DOI:10.12441/spyswjs.20241030001 [文章编号] 1673-1689(2025)08-0061-08

脂肪酶介导的糠醛氧化反应合成糠酸

朱 瑞[1] 王亚鑫[2] 张 梁[1]

(1. 江南大学生物工程学院,江苏 无锡 214122; 2. 中海油常州涂料化工研究院有限公司,江苏 常州 213016)

摘要:【目的】构建一种基于离子液体中脂肪酶介导的糠醛氧化反应体系,实现温和反应条件下糠酸、5-羟甲基-2-呋喃甲酸和2,5-呋喃二甲酸的绿色合成。**【方法】**以糠醛为底物、Novozym 435脂肪酶为催化剂、过氧化氢为氧化剂、1-丁基-3-甲基咪唑醋酸盐离子液体为反应溶剂,优化反应温度、反应时间、糠醛初始浓度、过氧化氢初始浓度等条件,并将该体系拓展至5-羟甲基糠醛的氧化反应,进一步结合咪唑型离子液体与叔丁基过氧化氢的化学氧化过程,实现一锅法合成2,5-呋喃二甲酸。**【结果】**在优化条件下,糠酸产率>99%;5-羟甲基糠醛氧化合成5-羟甲基-2-呋喃甲酸的产率为94%;通过一锅法偶联反应,合成了2,5-呋喃二甲酸,其产率为90%。**【结论】**该研究为糠酸、2,5-呋喃二甲酸等生物基化学品的绿色合成提供了思路和方法。

关键词:离子液体;Novozym 435脂肪酶;糠醛;糠酸

Lipase-mediated Oxidation of Furfural to Furoic Acid

ZHU Rui[1] *WANG Yaxin*[2] *ZHANG Liang*[1]

(1. School of Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. CNOOC Changzhou Paint and Coatings Industry Research Institute Co. Ltd., Changzhou 213016, China)

Abstract: [**Objective**] This study aims to develop a lipase-mediated furfural oxidation system in ionic liquid for the green synthesis of furoic acid, 5-hydroxymethyl-2-furancarboxylic acid, and 2,5-furandicarboxylic acid under mild reaction conditions. [**Method**] Using furfural as the substrate, Novozym 435 lipase as the catalyst, hydrogen peroxide as the oxidant, and 1-butyl-3-methylimidazolium acetate ionic liquid as the solvent, the conditions including reaction temperature, reaction time, initial furfural concentration, and initial hydrogen peroxide concentration were optimized. The system was further extended to the oxidation of 5-hydroxymethylfurfural, and coupled with a chemical oxidation process using an imidazolium-based ionic liquid and tert-butyl hydroperoxide to achieve one-pot synthesis of 2,5-furandicarboxylic acid. [**Result**] Under the optimized conditions, the yield of furoic acid exceeded 99%. The oxidation of 5-hydroxymethylfurfural to 5-hydroxymethyl-2-furancarboxylic acid achieved yield of 94%. 2,5-furandicarboxylic acid was synthesized *via* the one-pot coupled reaction with a yield of 90%. [**Conclusion**] This study provides a novel strategy and methodology for the green synthesis of bio-based chemicals such as furoic acid and 2,5-furandicarboxylic acid.

Keywords: ionic liquid; Novozym 435 lipase; furfural; furoic acid

随着当今世界的快速发展,人们对高值化学品、食品添加剂、医药中间体等的需求日益增长。因此,实现从依赖传统化石资源的不可持续经济到基于可再生资源的“碳中和”经济的过渡迫在眉睫[1-3]。木质纤维素作为可再生资源的主要组成部分,其综合利用对于实现能源和化学品供应链的

基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(22308121);中海油能源发展股份有限公司基础前瞻项目(HFQZ-CZY-2023-01)。

通信作者:朱瑞(1990—),男,博士,助理研究员,主要从事可再生资源高值利用及酶制剂应用研究。E-mail: zhurui@jiangnan.edu.cn

收稿日期:2024-10-30 **修回日期:**2024-12-13

脱碳目标具有重要意义[4-6]。其中，糠醛和5-羟甲基糠醛分别是五碳糖和六碳糖资源水解过程中的重要产物，同时它们也是粮食加工过程或乙醇制备过程中的副产物[7]，对糠醛和5-羟甲基糠醛等生物基平台分子的高值化利用具有重要的研究意义。通过对糠醛和5-羟甲基糠醛的催化氧化，可制备得到糠酸、5-羟甲基-2-呋喃甲酸和2，5-呋喃二甲酸等重要的生物基化学品[8-10]。

糠酸作为糠醛的重要下游产品，可用于生产糠酸酯等香精香料以及防腐剂和抑菌剂等，在食品制造、药物合成等领域具有广泛应用[11-12]。近些年，大量的催化氧化方法得到进一步发展，从而促进了糠醛的高效综合利用，实现了糠酸及其酯类物质的高效合成[11-13]。以糠醛为原料的氧化反应主要基于醛基官能团的氧化。在已发展的多数催化氧化方法中，主要以各种过渡金属氧化物、贵金属等作为催化剂，反应机制包括热催化氧化、电催化氧化和光催化氧化等[14-18]。但大多数方法成本高昂、反应条件剧烈，涉及多种中间产物，还涉及各种金属盐、有机溶剂和有毒化学品的使用，不符合绿色化学原则。因此，迫切需要一种绿色、高效的生物学方法来制备糠酸[19]。相比较而言，生物催化反应具有对环境友好、反应条件简单、产物活性高、价格低廉等优点，一直是研究热点[20]。近年来，已有采用基因工程改造的大肠杆菌等全细胞催化法合成呋喃羧酸类化合物的研究：采用重组大肠杆菌HMFOMUT在30 ℃、pH 7.0的水相体系中对5-羟甲基糠醛（150 mmol/L）和糠醛（50 mmol/L）进行生物转化，分别将其转化为5-羟甲基-2-呋喃甲酸（产率96.9%）和糠酸（产率100%）[21]；采用重组大肠杆菌CtVDH1在12 h内能获得对应的醛基氧化产物（产率约92%）[22]。但针对糠醛的氧化反应来说，包括糠醛在内的醛类通常会抑制微生物初级代谢中必需酶的活性，且该化合物在细胞内会产生活性氧自由基，对蛋白质、核酸和细胞器造成损害，因此包括糠醛在内的醛类对细胞具有较大毒性，在反应过程中会严重抑制发酵过程[23]。相较于全细胞催化，酶催化反应体系的组分与机理更加简洁、清晰。目前，可实现呋喃醛氧化合成对应羧酸的酶主要包括漆酶[24]、黄素腺嘌呤二核苷酸依赖性氧化酶[25]、非特异性血红素过氧酶[26]等。然而，这些报道中的酶催化体系中仍存在诸多限制，例如，漆酶的氧化体系需要使用Tempo等介质，才能较好地实现醛基官能团的氧化，且该体系对缓冲液的酸碱度有明确的限制[27]；而对于多数氧化酶的催化体系，在催化过程中产生的H_2O_2往往会抑制氧化酶的活性，因此需要与过氧化氢酶或者辣根过氧化物酶联合使用[28]。除此之外，底物浓度低、酶催化体系稳定性差等问题也需要进一步解决。因此，构建高效、绿色的酶催化体系对于糠醛经氧化反应合成糠酸仍有必要。

利用脂肪酶可以催化羧酸原位合成过氧羧酸，通过Baeyer-Villiger氧化反应实现醛基的氧化[29]。作者构建了一种在绿色溶剂离子液体的体系中利用脂肪酶催化的氧化反应体系，以糠醛为底物、过氧化氢为氧化剂、Novozym 435脂肪酶为酶制剂[30]，离子液体中的醋酸根离子在脂肪酶和过氧化氢的作用下原位生成过氧醋酸根，过氧醋酸根与氧化醛基官能团合成对应的羧酸官能团。作者考察了反应温度、反应时间、糠醛和过氧化氢初始浓度对反应的影响，并优化了反应条件。此外，作者进一步拓展了Novozym 435脂肪酶的催化应用场景，为糠酸、2，5-呋喃二甲酸等生物基化学品的绿色合成提供了一种新方法。

1 材料与方法

1.1 材料

糠醛（纯度99%）、5-羟甲基糠醛（纯度95%）、糠酸（纯度98%）、5-羟甲基-2-呋喃甲酸（97%）、叔丁基过氧化氢水溶液（质量分数70%）：上海麦克林生化科技股份有限公司；2，5-呋喃二甲酸（纯度98%）、Novozym 435脂肪酶（10 000 PLU/g）、1-丁基-3-甲基咪唑醋酸盐离子液体（纯度99%）：上海源叶生物科技有限公司；过氧化氢水溶液（质量分数30%）、甲醇（色谱纯）：国药集团化学试剂有限公司。

1.2 仪器与设备

高效液相色谱仪：Waters 2996型，沃特世科技（上海）有限公司；分析天平：TP-114型，美国丹佛仪器公司；加热磁力搅拌器：RCT basic型，艾卡（广州）仪器设备有限公司（IKA中国）；高速离心机：TG16.5型，上海卢湘仪离心机仪器有限公司。

1.3　方法

1.3.1　糠醛氧化合成糠酸的条件优化

1）过氧化氢初始浓度的优化：在1-丁基-3-甲基咪唑醋酸盐离子液体中加入糠醛和过氧化氢，糠醛浓度为20 mmol/L，过氧化氢浓度分别为20、60、120、240、360、480 mmol/L。混合均匀后取1 mL置于装有搅拌子的反应管中，再添加5 mg Novozym 435脂肪酶，旋紧反应管盖子，在60 ℃、300 r/min条件下反应15.00 h。待反应结束后冷却至室温，通过高效液相色谱仪测定反应的转化率和产率。

2）反应温度的优化：在1-丁基-3-甲基咪唑醋酸盐离子液体中加入糠醛和过氧化氢，糠醛浓度为20 mmol/L，过氧化氢浓度为120 mmol/L，混合均匀后取1 mL置于装有搅拌子的反应管中，再添加5 mg Novozym 435脂肪酶，旋紧反应管盖子，在300 r/min条件下，分别于30、40、50、60、70 ℃反应15.00 h。待反应结束后冷却至室温，通过高效液相色谱仪测定反应的转化率和产率。

3）糠醛初始浓度的优化：在1-丁基-3-甲基咪唑醋酸盐离子液体中加入糠醛和过氧化氢，糠醛初始浓度分别为20、40、60、80 mmol/L，过氧化氢浓度随糠醛浓度等比例调整，过氧化氢浓度分别为120、240、360、480 mmol/L，混合均匀后取1 mL置于装有搅拌子的反应管中，再添加5 mg Novozym 435脂肪酶，旋紧反应管盖子，在60 ℃、300 r/min条件下反应15.00 h。待反应结束后冷却至室温，通过高效液相色谱仪测定反应的转化率和产率。此外，当糠醛初始浓度为100 mmol/L时，分批添加过氧化氢的具体操作为：在1-丁基-3-甲基咪唑醋酸盐离子液体中加入糠醛，糠醛浓度为100 mmol/L，混合均匀后取1 mL进行反应，其他操作和反应条件如前所述，但在反应2.00 h时，需添加0.2 mmol过氧化氢，待反应2.00 h后，再添加0.2 mmol过氧化氢，继续反应11.00 h。待反应结束后冷却至室温，通过高效液相色谱仪测定反应的转化率和产率。

4）反应时间的优化：在1-丁基-3-甲基咪唑醋酸盐离子液体中加入糠醛和过氧化氢，糠醛浓度为20 mmol/L，过氧化氢浓度为120 mmol/L，混合均匀后取1 mL置于装有搅拌子的反应管中，再添加5 mg Novozym 435脂肪酶，旋紧反应管盖子，在60 ℃、300 r/min下分别反应1.25、2.50、3.75、5.00、6.25、7.50、8.75、10.00、11.25、12.50、13.75、15.00、20.00 h，在相应的反应时间点终止反应，待样品冷却至室温后通过高效液相色谱仪测定对反应的转化率和产率。

1.3.2　转化率、产率和选择性的测定

通过高效液相色谱仪测定上述反应所涉及的转化率和产率，具体参数为：采用C18色谱柱（150 mm×4.6 mm×5 μm），柱温30 ℃，检测波长260 nm，进样体积10 μL，流量0.7 mL/min，流动相A为甲醇，流动相B为质量分数0.5%的三氟乙酸水溶液，流动相A的体积分数为20%，流动相B的体积分数为80%。

根据高效液相色谱结果建立的标准曲线和式（1）~（2）换算反应结束后糠醛和糠酸的物质的量，再根据式（3）~（5）计算转化率、产率和选择性。

$$n = 3.2 \times 10^{-10} \times S_1 \times V \quad (1)$$

式中：

n——反应结束后糠醛的物质的量，mmol；

S_1——糠醛的峰面积；

V——样品的体积，μL；

3.2×10^{-10}——标准曲线系数，mmol/μL。

$$n_p = 6.6 \times 10^{-10} \times S_2 \times V \quad (2)$$

式中：

n_p——反应结束后糠酸的物质的量，mmol；

S_2——糠酸的峰面积；

V——样品的体积，μL；

6.6×10^{-10}——校正单位系数，mmol/μL。

$$C = (1 - n/n_0) \times 100\% \quad (3)$$

式中：

C——糠醛转化率，%；

n——反应结束后糠醛的物质的量，mmol；

n_0——糠醛的初始物质的量，mmol。

$$Y = (n_p/n_1) \times 100\% \quad (4)$$

式中：

Y——糠酸产率，%；

n_p——反应结束后糠酸的物质的量，mmol；

n_1——糠酸的理论产量，mmol。

$$S = (Y/C) \times 100\% \quad (5)$$

式中：

S——糠酸选择性，%；

C——糠醛转化率，%；

Y——糠酸产率，%。

1.3.3 循环试验

在 1-丁基-3-甲基咪唑醋酸盐离子液体中加入糠醛和过氧化氢，糠醛浓度为 20 mmol/L，过氧化氢浓度为 120 mmol/L，混合均匀后取 1 mL 置于装有搅拌子的反应管中，再添加 5 mg Novozym 435 脂肪酶，旋紧反应管盖子，在 60 ℃、300 r/min 条件下反应 15.00 h。待反应结束后，离心（5 000 r/min）分离 Novozym 435 脂肪酶和离子液体，将上层离子液体转移后，剩余物质用乙酸乙酯洗净后循环使用，上层离子液体使用乙酸乙酯萃取（每次 3 mL，萃取 3 次），去除反应体系中生成的糠酸和未完全反应的糠醛。此时剩余的离子液体经干燥、冷却后再循环使用。

1.3.4 5-羟甲基糠醛氧化合成5-羟甲基-2呋喃甲酸

在 1-丁基-3-甲基咪唑醋酸盐离子液体中加入 5-羟甲基糠醛和过氧化氢，5-羟甲基糠醛浓度为 20 mmol/L，过氧化氢浓度为 120 mmol/L，混合均匀后取 1 mL 置于装有搅拌子的反应管中，再添加 5 mg Novozym 435 脂肪酶，旋紧反应管盖子，在 60 ℃、300 r/min 条件下反应 15.00 h。待反应结束后冷却至室温，通过高效液相色谱仪测定反应的转化率和产率。

1.3.5 5-羟甲基糠醛氧化合成2,5-呋喃二甲酸

在 1-丁基-3-甲基咪唑醋酸盐离子液体中加入 5-羟甲基糠醛和叔丁基过氧化氢，5-羟甲基糠醛浓度为 20 mmol/L，叔丁基过氧化氢浓度为 200 mmol/L，混合均匀后取 1 mL 置于装有搅拌子的反应管中，再添加 5 mg Novozym 435 脂肪酶，旋紧反应管盖子，在 60 ℃、300 r/min 条件下反应 15.00 h。待反应结束后冷却至室温，通过高效液相色谱仪测定反应的转化率和产率。

2 结果与讨论

2.1 过氧化氢初始浓度对糠醛氧化合成糠酸的影响

如图 1 所示，随着过氧化氢初始浓度从 20 mmol/L 提高到 120 mmol/L，糠酸产率从 56% 增加到 96%，糠醛转化率也逐渐增加，当过氧化氢初始浓度为 120 mmol/L 时，糠醛转化率为 99%。当过氧化氢初始浓度超过 120 mmol/L 时，糠醛转化率和糠酸产率均随过氧化氢初始浓度的升高呈下降趋势，当过氧化氢初始浓度为 480 mmol/L 时，糠酸产率不足 60%。结果表明，过高的过氧化氢初始浓度并不会提高糠酸产率，推测过高的过氧化氢浓度可能对 Novozym 435 脂肪酶的催化活性有一定的抑制作用，从而降低了反应效率，导致糠酸产率降低。因此，选择过氧化氢初始浓度为 120 mmol/L，用于后续条件优化。

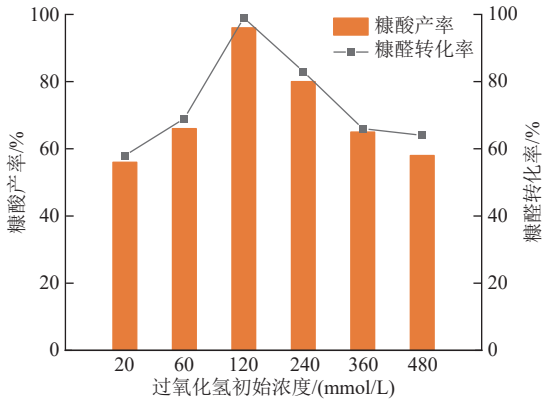

图 1 过氧化氢初始浓度对糠醛合成糠酸的影响

Fig. 1 Effect of initial hydrogen peroxide concentration on the oxidation of furfural to furoic acid

2.2 反应温度对糠醛氧化合成糠酸的影响

反应温度对大多数酶的催化活性具有显著影响。反应温度为 30~70 ℃时，糠醛氧化合成糠酸的产率变化情况见图 2。当反应温度为 30 ℃时，糠醛转化率和糠酸产率均为 40%；随着反应温度的升高，糠酸产率也随之升高，且在反应温度为 60 ℃时达到最大值，为 96%；当反应温度为 70 ℃时，糠酸产率降低，仅为 77%。然而，在上述温度范围内，糠酸的选择性几乎保持在 95% 以上。结果表明，适当提高反应温度可促进该氧化反应的进行，而过高的温度则会使反应速率减缓、产物产率降低，这可能是因为较高的温度会抑制 Novozym 435 脂肪酶的催化活性，过高的反应温度并不适用于该反应。因此，选择 60 ℃作为后续条件优化的反应温度。

2.3 糠醛初始浓度对糠醛氧化合成糠酸的影响

如图 3 所示，糠醛的初始浓度为 20~60 mmol/L 时，糠酸产率变化较小，其产率为 90%~96%；当糠醛的初始浓度增加到 80 mmol/L 时，糠醛未完全转化，糠酸产率约为 80%；当糠醛的初始浓度增加到 100 mmol/L 时，糠酸产率仅为 72%。显然，过高的糠醛初始浓度不利于提升糠酸产率，可能是因为糠醛初始浓度过高时，对应的过氧化氢初始浓度也过高，从而造成酶活性受到抑制。基于上述推

测，尝试在糠醛初始浓度为100 mmol/L时分批次、分时段添加反应所需的过氧化氢，待反应结束后，糠酸产率有明显的提高，约为93%。结果表明，该催化体系的底物浓度仍有进一步提升的空间，但过氧化氢的浓度不宜过高，过高的过氧化氢浓度会抑制酶的反应活性，但可通过分批次、分时段补加过氧化氢的方式避免过氧化氢浓度过高的问题，从而缓解氧化氢浓度过高导致脂肪酶催化活性降低。

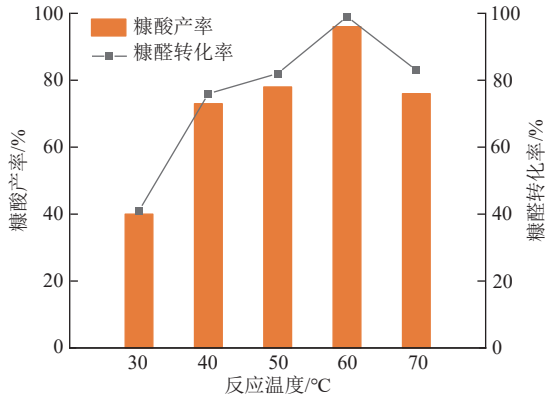

图2　反应温度对糠醛氧化合成糠酸的影响

Fig. 2　Effect of reaction temperature on the oxidation of furfural to furoic acid

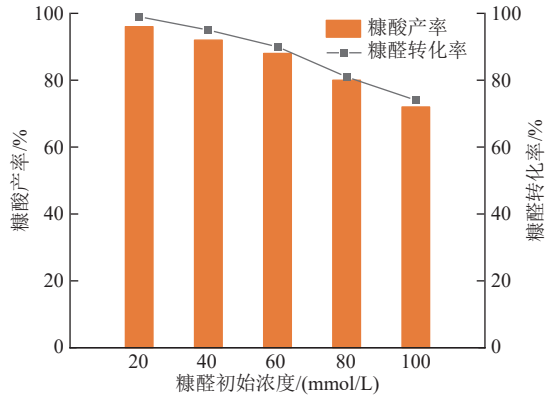

图3　糠醛初始浓度对糠醛氧化合成糠酸的影响

Fig. 3　Effect of initial furfural concentration on the oxidation of furfural to furoic acid

2.4　反应时间对糠醛氧化合成糠酸的影响

反应时间对糠醛氧化合成糠酸的影响见图4。随着反应时间从1.25 h增加到15.00 h，糠酸产率变化明显，从36%增加到96%。值得注意的是，糠酸产率在反应1.25 h时即可达到36%，这表明在初始阶段糠醛氧化合成糠酸的反应速率较快；随着反应时间的延长，产率逐渐增加，但其增长速率有所减缓，在反应时间为6.25 h时，糠酸产率达到78%；在反应时间为12.50 h时，糠酸产率达到90%；在反应时间为15.00 h时，糠酸产率达到96%；进一步延长反应时间至20.00 h，糠酸产率增加缓慢，糠酸产率>99%。结果表明，糠酸在该反应体系中稳定存在，且不会进一步发生转化；另外，该脂肪酶介导的醛基氧化的催化体系是相对稳定的，可持续用于糠醛的氧化反应，从而合成目标产物糠酸。

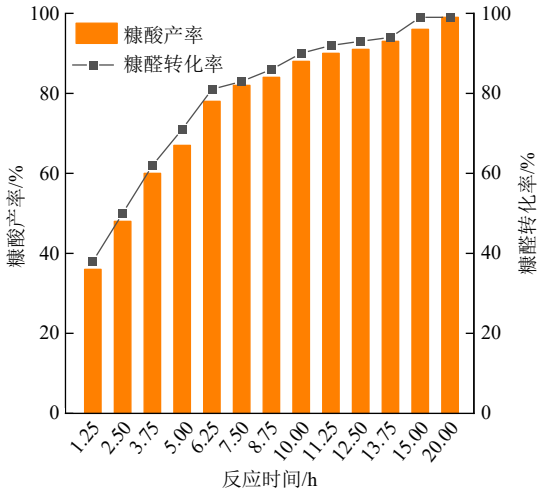

图4　反应时间对糠醛氧化合成糠酸的影响

Fig. 4　Effect of reaction time on the oxidation of furfural to furoic acid

2.5　离子液体和Novozym 435脂肪酶的回收利用

离子液体作为目前的绿色溶剂之一，可循环利用是其众多的优势之一。此外，Novozym 435脂肪酶作为一种固定化的脂肪酶，可通过离心、过滤等操作实现循环利用。基于此，在优化的反应条件下，考察了该离子液体中脂肪酶介导的糠醛氧化合成糠酸的稳定性和可循环使用性。待反应结束后，通过离心分离出Novozym 435脂肪酶，并用乙酸乙酯洗净后继续使用。剩余的混合物使用乙酸乙酯萃取，去除反应体系中生成的糠酸和未完全反应的糠醛，此时剩余的离子液体经干燥冷却后可循环使用。如图5所示，在第1次循环试验中，糠醛转化率和糠酸产率均大于95%，表明Novozym 435脂肪酶具有较好的催化活性。在第2次循环试验中，糠酸产率仍维持在90%。在第3~4 次循环试验中，糠酸产率出现了明显降低的趋势，直至第5次循环试

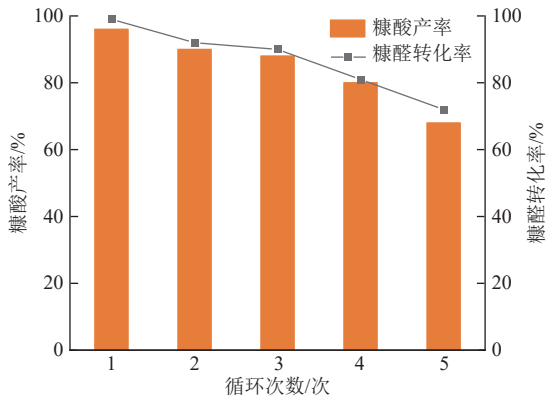

图 5　循环试验结果

Fig. 5　Results of cyclic experiment

验，糠酸产率仅为68%。造成糠酸产率降低的原因可能为：1）回收Novozym 435脂肪酶的过程中有损失；2）Novozym 435脂肪酶的酶活性在使用过程中发生衰减。尽管如此，该离子液体中脂肪酶介导的糠醛氧化合成糠酸的反应体系仍具有一定的稳定性和可循环使用性。

2.6　脂肪酶介导的糠醛氧化合成糠酸的机制研究

通过对照试验分别考察了Novozym 435脂肪酶、过氧化氢、离子液体在糠醛氧化合成糠酸反应中的作用。当反应体系中没有过氧化氢时，糠醛几乎没有发生转化，且未检测到糠酸的生成。当使用1-丁基-3-甲基咪唑氯化盐离子液体替代原先的1-丁基-3-甲基咪唑醋酸盐离子液体时，糠醛同样几乎没有发生转化，且同样未检测到糠酸的生成，这表明醋酸根离子在该氧化反应体系中起到了至关重要的作用。当反应体系中未添加Novozym 435脂肪酶时，糠醛转化率和糠酸产率明显降低，分别为32%和30%，表明Novozym 435脂肪酶在该氧化反应中起到了明显的促进作用。作者前期的研究结果表明，Novozym 435脂肪酶能够在过氧化氢存在下，与乙酸高效生成过氧乙酸并形成酰基-酶复合体（见图6），进而生成具有氧化活性的过氧乙酸，且能够快速和酮羰基发生Baeyer-Villiger氧化反应，生成对应的酯类化合物[31]。在本研究的氧化反应体系中，该机制同样适用，即1-丁基-3-甲基咪唑醋酸盐离子液体中的醋酸根离子在Novozym 435脂肪酶和过氧化氢的作用下，能够快速生成过氧醋酸根离子，并随之与醛基官能团发生Baeyer-Villiger氧化反应，从而生成对应的羧酸产物糠酸。

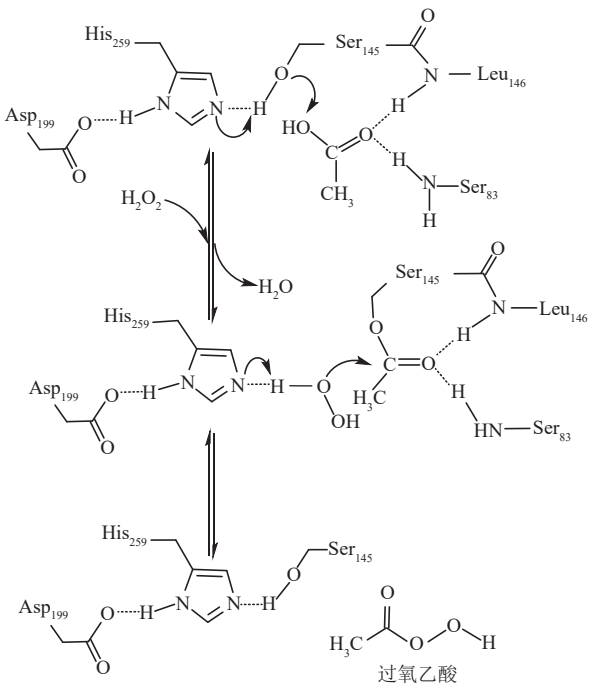

图 6　过氧乙酸的原位合成机制

Fig. 6　*In situ* generation mechanism of peracetic acid

2.7　5-羟甲基糠醛的氧化反应

5-羟甲基糠醛作为重要的生物基平台分子，比糠醛多了羟甲基官能团，其氧化产物5-羟甲基-2-呋喃甲酸同样被认为是重要的生物基材料单体。为高产率获得5-羟甲基-2-呋喃甲酸，在上述催化体系中使用5-羟甲基糠醛作为反应底物。待反应结束后，5-羟甲基糠醛几乎被完全转化，对应产物5-羟甲基-2-呋喃甲酸的产率为94%，且未检测到其他副产物。相较于金属催化5-羟甲基糠醛的氧化体系[32]，该脂肪酶介导的过氧羧酸的氧化体系具有更好的选择性，仅对醛基官能团进行氧化，而且能保留羟基官能团。

5-羟甲基糠醛的另一氧化产物2，5-呋喃二甲酸，同样是重要的生物基材料单体，且是对苯二甲酸的潜在替代品。因此，如何高效获得2，5-呋喃二甲酸同样是近年来的研究热点。基于咪唑型离子液体可以在叔丁基过氧化氢存在下，协同催化羟基官能团氧化合成对应醛基官能团的原理[33]，作者将氧化体系中的氧化剂过氧化氢替换为叔丁基过氧化氢，在同样的反应条件下，5-羟甲基糠醛转化率>99%，2，5-呋喃二甲酸的产率为90%，且约有5%的5-羟甲基-2-呋喃甲酸被检测到。结果表明，在该反应过程中，5-羟甲基糠醛首先被快速氧

化为5-羟甲基-2-呋喃甲酸，其羟甲基随后被氧化为醛基，醛基再经Baeyer-Villiger氧化反应生成羧基，从而生成2，5-呋喃二甲酸。

3 结论

作者构建了一种在离子液体的体系中脂肪酶介导的氧化反应体系，以糠醛为底物、Novozym 435脂肪酶为催化剂，优化了反应温度、反应时间、糠醛和过氧化氢初始浓度等条件，并探讨了其可能的影响机制，优化条件下的糠酸产率>99%。该催化体系对于5-羟甲基糠醛的氧化反应同样适用，可高产率（94%）获得5-羟甲基-2-呋喃甲酸。在此基础上，作者进一步偶联基于咪唑型离子液体和叔丁基过氧化氢的氧化反应过程，通过一锅法将5-羟甲基糠醛氧化合成2，5-呋喃二甲酸，产率为90%。该研究进一步拓展了脂肪酶的应用场景和应用方式，同时也为糠酸、2，5-呋喃二甲酸等生物基化学品的绿色合成提供了思路和方法。

参考文献

[1] CLARK J H，DESWARTE F E I，FARMER T J. The integration of green chemistry into future biorefineries[J]. Biofuels，Bioproducts and Biorefining，2009，3（1）：72-90.

[2] 冯轩，周理龙，韩江则. 纤维素制备5-羟甲基糠醛研究进展[J]. 应用化工，2024，53（8）：1896-1900.
FENG X，ZHOU L L，HAN J Z. Research progress in preparation of 5-hydroxymethylfurfural from cellulose[J]. Applied Chemical Industry，2024，53（8）：1896-1900.（in Chinese）

[3] SHELDON R A. Catalytic oxidations in a bio-based economy[J]. Frontiers in Chemistry，2020，8：132.

[4] NAIM W，SCHADE O R，SARAÇI E，et al. Toward an intensified process of biomass-derived monomers：the influence of 5-（hydroxymethyl）furfural byproducts on the gold-catalyzed synthesis of 2，5-furandicarboxylic acid[J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering，2020，8（31）：11512-11521.

[5] 赵烁，李莹，王震，等. 木质纤维素预处理方法的研究进展[J]. 中国造纸，2024，43（8）：29-38.
ZHAO S，LI Y，WANG Z，et al. Research progress of lignocellulose pretreatment methods[J]. China Pulp & Paper，2024，43（8）：29-38.（in Chinese）

[6] SUDARSANAM P，PEETERS E，MAKSHINA E V，et al. Advances in porous and nanoscale catalysts for viable biomass conversion[J]. Chemical Society Reviews，2019，48（8）：2366-2421.

[7] 郑奕光，顾正彪，陈平安，等. 熬糖工艺条件对糖膏中5-羟甲基糠醛和糠醛含量的影响[J]. 食品与生物技术学报，2020，39（1）：107-111.
ZHENG Y G，GU Z B，CHEN P A，et al. Effects of boiling sugar technological conditions on the content of 5-hydroxymethylfurfural and furfural in massecuites[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2020，39（1）：107-111.（in Chinese）

[8] XU C，PAONE E，RODRÍGUEZ-PADRÓN D，et al. Recent catalytic routes for the preparation and the upgrading of biomass derived furfural and 5-hydroxymethylfurfural[J]. Chemical Society Reviews，2020，49（13）：4273-4306.

[9] KWON Y，SCHOUTEN K J P，VAN DER WAAL J C，et al. Electrocatalytic conversion of furanic compounds[J]. ACS Catalysis，2016，6（10）：6704-6717.

[10] USMANI Z，SHARMA M，AWASTHI A K，et al. Bioprocessing of waste biomass for sustainable product development and minimizing environmental impact[J]. Bioresource Technology，2021，322：124548.

[11] ZHANG Z H，HUBER G W. Catalytic oxidation of carbohydrates into organic acids and furan chemicals[J]. Chemical Society Reviews，2018，47（4）：1351-1390.

[12] 李兴龙，傅尧. 糠醛氧化合成糠酸[J]. 化学进展，2022，34（6）：1263-1274.
LI X L，FU Y. Preparation of furoic acid by oxidation of furfural[J]. Progress in Chemistry，2022，34（6）：1263-1274.（in Chinese）

[13] LI C，LI J，QIN L，et al. Recent advances in the photocatalytic conversion of biomass-derived furanic compounds[J]. ACS Catalysis，2021，11（18）：11336-11359.

[14] THEERTHAGIRI J，KARUPPASAMY K，PARK J，et al. Electrochemical conversion of biomass-derived aldehydes into fine chemicals and hydrogen：a review[J]. Environmental Chemistry Letters，2023，21（3）：1555-1583.

[15] NAIK S S，THEERTHAGIRI J，MIN A，et al. Selective furfural conversion *via* parallel hydrogenation-oxidation on MOF-derived CuO/RuO_2/C electrocatalysts *via* pulsed laser[J]. Applied Catalysis B：Environmental，2023，339：123164.

[16] MURZIN D Y，BERTRAND E，TOLVANEN P，et al. Heterogeneous catalytic oxidation of furfural with hydrogen peroxide over sulfated zirconia[J]. Industrial & Engineering Chemistry Research，2020，59（30）：13516-13527.

[17] OUYANG D H，GAO D H，HONG J P，et al. Promoting and controlling electron transfer of furfural oxidation efficiently harvest electricity，furoic acid，hydrogen gas and hydrogen peroxide[J]. Journal of Energy Chemistry，2023，79：135-147.

[18] KIM J, BRAUN J E, GROLL E A, et al. Evaluation metrics of electrochemically active working fluids for heat pumping cycles[J]. International Journal of Refrigeration, 2023, 152: 50-61.

[19] PENG B, MA C L, ZHANG P Q, et al. An effective hybrid strategy for converting rice straw to furoic acid by tandem catalysis *via* Sn-sepiolite combined with recombinant *E. coli* whole cells harboring horse liver alcohol dehydrogenase[J]. Green Chemistry, 2019, 21(21): 5914-5923.

[20] CHO E J, TRINH L T P, SONG Y, et al. Bioconversion of biomass waste into high value chemicals [J]. Bioresource Technology, 2020, 298: 122386.

[21] WANG Z W, GONG C J, HE Y C. Improved biosynthesis of 5-hydroxymethyl-2-furancarboxylic acid and furoic acid from biomass-derived furans with high substrate tolerance of recombinant *Escherichia coli* HMFOMUT whole-cells[J]. Bioresource Technology, 2020, 303: 122930.

[22] ZHANG X Y, OU X Y, FU Y J, et al. Efficient synthesis of 5-hydroxymethyl-2-furancarboxylic acid by *Escherichia coli* overexpressing aldehyde dehydrogenases[J]. Journal of Biotechnology, 2020, 307: 125-130.

[23] ALLEN S A, CLARK W, MCCAFFERY J M, et al. Furfural induces reactive oxygen species accumulation and cellular damage in *Saccharomyces cerevisiae*[J]. Biotechnology for Biofuels, 2010, 3: 2.

[24] QIN Y Z, LI Y M, ZONG M H, et al. Enzyme-catalyzed selective oxidation of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) and separation of HMF and 2, 5-diformylfuran using deep eutectic solvents[J]. Green Chemistry, 2015, 17(7): 3718-3722.

[25] DIJKMAN W P, FRAAIJE M W. Discovery and characterization of a 5-hydroxymethylfurfural oxidase from *Methylovorus* sp. strain MP688[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2014, 80(3): 1082-1090.

[26] CARRO J, FERREIRA P, RODRÍGUEZ L, et al. 5-hydroxymethylfurfural conversion by fungal aryl-alcohol oxidase and unspecific peroxygenase[J]. The FEBS Journal, 2015, 282(16): 3218-3229.

[27] CHENG A D, ZONG M H, LU G H, et al. Solvent-promoted oxidation of aromatic alcohols/aldehydes to carboxylic acids by a laccase-TEMPO system: efficient access to 2, 5-furandicarboxylic acid and 5-methyl-2-pyrazinecarboxylic acid [J]. Advanced Sustainable Systems, 2021, 5(6): 2000297.

[28] CHEN Y, ZOU J X, SUN J, et al. Immobilization using Cu(II) and Zr(IV): persistent and highly efficient activation of galactose oxidase by *in situ* generation of hydroxyl radicals in concert with *in situ* generation of O_2 [J]. Chemical Engineering Journal, 2022, 435: 134819.

[29] MAZUR M, JANECZKO T, GŁADKOWSKI W. Lipase-mediated Baeyer-Villiger oxidation of benzylcyclopentanones in ester solvents and deep eutectic solvents[J]. Scientific Reports, 2022, 12: 14795.

[30] 王彬, 孙尚德, 陈晓中. 固定化酶催化抗坏血酸硬脂酸酯的合成及抗氧化活性[J]. 食品与生物技术学报, 2022, 41(6): 98-105.
WANG B, SUN S D, CHEN X Z. Synthesis and antioxidant activity of ascorbic acid stearate by immobilized enzyme[J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2022, 41(6): 98-105.(in Chinese)

[31] ZHANG H, LIU R, XIN Y, et al. Enhancing lignin model compound depolymerization using mediator-enzyme catalysis: a sustainable approach to C—C bond cleavage [J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2024, 12(15): 5842-5849.

[32] 白继峰, 杨雨, 蒋志薪, 等. 过渡金属基催化剂催化5-羟甲基糠醛合成2, 5-呋喃二甲醛研究进展[J]. 林产化学与工业, 2021, 41(5): 100-112.
BAI J F, YANG Y, JIANG Z X, et al. Research advance in preparation of 2, 5-furanedioic acid by oxidation of 5-hydroxymethylfurfural over transition metal-based catalysts[J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2021, 41(5): 100-112.(in Chinese)

[33] NAIDU S, REDDY S R. Ionic liquid [bmim] Br assisted chemoselective benzylic C—H oxidations using *tert*-butyl hydroperoxide[J]. Journal of Molecular Liquids, 2016, 222: 441-445.

（责任编辑：闫林红）