

漆酶催化合成高分子化合物的研究进展

周攀登 莫佳琳 付时雨*

(中科院广州化学研究所纤维素化学重点实验室 广州 510650)

摘 要 综述了漆酶用于催化合成高分子化合物的研究进展。漆酶可催化酚类、芳胺类、羧酸类等单体的聚合反应,在树脂材料、光电材料、染色工业等方面有着广阔的应用前景。漆酶中的铜离子在催化反应中起着重要作用,反应介质对漆酶的催化效率亦有较大的影响。

关键词 漆酶 催化聚合 溶剂体系

Development of Catalytic Polymerization with Laccase as Catalyst System

Zhou Pandeng, Mo Jialin, Fu Shiyu*

(Laboratory of Cellulose and Lignocellulosics Chemistry,

Guangzhou Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650)

Abstract Recent development on the synthesis of macromolecule catalyzed by laccase is reviewed in this paper. Laccase is a biological catalyst for the polymerization of phenolic compounds, aromatic compounds with amino groups and carboxylic compounds. The polymers prepared can be used as resin material, photoelectric material and textile dyeing material. The Cu^{2+} in laccase plays a key role in the catalytic reactions of laccase. Solvents of the reaction system also affect the catalysis of laccase.

Key words Laccase, Catalytic polymerization, Solvent system

用生物酶作催化剂合成高分子化合物最早是由日本东京大学教授 Kobayashi 在合成纤维素时提出的^[1]。他用水解酶作催化剂合成纤维素,开创了酶促聚合的先河,后来又成功推广到聚多糖、聚酯类和聚芳香族化合物的合成。Kobayashi 提出的酶促聚合的定义是:用特定的酶在生物体外通过非生物途径催化合成高分子化合物。酶催化聚合以其高选择性、高效性和常温常压的温和反应条件,显示了化学催化剂所不可比拟的优势。而且酶催化合成的高分子物质都是可生物降解的,这为当前日益严重的如“白色污染”等环境问题提供了一种很好的解决方法。漆酶是一种多酚氧化酶(p-diphenol oxidase EC 1.10.3.2),最早是从漆树分泌物中发现的,它广泛存在于许多生物体内,包括植物、真菌甚至昆虫体内。漆酶作为一种氧化还原酶,广泛应用于催化氧化还原反应^[2-7]。本文主要就近年来利用漆酶催化高分子合成方面的研究作简单综述。

1 漆酶的催化活性中心和底物

1.1 漆酶的催化活性中心

周攀登 男, 24 岁, 硕士生, 现从事应用化学的研究。*联系人, E-mail: fusy@mail.gic.ac.cn

2002-10-23 收稿, 2002-12-25 修回

漆酶是一种含糖的多酚氧化酶, 酶分子中金属铜为核心, 一般含有 4 个铜离子。据其光谱特征, 可划分为三种类型^[8]。I 型铜离子和 II 型铜离子各一个, III 型铜离子两个。其中 I 型 Cu^{2+} 和 II 型 Cu^{2+} 呈顺磁性, 可用 ESR 检测。I 型 Cu^{2+} 呈蓝色, 在 614nm 处有特征吸收峰; II 型 Cu^{2+} 非蓝色, 无特征吸收光谱。III 型 Cu_2^{4+} 为偶合离子对(Cu^{2+} - Cu^{2+}), 呈反磁性, ESR 不能检测, 在 330nm 处有宽的吸收谱带^[8,9]。已经得到证实, 铜离子是漆酶的催化活性中心, 是漆酶表现催化活性的决定因素^[9]。

1.2 漆酶的底物

能够与漆酶反应的化合物称为漆酶的底物。底物被漆酶作用, 即生物催化后能生成有价值的产物, 或者生成聚合物。这些化合物主要有酚类、芳胺类和羧酸类等化合物以及它们的衍生物, 此外还有甾体激素、生物色素、金属有机物以及一些非酚类化合物。在分子合成方面研究得较多的是酚类、芳胺类和羧酸类及其衍生物, 如 1-萘酚^[10]、异丁子香酚、松柏醇^[11]等。通常, 漆酶可以催化 2,6-二甲基苯酚聚合生成聚(2,6-二甲基-1,4-羟亚基苯)^[12], 也可以催化丁香酸聚合生成聚(2,6-二甲氧基-1,4-羟亚基苯)^[13]。此外, 有研究发现漆酶可以催化木质素和丙烯酸的共聚^[14], 以及丙烯酰胺^[15]、甲基丙烯酸甲酯^[16]等单体的聚合。

2 漆酶催化聚合的机理

由于漆酶的立体结构目前尚不是非常清楚, 而且来源不同的漆酶其催化活性也有较大的差别, 给漆酶催化聚合机理的研究带来了一定的困难。一般认为, 漆酶在催化邻、对苯二酚(萘)类物质聚合时, 首先是底物向漆酶转移一个电子, 形成底物自由基; 然后底物自由基可以发生 C—C 偶联、C—O 偶联、O—O 偶联生成二聚体、三聚体乃至多聚体^[8,17]。如漆酶催化漆酚的主要反应如下^[18~19]:

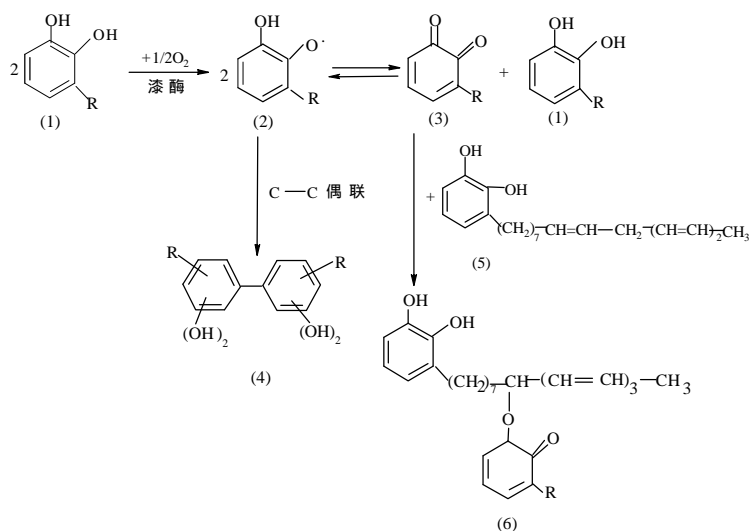


图 1 漆酶催化漆酚氧化聚合的可能机理

Fig.1 Proposed mechanism of oxidative polymerization catalyzed by laccase

漆酶催化漆酚(1)氧化成漆酚自由基(2)和漆酚醌(3); 两漆酚自由基经 C—C 偶合形成联苯型二聚体(4); 漆酚醌可与三烯漆酚(5)发生 C—O 偶联成二聚体(6); 二聚体可继续偶联成三聚体和

多聚体。有报道^[16]指出漆酶催化苯酚类物质聚合生成的产物结构中有亚苯基和氧化亚苯基的存在,证实了在反应过程中发生了 C—C、C—O 偶合反应,此过程与漆酶中四个铜离子的协同作用密切相关^[8]。首先, I 型 Cu^{2+} 和 II 型 Cu^{2+} 分别从底物处接受一个电子,变为一价铜离子 Cu^+ ; 然后发生分子内电子转移, I 型、II 型铜离子将电子传递给 III 型铜偶合离子对,使它们从二价变为一价,而 I 型、II 型铜离子又重新变为二价。I 型、II 型铜离子可以再从底物分子接受电子而变成一价铜离子,当四个铜离子都为一价时,漆酶处于还原态。有氧气存在时,还原态漆酶可被氧化。这样,漆酶通过四个铜离子的协同作用,传递电子的同时发生价态变化,实现对底物的催化作用。

3 漆酶催化聚合的溶剂体系

溶剂能以不同的方式影响漆酶的催化反应。它可以影响漆酶的催化活性、底物与产物的分配、或作为抑制剂直接使漆酶失活^[20]。可以通过适当的溶剂组成来控制催化反应的立构选择性^[16]。因此溶剂的选择对漆酶的催化聚合十分重要。一般所选用的溶剂体系有以下几类。

3.1 水相体系

因为漆酶是水溶性的,所以漆酶催化反应的溶剂体系最初是水溶液。但是在水溶液中进行漆酶催化聚合只能得到低分子量的齐聚物,如二聚体、三聚体等。这是因为水对底物和产物的溶解能力较差,使得产物分子量很低时就沉淀出来了。而且水解副反应也相当多,导致漆酶在水溶液中催化聚合的活性有所降低,需加大酶的用量才能保持足够的催化活性。

3.2 水-有机溶剂体系

在水中加入有机溶剂,可增加疏水性底物和产物的溶解度,还可以抑制水解反应,从而提高产物的分子量。这种体系又可分为两类:水-与水互溶的有机共溶剂体系和水-与水不互溶的有机混合溶剂体系。前者中有机溶剂有较强的亲水性,如 THF, 丙酮等。比如在 H_2O -THF(75:25(vol)-%) 体系中,用漆酶催化聚合 MMA 和苯乙烯,能得到分子量很高的聚合物^[16]。而后者中的有机溶剂属疏水性溶剂,如环己烷、二氯甲烷等。相对来说,酶在水-与水互溶的有机共溶剂体系中更容易失活,因为这些亲水性强的有机溶剂易夺去漆酶保持活性所必需的“必需水”^[21]。

3.3 有机溶剂

在传统观念中,有机溶剂能够使酶变性、失活,直到上世纪 80 年代初,由于非水酶学的发展,酶在有机溶剂的催化作用的研究才取得突破性的进展。大量研究表明,酶在有机溶剂中的催化反应有如下优点^[22]:

(1)提高底物和产物的溶解度,能得到高分子量的聚合物;(2)抑制由水引起的副反应;(3)酶不溶于有机介质,可以回收再利用;(4)产物的纯化分离比在水中容易;(5)酶的热稳定性比在水中高,且无微生物污染。

当然,在有机溶剂中,酶分子周围也需要少量水以维持酶具有催化活性的柔性结构,这部分水称为“必需水”^[21]。

3.4 其它介质体系

近年来,酶催化反应的介质已从水相、有机相发展到了超临界状态的介质甚至胶束体系^[23]。

将酶封装进由表面活性剂构成的极小水珠的反胶束体系中进行催化反应, 能够使酶保持极高的活性。有研究^[24]表明胶束中的漆酶表现了异乎寻常的催化特性, 如热稳定性大为增强, 底物特异性和催化能力有明显不同。

4 漆酶催化高分子合成的应用与展望

4.1 漆酶催化高分子合成的应用

4.1.1 在树脂材料方面的应用 漆酶催化酚类物质的聚合, 可以获得不含甲醛的酚树脂。而酚树脂通常都是在甲醛存在下缩合酚类物质而获得的, 在工业上有很多重要的应用。但是甲醛所带来的环境污染不容忽视, 寻求一种新型的无甲醛污染的树脂成了当务之急, 而漆酶催化产生的酚类聚合物在这方面已显示了良好的应用前景^[16]。漆酶除了可以催化合成酚树脂外, 也可以催化木质素与酚类物质的共聚^[25~27]以及木质素与丙烯酸类化合物的共聚^[28,29]。漆酶催化木质素与丙烯酸类化合物共聚的可能反应机理如图 2 所示^[29]。

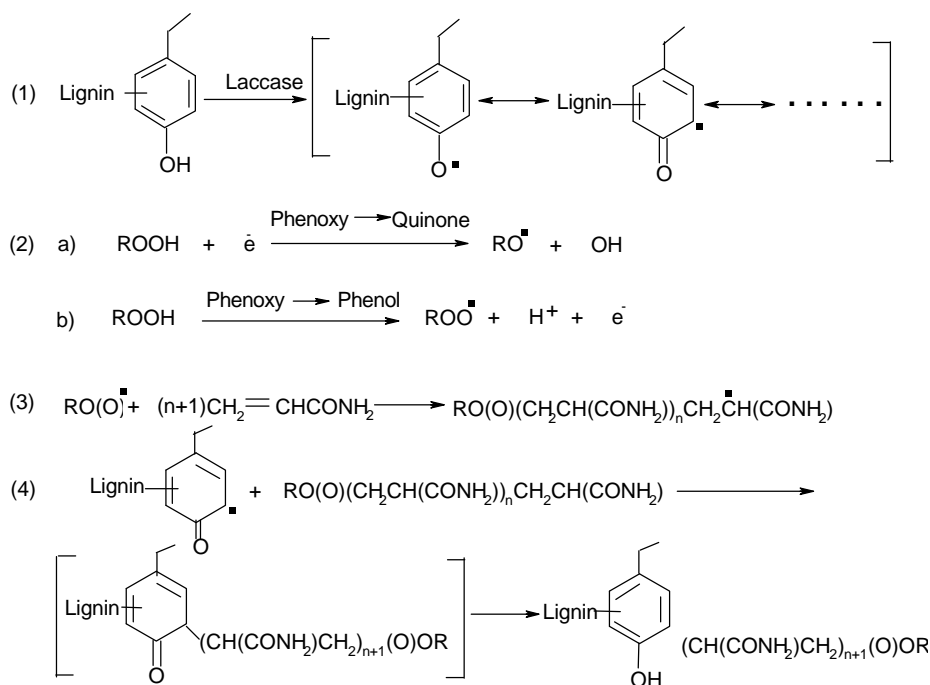


图 2 酶催化木质素与丙烯酸类化合物共聚的可能反应机理

Fig.2 Proposed mechanism of copolymerization of lignin and acrylic compounds induced by laccase

木质素是仅次于纤维素的第二大生物材料, 通常在造纸和木材加工过程中被当作废料处理。有人^[30]报道, 用甲醛处理木质素可使之形成酚醛树脂, 但是随之而来的就是甲醛带来的环境污染。而用漆酶处理木质素可以在不使用甲醛的情况下形成酚树脂, 具有很好的应用前景。用化学方法聚合生成的聚丙烯酸和聚丙烯酰胺很难被降解, 而将它们和木质素共聚生成聚合物则有很好的生物相容性和生物可降解性^[28]。

4.1.2 在光电材料方面的应用 漆酶在兰格缪尔槽中可分别催化 4-十四烷氧基苯酚和十六烷基苯胺在气-液界面上的聚合生成二维光电高分子网络^[31], 这种网络结构的聚合物具有良好的电学和光学性质。此外, 漆酶催化合成的聚酚胺类物质具有 π 电子共轭结构, 通过掺杂可表现出一定

的导电性^[32], 而有机导电聚合物有多方面的应用。如聚苯胺可以利用其导电性保护飞机不受雷电的袭击; 代替金属形成线路板的复合材料, 在地毯、衣物、纤维的表面起抗静电作用。导电聚合物还可以用作电磁干扰屏幕材料和雷达微波吸收材料等^[23]。共轭聚合物不仅有优良的导电性能, 还具有较高的三阶非线性系数($\chi^{(3)}$), 是一类重要的有机非线性光学材料^[33]。非线性光学材料是激光技术的重要物质基础之一, 在激光的倍频、混频、参量放大与振荡、集成光学、光信息处理与光信号控制、光电子计算机等方面有着重要的应用。有机非线性光学材料的倍频效应比无机材料要高几百乃至上千倍, 而且由于其非线性光学效应缘于非定域电子体系, 因此激发响应时间比无机材料快 10^3 倍左右。非定域电子共轭聚合物可用来制造发光二极管, 实现人们期待已久的全色显示。

4.1.3 在染色工业上的应用 漆酶在染色工业上也有非常重要的应用。漆酶催化聚合生成的聚酚类化合物, 由于在主链上有一大的共轭结构而呈现出特定的颜色, 可以利用这一特点来染色。有研究^[34]用漆酶催化对苯二酚聚合, 形成的聚合物用来作染发剂, 是一种不使用过氧化氢的安全的染发方式, 效果很好。此外, 在氧化剂介质中, 漆酶能催化氧化对苯二酚、儿茶酚、多巴胺、阿魏酸等酚类物质产生离域自由基, 这些自由基能发生偶合反应生成有颜色的二聚物、齐聚物和高聚物, 可以用来给织物染色^[35]。

4.2 展望

漆酶催化聚合作为一种酶催化聚合方法, 由于其特殊的优点, 越来越受到众多学者的重视。但是也还有一些不足之处有待解决。如聚合物分子量较低, 催化机理的研究不够深入, 催化的反应类型有限等。为解决这些问题, 有人提出利用酶催化聚合高度的位置选择性和立体选择性以及化学聚合能有效提高聚合物分子量的特点而将二者联合使用, 这一构想已经在一些酶催化聚合中显示了其优越性^[36,37]。预计这种方法将会在高分子材料特别是在可生物降解材料的合成中有着良好的应用前景。

参考文献

- [1] H Kobayashi. J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem., 1999, 37: 3041~3056.
- [2] 付时雨, 詹怀宇, 余惠生. 中国造纸, 2001, 5: 7~10.
- [3] 郭庆宇. 中南民族学院学报(自然科学版), 1998, 17(4): 23~26.
- [4] 谢修银, 颜承农, 吴鼎泉 等. 武汉大学学报(自然科学版), 1997, 43(6): 741~746.
- [5] 花建立, 张 力, 谢恩丽. 江西师范大学学报(自然科学版), 1997, 21(4): 342~346.
- [6] C L Chen, A Potthast, T Rosenau et al. J. Mol. Catal. B: Enzym., 2000, 8(4-6): 213~219.
- [7] C Crestini, D Argyropoulos. ACS Symp. Ser., 2001, 785: 373~390.
- [8] 季立才, 胡培植. 林产化学与工业, 1997, 17(1): 79~84.
- [9] 季立才. 中国生漆, 1990, 9(4): 22~27.
- [10] N Aktas, H Cicek, U A Taspinar et al. Bioresour Technol., 2001, 80(1): 29~36.
- [11] T Shiba, X Ling, T Miyakoshi et al. J. Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2000, 10(6): 605~615.
- [12] H Uyama. Macromolecules, 1996, 29: 3053~3054.
- [13] R Ikeda. Macromolecules, 1996, 29: 8702~8705.
- [14] C Mai, A Majcherczyk, A Huttermann. Enzyme and Microb. Technol., 2000, 127(1-2): 167~175.
- [15] R Ikeda, H Uyama, S Kobayashi et al. Macromol. Rapid commun., 1998, 119(8): 423~425.
- [16] T Tsujimoto, H Uyama, S Kobayashi. Macromol. Biosci., 2001, 1: 228~232.
- [17] 叶立新, 郭明高, 郭庆宇. 林产化学与工业, 1994, 14(2): 51~56.
- [18] 熊野谿从. 中国生漆, 1986, 5(1): 39~48.
- [19] 王振昇. 中国生漆, 1990, 9(2): 18~28.

- [20] H Kitano, Y Macda, M Yamamoto et al. *Macromol. Chem. Phys.*, 1996, 197(12): 4173~4181.
- [21] 曹淑桂. *化学通报*, 1995, (5): 5~11.
- [22] J S Dordick. *Enzyme Microb. Technol.*, 1989, 11(4): 194~211.
- [23] 周其凤, 胡汉杰. *高分子化学*, 化学工业出版社, 2001, 364~367.
- [24] 刘华丽, 郭明高. *中国生漆*, 1994, 13: 16~18.
- [25] A Lund, A J Ragauskas. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2001, 55(6): 669~703.
- [26] C Mai, W Schormann, A Huttermann. *Enzyme Microb. Technol.* 2001, 28(4-5): 460~466.
- [27] A Huttermann, A Majcherczyk, A Brann-lullemann et al. *Naturwissenschaften*, 2000, 87(12): 539~541.
- [28] C Mai, W Schormann, A Huttermann. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2001, 55(2): 177~186.
- [29] C Mai, W Schormann, A Huttermann et al. *Enzyme Microb. Technol.* 2002, 30: 66~72.
- [30] R W Tock, R S J Chen, C R Richardson. *Chem. Eng. Commun.* 1987, 56(1-6): 229~251.
- [31] J A Akkara, F Bruno, L Samuelson et al. *Polym. Prepr.(Am. Chem. Soc. Div. Polym. Chem.)*, 1993, 34(2): 759~760.
- [32] J S Dordick, M A Marletta, A M Kilbanov. *Biotech. Bioeng.*, 1987, 30: 31~36.
- [33] 刘 伟, 马 林, 王今堆 等. *自然科学进展. 国家重点实验室通讯*, 1995, 5(2): 236~240.
- [34] A V Dorrit, H S S Niels, R V S Karen. *US*: 5948121, 1999.
- [35] H Shin, G Guebitz, A Cavaco-Panlo. *Macromol. Mater. Eng.*, 2001, 286: 691~694.
- [36] D R Patric, J S Dordick, D G Rethwich. *Macromolecules*, 1991, 24: 3462~3465.
- [37] A L Margolin, P A Filzpartrick, P L Dubin et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 1991, 113: 4693~4696.