

## استفاده از آنزیم به عنوان ماده‌ی جهت دهنده‌ی ساختار در تهیه سیلیکای نانوحفره

افضل کریمی\*<sup>+</sup>، سید مهدی موسوی

تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده شیمی، گروه شیمی کاربردی و مهندسی شیمی

**چکیده:** در این پژوهش از ستیل پیریدینیم کلرید (CPC) به عنوان نماینده مواد کاهنده کشش سطحی و آنزیم آلفا-آمیلاز به عنوان نظم دهنده جدید ساختار در تهیه سیلیکای متخلخل به روش سل-ژل استفاده شده و اثر آنها در ایجاد تخلخل و نظم ساختار، بایکدیگر و با سیلیکای ساخته شده بدون قالب ساختار، مقایسه شده است. مزیت عمده ماده جدید، ایجاد حفره‌های بزرگ بین ذره‌ای و حفره‌های ساختاری با قطر متوسط به نسبت بزرگ (۲۸ نانومتر) می‌باشد که ویژگی اول به دلیل مقاومت کمتر در برابر پدیده‌های انتقال و ویژگی دوم به علت ایجاد بستر مناسب برای نشست ذره‌های درشت کاتالیستی می‌تواند به عنوان پایه تثبیت کاتالیزورها به ویژه آنزیم‌های درشت ملکول مناسب تر از پایه‌های ریز حفره باشد. پایه‌های ساخته شده در حضور قالب ساختارها (CPC و آنزیم) بر خلاف سیلیکای تهیه شده بدون قالب، از نظم حفرات بیشتری برخوردار بودند و سطح ویژه بالاتری ایجاد کردند. با وجود سطح ویژه پایین تر سیلیکای متخلخل جدید در مقایسه با سیلیکای ساخته شده با CPC (۷۲۰ در مقابل ۹۰۰ متر مربع بر گرم)، آزمایش‌های اولیه نشان داد که پایه جدید برای تثبیت ملکول‌های درشت مانند آنزیم آلفا-آمیلاز مناسب است و میزان بارگذاری آنزیم در پایه جدید تا ۲ برابر بیشتر از پایه ساخته شده با CPC بود.

**واژه‌های کلیدی:** آنزیم، پایه کاتالیست، سیلیکای متخلخل، قالب ساختار، نانوحفره

**KEY WORDS:** Enzyme, Catalyst support, Porous silica, Nanoporous, Template.

### مقدمه

منحصر به فرد این مواد می‌توان نظم بالای اندازه حفره‌های مقیاس نانو و سطح ویژه وسیع آنها را نام برد که در کنار استحکام مکانیکی و مقاومت حرارتی و شیمیایی مناسب، کاربردهای متنوعی را در صنعت برای این مواد ایجاد کرده است. استفاده از این نوع مواد به عنوان پایه تثبیت کاتالیست‌های شیمیایی و آنزیم‌ها، ساخت غشاهای نانو حفره، تهیه سنسورها و غیره گزارش شده است [۹-۱۱].

نانوذرات سیلیکا به‌طور معمول با روش‌های نشست بخار شیمیایی، پیرولیز مواد آلی یا سل-ژل ساخته می‌شوند [۱۲-۱۴]. روش سل-ژل

ساختارهای نانوحفره منظم به طور مصنوعی با استفاده از اکسیدهای فلزی و سیلیکون ساخته می‌شوند [۳-۱]. ترکیب‌های سیلیکای متخلخل، حجم بیشتر تحقیقات را در این زمینه به خود اختصاص داده است [۵، ۴]. ساخت ترکیبات نانو حفره پایه سیلیکاتی اولین بار در سال ۱۹۹۰ میلادی توسط محققین شرکت Mobil Oil به‌روش خودآرایی سیلیکا در شرایط بازی گزارش شد. به دنبال آن، تحقیقات گسترده‌ای برای ساخت کنترل شده و طراحی ترکیب‌های متخلخل در مقیاس نانو با ریخت‌های گوناگون مانند مونولیت، رشته‌ای و ذره‌های کروی صورت گرفت [۸-۶]. از ویژگی‌های

\*عهده دار مکاتبات

+ E-mail: akarimi@tabrizu.ac.ir

## بخش تجربی

### مواد

مواد مورد استفاده در این تحقیق، تترااتیل ارتوسیلیکات (۹۸ درصد TEOS (Fisher)، ستیل پیریدینیوم کلرید (CPC, Aldrich)، محلول آمونیاک (۲۵ درصد، Merck)، آلفا-آمیلاز (EC 3.2.1.1، from Asp. Oryzae, Sigma) و اتانول (ایران آرارات ۹۶ درصد)، تهیه شدند و بدون انجام خالص سازی بیشتر، به همان صورت دریافتی مورد استفاده قرار گرفتند. برای تهیه محلولهای آبی نیز از آب دیونیزه استفاده شد.

### تهیه سیلیکای نانوحفره

نانوذرات سیلیکا، از طریق کنترل هیدرولیز TEOS در مخلوطی از اتانول و آب و کاتالیزگر بازی ساخته شدند [۱۹]. در هر آزمایش، اتانول، آب و محلول کاتالیزگر آمونیاکی تهیه و به مدت ۳۰ دقیقه هم زده شد. برای آزمایش بررسی اثر الگو در نظم ساختار نانو حفره، CPC یا آلفا - آمیلاز نیز به محلول اضافه شد. پس از اضافه کردن سریع TEOS به مخلوط از پیش تهیه شده، هم زدن جهت انجام هیدرولیز اولیه برای ۱ ساعت ادامه یافت. پس از مرحله رشد و چگالش، ذرات به وجود آمده، با ساترینفورژ در ۹۰۰۰ rpm جدا شده و به مدت ۲۴ ساعت در آن دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد خشک شدند. به منظور حذف الگو از ساختار، کلسینه کردن در دمای ۶۰۰ سانتیگراد به مدت ۵ ساعت انجام گرفت. غلظت آمونیاک، TEOS و آب به ترتیب ۰٫۲، ۰٫۲ و ۳٫۲ مولار بود و توسط اتانول به حجم رسید. به ۱۰۰ سی سی از این مخلوط، ۱٫۷ گرم CPC یا آنزیم خشک به عنوان نظم دهنده ساختار اضافه شده بود.

### بررسی ساختار نانوحفره

ریخت ساختاری پرلیت طبیعی و اصلاح شده، توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مدل LEO VP 1455، سطح ویژه و حجم حفرات با روش جذب نیتروژن (BET) توسط دستگاه Micromeritics Gemini 2375 V4/02 و ساختار کریستالی و نظم حفرهها به کمک دستگاه پراش اشعه ایکس (XRD) Semens D5000 با تشعشع (۱۰-۰٫۵ =  $2\theta$ ،  $\lambda = 0.564 \text{ \AA}$ ) مورد مطالعه قرار گرفت.

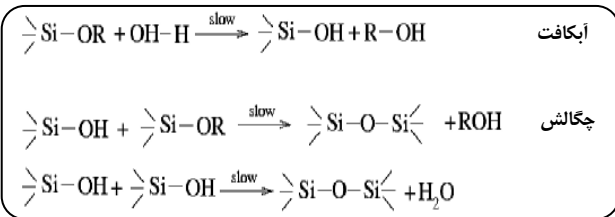
### تثبیت آنزیم

به منظور بررسی امکان تثبیت آنزیم در پایههای ساخته شده، یک گرم از هر پایه مورد مطالعه به مدت ۴ ساعت در همزن

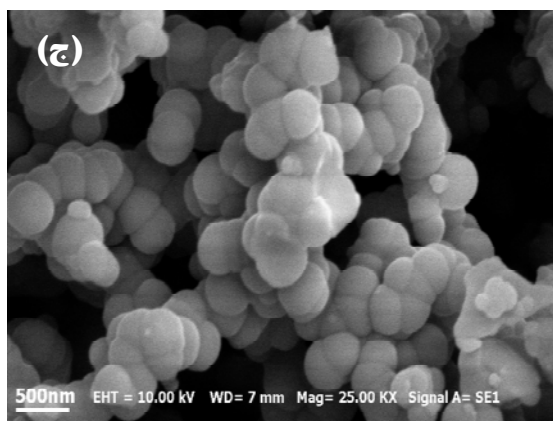
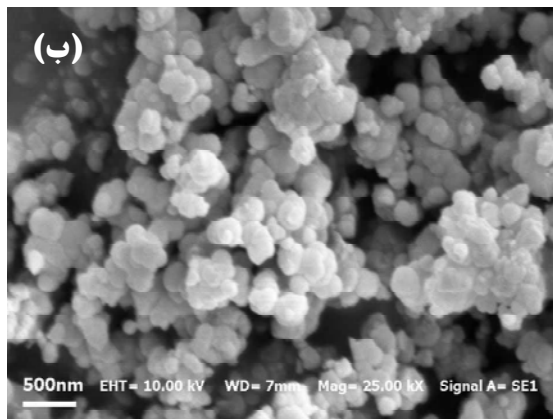
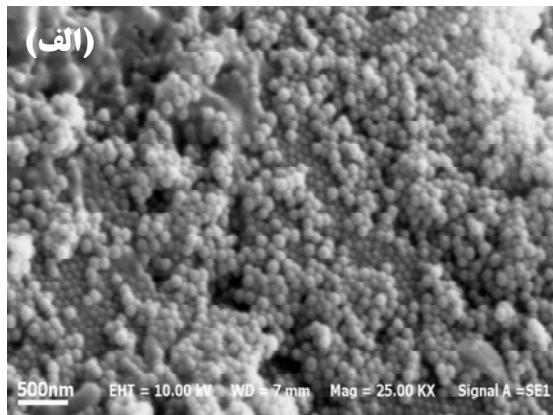
به دلیل ایجاد توزیع یکنواخت اندازه ذرهها و آسانی کار، بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. در روش سل - ژل که به روش الگوی مولکولی نیز موسوم است، کنترل اندازه ذرهها و به دنبال آن ساختار و نظم حفرهها از طریق انتخاب درست شرایط عملیاتی مانند نوع و غلظت جهت دهنده ساختار (الگو یا قالب ساختار)، نوع و غلظت پیش ماده، pH و دما امکان پذیر می باشد [۱۵]. با توجه به نوع ماده اولیه سیلیکون دار (آلی یا معدنی)، روش ساخت اخیر خود به دو گروه کلوئیدی و پلیمری تقسیم می شود [۱۶]. سیلیکای معدنی که به طور عمده در ساخت مواد نانو حفره به روش کلوئیدی مورد استفاده قرار می گیرد، سیلیکات سدیم ( $\text{Na}_2\text{SiO}_3$ ) می باشد [۱۷، ۵]. در روش پلیمری از آلكواکسیدهای سیلیکون مانند تترااتیل ارتوسیلیکات (TEOS) به عنوان منبع سیلیکون استفاده می شود. کنترل فرایند پلیمری در مقایسه با روش کلوئیدی آسان تر است [۶].

پلیمری کردن TEOS بدون حضور قالب ساختار موجب تولید ذرههای ریز یکنواخت (۷۰ - ۵۰ نانومتر) و حفرههای نانومتری نامنظم می شود [۶]. استفاده از مواد کاهنده کشش سطحی به عنوان الگوی جهت دهنده ساختار منجر به ایجاد ذرههای درشت تر و بهم پیوستن آنها می شود [۱۸]. اندازه این ذرهها و اندازه حفرههای درون ساختار تابع نوع الگو می باشد [۱۸، ۶]. بسته به نوع انتظار و کاربری پیش بینی شده برای سیلیکای متخلخل، می توان از هر یک از شرایط برای ساخت پایه بهره برد. به عنوان مثال اگر استفاده به عنوان پایه کاتالیست مورد نظر باشد، ذرات ریزتر، سطح ویژه بالاتری به وجود می آورند اما نفوذ واکنشگرها و فرآوردهها به درون ساختار و به بیرون از آن محدود شده و در نتیجه سرعت واکنش مورد نظر کاهش می یابد. تشکیل تخلخل درون ساختاری مقیاس میکرومتر، شرایط را برای نفوذ واکنشگرها به داخل پایه مهیا می سازد اما میزان بارگذاری کاتالیزگر را کاهش می دهد.

بررسی امکان استفاده از آنزیم به عنوان عامل جهت دهنده و نظم دهنده ساختار هدف عمده این تحقیق است. آنزیمها ملکولهای زیستی با ابعاد درشتی (۲ تا ۸ نانومتر) هستند و در صورت موفقیت تحقیق، ضمن حفظ تخلخل مورد نیاز برای نفوذ واکنشگرها، بستر لازم نیز جهت اتصال یا قرارگیری کاتالیستها به ویژه کاتالیستهای زیستی بر روی پایه جدید فراهم می شود. در این تحقیق همچنین از ستیل پیریدینیوم کلرید (CPC) نیز به عنوان نماینده مواد کاهنده کشش سطحی به عنوان قالب ساختار استفاده شده و با عملکرد آنزیم مورد مقایسه قرار گرفته است.



شکل ۱- آبکافت و چگالش تترا اتیل ارتو سیلیکات و تشکیل سیلیکای متخلخل.



شکل ۲- تصاویر SEM سیلیکای ساخته شده بدون قالب ساختار (الف)، با قالب ساختار CPC (ب) و با قالب ساختار آنزیم (ج).

با ۶۰rpm در تماس با محلول آنزیمی با غلظت مشخص قرار داده شد و کاهش غلظت محلول آنزیمی بعد از این مدت به عنوان مقدار آنزیم تثبیت شده در یک گرم پایه محاسبه و ثبت شد [۲۰].

## نتیجه‌ها و بحث

### ساخت سیلیکای نانوحفره

فرآیند سل - ژل در چند مرحله متوالی آبکافت مولکول اولیه، چگالش و رشد پلیمر سیلیکا، خشک کردن و کلسینه کردن انجام می‌گیرد [۱۶]. واکنش‌های کلی آبکافت و چگالش آلکواکسیدها (مانند TEOS) را می‌توان در شکل ۱ نشان داد.

در مرحله آبکافت طی مکانیسم جانشینی دوگانه (SN<sub>2</sub>)، گروه‌های هیدروکسیل (-OH) جایگزین گروه‌های آلکوکسید (-OR) در ارگانوسیلان‌ها می‌شود. برای کاتالیز کردن این مرحله از آمونیاک استفاده شد. در ادامه واکنش‌های چگالش متوالی در حضور گروه‌های سیلانول (Si-OH) حاصل از آبکافت ارگانوسیلان، پیوندهای سیلوکسان (Si-O-Si) همراه با فراورده‌های جانبی آب یا الکل تولید می‌شود. مهمترین قسمت در این واکنش، تشکیل پیوندهای سیلوکسان در طی مرحله چگالش می‌باشد. بطوری که کنترل میزان تشکیل این پیوندها مابین گروه‌های سیلانول حاصل از آبکافت TEOS که از طریق کنترل شرایط واکنش مانند نوع کاتالیزت و زمان رشد پلیمر امکان پذیر است، ساختار مناسب اصلاح شده را تعیین می‌کند.

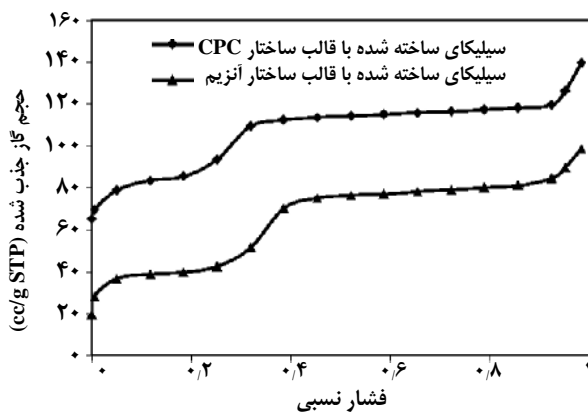
### اثر ماده نظم دهنده ساختار (قالب ساختار)

در شکل ۲ تصاویر SEM سیلیکای متخلخل بدون استفاده از ماده نظم دهنده ساختار، در حضور CPC و آلفا - آمیلاز نشان داده شده است. گزارش‌های معتبر علمی نشان داده است که در صورت عدم استفاده از الگو، ذرات سیلیکای حاصل ریزتر خواهد بود و استفاده از الگو موجب افزایش اندازه ذرات و به هم چسبیدن آنها می‌شود [۱۸]. تصویرهای SEM حاصل نیز این مطلب را تایید می‌نمایند. به طوری که نسبت اندازه ذره‌ها در صورت استفاده از الگو به نوع بدون الگو در حدود ۴ تا ۱۰ برابر به ترتیب در حضور CPC و آلفا - آمیلاز بود. با کمک تصاویر SEM اندازه متوسط ذرات سیلیکای ساخته شده بدون قالب ساختار، ۳۰ تا ۶۰ نانومتر تخمین زده می‌شود.

بزرگ بودن اندازه ذرات از یک جهت موجب کاهش سطح ویژه بستر سیلیکا می‌شود، اما محدودیت‌های نفوذ واکنشگرها به درون ساختار و محصولات به بیرون از آن کاهش می‌یابد. به هم

جدول ۱- خواص سیلیکاهای ساخته شده بر اساس نوع الگوی قالب ساختار.

فاصله‌ی دو مرکز حفره $a_0$ (nm)	$d_{100}$ (nm)	حجم حفرات ( $\text{cm}^3/\text{g}$ )	سطح ویژه ( $\text{m}^2/\text{g}$ )	نوع ماده نظم دهنده ساختار
---	---	۰/۰۸۵۴	۴۴۰	بدون قالب ساختار
۱۱/۹	۱۰/۲۸	۰/۱۸۵۳	۹۰۰	CPC
۲۸	۱۵/۵۴	۰/۲۳۵۱	۷۲۰	آلفا-آمیلاز



شکل ۳- ایزوترم‌های جذب نیتروژن در سیلیکاهای ساخته شده در حضور الگوی CPC و آنزیم.

ساختارهای منظم نمی‌باشد. نتایج پراش اشعه X، نشان دهنده‌ی نظم هگزاگونالی ساختار نانوحفره‌ی سیلیکا در حضور هر دو الگوی قالب ساختار می‌باشد. نظم هگزاگونالی ساختار باعث افزایش سطح ویژه سیلیکای نانوحفره می‌شود (جدول ۱).

اندازه‌ی متوسط ذرات  $d_{100}$  Å مطابق معادله‌ی شرر<sup>(۱)</sup> محاسبه و در جدول ۱ گزارش شده است. فاصله‌ی بین دو مرکز حفره‌ی مجاور (a) نیز مطابق معادله‌ی زیر محاسبه و در جدول ۱ فهرست شده است [۲۱]:

$$a = 2d_{100} / \sqrt{3}$$

مطابق نتایج جدول ۱ و با فرض برابری تقریبی اندازه‌ی حفره‌ها به فاصله‌ی بین دو مرکز حفره‌ی مجاور، مشاهده می‌شود که سیلیکای ساخته شده در حضور الگوی آنزیم دارای قطر حفره‌های بزرگتری نسبت به سیلیکای ساخته شده با الگوی CPC می‌باشد. قطر متوسط منافذ سیلیکای حاصل از تنظیم توسط آنزیم بزرگتر از ابعاد تمام ملکول‌های آنزیمی است، بنابراین پایه حاصل می‌تواند برای تثبیت انواع مختلف آنزیم‌ها از جمله خود آلفا - آمیلاز مناسب باشد.

پیوستن ذره‌های سیلیکا در حضور مواد قالب ساختار (مواد کاهنده کشش سطحی و آنزیم) باعث ایجاد تخلخل خارجی می‌شود و بستر مناسبی برای تثبیت کاتالیست فراهم می‌کند. این ویژگی در کنار قطر بزرگ حفرات تخلخل ساختاری، برای تثبیت کاتالیست به‌ویژه کاتالیست‌های درشت مانند آنزیم‌ها و همچنین تسهیل پدیده‌های انتقال مفید است.

سطح ویژه و حجم حفرات سیلیکاهای ساخته شده، با روش جذب نیتروژن (BET) اندازه‌گیری و در جدول ۱ با یکدیگر مقایسه شده است. ایزوترم جذب نیتروژن هر دو نمونه سیلیکای ساخته شده در شکل ۳ نشان داده شده است. تاکنون از انواع مختلف مواد کاهنده کشش سطحی اعم از کاتیونی و آنیونی، به عنوان عامل نظم دهنده مواد متخلخل مانند سیلیکای نانوحفره استفاده شده است [۱۷، ۸ - ۵]. نتیجه‌های تمامی این گزارش‌ها، افزایش سطح ویژه و حجم حفره‌ها در اثر حضور این گونه مواد بوده است. مطابق نتیجه‌های جدول ۱، مشاهده می‌شود که سیلیکای ساخته شده در حضور هر دو الگوی قالب ساختار، دارای سطح ویژه و حجم حفرات بالاتر نسبت به سیلیکای ساخته شده بدون حضور الگوی قالب ساختار می‌باشند. نتایج آنالیز BET نشان داد که سیلیکای نانوحفره‌ی ساخته شده با الگوی آنزیم، دارای سطح ویژه‌ی کمتری نسبت به نمونه‌ی ساخته شده با الگوی CPC می‌باشد. نتیجه‌های حاصل همچنین نشان می‌دهد که از ملکول‌های آنزیمی نیز می‌توان به عنوان الگو یا قالب ساختار در تهیه مواد متخلخل منظم حفره استفاده کرد. همانگونه که اشاره شد، مواد متخلخل نظم یافته با آنزیم، با وجود ایجاد حفره‌های بزرگتر و در نتیجه سطح ویژه پایین‌تر، برای برخی منظورها از جمله تثبیت آنزیم‌ها می‌تواند سودمندتر باشد.

ساختار کریستالی و نظم حفرات سیلیکاهای ساخته شده، با استفاده از پراش اشعه X بررسی شد. طیف XRD نمونه‌های ساخته شده در شکل ۴ نشان داده شده است. طیف XRD نمونه‌های ساخته شده در حضور آنزیم و CPC، سه پیک در زاویه‌های پراش پایین دارا می‌باشند که پیک‌های تفرق براگ<sup>(۱)</sup> نامیده می‌شوند. این پیک‌ها مربوط به انعکاس (۱۰۰)، (۱۱۰) و (۲۰۰) تقارن شش وجهی P6mm می‌باشند.

طیف XRD نمونه ساخته شده بدون قالب ساختار، فاقد پیک مشخص در ۲θهای ۰/۵ تا ۱۰ بود، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که این ساختار آمورف بوده و ریخت آن شبیه هیچ یک از

(۱) Bragg

(۲) Sherrer

متخلخل نیز مطرح است و ممکن است با وجود کاتالیزگر تثبیت شده زیاد، سرعت واکنش مورد نظر در حد انتظار نباشد. در آزمایش دیگری به عنوان بررسی اولیه برای امکان استفاده از پایه جدید برای تثبیت آنزیم، آلفا - آمیلاز روی این پایه‌ها تثبیت شد. نتیجه‌های این آزمایش نشان داد که میزان بارگذاری آنزیم در بستر ساخته شده در حضور خود آنزیم (بستر خود تنظیم) تا ۲ برابر بیشتر از مقدار آنزیم تثبیت شده روی بستر تنظیم شده با CPC و هر دو مورد بیشتر از میزان بارگذاری روی پایه ساخته شده بدون قالب ساختار می‌باشد (نتیجه‌ها در اینجا نشان داده نشده است). یافته اخیر به ظاهر مغایر مقدارهای سطح ویژه می‌باشد و برخلاف انتظار با وجود سطح ویژه کمتر بستر خود تنظیم، میزان بارگذاری آنزیم در آن بیشتر است. مشاهده اخیر را می‌توان چنین توجیه کرد که برای تثبیت و نفوذ آنزیم در تخلخل بستر، حداقل اندازه حفرات باید بیشتر از اندازه خود آنزیم باشد. این همان نتیجه‌ای است که بستر خود تنظیم واجد آن می‌باشد.

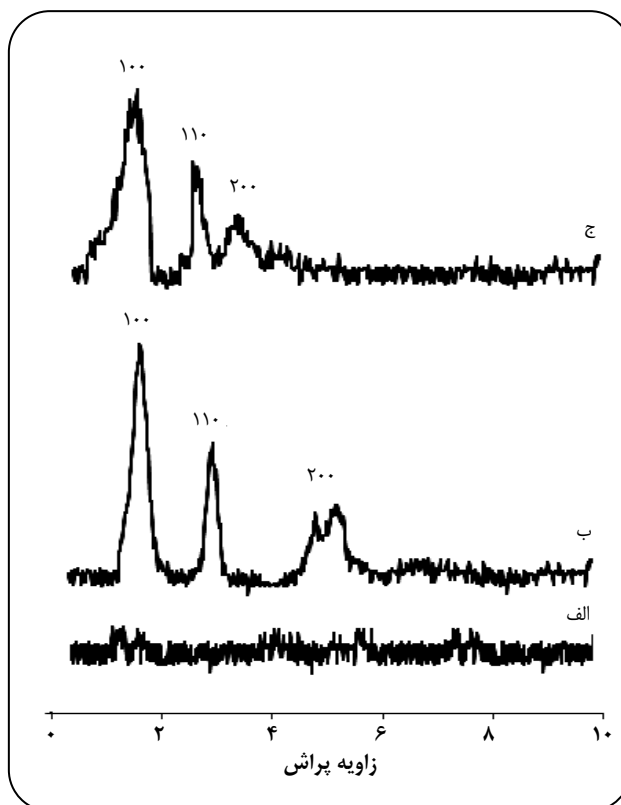
### نتیجه گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که از آنزیم نیز می‌توان به عنوان قالب یا الگو برای نظم دادن به ساختار حفره‌ای سیلیکا استفاده کرد. نکته قابل توجه این است که در صورت استفاده از آنزیم به عنوان الگوی نظم دهنده، ساختار حاصل می‌تواند برای تثبیت خود آنزیم بسیار مفید باشد زیرا علاوه بر یکنواختی حفرات، اندازه آنها نیز بزرگتر و نزدیک به ابعاد خود آنزیم خواهد بود و در نتیجه حداکثر سطح ویژه قابل استفاده برای تثبیت مورد نظر حاصل خواهد شد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از گزارش نهایی طرح پژوهشی "تثبیت آنزیم در نانوحفرات خود تنظیم" می‌باشد که از محل اعتبارات پژوهشی دانشگاه تبریز اجرا شده است و بدینوسیله از حمایت‌های مالی این دانشگاه قدردانی می‌شود.

تاریخ دریافت: ۱۳۸۷/۹/۲۰ ، تاریخ پذیرش: ۱۳۸۸/۶/۱۶



شکل ۴ - طیف پراش اشعه x سیلیکای ساخته شده بدون قالب ساختار (الف)، با CPC به عنوان الگوی قالب ساختار (ب)، با آنزیم به عنوان الگوی قالب ساختار (ج).

از سیلیکای متخلخل به طور معمول به عنوان پایه تثبیت کاتالیزگرهای شیمیایی یا زیستی (آنزیمی) استفاده می‌شود. هرچه سطح ویژه وسیع‌تر باشد ممکن است کاتالیزگر بیشتری در آن قابل بارگذاری باشد، اما از سوی دیگر به ویژه در مورد آنزیم‌های درشت ملکول اگر قطر حفرات از اندازه ملکول آنزیم کوچکتر باشد، امکان نفوذ کاتالیزگر آنزیمی به درون حفرات وجود نخواهد داشت. ذکر این نکته نیز لازم است که اگرچه سطح ویژه وسیع ممکن است کاتالیزگر بیشتری را تثبیت نماید اما پدیده‌های نفوذ و انتقال واکنشگرها به درون و محصولات به بیرون ساختارهای بسیار

### منابع

- [1] Fejes P., Kis V., Lazar K., Marsi I., Nagy J.B., Various Nano-Size Iron Oxide Polymorphs on Mesoporous Supports (I): New Mesoporous Catalyst Supports Synthesized in Acidic and Alkaline Media, *Micropor. Mesopor. Mat*, **112**, p. 377-39 (2008).

- [2] Nagaraja B.M., Abimanyu H., Jung K.D., Yoo K.S., Preparation of Mesostructured Barium Sulfate with High Surface Area by Dispersion Method and Its Characterization, *J. Colloid Interf. Sci.*, **316**, p. 645 (2007).
- [3] Li Q., Brown S.E., Broadbelt L.J., Zheng J.G., Wu N.Q., Synthesis and Characterization of MCM-41-Supported Ba<sub>2</sub>SiO<sub>4</sub> Base Catalyst”, *Micropor. Mesopor. Mat.*, **59**, pp. 105–111 (2003).
- [4] Naik S.P., Sokolov I., Room Temperature Synthesis of Nanoporous Silica Spheres and Their Formation Mechanism, *Solid State Commun.*, **09**, pp. 1-4 (2007).
- [5] Zukal A., Thommes M., Cejka J., Synthesis of Highly Ordered MCM-41 Silica with Spherical Particles, *Micropor. Mesopor. Mat.*, **104**, p. 52 (2007).
- [6] Jiun J., Kurumada K., Pei L., Tanigaki M., Syntheses of Ordered Mesoporous Silica by New Hybrid Template, *Colloid Surface B: Biointerfaces*, **38**, p. 121 (2004).
- [7] Chen Q., Sakamoto Y., Terasaki O., Che S., Synthesis of Silica Mesoporous Crystals with Controlled Structure and Morphology Using Gemini Surfactant, *Micropor. Mesopor. Mat.*, **105**, p. 24 (2007).
- [8] Vacassy R., Flatt R.J., Hofmann H., Choik K.S., Singhy R.K., Synthesis of Microporous Silica Spheres, *J. Colloid Interf. Sci.* **227**, p. 302 (2000).
- [9] Dai Z., Bao J., Yang X., Ju H., A Bionzyme Channeling Glucose Sensor with a Wide Concentration Range Based on Co-Entrapment of Enzymes in SBA-15, *Mesopores. Biosens Bioelectron*, **23**, p. 1070 (2008).
- [10] Kataoka S., Endo A., Harada A., Inagi Y., Ohmori T., Characterization of Mesoporous Catalyst Supports on Microreactor Walls, *App. Catal. A-Gen.* **342**, p. 107 (2008).
- [11] Ma H., He J., Evans D.G., Duan X., Immobilization of Lipase in a Mesoporous Reactor Based on MCM-41, *J. Mo. Catal. B-Enzym.* **30**, p. 209 (2004).
- [12] Brinker C.J., Sehgal R., Raman N., Schunk P.R., Headley T.J., Polymer Approach to Supported Silica Membranes, *J. Sol Gel Sci. Techn.* **2**, p. 469 (1994).
- [13] Burggraaf A.J., Cot L. “Fundamentals of Inorganic Membranes Science and Technology”, *Elsevier*. (1996).
- [14] McCool B.A., Hill N., Dicarlo J., DeSisto W.J., Synthesis and Characterization of Mesoporous Silica Membranes via Dip-Coating and Hydrothermal Deposition Techniques, *J. Membrane Sci.* **218**, p. 55 (2003).
- [15] Zhao D., Huo Q., Feng J., Chmelka B.F., Stucky G.D., Nonionic Triblock and Star Diblock Copolymer and Oligomeric Surfactant Syntheses of Highly Ordered, Hydrothermally Stable, Mesoporous Silica Structures, *J. Am. Chem. Soc.* **120**, p. 6024 (1998).
- [16] Brinker C.J., Sehgal R., Hietala S.Z., Deshpande R., Smith D.M., Loy D., Ashley C.S., Sol-Gel Strategies for Controlled Porosity Inorganic Materials, *J. Membrane Sci.* **94**, p. 85(1994).
- [17] Pang X., Tang F., Morphological Control of Mesoporous Materials using Inexpensive Silica Sources”, *Micropor. Mesopor. Mar.*, **85**, p. 1 (2005).

- [18] Ohkubo T., Ogura T., Sakai H., Abe M., Synthesis of Highly-Ordered Mesoporous Silica Particles Using Mixed Cationic and Anionic Surfactants as Templates”, *J. Colloid Interf. Sci.* **312**, p. 42 (2007).
- [19] Stober W. A., Fink A., Bohn E., Controlled Growth of Monodisperse Silica Spheres in the Micron Sizerange, *J. Colloid Interf. Sci.* **26**, p. 62 (1968).
- [20] Fagain C., Enzyme Stabilization-Recent Experimental Progress, *Enzyme Microb. Technol.* **33**, p. 137 (2003).
- [21] Echchahed, B., Morin, M., Blais, S., Badiei, A.R., Berhault, G., Bonneviot, L., Ion mediation and surface charge density in phase transition of micelle templated silica, *Micropor. Mesopor. Mat.*, **44**, p. 53 (2001).
- [22] Nana, z., Xuea, X., Houb, W., Yanb, X., Han, S., Fabrication of MCM-41 Mesoporous Silica Through the Self- Assembly Supermolecule of b-CD and CTAB, *Journal of Solid State Chemistry*, **180**, p. 780 (2007).