

钯/炭(Pd/C)催化氢还原碱木质素的抗氧化性能

蒲 伟, 任世学, 马艳丽, 方桂珍*

(东北林业大学材料科学与工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘 要: 以工业碱木质素为原料, 采用购买和自制两种钯/炭(Pd/C)为催化剂, 氢气为还原剂, 在高压条件下对其进行还原反应, 提高碱木质素的活性, 并对其反应前后化学成分和抗氧化性能进行分析。结果表明: 经过两种催化剂高压催化活化后, 购买催化剂还原碱木质素醇羟基含量为5.01%, 酚羟基含量为3.64%。自制催化剂还原碱木质素醇羟基含量为5.35%, 酚羟基含量为3.82%。自制Pd/C催化剂催化体系的催化效果优于购买Pd/C催化剂; 在抗氧化性能分析实验中, 碱木质素原料及两种被还原碱木质素在质量浓度范围为0.025~0.6mg/mL内对DPPH自由基和 $\cdot\text{OH}$ 均有较强的清除能力, 且随着木质素质量浓度的增加, 清除率逐渐增加, 还原力也增强, 两种被还原碱木质素DPPH自由基最大清除率分别达到80.91%和82.43%; $\cdot\text{OH}$ 最大清除率分别达到23.12%和26.21%。

关键词: 钯/炭催化剂; 碱木质素; 抗氧化性能; 还原; 自由基

Antioxidant Activity of Hydrogen-Reduced Alkali Lignin Prepared Using Palladium/Carbon (Pd/C) as Catalyst

PU Wei, REN Shi-xue, MA Yan-li, FANG Gui-zhen*

(College of Material Science and Engineering, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: In this study, commercial and laboratory-prepared Pd/carbon catalysts were used for the reduction of industrial alkali lignin by hydrogen under high pressure conditions in order to increase lignin activity. The chemical composition and antioxidant activity of alkali lignin and its reduced products were analyzed. The contents of alcohol hydroxyl groups and phenolic hydroxyl groups in commercial Pd/carbon activated alkali lignin were 5.01% and 3.64%, respectively, compared to 5.35% and 3.82% for laboratory-prepared Pd/carbon activated alkali lignin. Thus, the laboratory-prepared Pd/carbon has better catalysis performance than the commercial Pd/carbon. Both alkali lignin and its reduced products had strong radical scavenging activity against DPPH and hydroxyl radicals at a concentration ranging from 0.025 to 0.6 mg/mL in a concentration-dependent manner. The maximum scavenging rates of commercial Pd/carbon activated alkali lignin and laboratory-prepared Pd/carbon activated alkali lignin were 80.91% and 82.43% for DPPH free radical and 23.12% and 26.21% for hydroxyl free radical, respectively.

Key words: palladium/carbon catalyst; lignin; antioxidative property; reduction; free radical

中图分类号: O636.2

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)07-0006-05

木质素是木本和草本植物的主要成分, 是一种来源丰富、无毒、价格低廉的可再生资源, 据估计每年地球植物光合作用可产生500亿t木质素, 但是目前我国工业木质素的利用率不足10%, 造成了很大的资源浪费^[1]。由于木质素结构复杂, 其生物活性成本高, 涉及机理复杂, 目前大多数性能的开发都还停留在实验室研究阶段, 所以寻找木质素高附加值利用途径是主要的研究热点^[2-3]。抗氧化剂作为一种重要的食品和药物添加剂, 具有抑制食品或功能性药物(靶向药物)中有效活性物质和营养成分在空气中经细菌侵入或光催化作用发生氧化变质, 以及与其他活性成分共同发挥作用, 起到防腐、保

持营养成分和抑制癌变、动脉硬化等功效^[4], 所以抗氧化剂的应用十分广泛, 但是人工合成抗氧化剂的安全性为人们所堪忧, 天然抗氧化剂越来越为人们所重视。目前已有许多天然抗氧化剂用于食品、保健、化妆品生产、医药等领域^[5]。木质素是一种天然的酚类聚合物, 抗氧化性即抑制氧化的能力是酚类化合物的一个重要特征, 研究表明^[6], 木质素的抗氧化能力主要来源于酚羟基对含氧基团的去除能力, 因此对木质素进行还原提高其羟基含量是研究木质素抗氧化性的有效途径。

本课题组前期采用钯/炭(Pd/C)为催化剂对碱木质素的活化反应进行了系列研究, 结果表明, 催化还原后碱

收稿日期: 2012-03-02

基金项目: 国家自然科学基金项目(31170542); 国家公益性行业(林业)科研专项(200904072)

作者简介: 蒲伟(1988—), 男, 硕士研究生, 研究方向为木质素化学。E-mail: puweipower@163.com

*通信作者: 方桂珍(1954—), 女, 教授, 博士, 研究方向为木质素与纤维素等天然高分子化学。E-mail: Fanggz_0@163.com

木质素的羟基含量提高^[7-8],但是对其抗氧化性能未进行研究。本实验在上述研究基础上,以工业碱木质素为原料,采用Pd/C为催化剂,氢为还原剂,高压条件下对其进行还原反应,提高碱木质素的活性,并对其反应前后的化学成分和抗氧化性能进行分析,为木质素作为天然的抗氧化剂的应用,以及制备木质素基抗氧化材料的开发进行探索性的研究。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

粗碱木质素 山东高唐泉林纸业有限责任公司;钯/炭(Pd/C)催化剂 陕西瑞科新材料股份有限公司。

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT) 上海华蓝生物科技有限公司;邻菲罗啉 上海一基实业有限公司;浓盐酸、硝酸、氢氧化钠、乙醚、乙酸酐、吡啶、二氧六环、丙酮、甲醛、无水乙醇、硫酸亚铁、氯化钠、氯化钾、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、硫酸亚铁、双氧水、氢气均为工业纯。

1.2 仪器与设备

TU-1901双光束紫外-可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司;650FTIR傅里叶变换红外光谱仪 天津港东科技发展股份有限公司;YP15KN精密电子天平 上海精密科学仪器有限公司;SHB-B95型循环水式多用真空泵 郑州长城科工贸有限公司;CJF-2型高压反应釜 大连通达反应釜厂;DZF-6053型真空干燥箱 上海一恒科学仪器有限公司;电子恒温水浴锅 天津泰斯特仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 碱木质素的精制

将粗碱木质素原料用0.1mol/L NaOH溶液溶解,过滤除去不溶物,用0.1mol/L HCl溶液调节滤液pH值为2,过滤,用蒸馏水充分洗涤至中性,45℃条件下真空干燥36h,精制后的碱木质素为B。

1.3.2 碱木质素部分化学成分分析

1.3.2.1 碱木质素总羟基含量测定^[9]

准确称取40mg碱木质素于10mL磨口试管中,加入乙酰化试剂0.5~0.6g,密封,50℃反应24h后冷却,加入5mL丙酮,用二氧六环-水(体积比4:1)的混合溶液洗入25mL容量瓶中,定容。准确移取5mL溶液,以酚酞为指示剂,用0.1mol/L NaOH标准溶液电位滴定到终点,并做空白实验。按式(1)计算总羟基含量。

$$\text{总羟基含量}/\% = \frac{(V_0 - V)f \times 1.7 \times 5}{m} \times 100 \quad (1)$$

式中: V_0 为空白用0.1mol/L NaOH体积/mL; V 为样品用0.1mol/L NaOH体积/mL; f 为0.1mol/L NaOH校正因

子;1.7为1mL 0.1mol/L NaOH相应羟基含量;5为换算系数; m 为碱木质素质量/mg。

1.3.2.2 碱木质素的酚羟基含量测定^[9]

准确称取10mg粗碱木质素试样,溶于10mL二氧六环-水溶液(体积比9:1)中。用移液管依次取出2mL溶液分别加入到2个50mL容量瓶中,一个用0.2mol/L NaOH溶液稀释至刻度,另一个用pH6的缓冲溶液稀释至刻度,摇匀,倒入1cm石英比色皿中,相对于pH6的空白溶液测300nm和360nm波长处的吸光度,并按式(2)计算酚羟基含量。

$$\text{酚羟基含量}/\% = \frac{0.425A_1 + 0.182A_2}{\rho d} \times 100 \quad (2)$$

式中: A_1 为300nm波长处吸光度; A_2 为360nm波长处吸光度; ρ 为木质素溶液质量浓度/(mg/mL); d 为比色皿厚度/cm;0.425和0.182均为换算系数。

1.3.2.3 碱木质素的醇羟基含量测定

醇羟基含量由总羟基与酚羟基之差间接测定。

$$\text{醇羟基含量}/\% = \text{总羟基含量}/\% - \text{酚羟基含量}/\% \quad (3)$$

1.4 Pd/C对碱木质素的催化活化方法

1.4.1 Pd/C催化剂的制备^[10]

负载量为3%的Pd/C催化剂的制备过程,Pd的负载量以Pd对活性炭的质量百分数计。1)活性炭的预处理:取20~40目的活性炭6.0g,加入10%盐酸溶液,置于50℃水浴中煮12h,用蒸馏水洗至无 Cl^- 后改用10%硝酸溶液煮沸回流2h,用水洗涤至无 NO_3^- 后,于110℃条件下烘干备用。2) PdCl_2 盐酸溶液的配制:在50mL烧杯中加入0.3g PdCl_2 ,15mL H_2O 和3mL浓HCl加热溶解。3) PdCl_2 溶液的浸渍吸附:在100mL三口瓶中,加入6.0g经预处理的活性炭,40mL水,加热至80℃,在搅拌下往三口瓶中缓慢加入 PdCl_2 溶液后静置1h,90℃保温。4) Pd的还原:用10% NaOH溶液调pH值至10进行陈化,加入10mL甲醛还原0.5h后,过滤,用蒸馏水洗至无 Cl^- 后自然干燥。

1.4.2 Pd/C催化剂高压催化还原碱木质素

将称量好的4.0g碱木质素溶于500mL 0.02mol/L NaOH溶液中,倒入反应釜中,加入一定反应量的催化剂,擦拭密封口并密封好釜盖。连接好管路,装上热电偶等。

温控仪的自整定:每设置一点新温度时,做一次自定调整。结束后记下该温度条件下的参数值。

活化反应:排尽釜内空气后,通入较低压力的氢气,开动搅拌器,调节加热电压为220V,开始加热。当釜内温度上升至设定反应温度时,调节搅拌速度至500r/min,同时不断通入氢气至设定压力。到达反应时间后,关闭加热,冷却水冷却,结束反应,出料并回收催化剂。

后处理:将反应后的液体用2mol/L HCl溶液调节pH值至2,沉淀出碱木质素,用蒸馏水洗至中性,真空干燥。

上述催化反应的反应条件为: Pd/C催化剂的负载量

为3%、用量为10%、反应温度为100℃、反应时间为4h、氢气压力为3MPa^[7]。催化剂为自制和购买两种, 购买Pd/C催化剂催化还原碱木质素为C, 自制Pd/C催化剂催化还原碱木质素为D。

1.5 碱木质素的红外光谱(FTIR)方法

取2mg试样与200mg KBr制成薄片, 用红外光谱仪测定, 频率范围4000~500cm⁻¹, 分辨率为16cm⁻¹, 溴化钾作参考物, 光谱无平滑处理。

1.6 碱木质素及改性碱木质素的抗氧化性能测定方法

1.6.1 碱木质素对DPPH自由基清除能力测定^[11-13]

DPPH溶液的配制: 准确称取4mg DPPH, 用无水乙醇溶解并定容于100mL容量瓶中, DPPH质量浓度为4mg/100mL, 0~4℃避光保存。

取质量浓度为0.025、0.05、0.1、0.2、0.4mg/mL的样品溶液分别加入4mL 4mg/100mL DPPH溶液于试管中, 摇匀, 在黑暗中放置30min, 以无水乙醇为空白在517nm波长处测定其吸光度 A , 以BHT作为阳性对照, 并以式(4)计算清除率, 清除率越大抗氧化能力越强。

$$\text{清除率}/\% = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \quad (4)$$

式中: A_0 为1mL无水乙醇加 4.0mL DPPH溶液的吸光度; A_1 为待测液加 4.0mL DPPH溶液的吸光度。

1.6.2 $\cdot\text{OH}$ 清除能力测定^[14-16]

取0.3mL的邻菲罗啉溶液(5mmol/L), 加入0.8mL磷酸缓冲溶液(pH7.45)和0.25mL双蒸水, 充分混匀, 然后加入0.3mL硫酸亚铁溶液(7.5mmol/L)后立即混匀。测试管中分别加入1mL质量浓度为0.025、0.05、0.1、0.2、0.4mg/mL的样品溶液, 最后加入0.2mL 1%的过氧化氢溶液, 37℃保温60min, 536nm波长处测定吸光度, 以BHT作为阳性对照。损伤管中加入过氧化氢而不加抗氧化剂。对照管中两者都不加。空白管中加抗氧化剂而不加过氧化氢。根据公式(5)计算清除率。

$$\text{清除率}/\% = \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{损伤}}}{A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}} \times 100 \quad (5)$$

式中: $A_{\text{样品}}$ 为样品吸光度; $A_{\text{损伤}}$ 为损伤管的吸光度; $A_{\text{对照}}$ 为对照管吸光度; $A_{\text{空白}}$ 为空白管吸光度。

1.6.3 还原力的测定^[16-17]

在试管分别加入质量浓度为0.025、0.05、0.1、0.2、0.4mg/mL的被测溶液1.0mL。磷酸盐缓冲溶液(0.2mol/L pH6.6)2.5mL和1g/100mL的铁氰化钾2.5mL, 50℃恒温反应20min, 然后加入为10g/100mL的三氯乙酸2.5mL, 摇匀, 离心。吸取上清液2.5mL, 加入2.5mL蒸馏水和0.5mL 0.1g/100mL的三氯化铁溶液。测定样品在700nm波长处测定吸光度。以BHT作为阳性对照。

2 结果与分析

2.1 木质素还原反应前后官能团分析结果

表1 碱木质素的官能团分析结果

Table 1 Functional group analysis of alkali lignin

样品	总羟基含量/%	酚羟基含量/%	醇羟基含量/%
精制碱木质素B	6.15	2.44	3.71
还原碱木质素C	8.65	3.64	5.01
还原碱木质素D	9.17	3.82	5.35

由表1可知, 碱木质素的活性主要体现在酚羟基上, 酚羟基含量越高, 碱木质素的活性越高。还原碱木质素C中总羟基含量为8.65%, 醇羟基含量为5.01%, 酚羟基含量为3.64%。还原碱木质素D中总羟基含量为9.17%, 醇羟基含量为5.35%, 酚羟基含量为3.82%。自制Pd/C催化剂催化体系的催化效果优于购买Pd/C催化剂。

2.2 碱木质素的FTIR光谱分析结果

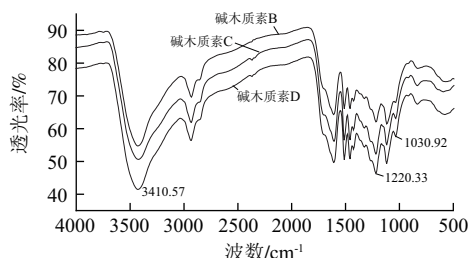


图1 碱木质素B、C和D红外光谱图

Fig.1 FTIR spectra of alkali lignin and its reduced products

采用溴化钾压片, 用FTIR-650傅里叶变换红外光谱仪测碱木质素还原反应前后红外光谱。Pd/C催化剂高压氢还原碱木质素的FTIR光谱见图1, 初步得出, 经Pd/C催化高压氢还原后碱木质素的化学结构发生了较大变化, 反应后碱木质素在3410.57cm⁻¹处羟基的O—H伸缩振动峰增强, 在1220.33cm⁻¹和1030.92cm⁻¹处醇和酚的C—O伸缩振动峰增强, 说明羟基(醇羟基和酚羟基)含量增加, 即碱木质素活性提高, 其中碱木质素D羟基增加量比碱木质素C大。

2.3 碱木质素原料及还原碱木质素对DPPH自由基的清除能力

当有自由基清除剂存在时, DPPH孤对电子在517nm波长附近有强吸收并且和乙醇呈紫色, 由于与其单电子配对从而使其吸收消失或者减弱, 它的褪色程度与其接受的电子的数量呈定量关系, 因此测定吸收减弱的程度可以评价自由基清除剂的活性^[18-19]。由图2可知, 各样品在实验质量浓度范围内, 对DPPH自由基都有较强的清除作用, 且随着加入量的增加, 清除率呈上升趋势, 在质量浓度0.025~0.2mg/mL之间, 随着质量浓度增加, 样品对自由基的清除能力迅速增强, 清除效果与抗氧化剂BHT差距较大, 在质量浓度0.6mg/mL处,

BHT与碱木质素B、C、D的清除率分别达到85.21%、78.52%、80.91%、82.43%，被还原碱木质素的清除效果与BHT接近。

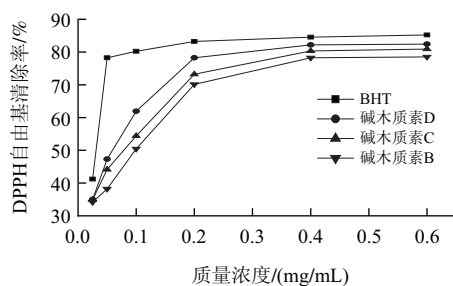


图2 不同质量浓度碱木质素B、C和D清除DPPH自由基能力
Fig.2 DPPH scavenging activity of alkali lignin and its reduced products at different concentrations

2.4 碱木质素原料及还原碱木质素对·OH清除的能力

·OH是目前所知活性氧自由基中对生物体毒性最强、危害最大的一种自由基，可以通过电子转移、加成以及脱氢等方式与生物体内的多种分子作用，造成糖类、氨基酸、蛋白质、核酸和脂类等物质的氧化损伤，使细胞坏死或突变^[20]。邻二氮菲-Fe²⁺是常用的氧化还原指示剂，其颜色变化可敏锐的反应出氧化还原状态的改变。Fenton反应是以H₂O₂为氧化剂，以亚铁盐为催化体系的氧化反应方法，邻二氮菲-Fe²⁺水溶液可被·OH氧化为邻二氮菲-Fe³⁺，从而使邻二氮菲-Fe²⁺在536nm波长处的最大吸收峰消失。由图3可见，在质量浓度范围内，3种碱木质素及阳性对照品BHT的·OH清除能力均随着质量浓度增加逐渐增大。与抗氧化剂BHT比较，3种碱木质素的·OH清除能力均较弱，当质量浓度达到0.6mg/mL时，BHT和碱木质素D、C、B清除率分别为61.22%、26.21%、23.12%、19.92%。在实验质量浓度内3种碱木质素对·OH的清除率与BHT差距较大。

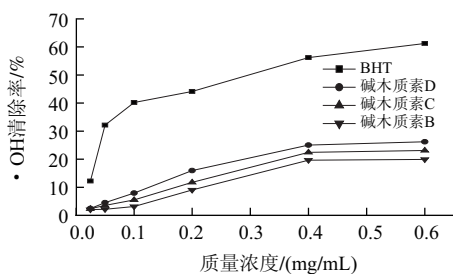


图3 不同质量浓度碱木质素B、C和D清除·OH的能力
Fig.3 Hydroxyl radical scavenging capacity of alkali lignin and its reduced products at different concentrations

2.5 碱木质素原料及还原碱木质素的还原力

还原力是抗氧化活力的一个重要指标，抗氧化剂是通过自身还原作用给出电子清除自由基的，所以还原力越强抗氧化性越强。实验通过Fe²⁺被抗氧化物质还原成

Fe²⁺来测定其还原能力。由图4可知，在质量浓度范围内，随着样品质量浓度的增加，所测3种木质素及阳性对照品BHT的还原力均逐渐增加。3种木质素中碱木质素D的还原力最强，但3者还原力均低于BHT。在0.6mg/mL时，BHT和碱木质素D、C、B的吸光度分别为1.418、1.211、1.172、1.064，被还原木质素的还原力和抗氧化剂BHT接近。

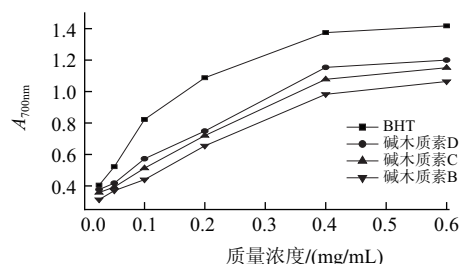


图4 不同质量浓度碱木质素B、C和D的还原力
Fig.4 Reducing power of alkali lignin and its reduced products at different concentrations

3 结论

碱木质素经购买和自制两种Pd/C催化剂催化还原以后，酚羟基分别增加1.20%和1.38%，醇羟基分别增加1.30%和1.64%，反应活性增强，两种催化剂均有良好的催化性能，且自制的催化剂比购买的催化性能更好。碱木质素的抗氧化性能在还原反应后增强，还原力及对DPPH自由基和·OH的清除能力均随着木质素质量浓度的增加而逐渐增强。在实验质量浓度0.6mg/mL处，被还原碱木质素C、D对DPPH自由基清除能力清除率分别达到80.91%和82.43%；对·OH的清除率分别达到23.12%和26.21%；被还原碱木质素还原力与常用抗氧化剂BHT接近，吸光度分别为1.172和1.211，BHT为1.418。还原后碱木质素的抗氧化能力比较强，这对木质素作为天然抗氧化剂的应用以及制备木质素基抗氧化材料的开发有重要意义。

参考文献:

- [1] 崔红艳, 刘玉, 杨桂花, 等. 木素化学结构及其特性的研究方法与研究进展[J]. 天津造纸, 2011(1): 29-32.
- [2] SHAHIDI, JANITHA P K, WANASUNDARA P D. Phenolic antioxidants[J]. Crit Rev Food Sei Nut, 1992, 32: 67-103.
- [3] VINARDELL M P, GARTONDOV U, MITJANS M. Potential applications of antioxidant lignins from different sources[J]. Industrial Crops and Products, 2008, 27(2): 220-223.
- [4] 赵永杰, 张静. 抗氧化剂在个人护理品中的研究进展[J]. 日用化学科学, 2008, 31(3): 25-19.
- [5] 朱玉强. 天然抗氧化剂研究进展[J]. 甘肃石油化工, 2008(2): 10-13.
- [6] DIZHBITE T, TELYSHEVA G, JURKJANE V, et al. Characterization of the radical scavenging activity of lignins-natural antioxidants[J].

- Bioresource Technology, 2004, 95: 309-317.
- [7] 叶结旺, 方桂珍. Pd/C催化下碱木质素的高压加氢反应[J]. 中国造纸学报, 2008, 23(4): 48-52.
- [8] 方桂珍, 李丽英, 任世学. 钯/炭催化剂对碱木质素还原反应的催化作用[J]. 中国造纸学报, 2004, 19(2): 129-133.
- [9] 任世学, 姜贵全, 屈红军. 植物纤维化学实验教程[M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2008: 39-47.
- [10] ALBERSA P, BURMEISTERA R, SEIBOLDA K, et al. Investigations of palladium catalysts on different carbon supports[J]. Journal of Catalysis, 1999, 181: 145-154.
- [11] 孟宪军, 刘晓晶, 孙希云, 等. 蓝莓多糖的抗氧化性与抑菌作用[J]. 食品科学, 2010, 31(17): 110-113.
- [12] 金莹, 孙爱东. 苹果多酚清除DPPH自由基活性的研究[J]. 中国酿造, 2006(5): 48-51.
- [13] BRACA A, de TOMMASI N, di BARI L, et al. Antioxidant principles from *Bauhinia terapotensis*[J]. Journal of Natural Products, 2001, 64: 892-895.
- [14] 刘薇, 刘雯佳, 刘彦霞, 等. 邻二氮菲- Fe^{3+} 法测定保健食品中水溶性成分的抗氧化能力[J]. 食品科学, 2011, 32(16): 261-264.
- [15] 王多宁, 张小莉, 杨颖. 百合多糖对羟自由基的清除作用[J]. 陕西中医学院学报, 2006, 29(4): 53-55.
- [16] 孙海红. 三株海洋微生物中胞外多糖的分离、结构和抗氧化活性研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009.
- [17] DORMAN H J D, HILTUNEN R. Fe(III) reductive and free radical-scavenging properties of summer savory (*Satureja hortensis* L.) extract and subfractions[J]. Food Chem, 2004, 88: 193-199.
- [18] EONG L P, SHUI G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets[J]. Food Chemistry, 2002, 76: 69-75.
- [19] NAIK G H, PRIYADARSINI K I, SATAV J G, et al. Comparative antioxidant activity of individual herbal components used in Ayurvedic medicine[J]. Phytochemistry, 2003, 63: 97-104.
- [20] 王织云, 肖怀秋. 羟基自由基测定技术研究进展[J]. 中国食物与营养, 2009(8): 56-57.