

生物催化剂酶在高分子改性中的应用

祁 黎, 李光吉

(华南理工大学材料学院, 广州 510640)

摘要:生物催化剂酶用于高分子合成及改性的研究正在成为国外学者的一个新的研究热点。酶催化反应的专一性、高效性、高选择性及反应条件的相对温和性,使酶催化反应在高分子改性领域更具吸引力,为高分子改性开辟了一条更为清洁、更高效的途径。本文综述了近年来酶催化反应在高分子改性方面的研究进展。

关键词:生物催化;酶;高分子改性

前言

在进行高分子的分子设计、制备、改性和加工过程中,了解高分子的结构与性质之间的关系是非常重要的,只有在此基础上,人们才能根据具体的性能要求和应用目的而对高分子进行分子设计或适当的改性。通常,我们总是希望将某些有用的基团引入高分子的主链上以赋予高分子新的特性。实际上,用化学方法对高分子进行有目的的改性在过去几十年中已经得到了充分的研究。目前,随着人类环保意识的增强,作为绿色化学研究的一个重要部分,生物催化剂酶用于高分子的合成及改性正在成为各发达国家的又一个新的研究热点。正是由于酶对底物的专一性、酶催化反应的高效性、高选择性及反应条件的相对温和等优点^[1],使得酶催化反应在高分子改性方面具有诱人的应用前景。美国等国家的一些研究机构和学者已对这一领域投入了更多的关注。

近10年来,已有较多有关生物技术高分子合成中应用的研究报道,如辣根过氧化物酶催化酚类单体^[2~6]及烯类单体^[7,8]的自由基聚合、纤维素酶催化聚多糖的合成^[9~11]、脂肪酶及蛋白酶催化聚酯的合成^[12~15]等。也有研究者报道了半乳糖氧化酶能用于酶-化学法合成含糖基的聚胺^[16],为聚胺及含糖基聚胺的合成提供了一个新的途径。在酶催化高分子改性方面,国内尚未见报道,国外的相关文献也不多,仅有部分学者在这一领域做了一些有意义的探索。其中,用脂肪酶和蛋白酶催化高分子的转酯基作用在90年代初有较多的研究^[17]。在这些酶催化反应中,底物往往是疏水性的,可溶于有机溶剂,这样使底物与酶的接触更为容易。另外,蛋白质增溶技术的发展^[18,19],使酶可以溶于有机溶剂,从而为一些不溶性高聚物的酶催化改性提供了一条新途径。本文介绍近10年来国外高分子材料酶催化改性研究的最新进展。

1 天然高分子的酶催化改性

天然高分子,特别是多糖类,因其主链上往往含有大量的羟基而被视为一类难以进行化学加工的材料。然而,用酶法或化学-酶法相结合的方法来进行天然高分子改性的研究,改变了人们传统的观点。例如,在酶的催化作用下,通过对多糖的选择性酰化^[20~21],可以得到更多、更清洁的亲水

作者简介:祁黎,25岁,女,华南理工大学硕士研究生,从事生物技术在高分子合成及改性中应用的研究。

亲油的材料、生物可降解材料、生物可侵蚀及生物相容性材料。

天然高分子改性中常用的酶有脂肪酶、蛋白酶、半乳糖氧化酶、 β -半乳糖苷酶等。应该注意的是,即使是同一种酶,来自于不同的菌种,其性质就会有很大的差异。

脂肪酶是高分子改性中应用较多的一种酶,主要用于高分子的酰化、酯化及接枝反应。90 年代初有文献报道,脂肪酶(来自于假单胞菌属)可用于催化侧链含有羟基的梳状的甲基丙烯酸聚合物的酰化反应^[22]。近年来,相关的文献逐渐增多。Li, Xie 等用脂肪酶 PPL(来自于猪胰脏)催化 ϵ -己内酯对羟乙基纤维素(HEC)的接枝反应^[23,24](图 1)。在这一过程中,PPL 在 HEC 薄膜上催化 ϵ -己内酯的开环聚合,生成聚 ϵ -己内酯,并与 HEC 发生接枝反应。产物取代度为 0.10~0.32(以每个脱水葡萄糖单元计)。关于 PPL 催化 ϵ -己内酯开环聚合的研究另有报道^[13,25]。

脂肪酶 PPL 催化的另外一个反应是甘油和果胶之间的酯化反应^[26](图 2)。PPL 对这一反应有高度的专一性,产物中甘油仅以单酯形式存在,并无任何交联结构(二酯)存在。另外,来自于假丝酵母的脂肪酶 OF-360 亦可以有效的催化这一反应。

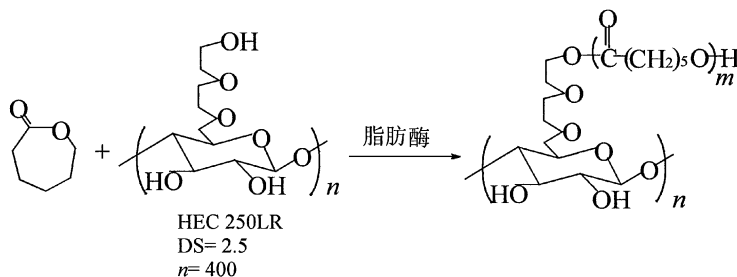


图 1 聚己内酯通过脂肪酶催化开环聚合反应并实现对 HEC 的接枝改性

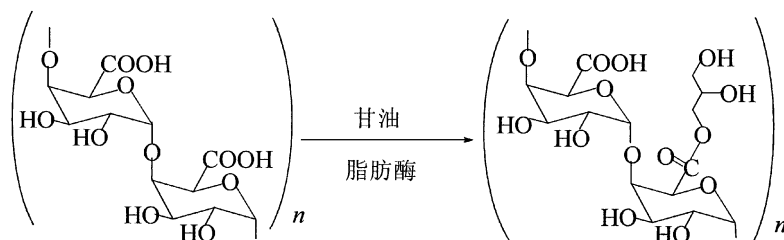


图 2 脂肪酶催化果胶的改性

研究者亦尝试用脂肪酶来催化半乳糖甘露聚糖的酰化反应^[26](图 3)。试验中采用以下三种脂肪酶:脂肪酶 AK(来自于假单胞菌)、脂肪酶 CC(来自于假丝酵母)和脂肪酶 OF-360。琥珀酸酐作为酰化试剂。结果表明,脂肪酶 AK 对多糖的酰化具有最高的催化活性,而脂肪酶 CC 的催化活性则最低。

关于天然高分子的酶催化氧化反应也有文献报道。研究者^[27,28]发现,在半乳糖氧化酶的催化作用下,可以仅在半乳糖甘露聚糖的侧链上生成醛基,并进一步用化学法氧化为羧基。但这些文献中所得的产品往往发生一定的降解,并有副产物生成。Frollini 等^[29]则通过改变反应条件而使产物的降解状况得到改善。

酪氨酸酶能催化氧化酚类物质,生成反应活性较高的邻醌类化合物,而这类物质又具有与天然

高分子壳聚糖发生反应的特性。利用这一特性,也使得通过生物催化的方式来实现酚类化合物对天然高分子的改性成为可能^[30]。这一反应过程在较温和的条件(水溶液中)下进行,符合绿色化学的要求。

近年来,对于 β -半乳糖苷酶的研究越来越多。它主要用于催化转糖基反应。无论对于天然高分子还是合成高分子, β -半乳糖苷酶均有较好的催化效果。如Xie等^[24]用该酶催化乳糖与HEC之间的转半乳糖基反应(如图4所示)。反应在水溶液中或水-有机溶剂混合液中均可进行,不过产物的取代度相对较低,最高也只能达到0.03。Li等在乙酸钠缓冲液中亦进行了此反应^[31]。结果表明,催化此反应最佳的 β -半乳糖苷酶来源于名为*A. oryzae*的菌种,在没有有机溶剂存在的情况下产率较高。值得注意的一点是,在反应过程中聚多糖会解聚是不可忽视的。

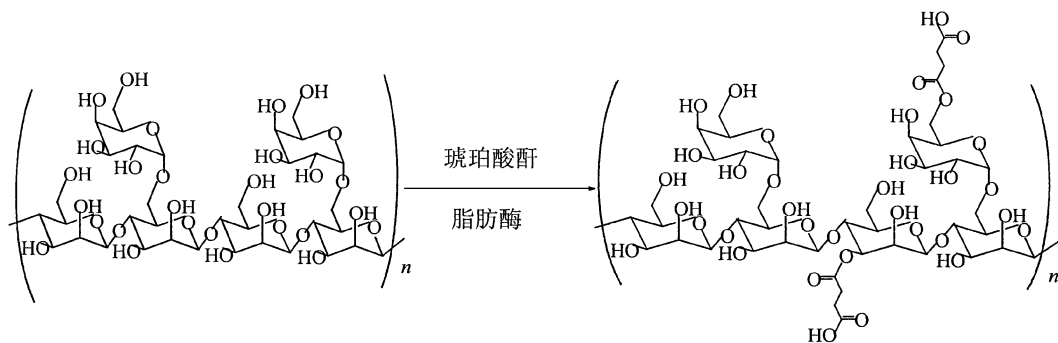


图3 脂肪酶催化半乳糖甘露聚糖改性

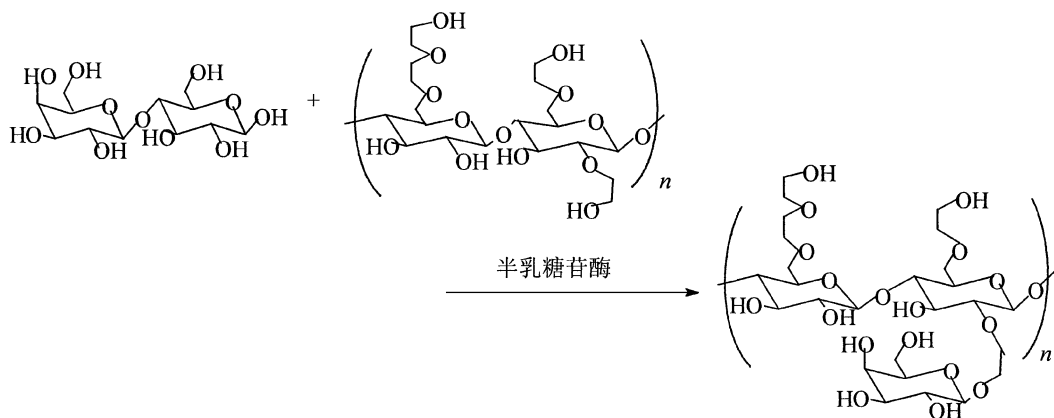


图4 乳糖和HEC之间的转半乳糖基作用

目前文献中所报道的用于天然高分子改性的酶,大部分是水解酶(如上所述脂肪酶、蛋白酶)另外一部分是氧化还原酶(如上所述半乳糖氧化酶)。水解酶在水溶液中催化酯或脂类的水解反应,而在有机溶剂或有机溶剂-水混合液中则催化逆向反应进行,即小分子与聚合物之间共价键的生成。此外,液态的反应物在自身作为反应物的同时,也可以作为其他反应物的溶剂,这样反应物之间的好接触则会有力的促进反应的进行。

含羧基的聚多糖也能用生物催化的方式进行适当的改性。Cheng^[26]曾对12种脂肪酶和8种蛋

白酶进行了筛选,如催化羧甲基纤维素(CMC)和 1,6-六亚甲基二胺之间的反应(图 5 所示)。反应在二甲基甲酰胺(DMF)中进行,发现有明显的溶剂效应。当用水、甲苯或正丁醇作为反应介质时,没有酰胺基生成。红外分析估计这一反应的产率为 5%~20%,这比常规的化学法改性的产率(70%~90%)要低的多。研究者认为,这一酶催化反应中酰胺生成的低产率是因为反应是在液-固两相体系中进行,反应速率较慢。此外,CMC 分子链上的羧基和羟基之间的强氢键作用使得 CMC 分子链上的羧基不易接近酶分子以形成活性中心。若用 CMC 的甲基酯产物代替 CMC 参与反应,则大分子与酶的亲和性得以改善。

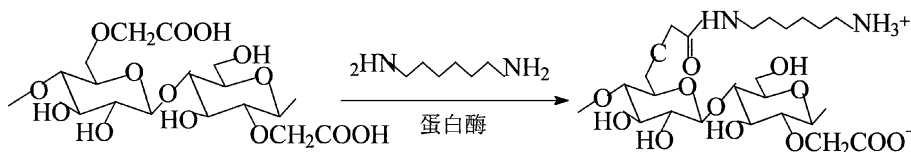


图 5 蛋白酶催化羧甲基纤维素(CMC)改性

2 合成高分子的酶催化改性

相对于天然高分子而言,酶催化合成高分子的改性的报道要少得多。但是,从工业应用的角度来考虑,生物技术在合成高分子改性领域中有更为广阔的前景,因而也更具有吸引力。常用于酶催化改性合成高分子的酶有 β -半乳糖苷酶、酪氨酸酶和脂肪酶等。Cheng 等^[26]用 β -半乳糖苷酶催化了合成高分子聚乙二醇(PEG)与乳糖之间的反应,如图 6 所示。这一酶催化反应相对容易进行。有趣的是,来自于曲霉属的半乳糖苷酶能够催化这一反应,而来自于埃希氏大肠杆菌的半乳糖苷酶却不能。

另外,在相对温和的条件($<45^{\circ}\text{C}$, 3~5h)下,一种来自于假丝酵母的脂肪酶 Novozym435 能够催化甲基棕榈酸和聚乙二醇(M_w 为 500~2000)之间的反应,从而得到一种表面活性剂——聚乙二醇的棕榈酰单取代物和少量双取代物^[26]。

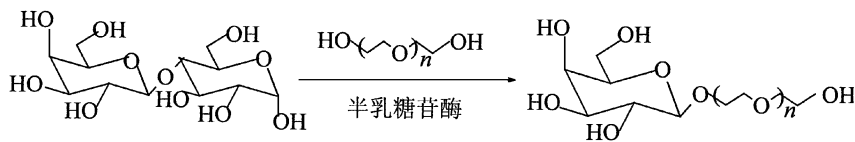


图 6 β -半乳糖苷酶催化聚乙二醇改性

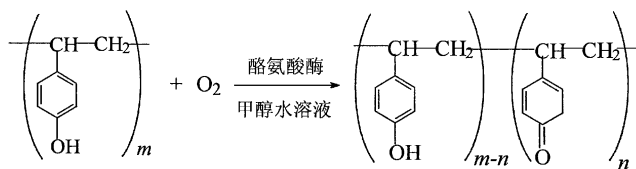


图 7 酪氨酸酶催化 PHS 改性

酚改性脱乙酰壳多糖薄膜的反应进行了研究之后, Shao 等^[32]用酪氨酸酶来催化聚 4-羟基苯乙烯 (PHS) 的改性, 如图 7 所示。在水-甲醇溶液中, 酪氨酸酶可以催化合成高分子 PHS 分子链上苯酚部分的氧化反应, 生成改性聚合物或可改性的聚合物。实验结果表明, 这一氧化反应进行得很快, 但氧化程度较低, 只有约 1%~2% 的酚被氧化。酶催化氧化 PHS 改性的产物能继续与苯胺进行非酶催化反应, 生成具有低取代度的 PHS 苯胺改性聚合物。酶催化氧化的产物又可以进一步与其它高分子发生接枝反应, 例如接枝在脱乙酰壳多糖的分子链上。

关于用生物法来有选择性的催化高分子的某一特定的反应, 也有一些文献报道。Jarvie 等^[33, 34]用固定化脂肪酶 Novozym 435 成功地催化了聚丁二烯 ($M_n \approx 1300$), 微结构: *cis*-1, 4 为 20%, *trans*-1, 4 为 35%, *trans*-1, 2 为 45%) 的环氧化反应, 如图 8 所示。结果表明, 这一酶催化反应对聚丁二烯分子链主链上的双键有较高的选择性, 约有 60% 双键被环氧化, 而侧链上的双键则未被环氧化。



图 8 脂肪酶催化聚丁二烯环氧化反应

3 小结与展望

酶促反应往往具有高选择性、高转化率、反应条件温和、耗能低, 副反应和副产物少等优点。对酶反应的发生及其效率的影响因素很多, 主要是酶的选择、反应介质、反应物及酶的浓度以及反应温度。其中酶的筛选是非常关键的。另外, 考察现有的酶催化反应, 只有当高分子底物在反应介质中能够溶解或较好的溶胀时, 酶促反应才可以较好的进行, 相应的产率也较高。这是因为底物在溶解或者较好的溶胀情况下能够与酶充分的接触, 有利于反应的进行。由此也可以推知, 当反应体系的粘度较高时, 不利于酶在体系中的扩散、传质和发挥作用, 同样会使酶促反应受到抑制, 从而导致反应产率较低。

酶促反应的影响因素较多, 并且其中任何一个因素都会直接、明显地影响酶促反应的结果。因此, 很多致力于生物催化研究的科研工作者都认为, 对每一个酶催化反应, 欲得到较好的结果, 就必须进行单独的详尽的研究。也许这将会是酶催化反应在高分子领域中应用的局限之一, 也是对研究者的挑战。不过, 相对于高耗能、反应条件苛刻的传统的化学催化而言, 生物催化在高分子领域中的发展应用仍然具有十分诱人的前景。相信随着科技的发展, 其间存在的一些问题会找到解决的方法。

参考文献:

- [1] 熊振平, 等. 酶工程. 北京: 化学工业出版社, 1989, 18.
- [2] Joseph A A, Kris J S, David L K. J Polym Sci; Part A; Polym Chem. 1991, 29; 1561~1574.
- [3] Madhu S A, Kenneth A M. Macromolecules. 1995, 28; 5192~5197.
- [4] Premachandran R S, Banerjee S, Wu X K. Macromolecules. 1996, 29; 6452.
- [5] Kobayashi S. J Polym Sci; Part A; Polym Chem. 1999, 37; 3041.
- [6] Peichuan W, Srinivasan B. Polymer Preprints, 2000, 41(2); 1361~1362.

- [7] Durand A, Lalot T, Brigodiot M. *Polymer*, 2000, 41, 8183~8192.
- [8] Bhanu K, Richard A G. *Polymer Preprints*, 2000, 41(2), 1935~1396.
- [9] Kobayashi S, Wen X, Shoda S. *Macromolecules*, 1996, 29, 2698~2700.
- [10] Shoda S, Kobayashi S. *Trends Polym Sci*, 1997, 5, 109~115.
- [11] Josephine L, K H. *Polymer Preprints*, 2000, 41(2), 1875~1876.
- [12] Kamat S V, Beckman E J. *J Am Chem Soc*, 1993, 115, 8845~8846.
- [13] Renee T. *Macromolecules*, 1995, 28, 73~87.
- [14] Tugenia M B, Dianela Y. *J Polym Sci; Part A; Polym Chem*, 1995, 33, 89~95.
- [15] Binns F, Harffey P, Roberts S M. *J Polym Sci; Part A; Polym Chem*, 1998, 36, 2069.
- [16] Liu X C, Dordick J S. *J Am Chem Soc*, 1999, 121, 466~467.
- [17] Klibanov A M. *Acc Chem Res*, 1990, 23, 114~116.
- [18] Piwer M E. *Biopolymer*, 1993, 33, 927~932.
- [19] Paradkar V M, Paradkar M, Dordick J S. *J Am Chem Soc*, 1994, 116, 5009~5110.
- [20] Mayer J M, Kaplan D L. *Trends Polym Sci*, 1994, 2, 227~230.
- [21] Ferdinado F B. *Macromolecules*, 1995, 28(26), 8881~8883.
- [22] Konstantin P, Helmut R. *Makromol Chem*, 1992, 193, 323~328.
- [23] Li J, Xie W H. *Macromolecules*, 1999, 32, 2789~2792.
- [24] Xie W H, Wang P G. *Polymer Preprints*, 2000, 41(2), 1867.
- [25] Lori A H, Yuri Y S. *Macromolecules*, 1996, 29, 7759~7766.
- [26] Cheng H N, Gu Q M. *Polymer Preprints*, 2000, 41(2), 1873~1874.
- [27] Yalpani M, Hall L D. *J Polym Chem Ed*, 1982, 20, 3339~3420.
- [28] Dentini M, Crescenzi V. *Carbohydr Polym*, 1986, 6, 493~498.
- [29] Frollini E E, Reed W F, Milas M. *Carbohydrate Polymer*, 1995, 27, 129~135.
- [30] Gregory F P, Mahesh V C. *Polymer*, 1996, 37(20), 4643~4648.
- [31] Li J, Cheng H N. *Carbohydrate Research*, 1999, 316, 133~137.
- [32] Shao L H, Guneet K. *Enzyme and Microbial Technology*, 1999, 25, 660~668.
- [33] Ann W P, Nigel O. *Chem Commun*, 1998, 177~178.
- [34] Ann W P, Nigel O. *J Chem Soc Perkin Trans I*, 1999, 2171~2176.

Biocatalyst Enzyme Applied in Polymer Modification

QI Li, Li Guang-ji

(*Department of Material Science and Technology South China University of Technology Guangzhou 510940, China*)

Abstract: Application of biocatalyst enzyme in polymer modification and synthesis has been a new focus in science research. Compared to usual chemical way, biocatalysis is more prospective in polymer industry for its high efficiency, high selectivity and mild reaction conditions. The development of biocatalysis in polymer modification in recent years is summerized in this paper.

Key words: Biocatalysis; Enzyme; Polymer modification;