



张士汉,浙江工业大学环境学院教授,博士生导师,主要研究方向为燃煤烟气污染控制,承担国家自然科学基金优秀青年基金、浙江省“尖兵”“领雁”计划、浙江省杰青等国家级和省部级项目,发表SCI TOP 期刊论文80余篇,授权国家发明专利12项,作为主要完成人获河北省自然科学一等奖、浙江省科学技术一等奖、浙江省自然科学二等奖、教育部高等学校科学研究优秀成果奖(科学技术)自然科学二等奖等,获第4届中国环境科学学会青年科学家奖金奖,获霍英东教育基金会第18届高等院校青年科学奖。入选浙江省海外高层次人才计划、浙江省“钱江学者”特聘教授、浙江省高等学校“院士结对培养青年英才计划”。担任科技部《中国碳中和技术发展路线图》编制专家、中国可持续发展研究会气候变化工作委员会委员、《Chinese Chemical Letters》编委、《能源环境保护》青年编委。



移动扫码阅读

张士汉,邵培静,叶杰旭,等. 基于酶促反应的二氧化碳捕集技术研究进展[J]. 能源环境保护, 2023, 37(2): 205-214.

ZHANG Shihan, SHAO Peijing, YE Jiexu, et al. Research progress of carbon dioxide capture technology based on enzymatic reaction[J]. Energy Environmental Protection, 2023, 37(2): 205-214.

基于酶促反应的二氧化碳捕集技术研究进展

张士汉^{1,*}, 邵培静², 叶杰旭¹, 沈 遥¹

(1. 浙江工业大学 环境学院, 浙江 杭州 310014;

2. 台州科技职业学院 农业与生物工程学院, 浙江 台州 318020)

摘要:燃煤电厂是当前我国二氧化碳(CO₂)的主要排放源,针对燃煤电厂研发并改造CO₂捕集工艺是亟待解决的问题。基于酶促反应的CO₂捕集技术可利用碳酸酐酶(CA)强化CO₂捕集过程,实现CO₂吸收效率的提升并能有效解决传统碳捕集工艺中的能源损耗,在碳捕集研究中吸引了越来越多的关注。尽管CA酶具有高催化效率和对环境友好等优点,但游离酶的稳定性和重复利用性较差,无法大量应用于实际工业碳捕集工艺中,需要选择合适的载体与固定方法制备稳定的固定化CA酶。针对这一关键问题,本文在介绍CA酶作为生物催化剂强化CO₂吸收作用机理和酶促强化捕集技术的基础上,重点论述了CA酶的固定方法(吸附法、共价键合法、交联法和封装法)及其应用于CO₂捕集方面的最新研究进展。此外,对基于酶促反应的CO₂捕集技术的未来发展方向进行了展望,提出该技术应进一步研发高活性和稳定性的工程性CA酶,构筑高性能且廉价的仿酶催化剂,开发更加经济高效的酶固定化载体材料和工艺,以及加强评估固定化CA酶在实际碳捕集工艺中的应用情况及成本效益。

关键词:二氧化碳;碳捕集;碳酸酐酶;固定化

中图分类号:X701

文献标识码:A

文章编号:1006-8759(2023)02-0205-10

Research progress of carbon dioxide capture technology based on enzymatic reaction

ZHANG Shihan^{1,*}, SHAO Peijing², YE Jiexu¹, SHEN Yao¹

(1. College of Environment, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China; 2. College of Agriculture and Bioengineering, Taizhou Vocational College of Science & Technology, Taizhou 318020, China)

Abstract: At present, coal-fired power plants are still the main source of carbon dioxide (CO₂) emissions in China. The development and transformation of CO₂ capture technologies for coal-fired power plants is an urgent problem to be solved. Using carbonic anhydrase (CA) can improve CO₂ absorption

收稿日期:2023-01-20;责任编辑:金丽丽

DOI:10.20078/j.eep.20230213

基金项目:浙江省软科学研究计划项目(2022C15006);浙江省“尖兵”“领雁”研发攻关计划项目(2022C03146);国家自然科学基金项目(22022610)

作者简介:张士汉(1983—),男,浙江舟山人,教授,研究方向为燃煤烟气污染控制。E-mail: shihanzhang@zjut.edu.cn

efficiency and effectively solve the problem of energy consumption in traditional carbon capture technology, which has attracted increasing attention in CO₂ capture research. Although CA enzyme has the advantages of high catalytic efficiency and environmental friendliness, the poor stability and reusability of the free form enzyme make it not be widely used in the actual industrial carbon capture technology. Therefore, it is necessary to select suitable carriers and immobilization methods to prepare stable immobilized CA enzyme. This paper introduces the mechanism of CA enzyme as a biocatalyst to enhance CO₂ absorption and the carbon capture technology based on enzymatic reaction, and summarizes the immobilization methods of CA enzyme (adsorption, covalent bonding, cross-linking and encapsulation) and the latest research progress in its application to CO₂ capture. Finally, the future development direction of the carbon capture technology based on enzymatic reaction is proposed. It focuses on: (1) developing engineering CA enzyme with high activity and stability; (2) constructing high-performance and cheap biomimetic catalyst with simulating the structure of CA enzyme; (3) developing more economical and efficient carrier materials and processes for immobilization of CA enzyme; (4) further evaluating the application and cost-effectiveness of immobilized CA enzyme in the actual carbon capture process.

Keywords: Carbon dioxide; Carbon capture; Carbonic anhydrase; Immobilization

0 引言

据中国国家统计局数据显示,自1980年以来,我国能源消费总量不断增长,其中煤炭消费比值占一半以上。煤炭燃料的燃烧导致大量二氧化碳(CO₂)排放。2020年,我国的能源消费总量为49.8亿t标准煤,CO₂总排放量约99亿t,占全球总排放量的30.9%,居全球第一^[1]。由于CO₂的排放量占温室气体总排放量的81%,现已成为最重要的温室气体^[2]。我国于2020年9月22日在第七十五届联合国大会上提出:二氧化碳排放力争于2030年前达到峰值,努力争取2060年前实现碳中和^[3]。然而,作为全球最大的能源消费国家以及碳排放国家,我国要在不到40年的时间内实现碳达峰碳中和目标,则面临着巨大的挑战,必须针对我国当前的产业情况,加快产业结构调整,加快绿色清洁能源发展,降低各产业碳排放量,制定符合我国现状的节能减排实施路径^[4]。

电力、热力行业是当前我国产生CO₂排放最为主要的部门。二氧化碳捕集利用和封存(CCUS)技术能够将CO₂从能源利用、工业过程等排放源或空气中捕集分离后加以封存或利用,因此可以实现化石燃料利用后降低碳排放,从而促进电力、热力等行业的深度碳减排,是助力实现双碳目标,推动社会可持续发展的重要技术手段^[5]。CCUS技术主要有吸附法、吸收法、膜分离法和钙循环法等。以吸收法为例,其技术成熟度高,应用

于传统发电厂不需要进行较大的设备改造,运营成本较低^[6]。但现有CCUS技术均存在传质速率较慢、能耗损失较大、选择性较差等缺点^[7-8]。为解决这些技术瓶颈,研究者们提出利用生物催化剂这一措施,该措施既不改变气液平衡过程,又可大幅降低CO₂捕集能耗,且二次污染风险低,对环境友好。碳酸酐酶(CA)是一种高效的CO₂水合催化剂,将其应用在CCUS技术中,可提高CO₂的水合反应速率,有效解决传统工艺中的能耗损失,逐渐成为了CO₂捕集研究的热点^[9]。

本文介绍了以CA酶作为生物催化剂强化CO₂吸收的作用机理和酶促强化捕集技术,总结了CA酶的固定方法及其应用于CO₂捕集研究的最新研究进展。

1 碳酸酐酶的性质

CA酶是于1933年首次在红细胞中发现的含有金属锌的蛋白酶^[10]。大部分CA酶以锌离子为活性中心,能够高效且可逆地催化CO₂进行水合反应转化为碳酸氢盐。根据遗传进化及蛋白质序列的差异,CA酶被分为八个族,即 α 、 β 、 γ 、 δ 、 ζ 、 η 、 θ 和 ι 。其中, α -CA广泛存在于脊椎动物、绿色植物、藻类和许多革兰氏阴性细菌细胞质中; β -CA主要存在于革兰氏阴性和阳性细菌、藻类植物、真菌和一些古细菌中; γ -CA被发现存在于古菌、蓝细菌等; δ -、 ζ -和 θ -CA似乎只存在于海洋硅藻中(ζ -CA的活性中心为镉离子);而 η -CA存在于原

生动物中; α -CA 存在于海洋浮游植物和细菌中。此外,目前研究表明,CA 众多同工酶中,CA-Ⅱ 是最重要的、研究最深入的、催化效率最高的锌酶,转化率可达 10^6 s^{-1} 。

CA-Ⅱ 的分子量约为 30 kDa,含有约 260 个氨基酸残基,金属 Zn^{2+} 是其重要的不可或缺的活性中心。在空间结构上,它整个分子近似于球形结构,其尺寸约为 $5 \text{ nm} \times 4 \text{ nm} \times 4 \text{ nm}$ ^[11]。CA 酶分子的主要二级结构由 10 条 β 链组成,与催化活性相关的大多数氨基酸残基都位于此结构中。此外,CA 酶分子表面还分布有一些 α -螺旋结构。如图 1 所示,CA 酶的活性中心是由 Zn^{2+} 与 β 链上的氨基酸残基 His 94、His 96、His 119 中的咪唑基侧链中的三个氮原子配位结合,然后与亲核基团 $-\text{OH}$ 中的氧原子相连接而形成的四面体结构^[12]。此外,CA 酶的活性中心两侧有两个突出的区域,一个是疏水区域,另一个是亲水区域。疏水“口袋”由氨基酸 Leu 198、Val 121、Val 143、Trp 209、Leu 141 和 Val 207 组成,它在捕获 CO_2 分子方面起着重要作用。而亲水区域包括氨基酸 His 64、Asn 62、Tyr 7、Thr 199、Thr 200 和 Asn 67,它负责 CO_2 水合反应产生的质子和碳酸氢盐的运动^[13]。其中,His 64 可以充当质子“梭”,将与 Zn^{2+} 结合的水转化为与 Zn^{2+} 结合的氢氧化物。Thr 199 则可以接受来自与 Zn 结合的氢氧化物上的一个氢键,又转移一个氢键给其他具有氢键受体的氨基酸残基。不同配体之间相互结合作用,形成了一个氢键网状系统,从而有效发挥 CA 酶的催化作用。

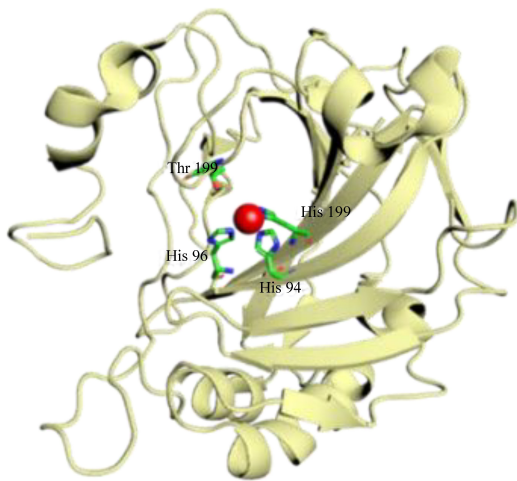


图 1 碳酸酐酶的基本结构及活性中心

Fig. 1 Structure and active site of carbonic anhydrase

CA-Ⅱ 催化 CO_2 水合反应的过程如图 2 所示:(1) 与 Zn^{2+} 结合的 H_2O 分子去质子化,转化为

OH^- ; (2) 得到的 $\text{E}-\text{ZnOH}^-$ 中的氧具有很强的亲核性,对疏水“口袋”结合的 CO_2 进行亲核攻击;(3) 形成 $\text{E}-\text{ZnHCO}_3^-$ 环形结构复合物;(4) 复合物中的 HCO_3^- 被 H_2O 分子从活性位点置换^[12]。其中,在催化过程中 H^+ 向溶剂中转移是催化反应进行的限速步骤,它主要是通过 His 64 转运至外源质子受体实现的。

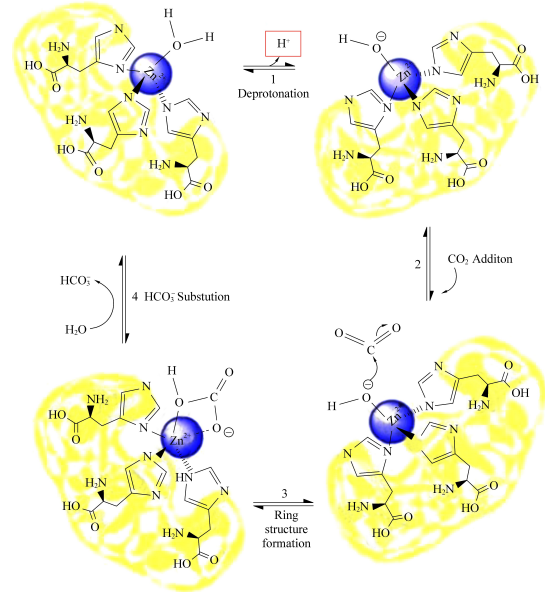


图 2 CA 酶催化 CO_2 水合反应的作用机制^[12]

Fig. 2 Mechanism of CA enzyme catalyzing CO_2 hydration reaction^[12]

2 酶促强化 CO_2 捕集技术

基于 CA 酶的生物催化系统可以有效促进 CO_2 的捕集和分离,利用 CA 酶的 CO_2 捕集技术中,备受关注的主要包括溶剂吸收、选择性膜分离和生物诱导矿化。

2.1 溶剂吸收

目前,吸收法捕集 CO_2 的常用化学溶剂为醇胺 (MEA、MDEA、DETA、AMP、PZ 等) 和碳酸盐溶液 (K_2CO_3 、 Na_2CO_3)。利用醇胺溶液吸收 CO_2 具有 CO_2 吸收容量较大、容易解吸等优点,但是产物易降解,副产物较多,吸收焓较高,再生能耗较高。利用碳酸盐溶液吸收 CO_2 所需的再生能量较低,对环境更友好,但其吸收动力学较慢,要求吸收塔更大更高,资金成本较大。CA 酶能明显提高 CO_2 水合反应速率,既不影响气液平衡状态,又可以降低吸收焓,将其投入化学吸收剂中有利于 CO_2 的捕集并提高经济性。

根据经典的传质阻力模型分析,当吸收 CO_2

(包括发生化学反应)时,液相传质系数会通过增强因子 E 而进行改变。以游离或固定的形式引入 CA 酶的目的是增加 E , 从而降低液相传质阻力, 并影响所需的设备尺寸^[14]。有研究表明, 在 Na_2CO_3 水溶液或 MDEA 水溶液中添加 CA 酶均可显著提高 CO_2 吸收速率, 进一步建模显示当分别使用含 $1 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ CA 酶的 Na_2CO_3 水溶液和含 $0.5 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ CA 酶的 MDEA 水溶液作为吸收剂时, 均可以使商业规模的 CO_2 吸收塔高度比使用 MEA 作为吸收剂时降低 90% 以上^[15]。Ye 等^[16] 发现, 温度为 $40 \sim 60 \text{ }^\circ\text{C}$ 的条件下, 当质量分数 20% $\text{K}_2\text{CO}_3\text{-KHCO}_3$ 溶液中存在 CA 酶时, CO_2 吸收速率提高了 2~6 倍。

一些研究者将 CA 酶固定化在吸收塔填料或其他载体材料后用于催化吸收 CO_2 。Iliuta 等^[17] 将 hCA II 酶固定化在新型无规则填料上, 所构建的逆流式填料吸收塔压降低且吸收容量大。Leimbrink 等^[18-19] 将 CA 酶固定化在多孔二氧化硅颗粒上, 然后封装在 Sulzer Katapak-SP 规整填料中, 并在中试条件下评估了游离 CA 酶和固定化 CA 酶对 MDEA 溶液吸收烟气中 CO_2 的促进作用。与无酶时相比, 添加了游离 CA 酶的 30% (质量比) MDEA 水溶液对 CO_2 的吸收速率增加了 9 倍以上, 但使用固定化 CA 酶时捕集效果提升较少, 为 1.5 倍左右, 需通过改进填料结构以提高酶负载量。Leimbrink 等^[20] 进一步将 CA 酶包埋在有机硅聚合物基质中 (称为 BDS 微粒), 该种微粒具有较高的内部孔隙率, 酶负荷达到了 13% (质量比)。经逆流式填充柱测试发现, BDS 微粒的催化效率虽略低于游离 CA 酶, 但与空白 MEDA 溶液相比, BDS 微粒存在时的 CO_2 总吸收摩尔流量是其 4.8~6 倍, 并且 BDS 微粒的稳定性较佳。Zhu 等^[21] 通过戊二醛交联法将 CA 酶固定在海藻酸盐聚合物中, 发现固定化 CA 酶的 pH 和热稳定性显著高于游离 CA 酶, 能有效提高立式反应器中的 CO_2 吸收速率, 并且具有较好的可重复使用性, 经六次循环使用后其初始活性保留率仍接近 61%。

2.2 选择性膜分离

选择性膜分离技术具有能耗低、可加工性高和维护成本较低等优点, 但受到膜厚度和选择性的限制。性能优异的 CO_2 分离膜具有高 CO_2 选择性和高 CO_2 渗透速率。将 CA 酶固定在用于气体分离的膜中, 随着 CO_2 转化为碳酸氢盐或碳酸盐, CO_2 的扩散效率提高, 从而有效增加了 CO_2 的渗透

性和选择性^[22]。

CA 酶和选择性膜最初主要一起应用于从 O_2 中分离 CO_2 , 少量的 CA 酶水溶液通过毛细力固定化在多孔膜的孔隙中, 组成支撑液膜^[23-24]。然而, 这种支撑液膜的主要缺点是由跨膜压差和液体蒸发产生机械损失造成的稳定性不足。在实际工业中, 支撑液膜的应用必须克服液膜机械稳定性不足的问题。因此, 研究者们提出在多孔膜之间截留 CA 酶液膜^[25-26]。Bao 等^[27] 通过将 CA 酶液膜置于两个中空纤维膜 (HFCLM) 中实现液膜截留, 从而使新鲜的 CA 酶溶液能够连续被供应, 减少蒸发产生的损失。同时, 它们可以承受比支撑液膜更大的压力差。Trachtenberg 等^[28] 则将 CA 酶固定在中空纤维膜的外壁上, 以确保 CA 酶和 CO_2 在气液界面上的接触, 大大提高了膜的 CO_2 选择性。Fu 等^[29] 开发了一种高 CO_2 选择性的超薄仿生膜, 即将 CA 酶固定于羟基改性的二氧化硅膜的纳米通道 (8 nm 直径) 中, 因纳米限制膜的稳定性大幅提高, 并且在常温常压条件下具有很高的 CO_2 渗透率, 达到 2 600 个气体渗透单位。此外, 一些研究者还利用多孔、高度亲水的水凝胶固定 CA 酶, 并将其置于中空纤维膜的孔隙中, 大大提高了 CA 酶的稳定性, 但由于水凝胶的高传质阻力, 固定化酶利用的充分性会受到一定影响^[30-31]。

2.3 生物诱导矿化

基于碳酸盐矿物 (例如方解石、菱镁矿和白云石) 的 CO_2 矿化是一种安全、有效的 CO_2 捕集方法。这些碳酸盐矿物在自然界中含量丰富, 对环境无害且稳定。 CO_2 的矿化可以通过气态 CO_2 与钙或镁的矿物源直接接触或通过 CO_2 溶解在水中然后使溶液与矿物质接触来实现, 若不添加催化剂, 自然界中 CO_2 和 H_2O 反应生成 HCO_3^- 的速率极慢, 其反应常数仅为 $6.2 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ ^[32]。

21 世纪初, Gillian 等^[33] 首次提出利用生物诱导 CO_2 转化为固体矿物 (钙/镁) 碳酸盐。近些年来, 国内外在将 CO_2 生物诱导矿化成固体矿物方面取得了重大进展。研究表明, CA 酶是促进碳酸盐矿化的关键酶之一, 它有利于 CaCO_3 沉淀的生成^[34]。CA 酶诱导矿化的过程会受到温度、pH、酶浓度、 Ca^{2+} 浓度等多种因素的影响。如 Mirjafari 等^[35] 发现在 CO_2 矿化过程中, 随着反应温度的升高, CA 酶活性降低, CO_2 溶解度也随之降低, 从而使矿化产物 CaCO_3 的生成量降低, 但 CA 酶含量的影响相对较小。由于 CA 酶诱导矿化技术的高效性、

安全性和环境友好性,该技术将愈发受到关注。

3 碳酸酐酶的固定化

众所周知,酶是“脆弱”的分子,易受环境条件(温度、pH、离子强度等)影响,且 CA 酶体积较小(CA 酶分子的平均尺寸为 $5\text{ nm}\times 4\text{ nm}\times 4\text{ nm}$ ^[11]),难以回收和循环利用^[36-37]。燃煤电厂典型烟气环境温度为 $40\sim 60\text{ }^{\circ}\text{C}$,高于 CA 酶的适宜温度,且组分复杂,易造成酶的失活。因此,在工业应用中,通常采用酶固定化手段来提高酶的稳定性及循环利用性,从而降低 CO_2 捕集中的 CA 酶成本^[38-39]。固定化载体和固定方法对固定化效率有直接影响,并可能导致酶的理化性质发生变化,在实际操作中可能会导致酶出现活性降低,如传质限制、酶构象改变等^[9, 40]。酶固定手段通常包括吸附、共价键合、封装和交联等,如图 3 所示^[41-42]。每种方法各有优缺点,见表 1。

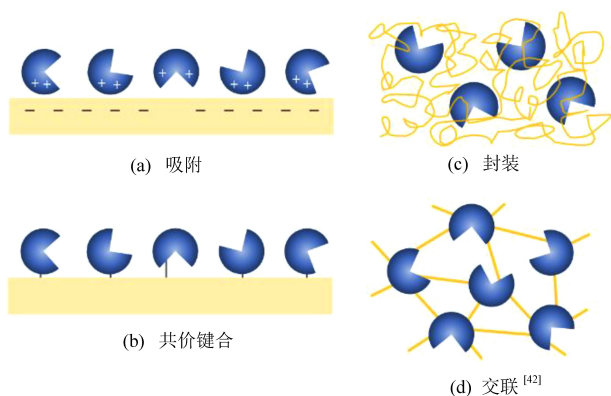


图 3 传统的固定方法

Fig. 3 Traditional immobilization methods

3.1 物理吸附

物理吸附是一种通过弱相互作用力(如氢键、静电作用、疏水作用或范德华力)介导的固定方法。该方法操作简单,一般通过改变酶浓度、载体材料剂量、温度、pH、搅拌速度等优化固定化条件。因此,酶的固定效果在很大程度上取决于载体的物化性质。载体的比表面积增大有利于酶的吸附,亲水性载体则往往比疏水性载体更适合用于酶吸附^[40, 43]。一般情况下,酶与载体之间的弱相互作用可以使得固定时酶发生较小的构象变化^[39, 44-45]。

为了探寻最佳的酶吸附性能,研究者们已经研究了以无机材料、有机材料和复合材料等为载体的固定化 CA 酶性能。如 Vinoba 等^[46]开展了球形介孔二氧化硅(SBA-15)吸附固定 CA 酶的

表 1 固定化手段的优缺点

Table 1 Advantages and disadvantages of the immobilization methods

固定手段	优点	缺点
物理吸附	制备简单,成本低 传质阻力低 高酶负载量 酶活性中心不易被破坏	结合力弱,酶容易浸出 容易受外部环境影响 酶容易过度聚集
共价键合	结合力强 稳定,不易脱落 有利于维持酶结构	复杂的结合过程 高成本工艺 酶固定时易失活
封装	避免对酶产生较大负面影响 稳定性较强	高传质屏障 载体需要高网络结构
交联	成本较低 传质阻力较低 稳定性较强	酶易受交联剂影响失活 机械强度较低 操作过程复杂

研究,结果显示固定化后酶活性能保留游离 CA 酶时的 90%左右,但在重复利用过程中酶活性会显著减少。这是由于利用弱相互作用力固定 CA 酶,酶容易浸出从而降低表观活性。该课题组又利用了银或金纳米粒子覆盖的改性 SBA-15 固定 CA 酶,蛋白质和金属之间较大的静电相互作用力使固定化酶获得了更好的稳定性,其中固定化在金纳米粒子覆盖的 SBA-15 上的 CA 酶储存 20 d 后仍保留初始活性的 98%左右^[47-48]。Shao 等^[49]将 CA 酶固定于具有相同化学组成但不同结构的介孔二氧化硅中,发现 CA 酶负载分布情况取决于材料孔径。Kim 等^[50]利用肽重组修饰 CA 酶后,将这种蛋白质吸附在二氧化硅和二氧化钛颗粒上。这种重组 CA 酶被选择性固定在载体上,并发现得到的固定化生物催化剂具有更好的可重复使用性(5 次循环后仍保留 95%的酶活性)。Khameneh 等^[44]使用纳米多孔硅(KIT-6)作为吸附 BCA II 酶的载体,发现固定化 CA 酶热稳定性明显提升,其最佳催化温度较游离 BCA II 酶提高了约 $10\text{ }^{\circ}\text{C}$,且在 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min 后,固定化酶的保留活性为 43%,而游离酶保留活性仅剩 17%。Snehal 等^[51]将 CA 酶吸附固定在以蛋壳膜(ESM)为模板制备的介孔氧化铝(ESMA1)上,尽管固定化酶的保留活性约为 53%,但其半衰期较游离酶提高了 1.25 倍。Prabhu 等^[52]将 CA 酶固定在壳聚糖基活性氧化铝-碳复合材料上,研究结果显示酶活性随吸附时间、pH、酶浓度和载体剂量的改变而改变,在最优吸附条件下,固定化 CA 酶的半衰期是游离酶的近 1.4 倍。Sharma 等^[32]成功将 CA 酶固定在壳聚

糖-KOH 微珠上,并实现了 89%的高酶负载率,且固定后 CA 酶的储存稳定性提高了 2.02 倍。

3.2 共价键合

通过共价键结合来固定酶是一种不可逆的方法。通常,载体需要羟基、羧基、胺、环氧树脂等官能团的存在,并通过共价键与酶上的官能团发生化学反应。共价键合的主要优点是可有效提高固定化酶的稳定性和可重复使用性^[39]。但利用表面改性的载体材料与酶共价键合制备得到的固定化酶,其酶构象易受到共价键影响而发生改变,从而降低酶活性。

目前,不同的无机、有机等材料均已被作为 CA 酶的载体进行了大量研究。对于无机材料来说,其稳定性和机械强度较高,相关研究也较多。Zhang 等^[53]基于共价偶联方法将 CA 酶固定在改性的活性炭和可控孔玻璃上,所得固定化 CA 酶可有效促进 CO₂吸收到碳酸钾溶液中,适用于 IV-CAP 工艺。尽管固定化后活性降低,但与游离酶相比,固定化酶结构硬化使其稳定性显著改善。Sahoo 等^[54]将 CA 酶共价结合固定在 CaCO₃/H₃BO₃/SiO₂上,有效提高了其在混合吸收剂中的稳定性,连续重复使用 15 个循环后仍能保留初始活性的 90%。Pierce 等^[55]将 CA 酶活化后共价结合于胺化的磁性 Fe₃O₄纳米颗粒上,研究发现尽管共价结合较稳定,但该固定化酶在高盐溶液中捕获 CO₂时仍需考虑酶浸出对活性的影响。针对有机复合材料,其主要为疏水性聚合物膜(PVDF、PP 等),常用于气液膜接触器。例如,Sun 等^[56]制备了水等离子体改性的 PVDF 平膜,在表面上引入了羟基,然后通过不同硅烷对膜进行进一步的胺或环氧官能化,发现表面官能化基团不同,酶负载及活性结果也不同。在后续研究中他们进一步发现,表面胺官能团密度越大,则与表面结合的酶越多,从而提高了酶负载率^[57]。Merle 等^[58]利用电沉积法将聚(氨基丙基)吡咯膜涂覆在高度多孔的碳基载体(碳泡沫),再将 CA 酶共价固定在该膜上。由于共价结合不是位点特异性的,因此当酶与载体连接时,其方向是随机的,其中 CA 酶或直接连接至涂层,或通过垫片连接。实验结果表明通过垫片连接,可减少酶与载体间的空间位阻,更有利于提高酶负载和保留酶活性。

3.3 交 联

交联法是通过采用交联剂与酶分子中的氨基或羧基发生反应,形成酶分子间交联产生的共价

互连的三维网络结构。它与共价键合方法缺点相似,即酶结构易受到交联剂等影响而发生变化。常用的交联剂有戊二醛、乙二胺、双偶氮苯、鞣酸等。交联法一般作为其它方法(如共价键合法)的辅助手段使用。例如,Peirce 等^[59-60]制备了 CA 酶和磁性纳米颗粒(NPs)的磁性交联酶聚集体,并通过优化固定化方案(包括温度、时间、戊二醛浓度、酶/载体比和搅拌条件)获得了最佳酶负载率和酶活性,酶活性保留约 90%。Bora 等^[61]将 CA 酶以交联的方式固定在聚氨酯泡沫上,所得固定化 CA 酶具有良好的热稳定性,50 °C 条件下仍可保留 98%的活性。Jun 等^[62]利用电纺纳米纤维作为载体制备得到的交联酶聚集体,在水溶液中孵育 868 d 后仍能保持 65.3%的初始活性,其储存稳定性显著优于表面共价连接的得到的单层固定化 CA 酶和游离酶。Sun 等^[63]利用亲水性聚乙烯亚胺和多巴胺修饰聚偏氟乙烯(PVDF)和聚乙烯(PE)膜,再用交联剂戊二醛将 CA 酶固定到亲水膜表面。在室温下储存 30 d 后,固定化 CA 酶(CA-PEI/PDA-PVDF 和 CA-PEI/PDA-PE)的活性分别仅降至初始值的 64.43%和 77.76%,而游离 CA 酶为 54%。交联酶聚集体较高的酶稳定性(温度、pH、储存等)使其在 CO₂捕集领域中具有一定的应用前景^[64]。

3.4 封 装

封装是基于酶可被限制在载体材料内部网络结构中,且该网络结构仅允许底物和产物通过的一种酶固定手段。酶被限制在载体网络结构内,有助于防止酶过度聚集,且酶不与网络结构发生化学作用,这样酶的空间构象破坏较小,可保留大部分酶活性。大分子有机聚合物因其排列有序的网络结构以,被广泛用作酶封装载体。例如,Oviya 等^[65]利用封装技术将 CA 酶封装于壳聚糖-藻酸盐聚电解质复合物中,得到的固定化酶在 8 次循环使用后剩余 53%的初始活性。Simsek-Ege 等^[66]将 BCA 酶封装在壳聚糖-藻酸盐体系中,该固定方式有效降低了长期储存过程中的酶浸出损失。Zhang 等^[67-68]以制备的聚(丙烯酸-丙烯酰胺共聚物)/水滑石纳米复合水凝胶作为载体,通过封装和共价键合的方法固定 CA 酶,其中,酶和复合水凝胶之间的多点共价连接增强了酶的机械强度,从而增加了酶在有机溶剂及高温条件下的稳定性。封装得到的固定化酶的比活性(90.9%,基于游离酶)很高,可能是由于水凝胶多孔结构中存

在的游离水可以为 CA 酶提供更好的生存条件,酶构象改变较小,从而使酶活性保留较高。

近年来,金属有机骨架材料(MOFs)的兴起促进了生物催化剂制备技术的发展。比如,一些 MOFs(如沸石咪唑酯骨架(ZIF))制造条件温和,允许在其在合成中加入酶,从而可以将酶有效地包埋在晶体结构内。Asadi 等^[69]通过“一锅合成”的方法制备了固定化 BCA 酶(BCA-ZIF-8),结果表明在合成过程中晶体结构没有发生较大改变,且固定化酶具有比游离酶更高的比活性。Du 等^[70]通过聚乙烯吡咯烷酮(PVP)将 CA 酶分散封装在 ZIF-L 晶体内,并通过 CO₂水合反应评估酶活性。研究发现,该固定化酶的催化活性是游离酶的约 1.5 倍,且稳定性好(20 d 后仍有 120% 比活性),重复利用率高(循环使用 6 次仍有 130% 比活性)。因此未来基于 MOFs 材料的酶的固定化技术具有广阔的发展前景。

4 结语与展望

综上所述,CA 酶促强化 CO₂ 水合反应的 CO₂ 捕集技术是一种高效可行且环境友好的手段。使用 CA 酶(游离在反应器中或固定在不同载体上)作为催化剂,可以有效提高 CO₂ 捕集效率,同时丰富的酶固定化手段可进一步克服游离酶易失活、难回收的缺点。然而,相关研究仍存在着诸多未解决的技术难题。1) CA 酶本身方面:CA 酶的热稳定性、工业应用适用性等还有待进一步提升。因此,需致力于通过基因克隆、蛋白质工程等途径开发工程性 CA 酶,以提高 CA 酶的活性、稳定性和对工业极端条件的适应性,促进其工业规模应用。与此同时,还可以人工模拟 CA 酶蛋白的金属中心及其“疏水袋”相互作用,构筑更为高效且较为廉价的仿生催化剂,不仅可克服酶易失活的缺点,还能大幅降低工艺成本;2) 固定化手段方面:目前已报道不少 CA 酶固定化的研究,但是酶的活性保留率及稳定性仍不够理想,十分有必要开发新型经济高效的固定化载体材料并优化酶的固定化手段。其中载体材料需具备高机械强度、简便温和的制备条件、低成本、较低的传质阻力和高底物亲和力(有效保留酶结构)等优点,并且能抑制 CA 酶的浸出。尽管采用酶固定化技术会提高 CO₂ 捕集工艺的成本,但从反应器中回收生物催化剂并重复利用可有效降低成本;3) 酶促工艺优化方面:通过结合数学模型、实验和中试等开展固定化 CA 酶应用到实际工业中

的研究,同样很具有挑战性。评估固定化 CA 酶在实际碳捕集工艺中的应用情况,分析固定化 CA 酶投入使用后的稳定性和重复利用性,这对于评价基于酶促反应的 CO₂ 捕集工艺的经济成本有非常重要的作用。

参考文献(References):

- [1] 苏健,梁英波,丁麟,等. 碳中和目标下我国能源发展战略探讨[J]. 中国科学院院刊, 2021, 36(9): 1001-1009.
SU Jian, LIANG Yingbo, DING Ling, et al. Research on China's energy development strategy under carbon neutrality [J]. Bulletin of Chinese Academy of Sciences, 2021, 36(9): 1001-1009.
- [2] OCHEDI F O, LIU Y, ADEWUYI Y G. State-of-the-art review on capture of CO₂ using adsorbents prepared from waste materials[J]. Process Safety and Environmental Protection, 2020, 139: 1-25.
- [3] 习近平. 继往开来,开启全球应对气候变化新征程——在气候雄心峰会上的讲话[N]. 湖南日报, 2020-12-13(2).
- [4] 张君宇,宋猛,刘伯恩. 中国二氧化碳排放现状与减排建议[J]. 中国国土资源经济, 2022, 35(4): 38-44+50.
ZHANG Junyu, SONG Meng, LIU Boen. Current situation of carbon dioxide emission and suggestions for emission reduction in China[J]. Natural Resource Economics of China, 2022(4): 38-44+50.
- [5] 张俊锋,许文娟,王跃铸,等. 面向碳中和的中国碳排放现状调查与分析[J]. 华电技术, 2021, 43(10): 10.
ZHANG Junfeng, XU Wenjuan, WANG Yueqi, et al. Investigation and analysis on carbon emission status in China on the path to carbon neutrality[J]. Huadian Technology, 2021, 43(10): 10.
- [6] BEN MANSOUR R, HABIB M A, BAMIDELE O E, et al. Carbon capture by physical adsorption: Materials, experimental investigations and numerical modeling and simulations—A review [J]. Applied Energy, 2016, 161: 225-255.
- [7] AHMED R, LIU G, YOUSAF B, et al. Recent advances in carbon-based renewable adsorbent for selective carbon dioxide capture and separation—A review [J]. Journal of Cleaner Production, 2020, 242: 118409.
- [8] BUI M, ADJIMAN C S, BARDOW A, et al. Carbon capture and storage (CCS): The way forward [J]. Energy & Environmental Science, 2018, 11: 1062-1176.
- [9] EFFENDI S S W, NG I S. The prospective and potential of carbonic anhydrase for carbon dioxide sequestration: A critical review [J]. Process Biochemistry, 2019, 87: 55-65.
- [10] KEILIN D, MANN T. Carbonic anhydrase [J]. Encyclopedic Reference of Molecular Pharmacology, 1939, 19(3644): 442-443.
- [11] LINDSKOG S. Structure and mechanism of carbonic anhydrase [J]. Pharmacol Ther, 1997, 74(1): 1-20.
- [12] SHARMA T, SHARMA S, KAMYAB H, et al. Energizing the CO₂ utilization by chemo-enzymatic approaches and potentialia-

- lity of carbonic anhydrases; A review[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2020, 247: 119138.
- [13] DOMSIC J F, MCKENNA R. Sequestration of carbon dioxide by the hydrophobic pocket of the carbonic anhydrases[J]. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2010, 1804: 326–331.
- [14] ZHANG S, LU Y. Kinetic performance of CO₂ absorption into a potassium carbonate solution promoted with the enzyme carbonic anhydrase; Comparison with a monoethanolamine solution[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2015, 279: 335–343.
- [15] PENDERS VAN ELK N J M C, HAMBORG E S, HUTTENHUIS P J G, et al. Kinetics of absorption of carbon dioxide in aqueous amine and carbonate solutions with carbonic anhydrase [J]. *International Journal of Greenhouse Gas Control*, 2013, 12: 259–268.
- [16] YE X H, LU Y Q. CO₂ absorption into catalyzed potassium carbonate-bicarbonate solutions; Kinetics and stability of the enzyme carbonic anhydrase as a biocatalyst[J]. *Chemical Engineering Science*, 2014, 116: 567–575.
- [17] ILIUTA I, ILIUTA M C. Enzymatic CO₂ capture in countercurrent packed-bed column reactors with high performance random packings[J]. *International Journal of Greenhouse Gas Control*, 2017, 63: 462–474.
- [18] LEIMBRINK M, LIMBERG T, KUNZE A K, et al. Different strategies for accelerated CO₂ absorption in packed columns by application of the biocatalyst carbonic anhydrase[J]. *Energy Procedia*, 2017, 114: 781–794.
- [19] LEIMBRINK M, TLATLIK S, SALMON S, et al. Pilot scale testing and modeling of enzymatic reactive absorption in packed columns for CO₂ capture[J]. *International Journal of Greenhouse Gas Control*, 2017, 62: 100–112.
- [20] LEIMBRINK M, NIKOLEIT K G, SPITZER R, et al. Enzymatic reactive absorption of CO₂ in MDEA by means of an innovative biocatalyst delivery system[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 334: 1195–1205.
- [21] ZHU Y, LI W, SUN G, et al. Enzymatic properties of immobilized carbonic anhydrase and the biocatalyst for promoting CO₂ capture in vertical reactor[J]. *International Journal of Greenhouse Gas Control*, 2016, 49: 290–296.
- [22] LUIS P, VAN GERVEN T, VAN DER BRUGGEN B. Recent developments in membrane-based technologies for CO₂ capture [J]. *Progress in Energy and Combustion Science*, 2012, 38: 419–448.
- [23] WARD W J, ROBB W L. Carbon dioxide-oxygen separation: Facilitated transport of carbon dioxide across a liquid film[J]. *Science*, 1967, 156: 1481–1484.
- [24] SUCHDEO S R, SCHULTZ J S. Mass transfer of CO₂ across membranes; Facilitation in the presence of bicarbonate ion and the enzyme carbonic anhydrase[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1974, 352: 412–440.
- [25] DUAN S, KAI T, NAKAO S I. Effect of carbonic anhydrase on CO₂ separation performance of thin poly(amidoamine) dendrimer/poly(ethylene glycol) hybrid membranes[J]. *Membranes (Basel)*, 2019, 9(12): 167.
- [26] COWAN R M, GE J J, QIN Y J, et al. CO₂ capture by means of an enzyme-based reactor[J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2003, 984: 453–469.
- [27] BAO L, TRACHTENBERG M C. Facilitated transport of CO₂ across a liquid membrane; Comparing enzyme, amine, and alkaline[J]. *Journal of Membrane Science*, 2006, 280: 330–334.
- [28] TRACHTENBERG M C, COWAN R M, SMITH D A, et al. Membrane-based, enzyme-facilitated, efficient carbon dioxide capture[J]. *Energy Procedia*, 2009, 1(1): 353–360.
- [29] FU Y, JIANG Y B, DUNPHY D, et al. Ultra-thin enzymatic liquid membrane for CO₂ separation and capture[J]. *Nature Communications*, 2018, 9: 990.
- [30] ZHANG Y T, ZHANG L, CHEN H L, et al. Selective separation of low concentration CO₂ using hydrogel immobilized CA enzyme based hollow fiber membrane reactors[J]. *Chemical Engineering Science*, 2010, 65: 3199–3207.
- [31] CHENG L H, ZHANG L, CHEN H L, et al. Hollow fiber contained hydrogel-CA membrane contactor for carbon dioxide removal from the enclosed spaces[J]. *Journal of Membrane Science*, 2008, 324: 33–43.
- [32] SHARMA A, BHATTACHARYA A, SHRIVASTAVA A. Biomimetic CO₂ sequestration using purified carbonic anhydrase from indigenous bacterial strains immobilized on biopolymeric materials[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2011, 48: 416–426.
- [33] BOND G M, STRINGER J, BRANDVOLD D K, et al. Development of integrated system for biomimetic CO₂ sequestration using the enzyme carbonic anhydrase[J]. *Energy & Fuels*, 2001, 15: 309–316.
- [34] FAVRE N, CHRIST M L, PIERRE A C. Biocatalytic capture of CO₂ with carbonic anhydrase and its transformation to solid carbonate[J]. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2009, 60: 163–170.
- [35] MIRJAFARI P, ASGHARI K, N Mahinpey. Investigating the application of enzyme carbonic anhydrase for CO₂ sequestration purposes[J]. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2007, 46: 921–926.
- [36] TISCHER W, WEDEKIND F. Immobilized enzyme; Methods and applications [J]. *Topics in Current Chemistry*, 1999, 200: 95–126.
- [37] SHELDON R A, VANPELT S. Enzyme immobilisation in biocatalysis; Why, what and how[J]. *Chemical Society Reviews*, 2013, 42: 6223–6235.
- [38] BASSO A, SERBAN S. Industrial applications of immobilized enzymes – A review [J]. *Molecular Catalysis*, 2019, 479: 110607.
- [39] ES I, VIEIRA J D G, AMARAL A C. Principles, techniques, and applications of biocatalyst immobilization for industrial application[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99: 2065–2082.

- [40] SECUNDO F. Conformational changes of enzymes upon immobilisation[J]. *Chemical Society Reviews*, 2013, 42: 6250–6261.
- [41] WANG L, JIANG R. Reversible his-tagged enzyme immobilization on functionalized carbon nanotubes as nanoscale biocatalyst[J]. *Methods in Molecular Biology*, 2011, 743: 95–106.
- [42] MOLINA FERNANDEZ C, LUIS P. Immobilization of carbonic anhydrase for CO₂ capture and its industrial implementation: A review [J]. *Journal of CO₂ Utilization*, 2021, 47: 101475.
- [43] LIU Q, CHAPMAN J, HUANG A, et al. User-tailored metal-organic frameworks as supports for carbonic anhydrase[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2018, 10: 41326–41337.
- [44] KHAMENEH H P, BOLOURI T G, NEMATI F, et al. A spectroscopic study on the absorption of carbonic anhydrase onto the nanoporous silica nanoparticle[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 99: 739–745.
- [45] SHAO P, CHEN H, YING Q, et al. Structure-activity relationship of carbonic anhydrase enzyme immobilized on various silica-based mesoporous molecular sieves for CO₂ absorption into a potassium carbonate solution [J]. *Energy & Fuels*, 2020, 34: 2089–2096.
- [46] VINOBA M, BHAGIYALAKSHMI M, JEONG S K, et al. Immobilization of carbonic anhydrase on spherical SBA-15 for hydration and sequestration of CO₂[J]. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*, 2012, 90: 91–96.
- [47] VINOBA M, BHAGIYALAKSHMI M, JEONG S K, et al. Carbonic anhydrase conjugated to nanosilver immobilized onto mesoporous SBA-15 for sequestration of CO₂[J]. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2012, 75: 60–67.
- [48] VINOBA M, LIM K S, LEE S H, et al. Immobilization of human carbonic anhydrase on gold nanoparticles assembled onto amine/thiol-functionalized mesoporous SBA-15 for biomimetic sequestration of CO₂[J]. *Langmuir*, 2011, 27: 6227–6234.
- [49] SHAO P J, CHEN H, YING Q, et al. Structure-activity relationship of carbonic anhydrase enzyme immobilized on various silica-based mesoporous molecular sieves for CO₂ absorption into a potassium carbonate solution[J]. *Energy Fuels*, 2020, 3: 2089–2096.
- [50] KIM J K, ABDELHAMID M A A, PACK S P. Direct immobilization and recovery of recombinant proteins from cell lysates by using EctP1-peptide as a short fusion tag for silica and titania supports[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 135: 969–977.
- [51] WANJARI S, PRABHU C, LABHSETWAR N, et al. Biomimetic carbon dioxide sequestration using immobilized bio-composite materials[J]. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2013, 93: 15–22.
- [52] PRABHU C, VALECHHA A, WANJARI S, et al. Carbon composite beads for immobilization of carbonic anhydrase[J]. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 2011, 71: 71–78.
- [53] ZHANG S, ZHANG Z, LU Y, et al. Activity and stability of immobilized carbonic anhydrase for promoting CO₂ absorption into a carbonate solution for post-combustion CO₂ capture[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102: 10194–10201.
- [54] SAHOO P C, KUMAR M, SINGH A, et al. Accelerated CO₂ capture in hybrid solvent using co-immobilized enzyme/complex on a hetero-functionalized support [J]. *Journal of CO₂ Utilization*, 2017, 21: 77–81.
- [55] PEIRCE S, RUSSO M E, PERFETTO R, et al. Kinetic characterization of carbonic anhydrase immobilized on magnetic nanoparticles as biocatalyst for CO₂ capture[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2018, 138: 1–11.
- [56] SUN J, WEI L, WANG Y, et al. Immobilization of carbonic anhydrase on polyvinylidene fluoride membranes[J]. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 2018, 65: 362–371.
- [57] SUN J, WANG C, WANG Y, et al. Immobilization of carbonic anhydrase on polyethylenimine/dopamine codeposited membranes[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2019, 136(29): 47784.
- [58] MERLE G, FRADETTE S, MADORE E, et al. Electropolymerized carbonic anhydrase immobilization for carbon dioxide capture[J]. *Langmuir*, 2014, 30: 6915–6919.
- [59] PEIRCE S, RUSSO M E, ISTATATO R, et al. Structure and activity of magnetic cross-linked enzyme aggregates of bovine carbonic anhydrase as promoters of enzymatic CO₂ capture[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2017, 127: 188–195.
- [60] PEIRCE S, RUSSO M E, LUCA V D, et al. Immobilization of carbonic anhydrase for biomimetic CO₂ capture in a slurry absorber as cross-linked enzyme aggregates (CLEA)[J]. *Chemical Engineering Transactions*, 2015, 43: 259–264.
- [61] KANBAR B, OZDEMIR E. Thermal stability of carbonic anhydrase immobilized within polyurethane foam[J]. *Biotechnology Progress*, 2010, 26(5): 1474–1480.
- [62] JUN S, YANG J, JEON H, et al. Stabilized and immobilized carbonic anhydrase on electrospun nanofibers for enzymatic CO₂ conversion and utilization in expedited microalgal growth [J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54: 1223–1231.
- [63] SUN C H, WANG Y Z, WANG S X, et al. Immobilization of carbonic anhydrase on polyethylenimine/dopamine codeposited membranes[J]. *Journal of Applied Polymer Science*, 2019, 136: 47784.
- [64] XU D Y, YANG Y, YANG Z. Activity and stability of cross-linked tyrosinase aggregates in aqueous and nonaqueous media [J]. *Journal of Biotechnology*, 2011, 152: 30–36.
- [65] OVIYA M, SUKIMARAN V, GIRI S S, et al. Immobilization and characterization of carbonic anhydrase purified from *E. coli* MO1 and its influence on CO₂ sequestration[J]. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2013, 29(10): 1813–1820.
- [66] SIMSEK EGE F A, BOND G M, STRINGER J. Matrix molecular weight cut-off for encapsulation of carbonic anhydrase in

- polyelectrolyte beads[J]. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 2002, 13(11): 1175–1187.
- [67] ZHANG Y T, FAN L H, ZHI T T, et al. Synthesis and characterization of poly(acrylic acid-co-acrylamide)/hydrotalcite nanocomposite hydrogels for carbonic anhydrase immobilization[J]. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 2009, 47: 3232–3240.
- [68] ZHANG Y T, ZHI T T, ZHANG L, et al. Immobilization of carbonic anhydrase by embedding and covalent coupling into nanocomposite hydrogel containing hydrotalcite[J]. *Polymer*, 2009, 50: 5693–5700.
- [69] ASADI V, KARDANPOUR R, TANGESTANINEJAD S, et al. Novel bovine carbonic anhydrase encapsulated in a metal-organic framework: A new platform for biomimetic sequestration of CO₂[J]. *RSC Advances*, 2019, 9: 28460–28469.
- [70] ZHANG S H, DU M, SHAO P J, et al. Carbonic anhydrase enzyme-MOFs composite with a superior catalytic performance to promote CO₂ absorption into tertiary amine solution[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52: 12708–12716.