



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 105749975 A

(43)申请公布日 2016.07.13

(21)申请号 201610121991.8

(22)申请日 2016.03.04

(71)申请人 江苏大学

地址 212013 江苏省镇江市京口区学府路
301号

(72)发明人 邹彬 陈学珊 夏姣姣 霍书豪
邓甜 崔凤杰

(74)专利代理机构 江苏致邦律师事务所 32230
代理人 徐蓓

(51) Int. Cl.

B01J 31/22(2006.01)

B01J 31/16(2006.01)

C07D 307/68(2006.01)

权利要求书1页 说明书5页

(54)发明名称

一种固定化金属卟啉酶催化剂及其制备方法

(57)摘要

本发明提供一种固定化金属卟啉酶催化剂及其制备方法,该催化剂可在选择性氧化剂存在的条件下,氧化催化羟甲基糠醛(HMF)生成呋喃二甲酸(FDCA)。

1. 一种固定化金属卟啉酶催化剂的制备方法,其特征在于:用离子液体修饰介孔分子筛材料获得经过表面修饰的介孔分子筛材料,用含不同取代基的卟啉化合物与金属盐在有机溶剂中进行配位反应生成金属卟啉化合物,通过物理吸附将金属卟啉化合物固定化于经过表面修饰的介孔分子筛材料表面,获得特定的固定化金属卟啉酶。

2. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,所述离子液体为带有功能基团的咪唑类离子液体,且离子液体所带有的阴离子功能基团为-OH、-NH₂碱性基团。

3. 根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于,离子液体所带有的阳离子功能基团为氨基、巯基、甲基、乙基、异丙基中的一种。

4. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,介孔分子筛材料为SiO₂、活性炭、石墨烯中的一种。

5. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,所述带有取代基的卟啉类化合物中的取代基为吡啶基、羟基、羧基、醛基、羰基、苯基中的一种。

6. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,金属盐中的金属为钴、锰、铜、锌、铁、锡中的一种。

7. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,还包括将获得固定化的金属卟啉酶包埋的步骤。

8. 一种制备固定化金属卟啉酶催化剂的方法,其特征在于,制作的具体步骤为:

(1) 将含不同取代基的卟啉类化合物在有机溶剂中与金属盐进行配位反应,获得具有不同金属中心及取代基的金属卟啉化合物;

(2) 用带有功能基团的咪唑类离子液体与介孔分子筛材料在甲苯溶液中于110 °C条件下反应24 h;过滤得到载体,并用二氯甲烷索氏提取20 h,获得经过表面修饰的介孔分子筛材料;

(3) 将步骤(1)获得的金属卟啉与步骤(2)获得的经过表面修饰的介孔分子筛材料在0.0125 M Tris-HCl缓冲溶液中混合接触,在缓冲溶液的作用下稳定了反应体系的PH。之后再将混合溶液在30 °C的温度和150 rpm转速下搅拌直至样品达到物理吸附平衡,过滤获得固定化的金属卟啉酶。

(4) 将步骤(3)获得的固定化的金属卟啉酶浸入到CaCl₂溶液中并搅拌1 h,将混合液注入到2% w/v海藻酸钠溶液中进行老化,获得海藻酸钙凝胶包埋的金属卟啉酶。

9. 上述任一权利要求所述的方法制得固定化金属卟啉酶。

10. 一种催化氧化羟甲基糠醛(HMF)的方法,其特征在于,将羟甲基糠醛(HMF)溶解,并在O₂、NaIO₄、H₂O₂、TBHP中任一氧化剂存在的条件下,与权利要求9所述的金属卟啉酶接触,催化氧化生成2, 5-呋喃二甲酸(FDCA)。

一种固定化金属卟啉酶催化剂及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于生物催化技术领域,涉及固定化金属卟啉酶催化剂及其制备方法,还涉及利用此酶氧化催化羟甲基糠醛(HMF)生成2,5-呋喃二甲酸(FDCA)的方法。

背景技术

[0002] 首先,随着石油化工技术的进步,带动了以石油化工衍生物为原料的高分子材料的发展,但这类高分子材料因无法降解,进而引发的环境问题逐渐引起公众们的注意,形成了全球性的“白色革命”。为了缓解对化石资源的依赖以及高分子材料对环境的影响,近年来生物质资源的开发成为了各国竞相研究的热点。2,5-呋喃二甲酸(FDCA)是美国能源部提出的十二个生物质基平台化合物之一,其结构及性质与对苯二甲酸相似(PTA)。因此可以作为PTA的替代物。所以如果FDCA能够成为占比高市场份额的PTA的替代物,将有着巨大的应用前景与社会意义。因此开发低成本FDCA成为攻克新型生物基聚酯材料应用问题的关键。由于FDCA可由羟甲基糠醛(HMF)选择性氧化得到,而HMF氧化剂直接氧化容易产生大量副产物且腐蚀性强,难以成为FDCA的绿色生产工艺,因而开发绿色高效的催化剂变得尤为重要。

[0003] 其次,随着社会的进步和经济的发展,人们的生活品质逐步提高,对食品安全的重视程度也越来越高。羟甲基糠醛(HMF)是食品中糖类物质降解后形成的一种物质,能诱导细胞和基因突变,具有潜在的致癌性,因此作为食品热处理或长时间贮存质量破坏程度的一个指标。通常认为,羟甲基糠醛(HMF)是一种弱致癌性的细胞毒素,在高浓度下,可伤害眼睛、呼吸道、皮肤和粘膜。研究学者Anese等研究发现羟甲基糠醛(HMF)能在老鼠体内诱发基因突变,导致老鼠患结肠癌和肝癌。羟甲基糠醛(HMF)毒性主要是因为其能在体内和体外分别形成磺酸氧甲基糠醛(SMF, Sulfoxymethylfurfural)和5-氯甲基糠醛(5-Chloromethylfurfural, 5-CMF),而这些物质具有较强的致癌性和基因毒性。所以羟甲基糠醛(HMF)存在食品中对人类来说都是一个潜藏的、具威胁性的问题。因此去除食品中的羟甲基糠醛(HMF)是十分必要的,而选择一种绿色高效的催化剂除去羟甲基糠醛(HMF)又是一个很值得我们探索与研究的课题。

[0004] 综上所述,开发一种高效的催化剂氧化转化羟甲基糠醛(HMF)是一个非常有意义的探索。

[0005] 现有技术中,羟甲基糠醛(HMF)可通过催化氧化机制转化为其他物质去除,羟甲基糠醛(HMF)的代表性产物为5-羟甲基糠酸(HMFCA)、DFF、5-甲酰基糠酸、和2,5-呋喃二甲酸(FDCA)。

[0006] 中国专利CN201210390203.7报道的是一种以5-羟甲基糠醛为原料,使用催化氧化手段合成2,5-呋喃二甲酸的方法,利用贵金属负载碱性载体制备的催化剂,以氧气或空气为氧化剂,可以高效高选择性的催化5-羟甲基糠醛氧化合成2,5-呋喃二甲酸。

[0007] 中国专利CN201510395096.0阐述的具体方法是以钼酸季铵盐和钨酸季铵盐为催化剂,氧气、双氧水或者空气为氧化剂,在碱性环境下加热到80-120℃,对5-羟甲基糠醛进

行选择性氧化。该发明利用铵盐和钼酸或钨酸结构调控催化剂活性和产物选择性。氧化过程采用的氧化剂环境友好,绿色无污染,在低温下就能获得2, 5-呋喃二甲酸的高收率和高选择性,5-羟甲基糠醛的转化率达到90%以上。

[0008] 中国专利CN201310572055.5的具体操作内容为:在镍系金属催化剂的作用下,将5-羟甲基糠醛(HMF)在溶剂中进行氢解反应,得到2, 5-二甲基呋喃(DMF)。所述镍系金属催化剂为负载型双金属催化剂,其有效活性成分包括镍和钨。该发明提供的方法是采用以镍和钨为有效成分的镍系金属催化剂催化HMF进行氢解,得到DMF,镍成分具有较好的加氢能力,能够使醛基基团加氢成为羟甲基基团;钨成分具有较好的路易斯(Lewis)酸性,能够促进HMF氢解过程中碳-氧键的断裂,使羟甲基基团转化成甲基基团;在镍和钨的双重作用下,能够将HMF高效、高选择性的转化为DMF,使DMF的产率较高。

[0009] 然而,新型催化剂的探索对于提高催化效率、增强催化剂稳定性、降低催化剂成本进而来实现大规模的反应仍然意义巨大。

发明内容

[0010] 本发明所要解决的技术问题在于提高5-羟甲基糠醛(HMF)催化氧化反应中催化剂的催化效率,并提高催化剂稳定性,降低催化剂成本。

[0011] 为了解决本发明的技术问题,本发明提供的技术方案为:

一种固定化金属卟啉酶催化剂的制备方法,包括,用离子液体修饰介孔分子筛材料获得经过表面修饰的介孔分子筛材料,用含不同取代基的卟啉化合物与金属盐在有机溶剂中进行配位反应生成金属卟啉化合物,通过物理吸附将金属卟啉化合物固定化于经过表面修饰的介孔分子筛材料表面,形成特定的固定化金属卟啉酶。

[0012] 本发明所述的制备方法中,所述的离子液体为带有功能基团的咪唑类离子液体,且离子液体所带有的阴离子功能基团为-OH、-NH₂碱性基团。

[0013] 本发明所述的制备方法中,离子液体所带有的阳离子功能基团为氨基、巯基、甲基、乙基、异丙基中的一种。

[0014] 本发明所述的制备方法中,介孔分子筛材料为SiO₂、活性炭、石墨烯中的一种。

[0015] 本发明所述的制备方法中,所述带有取代基的卟啉类化合物中的取代基为吡啶基、羟基、羧基、醛基、羰基、苯基中的一种。

[0016] 本发明所述的制备方法中,金属盐中的金属为钴、锰、铜、锌、铁、锡中的一种。

[0017] 本发明所述的制备方法中,还包括将获得固定化的金属卟啉酶包埋的步骤。

[0018] 一种制备固定化金属卟啉酶催化剂的方法,还包括其制作的具体步骤为:

(1) 将含不同取代基的卟啉类化合物在有机溶剂中与金属盐进行配位反应,获得具有不同金属中心及取代基的金属卟啉化合物;

(2) 用带有功能基团的咪唑类离子液体与介孔分子筛材料在甲苯溶液中于110 °C条件下反应24 h;过滤得到载体,并用二氯甲烷索氏提取20 h,获得经过表面修饰的介孔分子筛材料;

(3) 将步骤(1)获得的金属卟啉与步骤(2)获得的经过表面修饰的介孔分子筛材料在0.0125 M Tris-HCl缓冲溶液中混合接触,在缓冲溶液的作用下稳定了反应体系的PH。之后将混合溶液在30 °C的温度和150 rpm转速下搅拌直至样品达到物理吸附平衡,过滤获

得固定化的金属卟啉酶。

[0019] (4) 将步骤(3)获得的固定化的金属卟啉酶浸入到CaCl₂溶液中并搅拌1 h,将混合液注入到2% w/v海藻酸钠溶液中进行老化,获得海藻酸钙凝胶包埋的金属卟啉酶。

[0020] 依据上述方法制得固定化金属卟啉酶。

[0021] 本发明提供一种催化氧化羟甲基糠醛(HMF)的方法,其中,将羟甲基糠醛(HMF)溶解,并在O₂、NaIO₄、H₂O₂、TBHP中任一氧化剂存在的条件下,与制得的固定化金属卟啉酶接触,催化氧化生成2,5-呋喃二甲酸(FDCA)。

[0022] 本发明的有益效果在于:

(1) 本发明中选择了卟啉类化合物,其为天然生物氧化酶,具有条件温和、专一性强、绿色无污染的特性。

[0023] (2) 本发明提出了构建与酶活性中心结构相类似、兼具化学与生物催化剂优点的仿生固定化金属卟啉催化剂,实现HMF绿色高效催化氧化。

[0024] (3) 本发明以介孔材料为结构骨架,利用离子液体可设计性对材料表面进行功能化修饰,在介孔材料表面快速定向引入类蛋白功能化基团的离子液体阳离子,为金属卟啉提供仿生微环境,提高模拟酶活化分子氧的能力。

[0025] (4) 本发明中,结合HMF氧化工艺中,碱性环境下醛基可以快速转化为多羟基中间体有利于FDCA生成的特点,通过离子液体阴离子调变反应环境中的酸碱度,促进了底物的快速转化。

[0026] (5) 本发明的催化剂所采用的金属材料为钴、锰、铜、锌、铁、锡中的一种,价格相对于现有技术,低廉易得。

具体实施方式

[0027] 实施例1 本实施例说明合成金属卟啉酶的催化剂方法

将吡啶基的卟啉化合物在CoCl₂溶液中与FeCl₂配位反应形成金属卟啉酶;

用带有阴离子功能基团为羟基和阳离子功能基团为氨基的离子液体与介孔活性炭分子筛材料在甲苯溶液中于110℃条件下反应24 h;过滤得到载体。再用二氯甲烷索氏提取20 h过滤得到载体,之后将金属卟啉酶溶液放入0.0125 M Tris-HCl缓冲溶液中(50 mL,PH 7.0),并引入表面修饰后的介孔活性炭分子筛材料,将混合溶液在30℃的温度和150 rpm转速下搅拌直至样品达到吸附平衡。

[0028] 实施例2 本实施例说明包埋

将固定化金属卟啉酶溶液浸入到CaCl₂溶液中并搅拌1 h,将混合液注入到2% w/v海藻酸钠溶液中进行老化,最后该酶被海藻酸钙凝胶包裹,获得海藻酸钙凝胶包埋的固定化金属卟啉酶,之后干燥备用。

[0029] 实施例3 本实施例说明利用固定化金属卟啉酶的催化剂催化氧化羟甲基糠醛(HMF)为呋喃二甲酸(FDCA)方法

取1.0 g羟甲基糠醛和5 mL的乙腈溶液加入10 mL的圆底烧瓶中,并搅拌溶液至溶液澄清,之后加入50 mg 固定化金属卟啉酶催化剂和70%的TBHP氧化剂,并于110℃下发生反应60 h,之后将氧化剂、催化剂加以回收以备日后可用。最后通过Varian Prostar高效液相色谱分析反应转化率和产物纯度。

[0030] 实施例4 本实施例说明合成固定化金属卟啉酶的催化剂方法

将羟基的卟啉化合物在 CoCl_2 溶液中与 CuCl_2 配位反应形成金属卟啉酶。

[0031] 用带有阳离子功能基团为巯基和阴离子功能基团为氨基的离子液体与低成本的介孔 SiO_2 分子筛材料在甲苯溶液中于 $110\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下反应24 h,过滤得到载体,用二氯甲烷索氏提取20 h过滤得到载体,之后将金属卟啉酶溶液放入 0.0125 M Tris-HCl 缓冲溶液中(50 mL , $\text{PH } 7.0$),并引入表面修饰后的介孔活性炭分子筛材料,将混合溶液在 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 的温度和 150 rpm 转速下搅拌直至样品达到吸附平衡。

[0032] 再将固定化金属卟啉酶溶液浸入到 CaCl_2 溶液中并搅拌1 h,将混合液注入到 $2\% \text{ w/v}$ 海藻酸钠溶液中进行老化,最后该酶被海藻酸钙凝胶包裹,获得海藻酸钙凝胶包埋的固定化金属卟啉酶,之后干燥备用。

[0033] 实施例5 本实施例说明合成固定化金属卟啉酶的催化剂方法

将羧基的卟啉化合物在 MnCl_2 溶液中与 CoCl_2 配位反应形成金属卟啉酶。

[0034] 用带有阳离子功能基团为甲基和阴离子功能基团为羟基的离子液体与低成本的介孔 SiO_2 分子筛材料在甲苯溶液中于 $110\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下反应24 h,过滤得到载体,用二氯甲烷索氏提取20 h过滤得到载体,之后将金属卟啉酶溶液放入 0.0125 M Tris-HCl 缓冲溶液中(50 mL , $\text{PH } 7.0$),并引入表面修饰后的介孔活性炭分子筛材料,将混合溶液在 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 的温度和 150 rpm 转速下搅拌直至样品达到吸附平衡。

[0035] 将固定化金属卟啉酶溶液浸入到 CaCl_2 溶液中并搅拌1 h,将混合液注入到 $2\% \text{ w/v}$ 海藻酸钠溶液中进行老化,最后该酶被海藻酸钙凝胶包裹,获得海藻酸钙凝胶包埋的固定化金属卟啉酶,之后干燥备用。

[0036] 实施例6 本实施例说明合成固定化金属卟啉酶的催化剂方法

将醛基的卟啉化合物在 MgCl_2 溶液中与 MnCl_2 配位反应形成金属卟啉酶。

[0037] 用带有阳离子功能基团为乙基和阴离子功能基团为羟基的离子液体与低成本的介孔石墨烯分子筛材料在甲苯溶液中于 $110\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下反应24 h,过滤得到载体,用二氯甲烷索氏提取20 h过滤得到载体,之后将金属卟啉酶溶液放入 0.0125 M Tris-HCl 缓冲溶液中(50 mL , $\text{PH } 7.0$),并引入表面修饰后的介孔活性炭分子筛材料,将混合溶液在 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 的温度和 150 rpm 转速下搅拌直至样品达到吸附平衡。

[0038] 将固定化金属卟啉酶溶液浸入到 CaCl_2 溶液中并搅拌1 h,将混合液注入到 $2\% \text{ w/v}$ 海藻酸钠溶液中进行老化,最后该酶被海藻酸钙凝胶包裹,获得海藻酸钙凝胶包埋的固定化金属卟啉酶,之后干燥备用。

[0039] 实施例7 本实施例说明合成固定化金属卟啉酶的催化剂方法

将羰基的卟啉化合物在 MnCl_2 溶液中与 ZnCl_2 配位反应形成金属卟啉酶。

[0040] 用带有阳离子功能基团为异丙基和阴离子功能基团为羟基的离子液体与低成本的介孔 SiO_2 分子筛材料在甲苯溶液中于 $110\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下反应24 h,过滤得到载体,用二氯甲烷索氏提取20 h过滤得到载体,之后将金属卟啉酶溶液放入 0.0125 M Tris-HCl 缓冲溶液中(50 mL , $\text{PH } 7.0$),并引入表面修饰后的介孔活性炭分子筛材料,将混合溶液在 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 的温度和 150 rpm 转速下搅拌直至样品达到吸附平衡。

[0041] 将固定化金属卟啉酶溶液浸入到 CaCl_2 溶液中并搅拌1 h,将混合液注入到 $2\% \text{ w/v}$ 海藻酸钠溶液中进行老化,最后该酶被海藻酸钙凝胶包裹,获得海藻酸钙凝胶包埋的固定

化金属卟啉酶,之后干燥备用。

[0042] 实施例8 本实施例说明合成固定化金属卟啉酶的催化剂方法

将苯基的卟啉化合物在 $MnCl_2$ 溶液中与 $SnCl_2$ 配位反应形成金属卟啉酶。

[0043] 用带有阳离子功能基团为甲基和阴离子功能基团为羟基的离子液体与低成本的介孔 SiO_2 分子筛材料在甲苯溶液中于 $110\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下反应24 h,过滤得到载体,用二氯甲烷索氏提取20 h过滤得到载体,之后将金属卟啉酶溶液放入 0.0125 M Tris-HCl缓冲溶液中(50 mL ,PH 7.0),并引入表面修饰后的介孔活性炭分子筛材料,将混合溶液在 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 的温度和 150 rpm 转速下搅拌直至样品达到吸附平衡。

[0044] 将固定化金属卟啉酶溶液浸入到 $CaCl_2$ 溶液中并搅拌1 h,将混合液注入到2% w/v海藻酸钠溶液中进行老化,最后该酶被海藻酸钙凝胶包裹,获得海藻酸钙凝胶包埋的固定化金属卟啉酶,之后干燥备用。

[0045] 实施例:

采用实施例3所用的体系,然后利用不同实施例获取的催化剂,进行羟甲基糠醛(HMF)的催化氧化反应。具体结果见列表1。

[0046] 表1 不同催化剂催化氧化羟甲基糠醛的催化结果表

催化剂编号	HMF转化率	FDCA产量	DFF产量	HMFCa产量
实施例1	84.2	73.5	5.4	1.7
实施例2	94.7	82.8	5.8	1.5
实施例4	92.3	81.4	6.2	0.9
实施例5	96.4	83.1	5.4	1.3
实施例6	93.5	86.5	4.9	1.2
实施例7	97.3	85.6	6.9	1.5
实施例8	95.8	84.7	4.6	1.6