

文章编号: 1003-9015(2012)01-0056-05

氧化石墨烯的制备及其催化水解大豆异黄酮

贺晓东¹, 魏作君¹, 刘迎新², 任其龙¹

(1. 浙江大学 化学工程与生物工程学系, 浙江 杭州 310027;

2. 浙江工业大学 药学院 绿色化学合成技术国家重点实验室培育基地, 浙江 杭州 310053)

摘要: 采用改良的 Hummers 法制备了负载有 $-SO_3H$ 、 $-COOH$ 和 $-OH$ 的氧化石墨烯, 对其进行了结构表征。并首次以氧化石墨烯为催化剂, 对天然产物大豆异黄酮糖苷水解反应进行了研究。实验结果显示氧化石墨烯在异黄酮糖苷水解反应中具有较好的催化活性, 其最佳反应温度为 105°C , 此时 3 种大豆异黄酮糖苷的转化率分别达到 94.3%, 92.1% 和 88.8%, 苷元的收率分别达到 69.6%、60.6% 和 58.8%。其催化活性明显优于其他固体酸催化剂, 如沸石 HZSM-5 和大孔树脂 NKA-9, 而与 $0.02\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的硫酸相当。

关键词: 氧化石墨烯; 大豆异黄酮; 水解; 酸催化剂; 表征

中图分类号: O635.1; TQ031.5

文献标识码: A

The Preparation of Graphene Oxide and Using It as Catalyst for the Hydrolyzation of Soybean Isoflavone

HE Xiao-dong¹, WEI Zuo-jun¹, LIU Ying-xin², REN Qi-long¹

(1. Department of Chemical and Biological Engineering, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China;

2. College of Pharmaceutical Science, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310032, China)

Abstract: Graphite oxide is a layered material consisting of hydrophilic oxygenated graphene bearing oxygen functional groups on their basal planes and edges. In this paper, the graphene oxide bearing with $-SO_3H$, $-COOH$ and $-OH$ was prepared by the modified Hummers method and characterized, and which was used as a catalyst for the first time for the hydrolyzation of soybean isoflavone glycosides. Experimental results show that the graphene oxide has good catalytic activity for the hydrolyzation reactions. The optimal reaction temperature of the catalytic reaction is 105°C , at which the conversions of three kinds of isoflavone glycosides are 94.3%, 92.1%, and 88.8%, and the yields of the corresponding aglycones are 69.6%, 60.6%, and 58.8%, respectively. Comparing with other commercial solid acid catalysts, such as zeolite HZSM-5 and macroporous resin NKA-9, the catalytic activity of the prepared graphene oxide is remarkably higher, which is similar to that of $0.02\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ sulfuric acid.

Key words: graphene oxide; soybean isoflavone; hydrolyzation; acid catalyst; characterization

1 引言

石墨烯是碳原子以 sp^2 杂化连接构成的碳六元环蜂窝状的二维周期点阵结构, 是目前发现的唯一存在的二维自由态原子晶体。随着 2004 年, Geim 等^[1]首次采用胶带剥离高定向石墨的方法获得单层石墨烯晶体, 石墨烯这种新型材料立刻引起了科学界的研究热潮。与其他碳材料相比, 石墨烯具有非常大的比表面积(理论比表面积高达 $2630\text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$ ^[2]); 同时, 石墨烯结构呈平面状, 使得其碳骨架在理论上存在无限

收稿日期: 2010-12-14; 修订日期: 2011-06-02。

基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助(211006134)。

作者简介: 贺晓东 (1986-), 男, 湖南平江人, 浙江大学硕士生。通讯联系人: 魏作君, E-mail: weizuojun@zju.edu.cn

修饰和官能化的可能性^[3]。

固体酸催化剂因其几乎能与无机酸相媲美的催化性能, 且存在着易分离, 易回收利用, 对设备无腐蚀等优良特性。石墨烯表面由于含有众多反应活性的碳碳双键, 很容易进行官能化修饰嫁接上酸性官能团充当固体酸催化剂。早在 19 世纪, 科学家便发现在强氧化剂硫酸、硝酸或氯酸钾等作用下, 石墨可以很容易转化为氧化石墨烯(Graphene oxide)^[4]。此时, 石墨烯中的双键被断开, 在碳骨架上接入了大量酸性基团而具备一定的酸性。氧化石墨烯用于酸催化反应的初步的尝试是 Hara 研究小组^[5, 6]用浓硫酸深度氧化一种拥有石墨烯片段的无定型碳, 在该碳材料表面引入-COOH、-OH 和-SO₃H 等酸性基团, 并用于非均相催化水溶液中纤维素和纤维多糖降解为葡萄糖, 取得了相当高的催化活性。

大豆异黄酮是大豆生长过程中形成的次级代谢产物, 是人体生理生化作用不可或缺的成分之一^[7]。其结构如图 1 所示。其中糖苷约占其总量的 97%~98%。但研究表明大豆异黄酮中表现生理活性的主要是苷元。因此, 水解大豆异黄酮糖苷为苷元成为活化大豆异黄酮生理活性的关键。目前大豆异黄酮水解的方法主要有: 无机酸/碱水解^[8]、酶水解^[9]、离子液体水解^[10~12]和固体酸水解^[13]等途径。本文拟以大豆异黄酮糖苷的水解反应为探针反应, 对氧化石墨烯的酸催化性能进行研究。

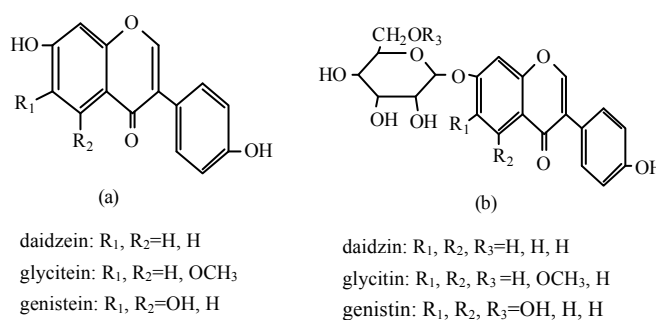


图 1 大豆异黄酮结构式(a)苷元(b)糖苷

Fig.1 Structures of soybean isoflavones (a) Aglycone and (b) Glucosides

2 实验部分

2.1 试剂与仪器

50%发烟硫酸购自上海振兴化工二厂有限公司; 光谱纯石墨粉和无水乙醇购自国药集团化学试剂有限公司; 沸石 HZSM-5(SiO₂/Al₂O₃ 摩尔比=35, 300 目)购自南开大学催化剂厂; 树脂 NKA-9 购自南开大学化工厂; 异黄酮为自制, 其中糖苷含量为 87.1%。

2.2 实验方法

2.2.1 氧化石墨烯的制备

采用改良的 Hummers 方法^[4]制备氧化石墨烯: 称取约 50 g 光谱纯石墨粉加入到 500 mL 三口烧瓶中, 通入 5 min 氮气置换空气。然后用恒压漏斗缓慢滴加 200 mL 50%发烟硫酸, 控制时间约为 30 min。等发烟硫酸完全加入后, 加热搅拌, 冷凝回流, 控制温度为 80℃。10 h 后结束反应。

反应结束后水浴超声 40 min 以分散氧化石墨烯, 控制水浴温度为 60℃。然后趁热过滤, 回收滤液。滤饼用约 1500~2000 mL 去离子水反复洗涤直至中性。滤饼抽滤, 并于 60℃下真空干燥。

2.2.2 大豆异黄酮的水解

实验采用的原料含有三种大豆异黄酮糖苷: 大豆苷, 黄豆苷, 染料苷, 其质量百分含量分别为 59.2%, 24.5%和 3.4%。

固体酸催化: 将 10 mg 异黄酮粉末和 0.73 g 固体酸催化剂(氧化石墨烯、沸石 HZSM-5 或树脂 NKA-9)加入到 20 mL 不锈钢反应管中, 加入 10 mL 水, 混合均匀, 加热到指定温度, 反应 8 h 后结束。

H₂SO₄ 催化: 将约 10 mg 异黄酮粉末加入到 20 mL 不锈钢反应管中, 然后加入事先配制好的 0.02 mol·L⁻¹ H₂SO₄ 溶液 10 mL, 加热到指定温度, 反应 8 h 后结束。

2.3 产物分析测试

2.3.1 FT-IR

样品采用 KBr 压片, 取 1~2 mg 研细的氧化石墨烯样品与 100~200 mg 溴化钾粉末在玛瑙研钵中仔细

研磨,装入模具中,高压下压成薄膜,置于 Nicolet NEXUS670 型傅里叶变换红外光谱仪的试样架上测试,扫描范围 $500\sim 4000\text{ cm}^{-1}$,记录并分析谱图。

2.3.2 元素分析

氧化石墨烯的元素分析在 LECO-CHNS932 元素分析仪上进行,测定了氧化石墨烯中的 C、H、S 元素的含量,并通过假定氧化石墨烯由 C、H、O 和 S 四种元素组成计算得出 O 元素的含量。

2.3.3 XPS

催化剂表面环境由 VG ESCALAB MARK II 型 X 射线光电子能谱仪(XPS)确定,激发源为 Mg K_{α} 线 ($h\nu = 1253.6\text{ eV}$),样品在通能 50 eV 条件测试。

2.3.4 HPLC 检测

采用实验室以往建立的 HPLC 分析方法对大豆异黄酮进行检测^[14]。

3 实验结果与讨论

3.1 制备的氧化石墨烯结构

对 C、H、S 元素分析的结果进行计算得制得的氧化石墨烯的组成为 $\text{CH}_{0.0459}\text{O}_{0.0367}\text{S}_{0.0033}$ 。其中 $-\text{SO}_3\text{H}$ 的含量为 $0.26\text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ 。图 2 所示为氧化石墨烯的傅里叶红外光谱图。其中, 3370 cm^{-1} 为羧基的伸缩振动峰; 1596 cm^{-1} 和 1510 cm^{-1} 为苯环骨架伸缩振动; 由于氧化石墨烯中 $-\text{SO}_3\text{H}$ 含量较低,未出现明显表征磺酸根的位于 1040 cm^{-1} 的 SO_3 -伸缩振动峰和 1377 cm^{-1} 的 $\text{O}=\text{S}=\text{O}$ 伸缩振动峰。由于浓硫酸对石墨烯纳米片的深度氧化,在该石墨烯纳米片的表面引入 $-\text{COOH}$, $-\text{SO}_3\text{H}$ 和 $-\text{OH}$ 等多种官能团而形成的氧化石墨烯纳米片,一般认为这种处理方法使 $-\text{COOH}$ 和 $-\text{SO}_3\text{H}$ 键合在石墨烯片断层的边缘, $-\text{OH}$ 则键合在石墨烯片的表面上^[15]。

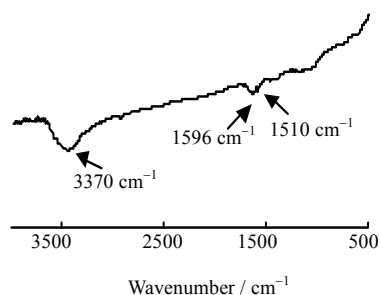


图 2 氧化石墨烯的红外光谱图

Fig.2 FT-IR spectrum for the graphene oxide

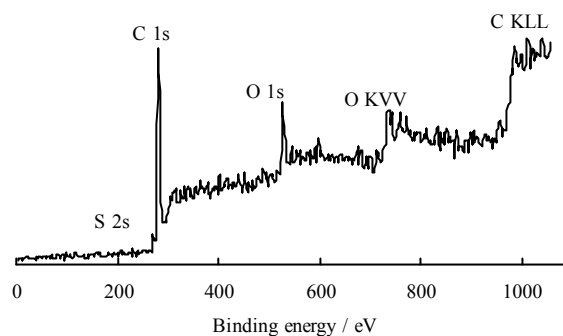


图 3 氧化石墨烯的 XPS 图谱

Fig.3 XPS spectra of graphene oxide

为了更大程度上证实氧化石墨烯的结构和 S 元素的存在,作者对氧化石墨烯进行了 XPS 表征。其结果如图 3 所示。在 XPS 图谱中,可以很明显地看到在 280.0 eV (C 1s)、 531.0 eV (O 1s)、 736.0 eV (O KVV) 以及 1011.0 eV (O KLL) 处的峰,这表明氧化石墨烯表面发生剧烈氧化反应。同时,在 231.0 eV 处可以看到 S 2s 的一个微弱的峰,证明氧化石墨烯表面有含硫官能团的存在,但是由于 S 元素含量低于 1.0% ,所以在 XPS 图谱中的峰不是很强烈,这也是与元素分析结果相一致的。

3.2 氧化石墨烯的酸催化性能

氧化石墨烯催化三种异黄酮糖苷水解的结果如表 1 所示。当反应温度超过 $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,三种异黄酮糖苷均有一定程度的水解,在 $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下大豆异黄酮糖苷的转化率和苷元的收率达到最高。较高温度有利于大豆异黄酮糖苷键的断裂^[14],但过高温度有可能导致氧化石墨烯中的 $-\text{COOH}$ 和 $-\text{OH}$ 发生热分解^[16];

表 1 不同温度下氧化石墨烯的反应活性

Table 1 Activities of graphene oxide at different temperatures

$T/\text{ }^{\circ}\text{C}$	Conversion / %			Yield / %		
	Daidzin	Glycitin	Genistin	Daidzein	Glycitein	Genistein
100	69.4	57.5	74.5	41.7	14.3	49.6
105	94.3	92.1	88.8	69.6	60.6	58.8
110	80.8	71.6	74.5	53.8	31.1	57.9

同时苷元也会出现大量降解, 导致大豆异黄酮糖苷转化率和苷元收率的下降。氧化石墨烯有如此优异的催化活性主要是由以下几点原因: 首先, 石墨烯具有非常大的比表面积(理论比表面积 $2630 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ [2]), 且结构呈平面状, 反应底物能轻易地接触到酸催化活性位点, 将 $-\text{SO}_3\text{H}$ 负载在石墨烯纳米片上, 使 $-\text{SO}_3\text{H}$ 更好地分散, 从而降低了非均相催化反应过程中的传质阻力, 有利于反应的有效进行; 其次, 石墨烯为疏水性纳米片, 以石墨烯为载体, 在此疏水性纳米片表面键合上 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{OH}$ 和 $-\text{SO}_3\text{H}$ 酸性官能团, 将同时在该纳米片上构建酸性位点和与反应底物亲和的吸附微区, 氧化石墨烯上碳六元环的高度的疏水性阻止了 $-\text{SO}_3\text{H}$ 的水合作用, 而 $-\text{COOH}$ 和 $-\text{OH}$ 对大豆异黄酮糖苷中的 β -糖苷键通过氢键紧密地结合起来, 从而有利于氧化石墨烯上的 $-\text{SO}_3\text{H}$ 对底物反应中心的进攻, 实现大豆异黄酮糖苷在低酸性条件下高效率的水解。该实验结果与 Hara 研究小组采用浓硫酸深度氧化无定型碳获得高催化活性的氧化石墨烯的报道一致^[6, 17]。

3.3 与其它固体酸催化剂的比较

氧化石墨烯、 H_2SO_4 、大孔树脂 NKA-9 和沸石 HZSM-5 对大豆异黄酮糖苷水解在 $105 \text{ }^\circ\text{C}$ 下进行, 其催化性能的比较如表 2 所示。可以看出, 氧化石墨烯的催化活性明显优于 HZSM-5 和 NKA-9, 而与无机酸 H_2SO_4 相当。其中, 3 种糖苷的转化率都达到了 90% 左右。在所采用的 0.73 g 氧化石墨烯中 $-\text{SO}_3\text{H}$ 含量为 0.19 mmol , 其质子约为所加硫酸的质子含量的 0.475 倍; 同时, $-\text{SO}_3\text{H}$ 酸性也低于硫酸, 但两者催化效果却相当, 这也表明石墨烯的疏水空间结构对其酸催化活性具有贡献。另外, 由于所制备的氧化石墨烯官能化程度并不高, 从其分子式估算仅有 9.18% 的双键断裂键合上了 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 或 $-\text{SO}_3\text{H}$, 因此其酸性有限, 不能将糖苷 100% 转化。如果采用合适方法, 进一步提高含氧官能团, 特别是 $-\text{SO}_3\text{H}$ 的负载量, 应可以进一步提高氧化石墨烯的酸催化活性。

3.4 氧化石墨烯的循环使用

氧化石墨烯催化大豆异黄酮水解反应结束后, 通过抽滤, 并用乙醇反复洗涤 3 次回收氧化石墨烯。并在相同条件下将其重新用于催化大豆异黄酮的水解反应, 其反应结果如表 3 所示。结果表明氧化石墨烯重复使用三次时活性无明显降低。证明氧化石墨烯作为一种催化剂具有较好的稳定性。

表 2 不同催化剂催化大豆异黄酮水解

Catalyst	Conversion / %			Yield / %		
	Daidzin	Glycitin	Genistin	Daidzein	Glycitein	Genistein
HZSM-5 ^a	59.7	81.7	86.2	22.4	55.7	42.6
NKA-9 ^a	70.7	80.5	89.9	48.4	57.9	58.8
Graphene Oxide ^a	94.3	92.1	88.8	69.6	60.6	58.8
H_2SO_4 ^b	77.1	99.9	99.9	43.5	63.2	61.5

a:solid catalyst; b:liquid catalyst.

表 3 氧化石墨烯的循环使用

The number of recycling	Conversion / %			Yield / %		
	Daidzin	Glycitin	Genistin	Daidzein	Glycitein	Genistein
1	93.7	92.3	88.0	67.6	61.3	58.9
2	90.4	91.7	88.5	67.7	59.5	57.1
3	89.5	90.1	85.3	63.4	60.8	57.5

4 结 论

以大豆异黄酮糖苷的水解为探针反应, 对所制备的氧化石墨烯的酸催化性能进行了研究, 得到如下结论:

(1) 通过发烟硫酸, 可以在石墨烯表面键合上 $-\text{OH}$ 、 $-\text{COOH}$ 或 $-\text{SO}_3\text{H}$ 等含氧官能团, 从而制得具有一定酸性的氧化石墨烯, 其分子式为: $\text{CH}_{0.0459}\text{O}_{0.0367}\text{S}_{0.0033}$;

(2) 氧化石墨烯可以较好的催化大豆异黄酮糖苷的水解, 其中在 105°C , 反应 8 h , 三种糖苷的转化率均达到 90% 左右, 收率达到 60% 左右;

(3) 与传统的酸催化剂 HZSM-5 和 NKA-9 相比, 所制备的氧化石墨烯能更好地催化异黄酮糖苷的水解, 其催化效果与硫酸相当。

参考文献:

- [1] Novoselov K S, Geim A K, Morozov S V, *et al.* Electric field effect in atomically thin carbon films [J]. **Science**, 2004, 306(5296): 666-669.
- [2] McAllister M J, Li J L, Adamson D H, *et al.* Single sheet functionalized graphene by oxidation and thermal expansion of graphite [J]. **Chem Mater**, 2007, 19(18): 4396-4404.
- [3] Boukhvalov D W, Katsnelson M I. Chemical functionalization of grapheme [J]. **J Phy-Condens Mat**, 2009, 21(34): 344205.
- [4] Hummers W S, Offeman R E. Preparation of graphitic oxide [J]. **J Am Chem Soc**, 1958, 80(6): 1339-1339.
- [5] Kitano M, Yamaguchi D, Suganuma S, *et al.* Adsorption-enhanced hydrolysis of beta-1,4-glucan on graphene-based amorphous carbon bearing SO₃H, COOH, and OH groups [J]. **Langmuir**, 2009, 25(9): 5068-5075.
- [6] Suganuma S, Nakajima K, Kitano M, *et al.* Hydrolysis of cellulose by amorphous carbon bearing SO₃H, COOH, and OH groups [J]. **J Am Chem Soc**, 2008, 130(38): 12787-12793.
- [7] LI Xiao-man(李小明). The molecular structure, bioactivities & market of soybean (大豆异黄酮分子结构、生物活性及其市场现状) [J]. **China Food Additives(中国食品添加剂)**, 2002, 2(14): 66-71.
- [8] Chiang W D, Shih C J, Chu Y H. Optimization of acid hydrolysis conditions for total isoflavones analysis in soybean hypocotyls by using rsm [J]. **Food Chem**, 2001, 72(4): 499-503.
- [9] CHEN Qing-qing(陈庆庆), XIA Li-ming(夏黎明). Transformation of glycoside isoflavone to aglycone isoflavone by immobilized β -glucosidase (固定化 β -葡萄糖苷酶转化糖苷型异黄酮的研究) [J]. **J Chem Eng of Chinese Univ(高校化学工程学报)**, 2007, 21(4): 304-309.
- [10] Yang Q W, Wei Z J, Xing H B, *et al.* Bronsted acidic ionic liquids as novel catalysts for the hydrolyzation of soybean isoflavone glycosides [J]. **Catal Commun**, 2008, 9(6): 1307-1311.
- [11] Wei Z J, Huang Y, Deng S G, *et al.* Study on the alcoholysis of isoflavone catalyzed by ionic liquids [J]. **React Kinet Catal Lett**, 2008, 95(2): 257-264.
- [12] HUANG Yong(黄勇), WEI Zuo-jun(魏作君), LIU Ying-xin(刘迎新), *et al.* Study on alcoholysis of isoflavone catalyzed by acidic ionic liquids (离子液体催化大豆异黄酮醇解反应工艺研究) [J]. **J Chem Engin of Chinese Univ(高校化学工程学报)**, 2008, 22(4): 720-724.
- [13] LI Shan-shan(李珊珊), WU Cai-juan(吴彩娟), SU Bao-gen(苏宝根), *et al.* Hydrolyzation of soybean isoflavone glucoside by solid acid catalyst (固体酸催化水解糖苷型大豆异黄酮) [J]. **China Oils and Fats(中国油脂)**, 2004, 29(9): 28-30.
- [14] GONG Ling-xiao(龚凌霄), SU Bao-gen(苏宝根), WEI Zuo-jun(魏作君), *et al.* Rapid determination of soybean isoflavones by HPLC-MS (高效液相色谱-质谱法快速测定大豆异黄酮含量) [J]. **China Oils and Fats(中国油脂)**, 2006, 31(2): 50-52.
- [15] Dreyer D R, Park S, Bielawski C W, *et al.* The chemistry of graphene oxide [J]. **Chem Soc Rev**, 2010, 39(1): 228-240.
- [16] Zhou Y, Bao Q L, Tang L A L, *et al.* Hydrothermal dehydration for the "Green" reduction of exfoliated graphene oxide to graphene and demonstration of tunable optical limiting properties [J]. **Chem Mater**, 2009, 21(13): 2950-2956.
- [17] Yamaguchi D, Kitano M, Suganuma S, *et al.* Hydrolysis of cellulose by a solid acid catalyst under optimal reaction conditions [J]. **J Phy Chem C**, 2009, 113(8): 3181-3188.