 2179-2185.

- [18] Park J, Junzhe Tai, Roessner C A, et al. Overcoming product inhibition of S-adenosyl-L-methionine (SAM) synthetase: Preparation of SAM on the 30 mmol/L Scale [J]. Bioorg Med Chem, 1995, 5(19): 2203-2206. ■