

生物技术在绿色化学研究中的应用

杨津,朱令之*,杨宇婴,段中余

(河北工业大学绿色化工与高效节能河北省重点实验室,河北工业大学化工学院,天津300130)

摘要:绿色化学领域的研究导向仍遵循着12条原则:在原料、反应试剂、催化剂、合成路线和产品等节点上以绿色物质取代有毒物质。另一个明显的研究趋势是密切结合或利用生物技术进行化工产品的合成,而对于生物合成的应用关键是找到合适的生物催化剂。

关键词:绿色化学;生物技术;生物催化剂

中图分类号:TQ-9

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2016)03-0016-04

DOI:10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2016.03.004

Application of biotechnology in green chemistry

YANG Jin, ZHU Ling-zhi*, YANG Yu-ying, DUAN Zhong-yu

(Institute of Green Chemical Technology, Hebei University of Technology, Tianjin 300130, China)

Abstract: The guideline of green chemistry involves the replacement of toxic substance with the green one in the production chains like raw material, reaction agents, catalyst, process, product etc. Synthesis of chemical products by combining or using biotechnology becomes another obvious research trend in recent years, in which the key issue is to find out the suitable enzyme-biological catalyst to realize biosynthesis of chemical products.

Key words: green chemistry; biotechnology; enzyme-biological catalyst

美国1990年通过的“防止污染行动”法案中首次出现了“绿色化学”一词,绿色化学的核心观点是利用化学原理从源头上减少和消除工业生产对环境的污染;反应物的原子全部转化为期望的最终产物,所以“绿色化学”又称作环境无害化学、环境友好化学、清洁化学^[1]。美国在1995年设立“总统绿色化学挑战奖”(PGCC奖),这是世界上首次由一个国家的政府出台的对绿色化学实行奖励的政策,旨在促进防止污染和工业生态平衡。我国于1997年启动《环境友好石油化工催化化学与化学反应工程》,标志着我国绿色化学研发的开端,并将绿色化学的基础研究项目作为支持的重要方向之一。

1 绿色化学的研究动向

绿色化学涉及有机合成、催化、生物化学、分析化学等学科,其研究主要是围绕化学反应、原料、催化剂、溶剂和产品的绿色化而开展,一方面遵循绿色设计的原则^[2-3],即充分利用资源和能源,采用无毒、无害的原料,在无毒、无害的条件下进行反应,以减少向环境排放废物;另一方面遵循原子经济的原则^[4],实现“零排放”;生产环境友好的产品。

Anastas和Warner于1998年提出了“绿色化学

的12条原则”^[5-6],这些原则现被作为开发和评估一条合成路线、一个生产过程、一个化合物是不是绿色的标准。绿色化学从原理和方法上给传统的化学化工产业带来了革命性的变化,也提出了巨大的挑战。绿色化学的理想化原则正契合了生物科学和技术的特点,从近几年绿色化学的研究成果看到,化学家越来越多地借助生物科学和生物技术来获得所需要的产品。

2 绿色化学与生物技术的密切结合

2010年的美国总统绿色化学奖获奖成果更印证了绿色化学与生物技术之间的密切关系。在本年度的奖项中,加州大学洛杉矶分校的华裔教授廖俊智以其研究成果“CO₂在生物合成中循环利用”获得个人最高荣誉学术奖。在此研究中,利用经基因改造的工程菌可从葡萄糖或直接利用CO₂合成长链醇,突破了野生微生物不能合成2碳以上醇分子的限制,提高了醇类作为燃料添加剂的能量值。该技术一旦商品化,每年可替代四分之一的石油燃料,也可为地球减少5亿t(约8.3%)的碳废气。

美国南旧金山的生物技术公司LS9以其可再生石化燃料和基于微生物的化学产品生产获得小型商业

收稿日期:2015-10-15

基金项目:河北省自然科学基金资助项目(B2014202209);河北省教育厅高等学校科学研究(2011121);中国科学院生态环境高分子材料重点实验室开放课题资助项目(20130101)

作者简介:杨津(1967-),女,硕士,yangjin@hebut.edu.cn;朱令之(1963-),女,博士,副教授,硕士生导师,主要研究方向为绿色过程与工艺研究,通讯联系人,022-60202240,lzhu@hebut.edu.cn。

奖,该公司开发的技术是利用一系列基因改性微生物将植物糖转化为各种链烷烃、烯烃、脂肪醇和脂肪酯等产品;默克公司和克迪科思公司以其开发的利用新型转氨酶生产Ⅱ型糖尿病药物工艺获得绿色反应条件奖^[7]。

由此看出,生物质原料、生物合成反应和生物酶的利用成为当今绿色化学研究的发展趋势。

2.1 生物质原料

生物质指利用大气、水、土地等通过光合作用而产生的各种有机体,是地球上可再生性的资源,因为生物质主要由C、H、O 3种元素组成,所以以生物质为原料合成的化工产品或用来代替矿物质资源可大大减轻对资源和环境的压力。在生物质向燃料转化的研究中主要是利用一些工业废物合成有利用价值的燃料。

Xing等^[8]利用木材加工工业的副产品——半纤维素废弃液,通过酸催化、醇醛缩合、加氢和脱氧4个步骤合成长链($C_{12} \sim C_{13}$)烷烃,可广泛用作喷气式飞机和柴油机的燃料。半纤维素废弃液主要含有木糖低聚物、葡萄糖、树胶醛糖、乳酸、乙酸和甲酸等,其理论转化产率为76%, $C_{12} \sim C_{13}$ 占合成产物的91%。同时,这一工艺有助于消除工业废物。

γ -戊内酯(GVL)是一种生物质的平台分子,Alonso等^[9]将从 γ -戊内酯衍生得到的非末端烯烃,经过低聚反应的级联过程,被转化为适用于交通工具的液态燃料。在合成路线上,研究者引入了生物技术,在消除工业废物的同时避免产生二次废物污染,如Steinbusch等^[10]利用混合培养发酵技术,将低碳生物质乙酸(有机废物)经生物合成转化成己酸酯和辛酸酯,后者是进一步合成生物柴油和化学工业用品的前体。

木质纤维素是制备燃料和化学品的丰富原料,Hick等^[11]引入了固-固催化或机械催化的方法,通过机械研磨和加入催化剂解决了固体纤维素反应物

不易被催化的难题,经过一步催化作用,84%的纤维素被转化成水溶性物质,减少了废物产生,增加了原料的稳定性等。

废弃的生物质处置不当也会导致环境污染或成为致病源,张志剑等^[12]利用液化技术,从包括多糖、木质素、蛋白质和油脂等生物大分子在内的废弃生物质中制取生物油,不仅解决了有机物的污染问题,而且开发了生物质能源利用的一个新思路。

2.2 生物合成反应

Shih等^[13]报道的利用微生物发酵串联合成成果聚糖和乙醇的工艺,就体现了原子经济性的原则。在此工艺中,枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)先利用蔗糖进行发酵,并将蔗糖完全转化为果聚糖;收集发酵液,超滤得到果聚糖溶液,进一步发酵可得到乙醇,最终可产生两种有价值的环境友好的产物——果聚糖和乙醇。回收果聚糖所需的醇用量只是传统制备方法的1/4,所以这一工艺是环境友好的绿色工艺。如前所述,Steinbusch等^[10]采用的是混合微生物培养发酵技术,经一步反应将低碳生物质乙酸(有机废物)由生物合成转化成己酸酯和辛酸酯。

3 继续以“绿色”物质取代传统的有毒物质

绿色化学要求在化学反应过程中尽可能采用无毒无害的原料、催化剂和溶剂,“总统绿色化学挑战奖”也专门设立了变更合成路线奖和变更溶剂/反应条件奖。在最新的绿色化学研究报道中,可以看到研究者仍然遵循以生物性、可降解的、环境友好的原料和试剂,在温和的条件下合成产物,而且尽量减少废物的产生,同时减少反应步骤和后续产品的回收程序。有些研究中,对催化剂进行回收利用,保护环境的同时也降低了生产成本。

3.1 绿色溶剂

Harjani等^[14]报道,利用生物可降解的离子液体,如3-丁氧羰基-1-甲基吡啶双三氟甲磺酰亚胺

(上接第15页)

- [6] 关旭. 石油行业税收政策研究[D]. 大连: 东北财经大学, 2007.
- [7] 吕建中. 石油产业链上下游环节价值分布不均问题探讨[J]. 中国石油大学学报(社会科学版), 2010, 26(3): 1-5.
- [8] 王越. 关于加强我国油气资源勘查开发管理的若干思考[J]. 中外能源, 2012, 17(12): 24-29.
- [9] 王世声, 王振明. 关于石油天然气管道保护法的几个问题[J]. 国际石油经济, 2007, (6): 27-30.
- [10] 谈捷. 中外石油税制对比分析及政策改革建议[J]. 当代石油

石化, 2004, 12(10): 29-32.

- [11] 田春荣. 2014年中国石油和天然气进出口状况分析[J]. 国际石油经济, 2015, (3): 57-67.
- [12] 钱兴坤, 姜学峰, 戴家权, 等. “十三五”期间全球油气行业发展十大趋势[J]. 国际石油经济, 2015, (1): 44-50.
- [13] 张森林, 陈光玖, 张斌. 产学研联盟自主创新模式的机理及实证研究——以中国石油产业为例[J]. 湖北社会科学, 2010, (4): 90-92.
- [14] 贾琇明, 岳来群, 韦子亮. 有关我国深海油气资源勘探开发的几点思考[J]. 国土资源情报, 2005, (7): 5-7. ■

盐,经钨催化进行有效的 Sonagashira 偶联反应(炔合成的反应),反应在室温下利用超声进行,避免使用铜盐和大量的磷化氢,后者都是易造成污染的有毒试剂。固定化的钨催化剂可回收循环使用,且其催化活性不变。

在酶催化的醛类碳联反应(C—C 键形成)中,Shanmuganathan 等^[15]以 2-甲基四氢呋喃(2-MTHF)作为助溶剂,取代二甲基亚砜(DMSO)和甲基叔丁基醚(MTBE)作为助溶剂或有机相介质。2-甲基四氢呋喃可从生物质原料如乙酰丙酸衍生得到,并且在空气中就可以进行非生物性降解,对环境友好,可消除 DMSO 和 MTBE 难分离或难降解造成的污染问题。

在 Kulkarni 等^[16]的研究中,利用非挥发性的疏水性环境友好的溶剂聚丙二醇来提取橘子皮中的柠檬烯,经过有机全蒸发,可高产率回收不含溶剂的产物。Tan 等^[17]研究了一种环境友好的溶剂体系,在无溶剂或在甘油中,苯乙烯、乙烯基二茂铁和 2-苯基吡啶可以很容易地与 1,3-二取代-5-吡啶酮和甲醛进行反应,而不需要任何催化剂。不仅减少废物的产生,而且简化了合成步骤。

3.2 绿色催化剂

Sun 等^[18]首次利用醋酸钠(CH_3COONa)作为催化剂,催化 1,6-己二胺(HDA)与碳酸二甲酯(DMC)的甲氧羰基化反应,在 348 K 下反应 6 h,1,6-六亚甲基二氨基甲酸甲酯的产率高达 99%。可利用氢氧化钠和甲基乙酸的反应回收作为催化剂的醋酸钠。

Bonamore 等^[19]在一个体系中经两步反应,利用(S)-去甲基乌药碱合成酶(NCS)从廉价的酪氨酸和多巴胺底物合成立体选择性的 S-去乌药碱,纯化的对映体产物产率达到 93%。其中(S)-去甲基乌药碱合成酶的来源是通过基因重组技术使酶基因在大肠杆菌中表达合成目的蛋白酶,并且此酶可经回收再利用。

Hahn 等^[20]首次研究了以生物催化剂——漆酶催化的环化反应,在温和的环境友好的反应条件下,不需要高温高压就能合成环庚烯、环辛烯、二氮杂螺环己烯、吩嗪等。漆酶是利用白腐真菌合成并分离纯化得到的生物酶。

3.3 环境友好产品

绿色化学的另一个重要方面是设计、生产和使用环境友好产品,这种产品在其加工、应用及功能消失之后均不会对人类健康和生态环境产生危害。设

计更安全化学品奖即是对这一类绿色化学产品的奖励,2010 年的总统绿色化学挑战奖设计型奖项授予了从事环境产品及服务的克拉克公司,该公司研发的一种多杀菌素 Spinosad 的缓释技术,可以使多杀菌素 Spinosad 这种绿色杀虫剂在水中稳定存在,用于控制蚊子幼虫的生长。由于此技术的应用减少了每个季节投放多杀菌素 Spinosad 的次数,进一步减少了对环境的压力^[6]。

3.4 绿色合成途径

Yu 等^[21]的研究发现,在利用生物合成的脂肪酶 Novozym 435 对大豆油和甲醇进行转酯化合成脂肪甲酯的反应中,与传统的加热条件相比,微波辐射能增强酶活性并提高反应速率。微波辐射条件下 12 h 的产率达到 94%,而加热需要 24 h 才能达到同一产率。Cukalovic 等^[22]研究了一种简易方法,将 5-羟甲基糠醛(HMF)转化为 5-烷基(芳氨基)-2-呋喃甲醇,此反应无需催化剂,在温和条件下进行,产物的产率很高,只需要微纯化。

4 原子经济性的处处体现

绿色化学的核心内容之一是采用“原子经济”反应,而反应的“原子经济性”概念最早是由美国斯坦福大学 Trost 教授提出的^[4],针对一般仅用经济性来衡量工艺是否可行的传统作法,他明确指出应用一种新的标准来评估化学工艺过程,即选择性和原子经济性两个概念,后者是考虑在化学反应中究竟有多少原料的原子进入到了产品之中。这一标准既要求尽可能地节约那些一般是不可再生的原料资源,又要求最大限度地减少废物排放。

在上述一些研究报道中,可以看到研究者在选择绿色原料和试剂的同时,也在探寻提高产率的最佳合成路线和温和条件,如 Shih 等^[13]报道了利用微生物发酵串联合成果聚糖和乙醇的过程,蔗糖完全被利用,最好地诠释了原子经济性的原则。

5 结论及展望

(1)生物技术将成为化工产物合成的主导技术,它比传统的物理化学法具有效率高、成本低、选择性高、二次污染少等优势。无论对科学研究还是环境经济都有很重要的意义。从环境效益方面来看,利用现代生物技术合成的生物催化剂,与传统工业催化剂相比,不仅可以回收再利用,生物可降解性减少其对环境的污染,同时生物催化剂催化的反应一般都是在温和的环境友好条件下进行,大大降低

了工业催化剂所需高温高压条件的能源消耗。从经济效益方面来看, 生物质原料如木材、农作物秸秆和一些非粮植物等, 比原油资源更廉价和容易获取。据美国环境总署(EPA) 研究报道, 化工工业由于绿色化学理念的引入, 大大降低了对环境和社会不利影响所造成的支出。据统计, 截至2020年化工工业可节约65.6亿美元成本支出^[23]。

(2) 应用生物技术或路线进行化工产品的合成, 比化工合成需要复杂的工艺流程和调控技术, 涉及优良菌种的选育、生物催化剂的合成到反应器的优化和反应条件的调控, 再到产物的分离和纯化等。一般来说, 生物合成的效率要大大低于化学合成方法, 如何提高其生产效率是关键问题, 因而需要寻找针对不同产品的最适合的生物酶催化剂或者生物合成系统。可以通过从现有生物酶或生物菌种中进行诱导突变选育、利用基因工程技术改造或者合成生物学方法构建全新的工程酶或工程菌等去实现。

(3) 另外, 生物合成反应体系复杂导致产物的体系也是复杂的混合物, 因此下游的分离纯化工艺也成为影响生物合成产物产率的关键技术。除了传统的蒸馏、萃取、分馏等分离方法, 膜固定技术、离子技术和超临界技术等的应用为产物分离提供了新的思路和方法, 但这些技术需要附加值较高的设备来支持, 实现产业化还要考虑生产成本的因素。

21世纪是生物技术的时代, 生物技术向化学工程领域的渗透, 必将为未来的化学工业带来一次新的变革。

参考文献

[1] 陈建新, 王静康. 绿色化学化工与和谐社会的发展[J]. 现代化工, 2007, 27(12): 1-6.

[2] 贡长生. 绿色化学——我国化工工业可持续发展的必由之路[J]. 现代化工, 2002, 22(1): 8-14.

[3] 叶向群. 绿色设计与绿色化学设计[J]. 环境污染与防治, 2002, 24(3): 190-192.

[4] Trot B M, Atom Economy. A challenge organic synthesis[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 1995, 34(3): 259-281.

[5] 闵恩泽, 傅军. 绿色化学的进展[J]. 化学通报, 1999, (1): 10-15.

[6] 2010 Presidential Green Chemistry Challenge Awards. <http://www.epa.gov/gcc/>.

[7] 刘长虹, 吴树新, 曹文华. 2010年美国绿色化学挑战奖项项目评述[J]. 现代化工, 2010, 30(7): 86-89.

[8] Rong Xing, Ayyagari V Subrahmanyam, Hakan Olcay, et al. Production of jet and diesel fuel range alkanes from waste hemicellulose-derived aqueous solutions [J]. Green Chem, 2010, 12: 1933-1946.

[9] David Martin Alonso, Jesse Q Bond, Juan Carlos Serrano-Ruiz, et al. Production of liquid hydrocarbon transportation fuels by oligomerization of biomass-derived C9 alkenes [J]. Green Chem, 2010, 6: 992-999.

[10] Kirsten J J Steinbusch, Hubertus V M Hamelers, Caroline M Plugge, et al. Biological formation of caproate and caprylate from acetate: Fuel and chemical production from low grade biomass Energy Environ [J]. Sci, 2011, 4: 216-224.

[11] Sandra M Hick, Carolin Griebel, David T Restrepo, et al. Mechano-catalysis for biomass-derived chemicals and fuels [J]. Green Chem, 2010, 3: 468-474.

[12] 张志剑, 李鸿毅, 朱军. 废弃物生物质液化制取生物油的研究进展[J]. 环境污染与防治, 2014, 25(3): 87-93.

[13] Ing-Lung Shih, Li-Dar Chen, Tsaur-Chin Wang, et al. Tandem production of levan and ethanol by microbial fermentation [J]. Green Chem, 2010, (7): 1242-1247.

[14] Jitendra R Harjani, Theodore J Abraham, Alwyn T Gomez, et al. Sonogashira coupling reactions in biodegradable ionic liquids derived from nicotinic acid [J]. Green Chem, 2010, (4): 650-655.

[15] Saravanakumar Shanmuganathan, Dessy Natalia, Anne van den Wittenboer, et al. Enzyme-catalyzed C—C bond formation using 2-methyltetrahydrofuran (2-MTHF) as (co) solvent: Efficient and bio-based alternative to DMSO and MTBE [J]. Green Chem, 2010, (12): 2240-2245.

[16] Prashant S Kulkarni, Carla Brazinha, Carlos A M Afonso, et al. Selective extraction of natural products with benign solvents and recovery by organophilic pervaporation: Fractionation of *D*-limonene from orange peels [J]. Green Chem, 2010, (11): 1990-1994.

[17] Jia-Neng Tan, Minghao Li, Yanlong Gu. Multicomponent reactions of 1,3-disubstituted 5-pyrazolones and formaldehyde in environmentally benign solvent systems and their variations with more fundamental substrates [J]. Green Chem, 2010, (5): 908-914.

[18] Da-Lei Sun, Shun-Ji Xie, Jian-Ru Deng, et al. CH₃COONa as an effective catalyst for methoxycarbonylation of 1,6-hexanediamine by dimethyl carbonate to dimethylhexane-1,6-dicarbamate [J]. Green Chem, 2010, (3): 483-490.

[19] Alessandra Bonamore, Irene Rovardi, Francesco Gasparini, et al. An enzymatic, stereoselective synthesis of (*S*)-norocloaurine [J]. Green Chem, 2010, (9): 1623-1627.

[20] Veronika Hahn, Timo Davids, Michael Lalk, et al. Enzymatic cyclizations using laccases: Multiple bond formation between dihydroxybenzoic acid derivatives and aromatic amines [J]. Green Chem, 2010, (5): 879-887.

[21] Dahai Yu, Li Tian, Dongxiao Ma, et al. Microwave-assisted fatty acid methyl ester production from soybean oil by Novozym 435 [J]. Green Chem, 2010, (5): 844-850.

[22] Ana Cukalovic, Christian V Stevens. Production of biobased HMF derivatives by reductive amination [J]. Green Chem, 2010, (7): 1201-1206.

[23] Green Chemicals will save industry \$65.5 billion by 2020. <http://www2.epa.gov/green-chemistry>. ■