

·研究简报·

漆酶催化对苯基苯酚的聚合*

周攀登 付时雨**

(中国科学院广州化学研究所 中国科学院纤维素化学重点实验室 广州 510650)

关键词 漆酶, 2,6-聚对苯基苯酚, 酶促聚合

漆酶(EC 1.10.3.2)是一种氧化还原酶,可应用于催化氧化还原反应和分子合成领域^[1-3]. 聚酚类物质由于具有 π 电子共轭结构,通过掺杂可以表现出一定的导电性^[4],而有机导电聚合物是一类有着广泛应用前景的功能材料.此外这类物质还具有较高的三阶非线性系数,是一类重要的有机非线性光学材料,是激光技术的重要物质基础之一.而取代苯酚类物质由于其结构的特殊性,一般很难用化学方法使其聚合.有报道^[5]用辣根过氧化物酶分别催化 α -萘酚和对苯基苯酚聚合,都得到了聚酚结构的产物,但是鲜见其详细的结构分析和分子量数据.本研究用从真菌产生的新型漆酶在缓冲溶液-有机溶剂的混合体系中催化对苯基苯酚的聚合,得到了高分子量的聚酚产物.

1 试剂

漆酶,酶活约为6000个酶活单位,产自本实验室培养的产漆酶真菌白腐菌 *Panus conchatus*,经分离、纯化而得;对苯基苯酚,分析纯,Fluka公司;1,4-二氧六环,丙酮,均为分析纯试剂;醋酸-醋酸钠缓冲溶液 0.2 mol/L, pH = 5.

2 主要测试仪器

核磁,德国 BRUKER 公司 DRX-400 型;红外,美国 Analect 公司 RFX-65A 傅立叶变换红外光谱仪, KBr 压片法制样;GPC,美国 Waters 515-410 型凝胶色谱仪,流动相为 THF,标样为聚苯乙烯;DSC,美国 PE 公司 PYRIS DIAMOND TA LAB SYSTEM 型.

3 漆酶酶活的测定

室温下取等体积的酶液和 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的

2,2-连氮-二(3-乙基并噻-6-磺酸)(ABTS)在 pH = 4 的醋酸-醋酸钠缓冲溶液中反应,测定反应体系在 5 min 内 420 nm 处的吸光度的变化.定义每分钟使 $1 \mu\text{mol}$ 的 ABTS 氧化所需要的酶量为一个酶活单位.

4 聚合反应

称取 0.2 g 对苯基苯酚于 300 mL 三角瓶中,加入少量(约 1 mL)丙酮使对苯基苯酚溶解,再次加入 pH 为 5 的醋酸-醋酸钠缓冲溶液(0.2 mol/L)、1,4-二氧六环和 2 mL 漆酶,置于恒温水浴中,温度控制为 35℃,磁力搅拌,反应 48 h.随着反应的进行,聚合产物逐渐从溶液中沉淀出来.在反应过程中每隔 8 h 补充少量漆酶(约 1 mL)和向三角瓶中通入氧气,控制最后反应液的总体积为 40 mL,有机溶剂占总溶液的体积比约为 85%.反应结束后,将溶液离心,用 1:1 丙酮/水混合溶液洗涤沉淀物多次以除去未反应的底物和漆酶,烘干得到产物.

5 产物的性质与结构推测

5.1 产物的性质 得到的聚合物为灰黑色的固体,不溶于丙酮、苯、乙醇、环己烷等溶剂,能缓慢溶解于氯仿、四氢呋喃和二甲基甲酰胺中.对其做 DSC 分析,从 30℃ 开始升温,扫描速度为 20 K/min,结果显示聚合物的玻璃化转变温度 T_g 为 168.84℃,在 301℃ 时有分解现象发生(图 1).

5.2 产物的 GPC 分析 用四氢呋喃为流动相,聚苯乙烯为标样,对产物做 GPC 分析,使用一根 $7.8 \times 300 \text{ mm}$ 型号为 Ultrastayragel $10^3 \text{ \AA}$ 的分析柱.结果如图 2 所示,从图中可知该聚合物的重均分子量 $M_w = 80533$,数均分子量 $M_n = 60144$,其分

* 2003-11-19 收稿,2003-12-23 修稿;国家自然科学基金(基金号 30270040)和广东省自然科学基金(基金号 32543)资助项目;

** 通讯联系人

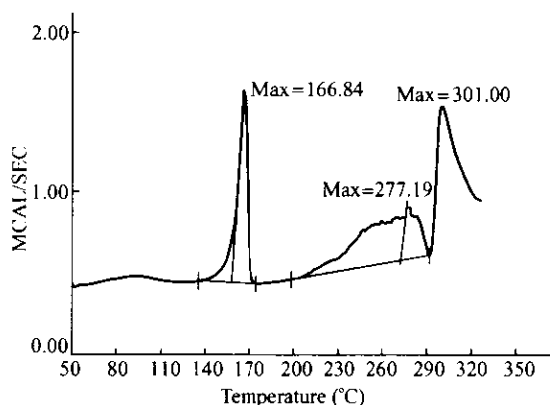


Fig. 1 The DSC diagram of poly(4-phenylphenol)

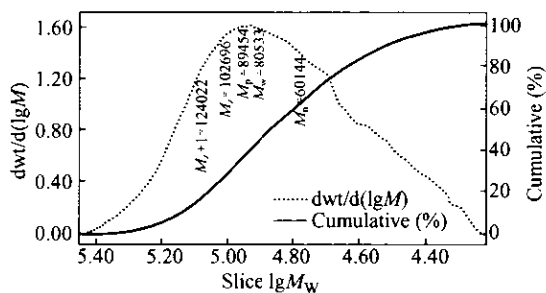


Fig. 2 The molecular weight distribution of poly(4-phenylphenol) by GPC

散度 $M_w/M_n = 1.339$.

5.3 产物的结构推测 对产物分别做了红外和核磁共振分析,图3,4,5分别为产物的 FTIR、 $^1\text{H-NMR}$ 和 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱图.做核磁共振测试时用氘代氯仿做溶剂,由于产物中分子量较高的部分难溶解于氯仿,因此所得的谱图只是产物中分子量较低的部分.在 $^{13}\text{C-NMR}$ 谱图中, $\delta 155.1$ 相应 C_1 , $\delta 115.6$ 相应 $\text{C}_{2,6}$, $\delta 128.7$ 相应 $\text{C}_{3,5}$, $\delta 140.8$ 相应 C_4 , $\delta 134.0$ 相应 C_7 , $\delta 128.4$ 相应 $\text{C}_{3',5'}$, $\delta 126.7$ 相应 $\text{C}_{2',4',6'}$.其中羟基邻位碳反应后与苯基相连,其化学位移($\delta 115.6$)与单体(图6)相应碳的化学位移($\delta 116.4$)相比往高场发生了漂移,说明在羟基的邻位发生了反应.聚合物 $\text{C}_{3,5}$ ($\delta 128.7$) 与 $\text{C}_{3',5'}$ ($\delta 128.4$) 的化学位移相对差值仅有 0.3,而单体中 $\text{C}_{3,5}$ ($\delta 129.5$) 与 $\text{C}_{3',5'}$ ($\delta 128.7$) 的化学位移相对差值有 0.8,这是因为在聚合物中 $\text{C}_{2,6}$ 与苯环相连,由于苯环的共轭效应, $\text{C}_{3,5}$ 上的电子云密度发生了变化,使得其化学位移往高场发生漂移.此外,聚合物的 C_1 ($\delta 155.1$) 与单体的 C_1 ($\delta 158.0$) 相比也往高场漂移了很多,也是因为在 $\text{C}_{2,6}$ 发生了取代反应的缘故.在 $^1\text{H-NMR}$ 谱图中看不到酚羟

基的峰,是因为使用了氘代溶剂,质子发生了交换之缘故.聚合物单元苯环羟基邻位碳上的氢($\delta 6.865$)与其他位置的氢的积分面积比与单体的相比减少了很多,说明在大部分的产物中羟基的邻位发生了取代反应,生成了聚酚产物.而在羟基的邻位还有氢的存在是因为在产物的端基上这个位置的氢没有被取代.做红外测试时样品用 KBr 压片法制备.由图3可以看出,在 688 和 758 cm^{-1} 有吸收峰表明有单取代苯环存在, 833 cm^{-1} 吸收峰对应着苯环上孤立 H 的 $\delta_{\text{CH(面外)}}$.此外 1257 和 1425 cm^{-1} 吸收峰分别对应 C-O 和 O-H 振动,表明聚合物中有酚羟基存在,而 3423 cm^{-1} 的强吸收峰则是聚对苯基苯酚上的酚羟基所致.因此可以推测聚对苯基苯酚的可能结构如下:

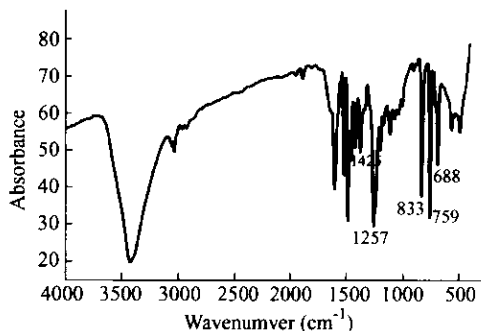
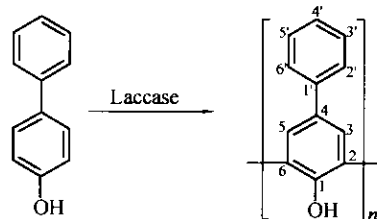
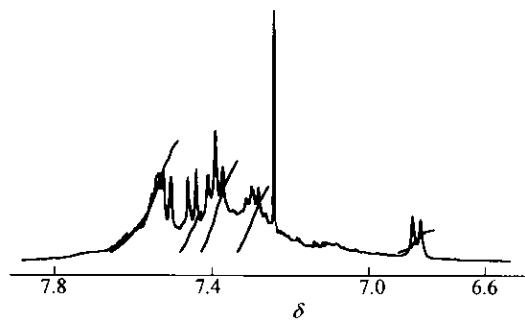
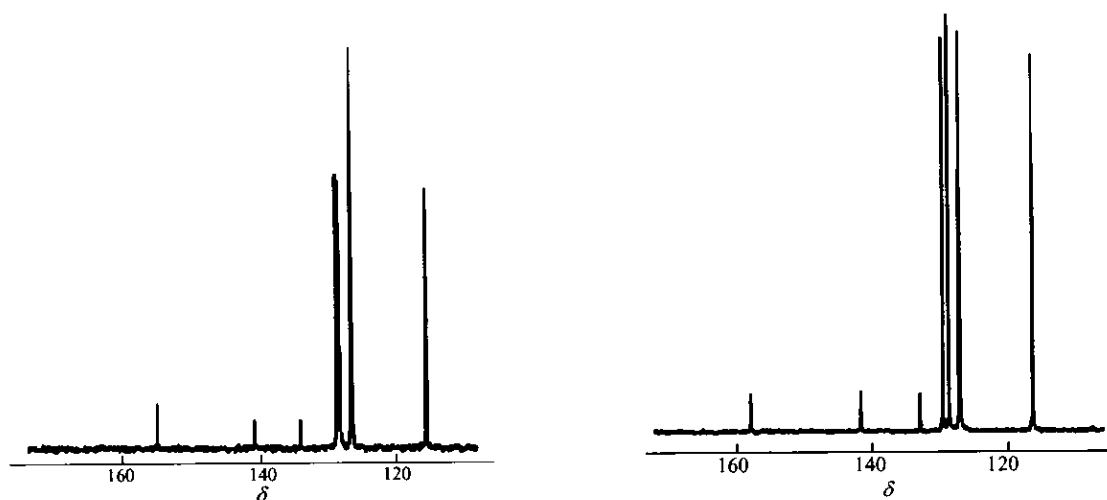


Fig. 3 The FTIR spectrum of poly(4-phenylphenol)

Fig. 4 The $^1\text{H-NMR}$ spectrum of poly(4-phenylphenol)

根据上述分析可以认为在漆酶的催化下,对苯基苯酚分子间通过酚羟基的邻位相互连接而形成了分子链上带有酚羟基的高分子量的聚酚产物.



有关该反应的溶剂体系中有有机溶剂配比、反应温度、反应体系中缓冲溶液的 pH 对聚合物分

子量、分子量分布及产率的影响实验正在进行,将另文发表。

REFERENCES

- 1 Xie Xiuyin(谢修银), Yan Chengnong(颜承农), Wu Dingquan(吴鼎泉). Wuhan University Journal of Nature Sciences(武汉大学学报(自然科学版)), 1997, 43(6): 741 ~ 746
- 2 Chen C L, Potthast A, Rosenau T, Gratzl J S, Kirkman A G, Nagai D, Miyakoshi T. J Mol Catal, B: Enzym, 2000, 8(4-6): 213 ~ 219
- 3 Crestini C, Argyropoulos D. ACS Symp Ser, 2001, 785: 373 ~ 390
- 4 Dordick J S, Marletta M A, Kilbanov A M. Biotech Bioeng, 1987, 30: 31 ~ 36
- 5 Xu Hanyan(许海燕), Xu Lianghua(徐梁华), Pang Zhizheng(庞正智). Journal of Functional Polymers(功能高分子学报), 1995, 8(3): 355 ~ 359

THE POLYMERIZATION OF 4-PHENYLPHENOL CATALYZED BY LACCASE

ZHOU Pandeng, FU Shiyu

(Key Laboratory of Cellulose and Lignocellulosics Chemistry, Guangzhou Institute of Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650)

Abstract There has been much interest in polymerization catalyzed by enzymes (“enzymatic polymerization”) as a new methodology of polymer syntheses. Recently, enzymatic synthesis of polyaromatics has been developed. Peroxidase-catalyzed polymerization of phenol and its various derivatives proceeded to give polymers with a complicated structure, which is hard to synthesize by conventional oxidative polymerizations. As a *p*-diphenol oxidase, laccase could be used to catalyze the oxidative reaction and macromolecule synthesis. The polymerization of 4-phenylphenol was carried out in the mixture of buffer (pH 4) and organic (15:85, vol %) catalyzed by a laccase, produced from white rot fungus, at 35°C for 48 h to form a polymer, 2,6-poly(4-phenylphenol) with molecular weight above 80,000, which was determined by GPC. The polymer was analyzed by DSC to show that the glass transition temperature is 168.84°C and the decomposition of this polymer took place at 301°C. The structure of this polymer is characterized by IR, H-NMR and ¹³C-NMR spectra. It's reasonable to conclude that polyphenol with phenol hydroxy groups on the molecular chains are formed through laccase enzymatic polymerization.

Key words Laccase, 2,6-poly(4-phenylphenol), Enzymatic-polymerization