

催化剂ZIF-67的制备及合成D-阿洛酮糖的工艺优化

韩亚宏, 郭元亨, 吴祺路, 丁长河, 杨 凯, 钱承敬, 王小艳

Preparation of Catalyst ZIF-67 and Optimize on the Synthesis of D-Allulose

HAN Yahong, GUO Yuanheng, WU Qilu, DING Changhe, YANG Kai, QIAN Chengjing, and WANG Xiaoyan

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023110175>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

乙醇体系中D-阿洛酮糖的结晶工艺优化

Crystallization Process Optimization of D-psicose in Ethanol System

食品工业科技. 2019, 40(24): 185-189,198 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.24.030>

D-阿洛酮糖3-差向异构酶在大肠杆菌内的高效可溶性表达及发酵条件研究

Efficient Soluble Expression and Fermentation Conditions of D-Allulose 3-Epimerase in *Escherichia coli*

食品工业科技. 2022, 43(22): 136-143 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021120208>

纳米光催化剂TiO₂的结构表征及光催化杀菌性能

Structure Characterization and Photocatalysis Antibacterial Performance of Nano Photocatalyst TiO₂

食品工业科技. 2019, 40(3): 7-11 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2019.03.002>

D-最优混料与响应面法优化甜茶无糖抗氧化活性蛋糕配方

D-optimal Mixture and Response Surface Method for Optimization of Formulation of Sweet Tea Sugar-free Antioxidant Activity Cake

食品工业科技. 2021, 42(14): 153-160 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020090177>

D-甘露糖生产工艺及生理功能研究进展

Research Progress on the Production Technology and Physiological Function of D-mannose

食品工业科技. 2022, 43(17): 458-465 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021080363>

磷脂酶D特性及其在磷脂酰丝氨酸合成中的应用

Characteristics of Phospholipase D and Application in the Synthesis of Phosphatidylserine

食品工业科技. 2022, 43(12): 486-492 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021120005>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

韩亚宏, 郭元亨, 吴祺路, 等. 催化剂 ZIF-67 的制备及合成 D-阿洛酮糖的工艺优化 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(21): 157-163. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023110175

HAN Yahong, GUO Yuanheng, WU Qilu, et al. Preparation of Catalyst ZIF-67 and Optimize on the Synthesis of D-Allulose[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(21): 157-163. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023110175

· 工艺技术 ·

催化剂 ZIF-67 的制备及合成 D-阿洛酮糖的工艺优化

韩亚宏^{1,2}, 郭元亨^{2,3,4,*}, 吴祺路², 丁长河¹, 杨 凯², 钱承敬², 王小艳^{1,2,3,4,*}

(1. 河南工业大学粮油食品学院, 河南郑州 450001;

2. 中粮营养健康研究院有限公司, 北京 102209;

3. 中粮生物科技股份有限公司, 北京 100005;

4. 吉林中粮生化有限公司玉米深加工国家工程研究中心, 吉林长春 130033)

摘要: 为降低 D-阿洛酮糖的生产成本, 本研究旨在开发一款易回收、可重复使用的 D-阿洛酮糖无机催化剂, 并优化该催化剂生产 D-阿洛酮糖的工艺。本文利用 Co^{2+} 和 2-甲基咪唑在水相中合成沸石咪唑酯骨架材料 (Zeolitic imidazolate framework-67, ZIF-67), 并对其表征; 并以 pH (A)、催化温度 (B)、催化时间 (C) 展开单因素实验; 进一步采用响应面法对其催化工艺进行优化。ZIF-67 呈现菱形十二面体的结构, 催化性能良好, Design Expert 13 预测最优反应条件为 pH11.1、温度 80.0 °C、催化时间 11.2 min。此条件下, ZIF-67 催化活性为 $1003.5 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ 。本文首次开发一款 D-阿洛酮糖无机催化剂 ZIF-67, 并通过响应面较好地预测出 ZIF-67 合成 D-阿洛酮糖的最佳反应条件, 也为 D-阿洛酮糖工业化生产开辟了新途径。

关键词: 沸石咪唑酯骨架材料 (ZIF-67), 无机催化剂, 响应曲面法, D-阿洛酮糖

中图分类号: TS202.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2024)21-0157-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023110175

本文网刊:



Preparation of Catalyst ZIF-67 and Optimize on the Synthesis of D-Allulose

HAN Yahong^{1,2}, GUO Yuanheng^{2,3,4,*}, WU Qilu², DING Changhe¹, YANG Kai²,
QIAN Chengjing², WANG Xiaoyan^{1,2,3,4,*}

(1. College of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China;

2. Nutrition & Health Research Institute, COFCO Corporation, Beijing 102209, China;

3. COFCO Biotechnology Co., Ltd., Beijing 100005, China;

4. National Engineering Research Center of Corn Deep Processing, Jilin COFCO Biochemistry Co., Ltd., Changchun 130033, China)

Abstract: To reduce the manufacturing cost of D-allulose, a recyclable and reusable inorganic catalyst was developed for D-allulose production, and process using this catalyst to produce D-allulose also was optimized in this article. Zeolitic imidazolate framework-67 (ZIF-67) was synthesized using Co^{2+} and 2-methylimidazole in aqueous phase. Then the structure of ZIF-67 was characterized. The single factor test was carried out to select suitable value of pH (A), catalytic temperature (B) and reaction time (C). Based on the results of single factor experiments, the catalytic process was optimized

收稿日期: 2023-11-20

基金项目: “十四五”国家重点研发计划重点专项-玉米淀粉及其多元衍生物产品精细化加工成套技术开发 (2021YFD2101002)。

作者简介: 韩亚宏 (1999-), 女, 硕士, 研究方向: 食品加工工程, E-mail: 604943104@QQ.com。

* 通信作者: 郭元亨 (1984-), 男, 博士, 高级工程师, 研究方向: 生化分离工程, E-mail: guoyuanheng@cofco.com。

王小艳 (1980-), 女, 博士, 正高级工程师, 研究方向: 合成生物学, E-mail: wangxiaoyan@cofco.com。

using response surface methodology. The results showed that ZIF-67 had a rhombic dodecahedral structure and exhibited excellent catalytic performance. The Design Expert 13 software predicted the optimal reaction condition was pH11.1, 80.0 °C and 11.2 min. Under these conditions, the catalytic activity of ZIF-67 was $1003.5 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$. A D-allulose inorganic catalyst was developed and the optimal reaction condition was carried out using response surface methodology in this paper. It also opens up a new path for the industrial production of D-allulose.

Key words: zeolitic imidazolate framework-67 (ZIF-67); inorganic catalyst; response surface methodology; D-allulose

D-阿洛酮糖是自然存在的稀有糖,被认定为 GRAS 物质^[1],口感更接近蔗糖,甜度达到蔗糖的 70%,热量仅 $0.4 \text{ kcal}\cdot\text{g}^{-1}$ ^[2],具有改善食品风味^[3]、降低血糖血脂^[4-5]以及保护神经^[6]等功效。随着国内外研究人员对 D-阿洛酮糖安全性做出的大量研究,对其许可使用的国家地区也逐年增多,使得 D-阿洛酮糖需求量也随之增大。目前,D-阿洛酮糖主要的人工制备方法是生物酶转化法,所需核心酶为 D-阿洛酮糖 3-差向异构酶(D-allulose 3-epimerase, DAE)^[7],酶技术虽然具有高度专一性、反应条件温和、催化速率极快等优点,但也存在易失活、难回收、无法重复利用、反应结束后需要灭活处理、酶蛋白在反应体系中难以分离等不足之处。因此,合成一款抗逆性强、不易失活、反应结束后分离简单的无机催化剂是突破行业发展瓶颈的关键因素。

ZIF-67 是类沸石咪唑酯骨架(Zeolitic imidazolate frameworks, ZIFs)中的一种,属于多孔晶体材料^[8],结构类似于硅铝酸盐沸石^[9]。ZIF-67 可在水相或有机相中合成^[10-11],操作简单,耗材量小,具备良好的催化作用^[12-14]、热稳定性和化学稳定性^[15-16]。通过控制合成工艺可调节 ZIF-67 的微观结构和平均粒径^[17],所制得的 ZIF-67 具有孔径可调^[18-19]、结构稳定性高^[20]等特点。已有报道称 ZIF-67 可作为酶的固定化材料^[21-24],且可用于固定 DAE^[25]。然而,研究人员却忽略了 ZIF-67 本身具有催化剂性能,导致 D-阿洛酮糖生产工艺中既未降低酶的发酵成本,又增加了 ZIF-67 的制作成本,其本质是同一功能(催化)的重复使用,并不能对产业发展提供实质性帮助。ZIF-67 作为无机催化剂,可直接催化 D-果糖合成 D-阿洛酮糖,节省了酶的成本,简化了 D-阿洛酮糖后续的分离纯化工作,有效地降低 D-阿洛酮糖总体生产成本。

本文制备水相无机催化剂 ZIF-67,催化 D-果糖转化为 D-阿洛酮糖。以响应曲面法优化 ZIF-67 的催化性能,同时进一步研究了 ZIF-67 的反应动力学和 D-阿洛酮糖的转化率,为阿洛酮糖行业的发展提供了新方法。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

六水合硝酸钴、2-甲基咪唑、磷酸、氢氧化钠、D-果糖 均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司;所有高效液相色谱检测涉及溶剂均为色谱纯。

Integral 10/5 纯水/超纯水一体化系统 德国默

克集团;1260 Infinity 高效液相色谱仪 配有示差折光检测器(RID)及 CS 色谱数据处理系统,安捷伦科技有限公司;SS-550 扫描电子显微镜 苏州普今生物科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 水相 ZIF-67 制备 将 2 mL 0.04 mol/L 六水合硝酸钴溶液置于烧杯中,搅拌充分,缓慢加入等体积的超纯水,充分混匀。继续缓慢加入 2 mL 1.2 mol/L 2-甲基咪唑溶液,混匀后,持续搅拌 2 h,再静置 4 h。将所得液体 6000 r/min 离心 20 min,并水洗三次,弃上清,冻干 24 h,得到 ZIF-67 粉末。

1.2.2 扫描电子显微镜分析 通过扫描电子显微镜(SEM)观察 ZIF-67 材料的形貌结构,对 ZIF-67 的微观结构进行表征。

1.2.3 D-阿洛酮糖检测方法 配制 250 mL 的 10.00 mg/mL D-阿洛酮糖标准液,依次稀释成浓度为 8.00、6.00、4.00、2.00、1.00、0.50、0.25 mg/mL 的 D-阿洛酮糖溶液,高效液相色谱法(HPLC)测定峰面积,并绘制标准曲线。检测 D-阿洛酮糖色谱条件如下:色谱柱为 Waters sugar-PakI(6.5 mm×300 mm, 10 μm),进样量为 10 μL ,柱温为 80 °C, RID 检测温度为 55 °C,流动相为纯水,流速为 0.4 mL/min, D-阿洛酮糖出峰时间为 22 min。

绘制标准曲线,所得回归方程见式(1), $R^2=0.9999$ 。

$$Y = 202978.81X \quad \text{式(1)}$$

式中:Y 表示 D-阿洛酮糖峰面积;X 表示 D-阿洛酮糖质量浓度,mg/mL。

1.2.4 ZIF-67 的催化活性测定 80 °C 的反应条件下,1 g ZIF-67 在 1 min 内将底物转化为产物的数量定义为 1 个催化活性单位($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$)。制备 300 g/L D-果糖溶液,氢氧化钠溶液调节 pH11.0。取待测 ZIF-67 粉末 0.1 g,加入果糖溶液 4.9 mL,80 °C 反应 10 min。HPLC 检测 D-阿洛酮糖生成量。根据前述定义计算待测样品的催化活性,其催化活性按式(2)和式(3)计算。

$$m(\text{mg}) = V_1 \times k \times \frac{Y}{a} \quad \text{式(2)}$$

式中:m 表示催化反应中生成的 D-阿洛酮糖的质量,mg; V_1 表示总体积(ZIF-67 用量+底物),mL; k 表示高效液相色谱检测时溶液稀释倍数;Y 表示 D-阿洛酮糖峰面积;a 表示常数。

$$E(\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}) = \frac{n \times m \times 1000}{M \times t \times m_0} \quad \text{式 (3)}$$

式中: E 表示 ZIF-67 的催化活性, $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$; n 表示稀释倍数; m 表示催化反应中生成的 D-阿洛酮糖的质量, mg; M 表示 D-阿洛酮糖的摩尔质量, g/mol; t 表示反应时间, min; m_0 表示催化反应中 ZIF-67 质量, mg。

1.2.5 单因素实验 为了研究反应条件 pH 对 ZIF-67 无机催化活性的影响, 使用氢氧化钠溶液和磷酸缓冲溶液调节反应液的 pH, 分别在 pH 为 3、4、5、6、7、8、9、10、11、12 的条件下, 55 °C 反应 60 min, 之后进行 HPLC 检测 D-阿洛酮糖的生成量, 计算 ZIF-67 的催化活性; 为研究反应条件温度对 ZIF-67 无机催化活性的影响, 分别于温度为 30、40、50、60、70、80、90、100 °C 的条件下, pH11 时反应 60 min, 计算 ZIF-67 的催化活性; 为研究反应条件时间对 ZIF-67 无机催化活性的影响, 分别置于 pH11、温度 80 °C 条件下反应 5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60 min, 计算 ZIF-67 的催化活性。

1.2.6 响应面实验 依据单因素实验结果进行 Box-Behnken Design(BBD) 中心组合试验设计, 以 pH (A)、温度(B)、时间(C)三个因素为变量, ZIF-67 催化活性 $Y(\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1})$ 为其响应值, 设计 3 因素 3 水平试验。BBD 中心组合试验设计因素和水平详见表 1。按优化后得到最佳反应条件进行催化反应, 并计算其催化活性。

表 1 BBD 中心组合设计因素和水平
Table 1 Factors and levels of BBD center combination design

因素	变量	水平		
		-1	0	+1
A	pH	10	11	12
B	温度(°C)	70	80	90
C	时间(min)	5	10	15

1.2.7 ZIF-67 的反应动力学 以 D-果糖(浓度为 60~270 g/L)为底物, 在最适条件下进行催化反应, 研究 ZIF-67 的反应动力学。根据 Lineweaver-Burk 双倒数法计算 ZIF-67 的反应动力学参数: $v_{\max}$ (最大反应速度)、 K_m (米氏常数)。

1.2.8 催化 D-果糖转化为 D-阿洛酮糖的平衡转化率 为了研究 ZIF-67 无机催化的平衡转化率, 在温度为 30~100 °C 时, 以 300 g/L D-果糖为底物, pH11 的条件下催化反应 2 h, 进行 HPLC 检测 D-阿洛酮糖的转化率。以 D-果糖为底物, 催化反应达到平衡时所产生的 D-阿洛酮糖占溶液中干物质的百分比, 记为其平衡转化率。

1.2.9 ZIF-67 的操作稳定性 以 300 g/L D-果糖为底物, 在最适条件下进行催化反应, 反应后离心回收 ZIF-67, 多批次重复催化。HPLC 检测并计算其催化活性。以第一次测得催化活性为 100%, 重复使用后

的催化活性与之相比, 计算其相对催化活性, 以百分数表示。

1.3 数据处理

每组实验设置 3 个平行, 响应面试验数据使用 Design Expert 13 软件进行处理, 其他数据图表均使用 Origin 2021 软件处理。

2 结果与分析

2.1 SEM 结果

从图 1A 放大 10000 倍的扫描电镜结果中发现, ZIF-67 呈现出菱形十二面体的形态, 有两个对称顶点, 且共享三个等边平面, ZIF-67 形态结构规则、均一。此外, ZIF-67 粒径进行正态检验, $P > 0.05$, 表明粒径数据符合正态分布。ZIF-67 平均粒径约为 0.47 μm , 说明其比表面积大, 催化速率快; 其标准差为 0.09, 分散程度集中, 正态分布曲线较为陡峭, 如图 1B 所示。

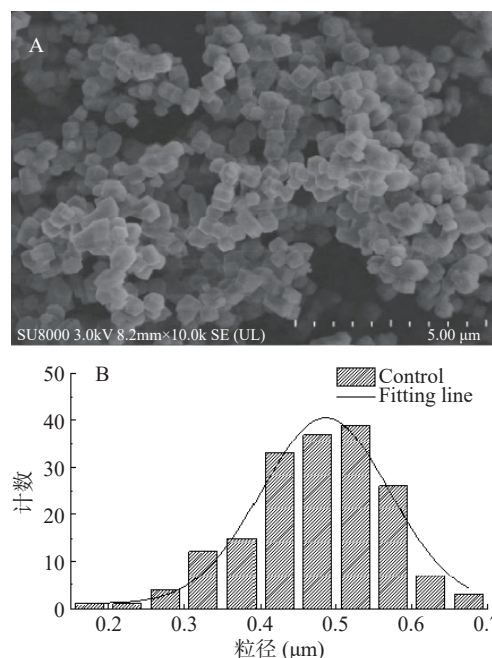


图 1 ZIF-67 的 SEM(A) 和晶粒大小分布图(B)
Fig.1 SEM (A) and grain size (B) images of ZIF-67

2.2 单因素实验结果

如图 2A, pH 在 3~12 范围内, ZIF-67 的催化活性随着 pH 的增大而呈现先缓慢升高后快速降低的趋势, 当 pH11 时, ZIF-67 的催化活性最高。当 pH 低于 11 时, ZIF-67 催化活性缓慢升高的原因是 ZIF-67 在酸性环境中表面被酸腐蚀, 部分 Co^{2+} 溶解, 导致结构不稳定, 催化效率低。另外, D-果糖在稀酸条件下相当稳定, 不易发生反应。当 pH 高于 11 时, 强碱环境使 ZIF-67 的结构稳定, 但也能消耗底物产生大量的副产物, 使含有羰基的果糖转化为含有醛基的葡萄糖和甘露糖, 增加了底物的损耗和减少了 D-阿洛酮糖的生产。

如图 2B 所示, 80 °C 进行 ZIF-67 催化反应时, ZIF-67 的催化活性最高。当温度在 30~80 °C 时,

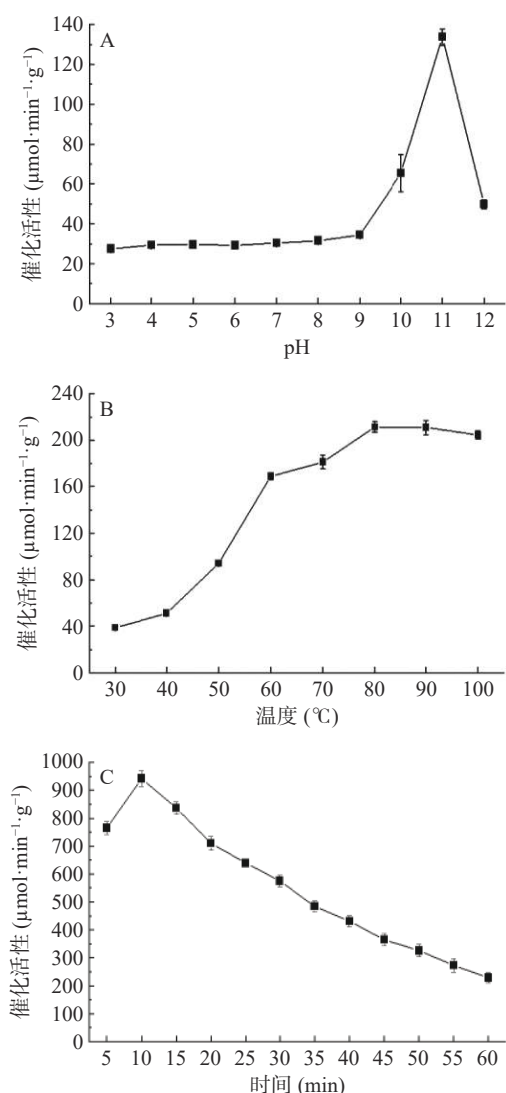


图2 pH(A)、温度(B)、时间(C)对 ZIF-67 催化活性的影响
Fig.2 Effects of pH (A), temperature (B), time (C) on catalytic activity of ZIF-67

ZIF-67 的催化活性随着催化温度的升高而升高,这是由于增大催化反应温度,能加快催化反应效率。当温度超过 80 ℃ 时,随着催化温度的升高,催化反应加快进行而达到平衡状态,D-阿洛酮糖的含量不变,ZIF-67 的催化活性趋于平稳状态。但高温易使 D-果糖发生非酶褐变反应,且在碱性环境中还会加速褐变反应,致使溶液变色。

当催化反应 10 min 时,ZIF-67 的催化活性最高,如图 2C 所示。在催化反应的最初阶段,随着时间增加至 10 min 时,ZIF-67 的催化活性呈现快速升高的趋势。在催化反应时间 10~60 min 范围内,ZIF-67 的催化活性逐渐降低,这是由于随着时间的增加,底物产生大量葡萄糖等副产物而损耗,D-阿洛酮糖的产量减少,ZIF-67 的催化能力降低。

因此,本研究选择 pH11、温度 80 ℃、反应 10 min 继续优化,进行响应面法分析。

2.3 响应面设计与分析

2.3.1 BBD 中心组合试验设计与结果分析 在单因

素实验结果的基础上,以 pH(A)、温度(B)、时间(C)三个因素为变量,催化活性 $Y(\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1})$ 为其响应值,试验结果见表 2。使用 Design Expert 13 软件进行响应面分析,得到多元二次响应面回归拟合方程如下。

$$Y = -84617.748 + 12357.301A + 337.217B + 668.852C - 9.615AB - 31.600AC - 3.039BC - 507.467A^2 - 1.230B^2 - 3.402C^2$$

表 2 响应面试验结果

Table 2 Results of response surface experiment

试验号	A pH	B 温度(℃)	C 时间(min)	Y 催化活性(μmol·min ⁻¹ ·g ⁻¹)
1	10	70	10	115.4
2	12	70	10	557.1
3	10	90	10	358.3
4	12	90	10	415.4
5	10	80	5	117.7
6	12	80	5	615.6
7	10	80	15	499.5
8	12	80	15	365.4
9	11	70	5	504.9
10	11	90	5	926.1
11	11	70	15	945.7
12	11	90	15	759.2
13	11	80	10	922.0
14	11	80	10	1016.0
15	11	80	10	1037.0
16	11	80	10	959.2
17	11	80	10	1026.1

回归模型方差分析结果见表 3。模型 $P < 0.0001$, 失拟项 $P = 0.4918 > 0.05$, 模型在 $\alpha = 0.01$ 的水平上回归显著,失拟项不显著,说明模型选择正确,该拟合度良好,可以利用该模型进行后续优化实验^[26-28]。模型中,A、AB、AC、BC、 A^2 、 B^2 、 C^2 对 Y 值影响极显著,其他两项 B、C 对 Y 值影响显著,最后得到影响 ZIF-67 催化活性的因素顺序为:pH>反应时间>反应温度。模型 $F = 74.03$, $P < 0.0001$,

表 3 BBD 试验回归模型方差分析结果

Table 3 Analysis of variance results of BBD experimental regression model

来源	平方和	自由度	均方和	F 值	P 值	显著性
模型	1.597E+06	9	1.774E+05	74.03	<0.0001	极显著
A	93009.84	1	93009.84	38.81	0.0004	**
B	14103.60	1	14103.60	5.88	0.0457	*
C	20553.78	1	20553.78	8.58	0.0221	*
AB	36979.29	1	36979.29	15.43	0.0057	**
AC	99856.00	1	99856.00	41.66	0.0003	**
BC	92324.82	1	92324.82	38.52	0.0004	**
A^2	1.084E+06	1	1.084E+06	452.42	<0.0001	**
B^2	63745.08	1	63745.08	26.60	0.0013	**
C^2	30451.48	1	30451.48	12.71	0.0092	**
残差	16776.70	7	2396.67			
失拟项	7037.07	3	2345.69	0.9634	0.4918	不显著
净误差	9739.63	4	2434.91			
总和	1.614E+06	16				

注: **表示影响极显著, $P < 0.01$; *表示影响显著, $P < 0.05$ 。

$R^2=0.9896$, $R^2_{Adj}=0.9762$, 且 R^2_{Adj} 与 R^2_{Pred} 的差值小于 0.2, 则回归模型对催化工艺解释充分。C.V.=7.47%, 精密度为 24.21, 数值均在合理范围内, 表明试验的可信度和精确度高, 试验设计合理^[29]。整体分析, 回归模型表明 ZIF-67 催化活性的实测值与预测值之间具有较好的拟合度, 该模型能真实地反映试验结果, 可信度较高, 可用于实际 ZIF-67 催化活性的预测与分析。

2.3.2 两因素交互对 ZIF-67 催化活性的影响 对 3 种因素进行响应曲面和等高线图分析, 两因素交互作用对 ZIF-67 催化活性的影响如图 3 所示。

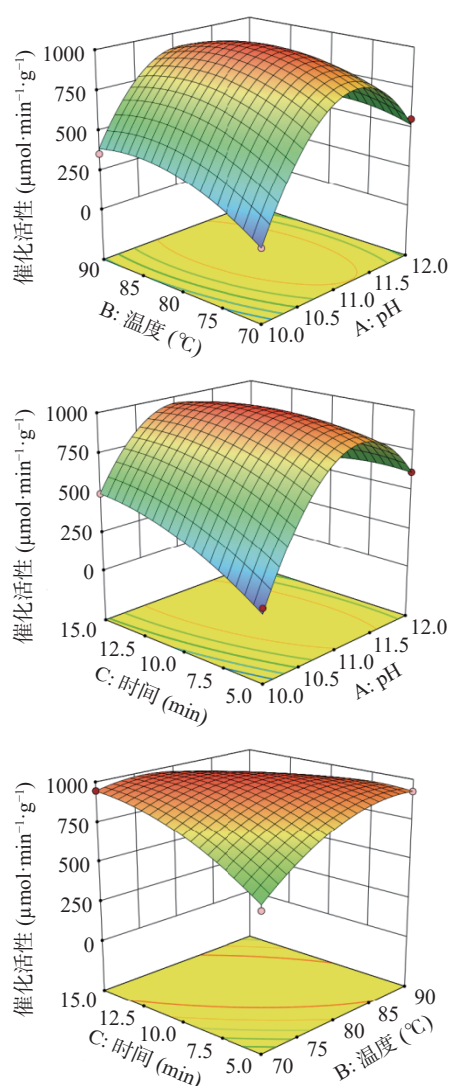


图 3 两两因素交互作用对 ZIF-67 催化活性影响的响应曲面
Fig.3 Response surface plot showing the interaction effect of various factors on catalytic activity of ZIF-67

由图 3 可知, 当反应时间处于中心水平, pH 较高时, 随着反应温度的增加, ZIF-67 的催化活性先升高后降低, 且存在极大值点, 反之亦然。这是由于 ZIF-67 耐高温, 结构稳定, 在 80 °C 反应条件下能将 D-果糖催化为 D-阿洛酮糖。同理可得, 当反应温度处于中心水平, 反应时间较低时, ZIF-67 的催化活性随着 pH 增加而呈现出先上升后下降的变化趋势, 这

均与单因素结果一致。此外, 图 3 响应曲面的等高线均为椭圆, 两因素之间的交互作用显著^[30]。同时, pH 和反应时间的响应曲面的倾斜程度较大, 说明了其对 ZIF-67 催化活性的影响程度也较大, 反应温度和反应时间的次之, 这与方差分析结果一致。

2.3.3 响应面模型验证实验 利用软件多元二次回归拟合方程求解, pH11.1, 反应温度 80.0 °C, 反应条件 11.2 min 为 ZIF-67 的最佳反应条件, 模型理论 ZIF-67 催化活性最高为 1001.7 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ 。在此条件下进行模型验证实验, 利用上述最佳反应条件进行 3 次平行验证, 计算得到实际 ZIF-67 的催化活性为 1003.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$, 相对误差仅为 0.18%。

2.4 ZIF-67 的反应动力学

本研究还测定了 ZIF-67 在不同底物浓度条件下的初始反应速率 v_0 , 在最适条件下进行催化反应。以底物浓度的倒数为横坐标作图, 结果详见图 4, 通过计算得出: $v_{\max}$ 为 0.31 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ 、 K_m 值为 266.80 mmol/L。 K_m 值越小, 表明 ZIF-67 与 D-阿洛酮糖的亲合力越强。对于部分酮糖 3-差向异构酶 (如 *Desmospora* sp. DPEase^[31]) 的 K_m 值为 549 mmol/L 来说, ZIF-67 的 K_m 值相对较小, 说明其与 D-阿洛酮糖的亲合力较强。

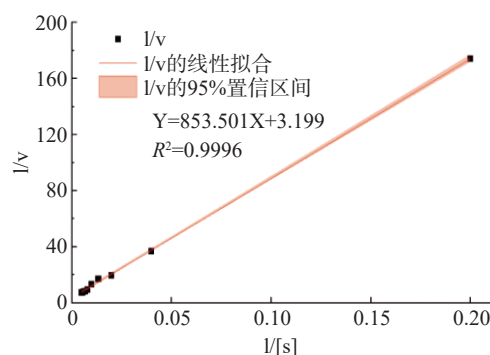


图 4 双倒数作图结果

Fig.4 Result of double reciprocal plot

2.5 D-阿洛酮糖的平衡转化率

为了测定 D-果糖与 D-阿洛酮糖的平衡转化率, 以 300 g/L D-果糖为底物, 在 pH11 条件下进行催化反应 2 h, 测定 D-阿洛酮糖的转化率最高为 18.8%,

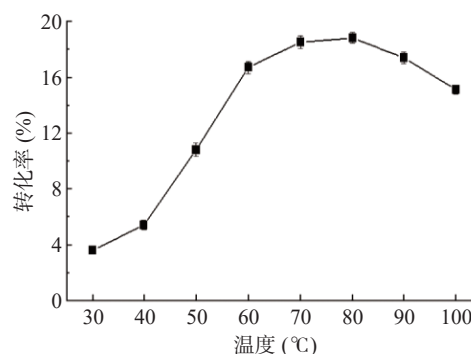


图 5 不同温度下 D-阿洛酮糖的平衡转化率

Fig.5 Bioconversion rate of D-allulose at different temperatures

结果如图 5 所示。在不同温度下检测 D-阿洛酮糖的转化率范围为 3.6%~18.8%, ZIF-67 的转化率受温度影响较大。

2.6 ZIF-67 的操作稳定性

杨家明^[25]将 ZIF-67 用于 DAE 的固定化研究, 当 65 ℃ 反应 5 次时, 仅维持 56% 的催化活性, 除了部分酶的失活及损失外, 还需考虑 ZIF-67 本身催化作用的影响。本研究以 300 g/L D-果糖为底物, 在最适条件下进行连续催化反应, 第 5 次使用时, ZIF-67 的相对催化活性仍高于 60%, 表明 ZIF-67 具有良好的操作稳定性, 且易回收, 结果如图 6 所示。

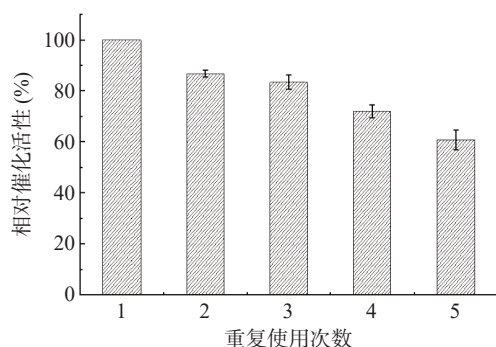


图 6 ZIF-67 的操作稳定性
Fig.6 Operational stability of ZIF-67

3 结论

本文首次开发了一款水相合成的易回收的 ZIF-67 催化剂, 基于单因素实验, 利用响应曲面法分析得到 ZIF-67 的最适催化条件为 pH11.1、催化温度 80.0 ℃、催化时间 11.2 min, 其最大催化活性为 $1003.5 \mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ 。进一步研究了 ZIF-67 的反应动力学和 D-阿洛酮糖的平衡转化率, ZIF-67 的 K_m 值较小, 表明 ZIF-67 与 D-阿洛酮糖的亲和力较强, 而且 D-阿洛酮糖的转化率高达 18.8%。研究结果对淀粉糖产业链中 D-阿洛酮糖的工业化生产具有重大意义, 有效地降低 D-阿洛酮糖总体生产成本, 为 D-阿洛酮糖工业化生产开拓了新方法。

© The Author(s) 2024. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

参考文献

[1] ZHU Z L, LI L, ZHANG W, et al. Improving the enzyme property of D-allulose 3-epimerase from a thermophilic organism of *Halanaerobium congolense* through rational design[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2021, 149: 109850.
[2] 卫娜, 韩诗蕾. 低热量甜味剂阿洛酮糖的生理功效研究进展[J]. *现代食品*, 2021(17): 26-28. [WEI N, HAN S L. Researches progress on the physiological functions of low-calorie sweetener alulose[J]. *Modern Food*, 2021(17): 26-28.]
[3] BOLGER A M, RASTALL R A, ORUNA-CONCHA M J, et al. Effect of D-allulose, in comparison to sucrose and D-fructose, on the physical properties of cupcakes[J]. *LWT*, 2021, 150: 111989.

[4] 温宇威, 张涛, 沐万孟, 等. D-阿洛酮糖 3-差向异构酶的异源表达和酶学性质[J]. *食品与生物技术学报*, 2018, 37(3): 286-289.
[WEN Y W, ZHANG T, MU W M, et al. Heterologous expression and enzymatic characterization of D-psicose 3-epimerase[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2018, 37(3): 286-289.]
[5] KIMURA T, KANASAKI A, HAYASHI N, et al. D-allulose enhances postprandial fat oxidation in healthy humans[J]. *Nutrition*, 2017, 43-44: 16-20.
[6] 谢来超. D-阿洛酮糖的理化特性及研究进展[J]. *饮料工业*, 2022, 25(6): 71-77. [XIE L C. Physicochemical properties and research development of D-psicose[J]. *Beverage Industry*, 2022, 25(6): 71-77.]
[7] IZUMORI K. Izumoring: A strategy for bioproduction of all hexoses[J]. *Journal of Biotechnology*, 2006, 124(4): 717-722.
[8] BANERJEE R, PHAN A, WANG B, et al. High-throughput synthesis of zeolitic imidazolate frameworks and application to CO₂ capture[J]. *Science*, 2008, 319(5865): 939.
[9] SHOMAL R, DU W, SULAIMAN A. Immobilization of lipase on metal-organic frameworks for biodiesel production[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2022, 10(2): 107265.
[10] YANG H M, WANG S C, LIU Y X, et al. ZIF-67 grows in chitosan-rGO hydrogel beads for efficient adsorption of tetracycline and norfloxacin[J]. *Separation and Purification Technology*, 2024, 330: 125208.
[11] LI Y, ZHOU K, HE M, et al. Synthesis of ZIF-8 and ZIF-67 using mixed-base and their dye adsorption[J]. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2016, 234: 287-292.
[12] REDDY B V, DADHICH A S, BABU M S. Rapid room temperature synthesis and CO₂ uptake performance of nanocrystalline ZIF-67 and Ni@ZIF-67[J]. *Inorganic Chemistry Communications*, 2023, 150: 110455.
[13] ZHAO Z J, DING L, RICHARD H, et al. MXene assisted preparation of well-intergrown ZIF-67 membrane for helium separation[J]. *Journal of Membrane Science*, 2022, 652: 120432.
[14] DYMERKA A G, ŚRODA B, ZIELIŃSKA B, et al. *In situ* insight into the low-temperature promotion of ZIF-67 in electrocatalytic oxygen evolution reaction[J]. *Materials & Design*, 2023, 226: 111637.
[15] 侯俊英, 侯传源, 李建昌, 等. 石蜡/ZIF-8@ZIF-67 定形相变材料的储热性能[J]. *农业工程学报*, 2023, 39(13): 222-229.
[HOU J Y, HOU C Y, LI J C, et al. Thermal storage properties of paraffin/ZIF-8@ZIF-67 shape-stable phase change materials[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2023, 39(13): 222-229.]
[16] LI W J, LI Y M, REN H, et al. Improving the bioactivity and stability of embedded enzymes by covalent organic frameworks[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2023, 15(37): 43580-43590.
[17] CHEN B L, YANG Z X, ZHU Y Q, et al. Zeolitic imidazolate framework materials: Recent progress in synthesis and applications[J]. *Journal of Materials Chemistry A*, 2014, 2(40): 16811-16831.
[18] SUN X X, ZHOU N R, LIU M M. Adsorption desulfurization over porous carbons derived from ZIF-67 and AC[J]. *Journal of Solid State Chemistry*, 2023, 322: 123985.
[19] 赵娅敏, 孙乐乐, 刘倩, 等. MWCNTs/ZIF-67 复合材料的制备及其催化性能研究[J]. *化工新型材料*, 2023, 51(4): 126-130.
[ZHAO Y M, SUN L L, LUI Q, et al. Preparation and catalytic property of MWCNTs/ZIF-67 composite[J]. *New Chemical Materials*, 2023, 51(4): 126-130.]

- [20] 申学建. 谷胱甘肽/酶/ZIF-67 杂化纳米催化剂的制备及其催化性能的研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2022. [SHEN X J. Glutathione/enzyme/ZIF-67 preparation of hybrid nanocatalyst and study on its catalytic properties[D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2022.]
- [21] RAFIEI S, TANGESTANINEJAD S, HORCAJADA P, et al. Efficient biodiesel production using a lipase@ZIF-67 nanobioreactor[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2018, 334: 1233–1241.
- [22] MA W J, JIANG Q, YU P, et al. Zeolitic imidazolate framework-based electrochemical biosensor for *in vivo* electrochemical measurements[J]. *Analytical Chemistry*, 2013, 85(15): 7550–7556.
- [23] LIANG K, RICCO R, DOHERTY C M, et al. Biomimetic mineralization of metal-organic frameworks as protective coatings for biomacromolecules[J]. *Nature Communications*, 2015, 6(1): 7240.
- [24] WANF Z B, REN D J, YU H Y, et al. Study on improving the stability of adsorption-encapsulation immobilized Laccase@ZIF-67[J]. *Biotechnology Reports*, 2020, 28: e00553.
- [25] 杨家明. D-阿洛酮糖 3-差向异构酶的表达、性质鉴定与初步应用研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2022. [YANG J M. Expression, characterization and primary application of D-allulose 3-epimerase[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2022.]
- [26] LIU Y Y, SUN Y, LI H L, et al. Optimization of ultrasonic extraction of polysaccharides from *Flammulina velutipes* residue and its protective effect against heavy metal toxicity[J]. *Industrial Crops Products*, 2022, 187: 115422.
- [27] SARFARAZI M, JAFARI S M, RAJABZADEH G, et al. Development of an environmentally-friendly solvent-free extraction of saffron bioactives using subcritical water[J]. *LWT*, 2019, 114: 108428.
- [28] FAVIER L, SIMION A, HLIHOR R M, et al. Intensification of the photodegradation efficiency of an emergent water pollutant through process conditions optimization by means of response surface methodology[J]. *Journal of Environmental Management*, 2023, 328: 116928.
- [29] MIAO J N, SHI W, ZHANG J Q, et al. Response surface methodology for the fermentation of polysaccharides from *Auricularia auricula* using *Trichoderma viride* and their antioxidant activities[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 155: 393–402.
- [30] ZHAO Z Y, BERMUDEZ S C, ILYAS A, et al. Optimization of negatively charged polysulfone membranes for concentration and purification of extracellular polysaccharides from *Arthrospira platensis* using the response surface methodology[J]. *Separation and Purification Technology*, 2020, 252: 117385.
- [31] 何伟伟. D-阿洛酮糖 3-差向异构酶在枯草芽孢杆菌中的高效表达及应用研究[D]. 无锡: 江南大学, 2016. [HE W W. Efficient expression of D-psicose 3-epimerase in *Bacillus subtilis* and its application[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2016.]