

橡塑助剂

# 生物基增塑剂异山梨醇二己酸酯的一步酶法合成

龙慧仪<sup>1</sup>, 周宇洋<sup>2</sup>, 朱明新<sup>1</sup>, 潘顺龙<sup>1</sup>, 周华<sup>1,2\*</sup>

(1. 南京工业大学 环境科学与工程学院, 江苏 南京 211816; 2. 南京工业大学 生物与制药工程学院, 江苏 南京 211816)

**摘要:** 以甲苯为溶剂, 在 4A 分子筛存在下, 固定化脂肪酶 (Novozym 435) 催化异山梨醇与正己酸酯化反应制备了异山梨醇二己酸酯。通过单因素实验选择 4 个因素 (反应时间、反应温度、酶添加量、4A 分子筛用量) 进行了响应面实验分析。结果表明, 在甲苯 10 mL、异山梨醇 3 mmol、 $n(\text{异山梨醇}) : n(\text{正己酸}) = 1 : 6$ 、反应时间 43 h、反应温度 40 °C、Novozym 435 添加量 0.10 g、4A 分子筛用量为 2.00 g 的最优条件下, 异山梨醇二己酸酯的产率达到了 93.77%。

**关键词:** 异山梨醇酯; 脂肪酶; 酯化反应; 响应面法; 催化技术

中图分类号: TQ414 文献标识码: A 文章编号: 1003-5214 (2024) 08-1833-07

## One-step enzymatic synthesis of bio-based plasticizer isosorbide hexanoate diester

LONG Huiyi<sup>1</sup>, ZHOU Yuyang<sup>2</sup>, ZHU Mingxin<sup>1</sup>, PAN Shunlong<sup>1</sup>, ZHOU Hua<sup>1,2\*</sup>

(1. School of Environmental Science and Engineering, Nanjing Tech University, Nanjing 211816, Jiangsu, China; 2. College of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Tech University, Nanjing 211816, Jiangsu, China)

**Abstract:** Isosorbide dihexanoate was prepared from the esterification reaction of isosorbide and hexanoic acid under the catalysis of immobilized lipase Novozym 435 in the presence of 4A molecular sieve using toluene as solvent. Response surface analysis was then conducted with four factors (reaction time, reaction temperature, enzyme addition amount, 4A molecular sieve dosage) selected *via* single factor experiment. The results showed that the yield of isosorbide dihexanoate reached 93.77% under the optimal conditions of toluene 10 mL, isosorbide 3 mmol,  $n(\text{isosorbide}) : n(\text{caproic acid}) = 1 : 6$ , reaction time 43 h, reaction temperature 40 °C, Novozym 435 0.10 g and 4A molecular sieve 2.00 g.

**Key words:** isosorbide ester; lipase; esterification; response surface methodology; catalysis technology

传统石油基苯二甲酸酯类是全球使用最广泛的增塑剂<sup>[1]</sup>, 但其对人类健康和环境<sup>[2-4]</sup>的潜在威胁使其产量和消费量受到了限制。生物基增塑剂不仅能提高聚合物的柔韧性和伸长率, 还因其独特的低毒性、可生物降解性而受到了广泛关注<sup>[5]</sup>。其中, 异山梨醇二酯类增塑剂具有可生物降解性, 并已通过毒性、过敏性和致畸性等测试<sup>[6]</sup>, 其独特的双环结构也有助于增强塑料制品的机械性能, 在加工过程中可以等量替代含苯类增塑剂, 并达到同等塑化

效果<sup>[7-8]</sup>, 因此成为近年研究较多的生物基增塑剂之一<sup>[9-10]</sup>。

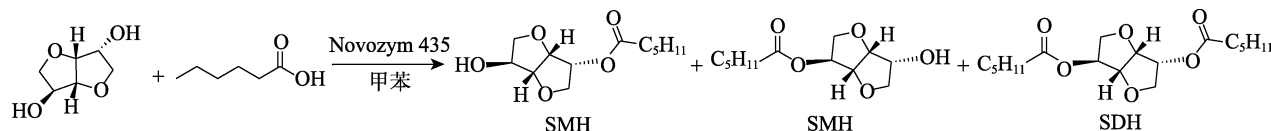
异山梨醇二酯是由异山梨醇和脂肪族长链羧酸完全酯化反应制备而成, 原料均来源于生物基材料。目前, 异山梨醇二酯的合成方法主要是化学法。李文博等<sup>[11]</sup>以对甲苯磺酸为催化剂, 在 120 °C 下催化异山梨醇和正壬酸反应 6 h, 制备了一种生物基增塑剂异山梨醇二正壬酸酯 (SDN), 酯化率达到了 99%。FRAILE 等<sup>[12]</sup>利用不同性质的磺酸固体 (烷基、芳基

收稿日期: 2023-08-09; 定用日期: 2023-09-19; DOI: 10.13550/j.jxhg.20230649

基金项目: 江苏省研究生科研与实践创新计划项目 (SJCX23\_0471)

作者简介: 龙慧仪 (1997—), 女, 硕士生, E-mail: 202161202059@njtech.edu.cn。联系人: 周华 (1970—), 男, 教授, E-mail: zhouhua@njtech.edu.cn。

和全氟烷基磺酸)催化山梨醇在 160 °C 真空无溶剂条件下,先脱水成异山梨醇,再和辛酸发生酯化反应,反应 24 h 后二辛酸酯产率可达 97%。YANG 等<sup>[1]</sup>以异山梨醇和酰氯为原料,通过化学法设计合成了 4 种具有不同烷基链长度的异山梨醇酯类增塑剂,即异山梨醇二丁酸酯(SDB)、异山梨醇二己酸酯(SDH)、异山梨醇二辛酸酯(SDO)和异山梨醇二癸酸酯(SDD)。总之,化学法合成异山梨醇二酯具有反应速率快、转化率高的特点,但也存在易污染环境、反应剧烈及能耗高等不足,因此开发一种环境友好的合成方法十分必要。酶催化技术在酯类生产中具有反应条件温和(常温常压)、副产物少、催化剂可重复使用等优点<sup>[13-15]</sup>,酶法合成生物基增塑剂具有良好的发展潜力。CUI 等<sup>[16-17]</sup>以 Ylip2(解脂耶氏酵母胞外脂肪酶 Lip2)、Novozyme 435(南极假丝酵母脂肪酶 B 固定于丙烯酸树脂上)和 Lipozyme RMIM(米赫根毛霉脂肪酶固定在酚醛树脂上)3 种脂肪酶为催化剂,催化异山梨醇和油酸的酯化反应,并对反应条件进行了优化,二酯产率最高可达 77.4%;又以 Novozym 435 为催化剂,在无溶剂条件下以异山梨醇和辛酸进行酯化反应合成了异山梨醇二辛酸酯,二酯产率为 80%。张喆<sup>[18]</sup>以异山梨醇和混合酸(辛酸、癸酸)为原料,采用多酶分步催化方式:第一步 Ylip2 固定化酶;第二步更换实验室自制的固定化南极假丝酵母脂肪酶 B(CALB)。在最优条件下反应 48 h 后,并对产品进行精制、脱酸后最终产品中异山梨醇二酯相对含量



向 50 mL 反应瓶中依次加入 0.4384 g (3 mmol) 异山梨醇、2.3 mL (18 mmol) 正己酸(溶于 10 mL 甲苯中)、2.00 g 4A 分子筛、0.10 g Novozym 435,然后在 40 °C 下搅拌反应 43 h。取少量样品进行薄层色谱法(TLC)跟踪反应并确定硅胶柱层析条件,以  $V(\text{石油醚}):V(\text{乙酸乙酯})=10:1$  为展开剂,后经分离纯化得到提纯的棕色油状液体 SDH。

### 1.2.2 SDH 的分析及表征

采用 GC 进行定量测定。以十二烷为内标物,通过内标法测定反应液中 SDH 和 SMH 的质量浓度,以异山梨醇为基准的 SDH 产率按照下式计算:

$$\text{产率}/\%=(\rho/\rho_0)\times 100$$

式中:  $\rho$  为异山梨醇与正己酸充分反应后 SDH 的理论质量浓度, g/mL;  $\rho_0$  为异山梨醇与正己酸反应后 SDH 的实际质量浓度, g/mL。

采用 FTIR 表征 SDH 的化学结构。先将合成的

为 94.99%,单酯相对含量为 4.75%。目前,关于酶法合成异山梨醇二酯的报道较少,而且采用多个脂肪酶为催化剂进行反应,酶使用成本偏高及反应过程的复杂性均限制了异山梨醇二酯的高效制备。

为构建酶法合成异山梨醇二酯的高效合成路线,优化酶法合成异山梨醇二酯的条件,本文拟以 Novozym 435 为催化剂,在有机溶剂中催化异山梨醇和正己酸的酯化合成 SDH 和异山梨醇单己酸酯(SMH)。在单因素实验基础上,利用响应面设计方法优化 SDH 的最佳合成工艺过程,为开发一种高效简单的异山梨醇二酯酶法合成工艺奠定基础。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

Novozym 435 (2000 U/g),北京高瑞森科技有限公司;异山梨醇(色谱纯)、正己酸、甲苯、正己烷、异辛烷、四氯化碳,化学纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司;4A 分子筛,上海有新分子筛有限公司。

SP-7890 型高效气相色谱仪(GC),山东鲁南瑞虹化工仪器有限公司;AVANCE NEO 型核磁共振波谱仪,德国 Bruker 公司;Nicolet iS5 型傅里叶变换红外光谱仪(FTIR)、Trace 1300-ISQ 型 GC-MS 联用仪,美国 Thermo Fisher Scientific 公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 异山梨醇二己酸酯的制备

异山梨醇二己酸酯的合成路线如下所示。

SDH 涂在压好的溴化钾片上测试。采用核磁共振波谱仪进一步表征 SDH 的化学结构,以氘代氯仿( $\text{CDCl}_3$ )为溶剂,对合成产物 SDH 进行 <sup>1</sup>H NMR 测试。<sup>1</sup>H NMR ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz),  $\delta$ : 5.20~5.11 (m, 2H), 4.82 (t,  $J=5.0$  Hz, 1H), 4.46 (d,  $J=4.6$  Hz, 1H), 4.22~3.51 (m, 4H), 2.73~2.00 (m, 4H), 1.62 (dtdd,  $J=9.8, 7.2, 4.8, 2.4$  Hz, 4H), 1.30 (ddt,  $J=10.9, 7.2, 3.5$  Hz, 8H), 0.88 (qq,  $J=4.1, 2.1, 1.5$  Hz, 6H)。GC-MS,  $m/z$ :  $[\text{M}+\text{Na}]^+$  理论值 365.1935, 实测值 365.1940;  $[\text{M}+\text{H}]^+$  理论值 343.2115, 实测值 343.2121。

#### 1.2.3 SDH 合成条件的优化

反应参数包括反应溶剂、反应时间、 $n$ (异山梨醇): $n$ (正己酸)、反应温度、脂肪酶及吸水剂的用量。保持其他参数不变,考察每个参数对 SDH 产率的影响。

具体方法为: 固定异山梨醇用量为 3 mmol, (1) 在  $n(\text{异山梨醇}) : n(\text{正己酸}) = 1 : 3$ 、Novozym 435 添加量 0.10 g、4A 分子筛用量 1.00、40 °C 反应 48 h 的条件下, 考察 4 种非极性溶剂 (甲苯、正己烷、四氯化碳、异辛烷) 对 SDH 产率的影响, 并以不使用有机溶剂作为对照; (2) 以甲苯为溶剂, 在  $n(\text{异山梨醇}) : n(\text{正己酸}) = 1 : 3$ 、Novozym 435 添加量 0.10 g、4A 分子筛用量 1.00 g 的条件下, 考察反应时间 (6~60 h) 对 SDH 产率的影响; (3) 以甲苯为溶剂, 在 Novozym 435 添加量 0.10 g、4A 分子筛用量 1.00 g 的条件下, 40 °C 反应 48 h, 考察不同  $n(\text{异山梨醇}) : n(\text{正己酸})$  对 SDH 产率的影响; (4) 在 Novozym 435 添加量 0.10 g、4A 分子筛用量 1.00 g、 $n(\text{异山梨醇}) : n(\text{正己酸}) = 1 : 6$ 、反应时间 48 h 的条件下, 考察反应温度对 SDH 产率的影响; (5) 在上述优选的反应条件下, 采用不同酶添加量 (0.04~0.12 g) 进行反应, 考察 Novozym 435 添加量对 SDH 产率的影响; (6) 在上述优选的反应条件下考察 4A 分子筛用量 (0~2.00 g) 对 SDH 产率的影响。

为了研究酶催化异山梨醇和正己酸的酯化反应合成 SDH 的自变量和因变量之间的规律和联系, 采用统计学方法对实验数据进行分析。通过单因素实验选择了 4 个因素 [反应时间 (A)、反应温度 (B)、酶添加量 (C)、4A 分子筛用量 (D)] 的 3 个水平进行响应面分析, 以确定最佳工艺条件。

## 2 结果和讨论

### 2.1 酶法合成 SDH 单因素条件考察

#### 2.1.1 溶剂对 SDH 产率的影响

图 1 为不同溶剂对 SDH 产率的影响。有机溶剂作为反应介质的优点包括维持酶一定的稳定性、改变热力学平衡以促进反应合成而非水解、限制反应物与水的副反应, 并可能增加反应底物的溶解度<sup>[19]</sup>。

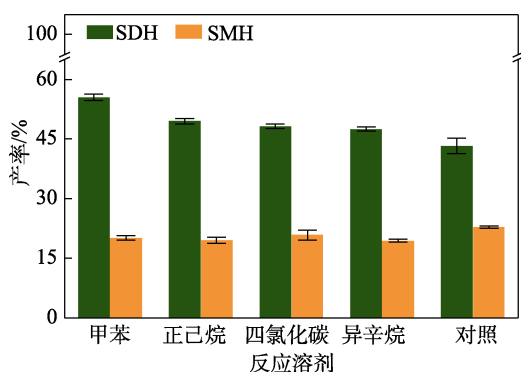


图 1 不同溶剂对 SDH 产率的影响  
Fig. 1 Effect of different solvents on SDH yield

由图 1 可知, 使用甲苯、正己烷、四氯化碳和

异辛烷作为溶剂时, 可以获得较高的 SDH 产率且均高于不使用有机溶剂 (对照)。这是因为, 甲苯、正己烷等疏水性溶剂的使用, 在不干扰酶微水层的情况下保持酶催化活性和稳定性, 从而促进此类反应的正向进行, 此结果也和其他报道类似<sup>[20-24]</sup>。当以甲苯 [油水分配系数 ( $\log P$ ) 为 2.7] 为反应溶剂时, SDH 的产率达到最高 (55.49%), 因此, 选择甲苯作为溶剂较合适。

#### 2.1.2 反应时间对 SDH 产率的影响

酶催化反应时间可以一定程度揭示酶的性能。随着反应的进行, 确定所需的最佳时间不仅能够达到合适的产率, 也能够提高工艺的效益。图 2 为反应时间对 SDH 产率的影响。

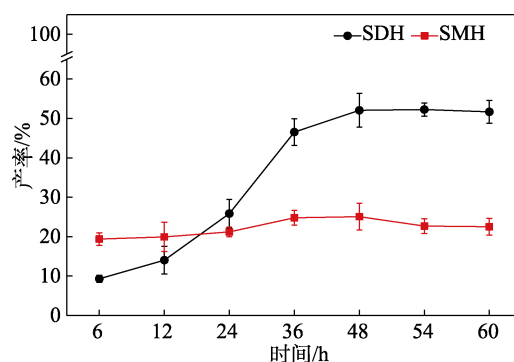


图 2 反应时间对 SDH 产率的影响  
Fig. 2 Effect of reaction time on SDH yield

由图 2 可知, 随着反应时间的延长, SDH 产率先增加后降低, 在 48 h 时, SDH 产率达到最大, 为 57.02%。所以, 对于酶催化合成 SDH 较合适的反应时间为 48 h。

#### 2.1.3 $n(\text{异山梨醇}) : n(\text{正己酸})$ 对 SDH 产率的影响

图 3 为  $n(\text{异山梨醇}) : n(\text{正己酸})$  对 SDH 产率的影响。

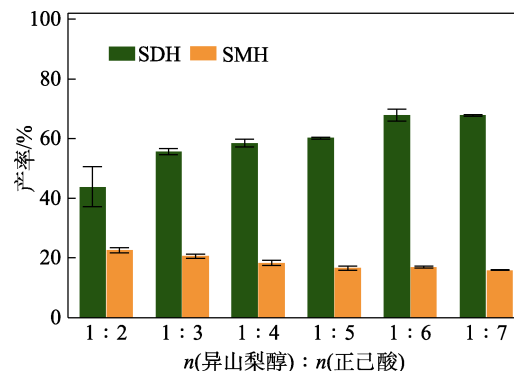


图 3 底物物质的量比对 SDH 产率的影响  
Fig. 3 Effect of molar ratio of substrates on SDH yield

由图 3 可知, 随着正己酸用量的逐渐增大, SDH 产率先增大后减少, SMH 产率逐渐减少。当  $n(\text{异山梨醇}) : n(\text{正己酸}) = 1 : 6$  时, SDH 产率为 67.84%。

过多的正己酸会抑制脂肪酶的催化活性，导致 SDH 的产率降低 [  $n(\text{异山梨醇}) : n(\text{正己酸})=1 : 7$  时 ]。当  $n(\text{异山梨醇}) : n(\text{正己酸})=1 : 2$  时，SDH 的产率最低，可能是因为极性底物异山梨醇在体系中的浓度过高，影响了酶的活性，并且高浓度的醇也是脂肪酶的抑制剂<sup>[24]</sup>。所以，选择  $n(\text{异山梨醇}) : n(\text{正己酸})=1 : 6$  为最佳配比。

#### 2.1.4 反应温度对 SDH 产率的影响

图 4 为反应温度对 SDH 产率的影响。

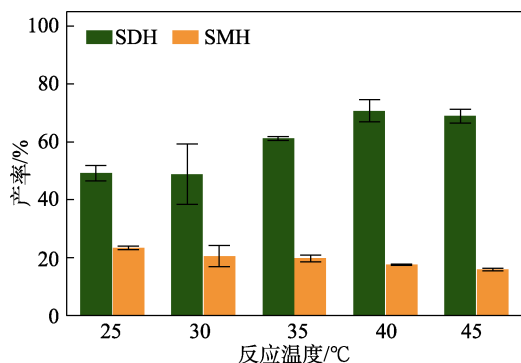


图 4 反应温度对 SDH 产率的影响

Fig. 4 Effect of reaction temperature on SDH yield

由图 4 可知，随着反应温度的升高，SDH 的产率呈现先升高后略微下降的趋势。当反应温度为 40 °C 时，SDH 的产率为 70.77%。适当升高反应温度有利于底物的溶解，提高催化过程中物质传递的能力，但过高的反应温度会降低脂肪酶的催化活性。因此，确定酶促反应的最合适反应温度为 40 °C。

#### 2.1.5 Novozym 435 添加量对 SDH 产率的影响

图 5 为 Novozym 435 添加量对 SDH 产率的影响。

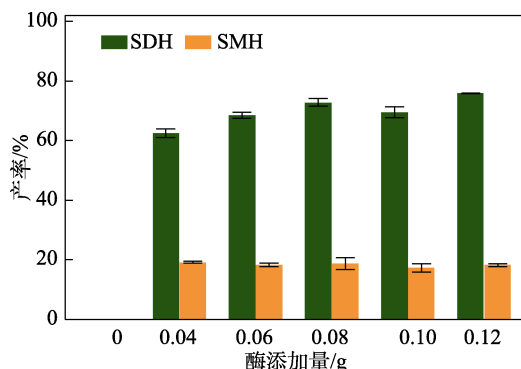


图 5 Novozym 435 添加量对 SDH 产率的影响

Fig. 5 Effect of addition amount of Novozym 435 on SDH yield

由图 5 可知，在 Novozym 435 添加量较低时，SDH 产率随着 Novozym 435 添加量的增加而升高，但 Novozym 435 添加量 > 0.08 g 后，SDH 产率维持在 70% 左右，增加缓慢；当 Novozym 435 添加量为

0.12 g，SDH 的产率最高，达到了 75.84%。当未添加 Novozym 435 时，没有任何产物的生成，由此可以证明，异山梨醇和正己酸反应在此条件不能自发进行，由于 Novozym 435 对此酯化反应的发生具有关键催化作用，所以选择最佳酶添加量为 0.12 g。

#### 2.1.6 4A 分子筛用量对 SDH 产率的影响

图 6 为 4A 分子筛用量对 SDH 产率的影响。酯化反应中的水是影响酶法合成酯的关键因素，酶需要一定浓度的水维持其天然构象和催化功能，过多的水会抑制酶促反应的活性。合适的除水方式可以通过控制 4A 分子筛的用量，在保持酶活性的前提下提高产物产率<sup>[25]</sup>。

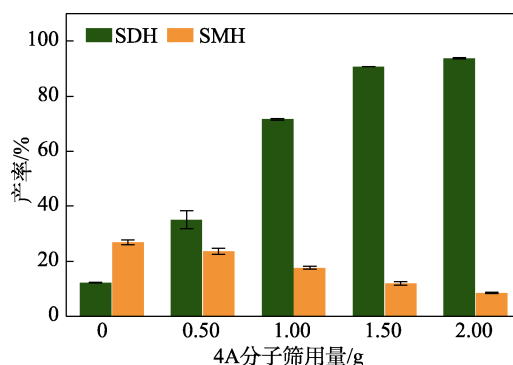


图 6 4A 分子筛用量对 SDH 产率的影响

Fig. 6 Effect of dosage of 4A zeolite on SDH yield

由图 6 可知，在一定的范围内，4A 分子筛用量越多，SDH 的产率越高，SMH 的产率越低。当 4A 分子筛用量从 1.50 g 增至 2.00 g 时，SDH 的产率虽继续增加，但增幅较小，同时在反应体系中加入更多 (> 2.00 g) 的分子筛可能会对固定化酶的强度产生一定的影响<sup>[24]</sup>。其中，当 4A 分子筛的用量为 0 时，SDH 产率 < 30%，说明在此体系中，4A 分子筛的除水作用较大。当 4A 分子筛用量为 2.00 g 时，SDH 产率最高，达到了 90.80%，并且 SMH 产率最低，在此反应条件下，既保持了酶较高的活性，也使酯化反应正向进行，提高了 SDH 产率。

## 2.2 酶法合成 SDH 的响应面优化分析

### 2.2.1 响应面优化实验设计及分析

响应面实验因素水平设计见表 1，结果见表 2，回归方程各项的方差分析见表 3。

表 1 响应面实验因素水平设计

Table 1 Response surface test factor level design

水平	因素			
	A 反应时间/h	B 反应温度/°C	C 酶添加量/g	D 4A 分子筛/g
-1	36	35	0.04	1.00
0	48	40	0.07	1.50
1	60	45	0.10	2.00

表 2 响应面实验结果

Table 2 Response surface analysis results.

编号	A/h	B/°C	C/g	D/g	SDH 产率/%
1	36	40	0.07	2.00	80
2	36	40	0.07	1.00	55
3	48	45	0.07	2.00	89
4	48	45	0.10	1.50	82
5	36	35	0.07	1.50	68
6	48	35	0.07	2.00	81
7	48	35	0.10	1.50	85
8	48	45	0.04	1.50	80
9	36	45	0.07	1.50	73
10	36	40	0.04	1.50	60
11	48	40	0.07	1.50	88
12	48	40	0.07	1.50	77
13	36	40	0.1	1.50	84
14	48	40	0.04	1.00	66
15	60	40	0.04	1.50	74
16	48	35	0.07	1.00	67
17	48	40	0.10	2.00	92
18	48	40	0.07	1.50	85
19	60	40	0.10	1.50	83
20	60	45	0.07	1.50	80
21	60	40	0.07	2.00	79
22	48	35	0.04	1.50	69
23	48	40	0.04	2.00	85
24	48	40	0.07	1.50	86
25	48	40	0.07	1.50	75
26	48	45	0.07	1.00	66
27	48	40	0.10	1.00	71
28	60	35	0.07	1.50	76
29	60	40	0.07	1.00	73

表 3 方差分析结果

Table 3 Variance analysis table.

项目	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	2071.53	14	147.97	10.23	< 0.0001
A	164.47	1	164.47	11.38	0.0046
B	52.78	1	52.78	3.65	0.0767
C	328.00	1	328.00	22.69	0.0003
D	979.38	1	979.38	67.74	< 0.0001
AB	0.18	1	0.18	0.01	0.9117
AC	59.19	1	59.19	4.09	0.0625
AD	95.33	1	95.33	6.59	0.0223
BC	44.52	1	44.52	3.08	0.1011
BD	17.38	1	17.38	1.20	0.2914
CD	1.51	1	1.51	0.10	0.7511
A <sup>2</sup>	263.85	1	263.85	18.25	0.0008
B <sup>2</sup>	35.47	1	35.47	2.45	0.1396
C <sup>2</sup>	1.61	1	1.61	0.11	0.7436
D <sup>2</sup>	101.39	1	101.39	7.01	0.0191
残差	202.41	14	14.46		
失拟项	71.75	10	7.18	0.22	0.9763
纯误差	130.65	4	32.66		
总离差	2273.94	28			

注:  $P < 0.01$  表示差异极显著;  $P < 0.05$  表示差异显著。

根据表 2 的实验结果, 运用 Design-Expert 12 软件对 SDH 产率和各因素进行多元回归分析, 得到 SDH 产率的预测值 ( $Y$ ) 对反应时间 ( $A$ )、反应温度 ( $B$ )、酶添加量 ( $C$ )、4A 分子筛用量 ( $D$ ) 的二次多元回归方程为:  $Y=82.38+3.70A+2.10B+5.23C+9.03D-0.2147AB-3.8500AC-4.8800AD-3.3400BC+2.0800BD+0.6151CD-6.3800A^2-2.3400B^2-0.4981C^2-3.9500D^2$ 。方程决定系数  $R^2=0.9110$ , 说明此回归方程的拟合度较好。

由表 3 可知, 在一定的区间范围内, 响应面  $F$  值越大, 其对 SDH 产率影响程度越大, 各因素对 SDH 产率的影响程度由大到小顺序为  $D > C > A > B$ 。其中, 回归模型的  $F$  值为 10.23,  $P < 0.0001$ , 表示此模型具有良好的显著水平, 失拟项的  $F$  值为 0.22,  $P=0.9738 > 0.05$ , 失拟项不显著, 表明实验无失拟因素存在, 回归模型能够充分反映实际情况。

### 2.2.2 各因素交互作用对 SDH 产率的影响

运用 Design-Expert 12 软件绘制了各因素与响应值之间的三维曲面和等高线分析图 (图 7)。此图能更加直观地表明各因素之间的交互作用对  $Y$  的影响。响应面坡度越陡, 等高线图越接近椭圆形, 各因素间的交互作用越显著; 响应面越平滑, 等高线图越向圆方向倾斜, 这两个因素之间的交互作用越小<sup>[26-27]</sup>。

通过图 7b~f 可以看出, 反应时间与酶添加量、反应时间与 4A 分子筛用量、反应温度与酶添加量、反应温度与 4A 分子筛用量以及酶添加量与 4A 分子筛用量的交互作用对 SDH 产率有显著影响, 响应面的坡度较陡, 等高线图的中心趋于椭圆。另外, 通过图 7a 可以看出, 响应面的坡度较平缓, 等高线图的中心接近圆形, 反应时间和反应温度的交互作用对 SDH 产率影响较小。

### 2.2.3 最优工艺条件的确定及验证

在实验范围内, 利用已建立的模型优化 SDH 合成工艺, 得出最佳合成工艺: 以甲苯为溶剂,  $n$ (异山梨醇):  $n$ (正己酸)=1:6, 反应时间 43.03 h、反应温度 40.98 °C、酶添加量 0.10 g、4A 分子筛用量 2.00 g。SDH 的产率预测值 93.92%。

结合实际情况, 将 SDH 合成条件进行修正: 反应时间 43 h、反应温度 40 °C、酶添加量 0.10 g、4A 分子筛用量 2.00 g。在此条件下进行 SDH 的合成, 连续实验 3 次, SDH 平均产率为 93.77%, 与预测值接近, 表明此模型与实际情况拟合良好。

## 2.3 SDH 的 FTIR 表征

图 8 为异山梨醇和 SDH 的 FTIR 谱图。

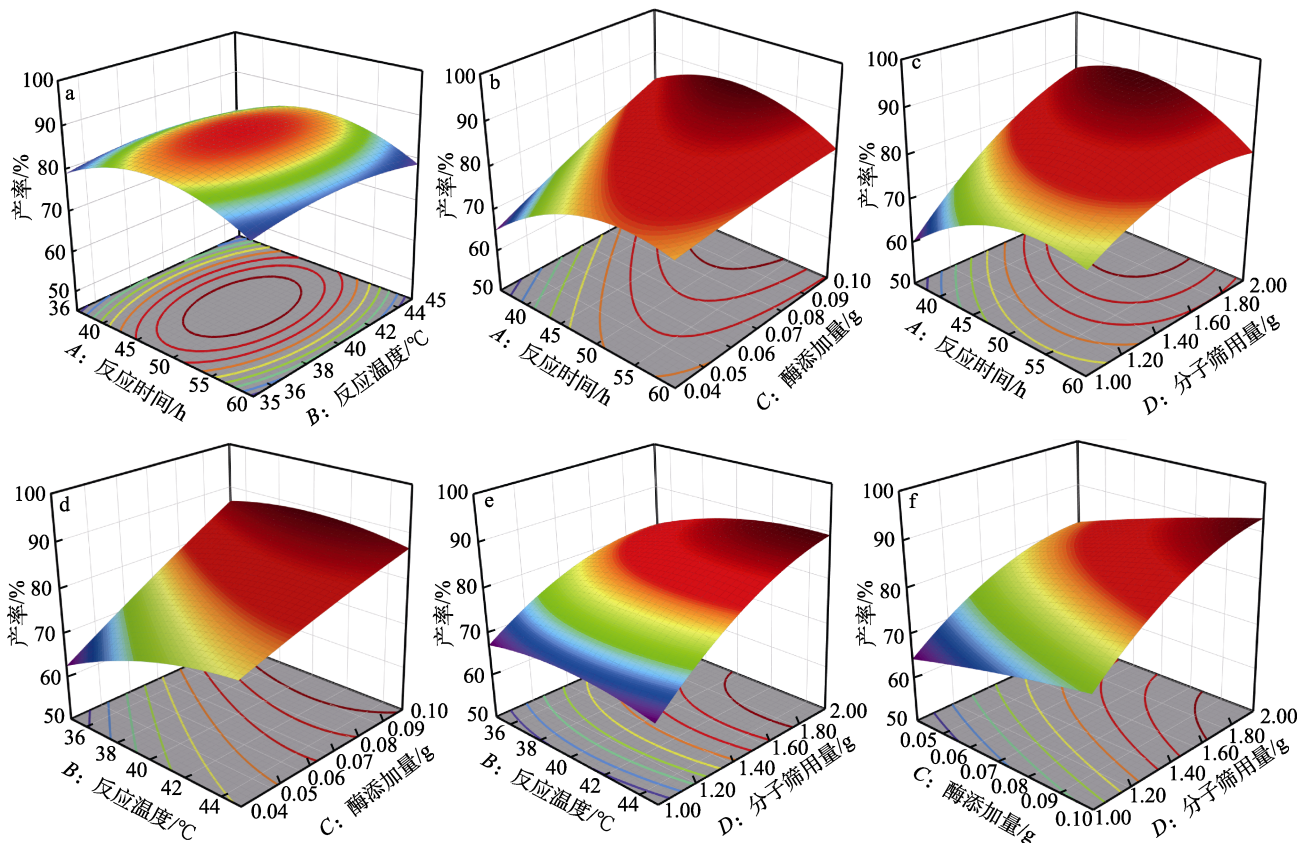


图 7 各因素交互作用对 SDH 产率的响应面分析图

Fig. 7 Response surface analysis diagrams of the interaction of various factors on SDH yield

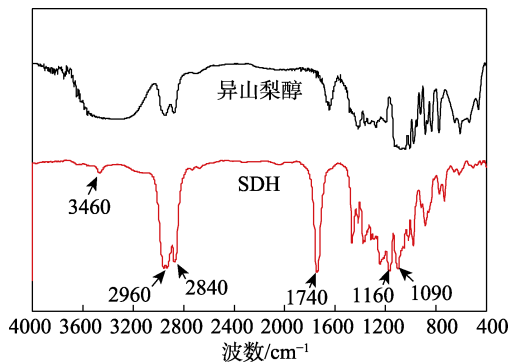


图 8 异山梨醇和 SDH 的 FTIR 谱图

Fig. 8 FTIR spectra of isosorbide and SDH

从图 8 可见,与异山梨醇相比,SDH 在  $1740\text{ cm}^{-1}$  处吸收峰可归属于羰基的伸缩振动,在  $1160$  和  $1090\text{ cm}^{-1}$  处吸收峰是由 C—O—C 基团的伸缩振动造成的,表明合成的产物 SDH 化学结构中有酯基生成。此外,在  $2960\sim 2840\text{ cm}^{-1}$  处出现的多重吸收峰代表产物中有大量的  $-\text{CH}_2$  和  $-\text{CH}_3$  基团。此结果与文献[1]类似。

### 3 结论

以 Novozym 435 为催化剂,在甲苯中催化异山梨醇与正己酸进行酯化反应制备 SDH。通过单因素和响应面设计实验对酶法合成工艺条件进行了优

化,建立了高效简单的 SDH 酶法合成路线。

经过优化得到的最优酶法合成反应条件为:溶剂甲苯  $10\text{ mL}$ 、Novozym 435 添加量  $0.10\text{ g}$ 、异山梨醇  $3\text{ mmol}$ 、 $n(\text{异山梨醇}) : n(\text{正己酸}) = 1 : 6$ 、4A 分子筛用量  $2.00\text{ g}$ 、反应温度  $40\text{ }^\circ\text{C}$ 、反应时间  $43\text{ h}$ 。在此条件下,SDH 产率为  $93.77\%$ ,与模型预测值  $93.92\%$  接近。其中,反应加入 4A 分子筛有效吸附去除了酯化过程中产生的微量水,维持了 Novozym 435 的高催化活性,从而提高了 SDH 的产率,实现了 SDH 的高效简单合成。

### 参考文献:

- [1] YANG Y, HUANG J C, ZHANG R Y, *et al.* Designing bio-based plasticizers: Effect of alkyl chain length on plasticization properties of isosorbide diesters in PVC blends[J]. *Materials & Design*, 2019, 126: 29-36.
- [2] WANG X Y (王笑妍), XUE Y B (薛燕波), ZHE D M (者东梅), *et al.* Overview of phthalate plasticizers, current regulations and standards[J]. *China Plastics (中国塑料)*, 2019, 33(6): 95-105.
- [3] GU S R, ZHENG H, XU Q B, *et al.* Comparative toxicity of the plasticizer dibutyl phthalate to two freshwater algae[J]. *Aquatic Toxicology*, 2017, 191: 122-130.
- [4] ZHANG Y (张悦), YUAN Q (袁骥), JIANG M (蒋玫), *et al.* Research progress in toxicity and detection methods of phthalic acid esters[J]. *Environmental Chemistry (环境化学)*, 2019, 38(5): 1035-1046.
- [5] JIA P Y, XIA H Y, TANG K H, *et al.* Plasticizers derived from biomass resources: A short review[J]. *Polymers*, 2018, 10(12): 1303.
- [6] SIMAR-MENTIÈRES S, NESSLANY F, SOLA M L, *et al.* Toxicology and biodegradability of a phthalate-free and bio-based

- novel plasticizer[J]. *Journal of Toxicology*, 2021, 2021: 9970896.
- [7] WANG C (王成), WAN T T (万婷婷), XU R W (徐日炜). Progress on bio-based environmentally benign PVC plasticizers[J]. *Modern Chemical Industry (现代化工)*, 2021, 41(8): 72-79.
- [8] ZHANG H F (张惠芳), WANG K Z (王克智), LI X G (李训刚). Plasticizers for bio-based & biodegradable plastics[J]. *Plastics Additives (塑料助剂)*, 2016(3): 1-7.
- [9] LI Y P (李永朋), CUI R (崔然), XI Z H (奚桢浩), *et al.* Application of bio-based plasticizer isosorbide diheptanoate in PVC[J]. *Engineering Plastics Application (工程塑料应用)*, 2020, 48(3): 22-27.
- [10] DU Y G (杜永刚), SHI G H (史官会), LIU Y L (刘宇乐), *et al.* Preparation and modification effect on PVC of novel biobasedplasticizers based on isosorbitol[J]. *China Synthetic Resin and Plastics (合成树脂及塑料)*, 2021, 38(5): 25-29.
- [11] LI W B (李文博), REN L (任亮), TAO Z J (陶子俊), *et al.* The design and preparation of isosorbide-based plasticizer and its application in poly(vinyl chloride)[J]. *Engineering Plastics Application (工程塑料应用)*, 2021, 49(4): 123-126.
- [12] FRAILE J M, SAAVEDRA C J. Synthesis of isosorbide esters from sorbitol with heterogeneous catalysts[J]. *ChemistrySelect*, 2017, 2(3): 1013-1018.
- [13] SÁ A G A, DE MENESES A C, DE ARAUJO P H H, *et al.* A review on enzymatic synthesis of aromatic esters used as flavor ingredients for food, cosmetics and pharmaceuticals industries[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2017, 69: 95-105.
- [14] WU S K, SNAJDROVA R, MOORE J C, *et al.* Biocatalysis: Enzymatic synthesis for industrial applications[J]. *Angewandte Chemie*, 2021, 60(1): 88-119.
- [15] ZHANG J X (张璟灏), GAO B B (高兵兵), HE B F (何冰芳). Research progress of enzyme immobilized in biocatalysis[J]. *Chinese Journal of Bioprocess Engineering (生物加工过程)*, 2022, 20(1): 9-19, 40.
- [16] CUI C X, ZHANG Z, ZENG Q Q, *et al.* Insight into the synthesis of isosorbide diester plasticizer using immobilized lipases[J]. *RSC Advances*, 2016, 6(110): 108180-108186.
- [17] CUI C X, ZHANG Z, ZENG Q Q, *et al.* Synthesis of biosafe isosorbide dicaprylate ester plasticizer by lipase in a solvent-free system and its sub-chronic toxicity in mice[J]. *RSC Advances*, 2016, 6(15): 11959-11966.
- [18] ZHANG Z (张喆). *Enzymatic synthesis isosorbide ester[D]*. Beijing: Beijing University of Chemical Technology (北京化工大学), 2018.
- [19] BANIK S D, NORDBLAD M, WOODLEY J M, *et al.* A correlation between the activity of *Candida antarctica* lipase B and differences in binding free energies of organic solvent and substrate[J]. *ACS Catalysis*, 2016, 6(10): 6350-6361.
- [20] ROSA B H, SILVA G S, CONCEIÇÃO G J A, *et al.* Application of partially concentrated *Candida rugosa* lipase in the enzymatic synthesis of geranyl acetate in organic solvent[J]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2017, 12: 90-95.
- [21] ZIENIU B, FABISZEWSKA A, BIALECKA F E. Screening of solvents for favoring hydrolytic activity of *Candida antarctica* lipase B[J]. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2020, 43(4): 605-613.
- [22] SUN S D, TIAN L Y. Novozym 40086 as a novel biocatalyst to improve benzyl cinnamate synthesis[J]. *RSC Advances*, 2018, 8(65): 37184-37192.
- [23] YUAN X, WANG L J, ZHANG P L, *et al.* Enantioselective esterification of (*R,S*)-2-(4-methylphenyl)propionic acid *via* Novozym 435: Optimization and application[J]. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 2020, 28(7): 1816-1823.
- [24] MUSA N, LATIP W, ABD RAHMAN R N Z, *et al.* Immobilization of an antarctic *Pseudomonas* AMS8 lipase for low temperature ethyl hexanoate synthesis[J]. *Catalysts*, 2018, 8(6): 234.
- [25] REZAEI K, JENAB E, TEMELLI F. Effects of water on enzyme performance with an emphasis on the reactions in supercritical fluids[J]. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2007, 27(4): 183-195.
- [26] HUANG Z S, LIANG B Y, WANG F, *et al.* Response surface optimization of poly- $\beta$ -hydroxybutyrate synthesized by *Bacillus cereus* L17 using acetic acid as carbon source[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 247: 125628.
- [27] WANG S S (王舒舒), ZHANG Y D (张议丹), SHI H G (石宏刚), *et al.* Optimization of *Candida rugosa* lipase-catalyzed synthesis of lignosterol oleate esters by response surface methodology[J]. *Fine Chemicals (精细化工)*, 2021, 38(10): 2089-2095.

(上接第 1787 页)

- [4] LIU Y, LI X, ZHOU X, *et al.* Preparation of deep eutectic solvents/graphene composite material and its removal from fuel organic sulfide performance research[J]. *New Journal of Chemistry*, 2021, 45: 5934.
- [5] AHMED F, PATERNO D, SINGH G, *et al.* Ion transport in non-aqueous electrolyte mixtures of zinc chloride deep eutectic solvent (DES) and molecular solvents[J]. *Electrochimica Acta*, 2023, 462: 142784.
- [6] PUTRA S S S, BASIRUN W G, ELGHARBAWY A A, *et al.* Nanocellulose and natural deep eutectic solvent as potential biocatalyst system toward enzyme immobilization[J]. *Molecular Catalysis*, 2022, 528: 112422.
- [7] HOU X D, LI A L, LIN K P, *et al.* Insight into the structure-function relationships of deep eutectic solvents during rice straw pretreatment[J]. *Bioresource Technology*, 2018, 249: 261-267.
- [8] CHEN M J, ZOU C J, TANG W Y, *et al.* Stable hydrogen bonding interactions in supramolecular deep eutectic solvents based on carbon quantum dots: For extraction and oxidative desulfurization[J]. *Separation and Purification Technology*, 2023, 323: 124491.
- [9] XU Z, YONG F, XU H Y. Extraction of keratin from poultry feathers with choline chloride-oxalic acid deep eutectic solvent[J]. *Fibers and Polymers*, 2021, 22(12): 3326-3335.
- [10] NUUTINEN E M, VIRTANEN T, LANTTO R, *et al.* Ductile keratin films from deep eutectic solvent-fractionated feathers[J]. *RSC Advances*, 2021, 11(44): 27512-27522.
- [11] LIU Z T (刘子同), YUAN J G (袁久刚), XUE Q (薛琪), *et al.* Dissolution of chicken feather in deep eutectic solvent and preparation of keratin porous composites[J]. *Wool Textile Journal (毛纺科技)*, 2021, 49(3): 1-5.
- [12] LU T, CHEN F W. Multiwfn: A multifunctional wavefunction analyzer[J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2012, 33(5): 580-592.
- [13] EMAMIAN S, LU T, KRUSE H, *et al.* Exploring nature and predicting strength of hydrogen bonds: A correlation analysis between atoms-in-molecules descriptors, binding energies, and energy components of symmetry-adapted perturbation theory[J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2019, 40(32): 2868-2881.
- [14] REICHARDT C, WELTON T. *Solvents and solvent effects in organic chemistry[M]*. Weinheim: Wiley-VCH, 2010.
- [15] LIAN S H (连少翰). *Synthesis of amino acids-based deep eutectic solvent and its performance for CO<sub>2</sub> capture[D]*. Shijiazhuang: Hebei University of Science and Technology (河北科技大学), 2019.
- [16] ZHU L (朱琳). *Characteristics of acidic deep eutectic solvent and its application in the preparation of quercetin by hydrolyzing rutin[D]*. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University (浙江工商大学), 2022.
- [17] KAMLET M J, ABBOD J, ABRAHAM M, *et al.* Linear solvation energy relationships. 23. A comprehensive collection of the solvatochromic parameters,  $\pi^*$ ,  $\alpha$ , and  $\beta$ , and some methods for simplifying the generalized solvatochromic equation[J]. *Journal of Organic Chemistry*, 1983, 48: 2877-2887.
- [18] BEVERIDGE T, TOMA S J, NAKAI S. Determination of SH— and SS— groups in some food proteins using ellman's reagent[J]. *Journal of Food Science*, 1974, 39(1): 49-51.
- [19] ZHU X J (朱笑吉). *Preparation and study on the properties of keratin sizing by grafting modification via thiol-ene click chemistry[D]*. Hangzhou: Zhejiang Sci-Tech University (浙江理工大学), 2022.
- [20] WAKU T, HIRATA N, NOZAKI M, *et al.* Morphological transformation of peptide nanoassemblies through conformational transition of core-forming peptides[J]. *Polymers*, 2019, 11(1): 39-49.
- [21] KHER A, UDABAGE P, MCKINNON I, *et al.* FTIR investigation of spray-dried milk protein concentrate powders[J]. *Vibrational Spectroscopy*, 2007, 44(2): 375-381.
- [22] SUN J Y (孙佳悦), QIAN F (钱方), JIANG S J (姜淑娟), *et al.* Effect of heat treatments on the secondary structure of milk proteins analyzed by fourier transform infrared spectroscopy[J]. *Food Science (食品科学)*, 2017, 38(23): 82-86.