

文章编号:1673-1689(2011)06-0894-05

植物甾醇脂肪酸酯的胶束催化合成研究

贾承胜^{*1,2}, 张印^{1,2}, 徐菁菁^{1,2}, 何文森^{1,2},
王琳^{1,2}, 张晓鸣^{1,2} 冯翥^{1,2}

(1. 食品科学与技术国家重点实验室, 江南大学, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 植物甾醇脂肪酸酯可以通过脂肪酸和植甾醇在酸和碱的催化下直接酯化合成。为提高酯化率, 采用胶束催化剂合成脂肪酸植物甾醇酯, 研究了反应条件对反应的影响。研究表明, 胶束催化剂十二烷基硫酸铜为合成植物甾醇脂肪酸酯的良好高效催化剂, 并可回收利用。在酸醇摩尔比1.2:1, 十二烷基硫酸铜用量为植物甾醇摩尔百分比为1%, 反应温度110℃, 无溶剂反应4h的最佳条件下, 植物甾醇的酯化率为80.7%~86.4%。

关键词: 植物甾醇酯; 脂肪酸; 十二烷基硫酸铜; 胶束催化; 酯化反应

中图分类号: TS 201

文献标识码: A

Synthesis of Phytosterol Fatty Acid Esters Using Micelle-Catalyst

JIA Cheng-sheng^{*1,2}, ZHANG Yin^{1,2}, XU Jing-ran^{1,2}, HE Wen-sen^{1,2},
WANG Lin^{1,2}, ZHANG Xiao-ming^{1,2}, FENG Biao^{1,2}

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Phytosterol fatty acid esters can be synthesized by direct esterification of fatty acid with phytosterol in the presence of acidic/basic catalysts. Micelle-catalysts were used in the esterification reaction for preparation of phytosterol esters in good yields. The experimental results showed that cupric dodecyl sulfate exhibit excellent activity in this reaction, which can be recovered after the reactions and reused. The optimum reaction conditions were determined and listed as follows: molar ratio of fatty acid to phytosterols 1.2:1 and the amount of catalyst 1.0 mol % at 110℃ for 4 h. With this optimum conditions, the esterification rate of phytosterol esters reached at 80.7~86.4%.

Key words: phytosterol, fatty acid, cupric dodecyl sulfate, micelle-catalysis, esterification

植物甾醇是植物中的一种活性成分, 广泛存在于各种植物油、坚果和植物种子以及植物性食物和蔬菜水果中。植物甾醇具有降低血液中胆固醇含

量, 预防前列腺疾病, 消炎、抗癌和抗氧化等生理作用^[1], 开发植物甾醇保健食品越来越受重视。自然界中存在的植物甾醇有游离型和酯化型

收稿日期: 2011-06-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(31071600); 江苏省自然科学基金项目(BK2011155)。

作者简介: 贾承胜(1968—), 男, 安徽太湖人, 理学博士, 副教授, 主要从事食品化学研究。

Email: chshjia@jiangnan.edu.cn

两种,坚果、油料作物中以游离型为主,谷类食物中以酯化型为主。以晶体形式存在的游离型植物甾醇在应用中存在以下两方面的问题,一方面由于其难溶性和较低的生物利用度,在人体内很难吸收,需较高剂量才能见效,由此极易引发高植物甾醇血症。酯化型的植物甾醇更易溶于有机溶剂,其吸收利用率比游离型约提高 5 倍,其功能作用也更加广泛。已有研究表明,植物甾醇是否容易被酯化是其是否容易被肠道吸收的基础;另一方面,由于游离型植物甾醇不溶于水,而且在油中的溶解度也很小,限制了它在食品中的应用。这就要求在不影响植物甾醇的生理功能前提下改变植物甾醇的形式,使其便于在食品加工中应用。植物甾醇酯通过酯化得到的脂肪酸植物甾醇酯可以大大改善了植物甾醇的脂溶性或水溶性,从而可以将其添加到含油或含水的食品中,如可应用于涂抹食品、色拉调料、休闲食品和软胶性食品中。

脂肪酸植物甾醇酯的合成目前主要有酶催化合成法和化学合成法。酶催化合成法大多是采用脂肪酶作催化剂^[2]。化学合成法主要使用无机酸、对甲苯磺酸、强酸性离子交换树脂等酸性催化剂以及吡啶、乙醇钠和氧化镁等碱性催化剂^[3-5]。但这些催化剂都存在一些缺点。酶法合成由于其成本较高无法实现大规模工业化生产。而传统的化学法反应温度高(140 °C 以上,甚至有的达到 240 °C)、时间长、产率低、腐蚀性大和环境污染严重。同时,在高温下长时间反应,脂肪酸特别是不饱和脂肪酸极易氧化分解,造成损失,还会使产品纯度下降,色泽变暗。

近年来,应用表面活性剂影响、调节和控制化学反应过程,特别是胶束对有机反应的催化作用的研究异常活跃。胶束体系通过局部浓度效应、笼效应、微粘度效应、极性效应和静电效应影响化学反应^[6]。胶束催化可使反应条件变得更加温和,还能有效地避免副反应的发生,提高合成效率,具有广阔的应用前景。本文以十二烷基硫酸铜作为胶束催化剂合成脂肪酸植物甾醇酯,研究了酯化反应的影响因素及工艺条件。

1 材料与方法

1.1 原料和试剂

植物甾醇(总质量分数 95%、其中含 β -谷甾醇 45%、菜油甾醇 21%、豆甾醇 24%、菜籽甾醇 5%)、由西安蓝天有限公司提供;月桂酸、豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、十二烷基硫酸钠、氯化铜、氢氧化钾、甲

苯、无水乙醇、正己烷、环己烷、无水乙醚等均为分析纯。

1.2 仪器

TDGC2J 调压变压器:苏州耀华电器厂产品;85-2 型恒温磁力搅拌器:上海司乐仪器有限公司产品;Waters 1525 高效液相色谱仪和 Waters 2420 蒸发光散射检测器:Waters 中国有限公司产品;NICOLET NEXUS470 傅立叶红外光谱仪:美国 Thermo 公司产品。

1.3 试验内容

1.3.1 催化剂制备 十二烷基硫酸铜(催化剂)的制备是将 0.15 mol/L 十二烷基硫酸钠溶液和 0.16 mol/L 氯化铜溶液按体积比 2:1,在 70 °C 时混合,剧烈搅拌反应 30 min,冷却至 0 °C,生成蓝色十二烷基硫酸铜沉淀,过滤,水洗 3 次,经重结晶而制得。

1.3.2 反应体系的选择 由于酯化反应会生成水,及时排除体系中的水可以影响反应平衡提高酯化率。实验方法:植物甾醇与月桂酸以 1:1.2 的摩尔比混合,加入摩尔百分比为 2% 的催化剂(SDS-Cu),并分别加入 0, 5, 10, 20 mL 甲苯作为带水剂,在 120 °C 和 110 °C 下反应 3 h,以酯化率作为指标选择反应体系。

1.3.3 反应过程检测和酯化率的测定 HPLC 分析条件:Symmetry C18 柱(4.6×250 mm, 5 μ m),柱温:30 °C,流动相:V(正己烷):V(异丙醇)=1:1,体积流量:0.7 mL/min,等速洗脱,进样量:15 μ L。

ELSD 条件:载气为 N₂,体积流量:1.7 L/min,漂移管温度:60 °C,工作压力:20 psi。

在此条件下植物甾醇中 4 种甾醇及其酯可以分别出峰,从而可以定量检测植物甾醇的含量。通过 HPLC 法分析反应混合物中甾醇的含量来判断酯化反应进行的程度。

酯化率计算公式:

$$\text{酯化率}(\%) = (1 - m_2/m_1) \times 100\%$$

式中: m_1 为酯化反应前体系中的植物甾醇质量分数; m_2 为酯化反应后体系中的植物甾醇质量分数。

1.3.4 植物甾醇酯合成的制备 在装有磁力搅拌器,温度计的 50 mL 三口烧瓶中加入 5 mmol 植物甾醇和一定量脂肪酸,通入氮气,加热至一定温度后,加入摩尔百分比 1% 的十二烷基硫酸铜,反应所需时间,通过高效液相色谱检测反应物中植物甾醇的含量来计算酯化率。反应结束后,反应混合物经

硅胶柱层析分离,洗脱液为 $V(\text{环己烷}):V(\text{无水乙醚})=19:1$,得到淡黄色产品。

2 结果与讨论

2.1 植物甾醇脂肪酸酯的合成

为研究各因素对酯化率的影响,以月桂酸和植物甾醇反应为例,考察了反应体系、酸醇摩尔比、催化剂用量、反应温度和反应时间等因素对制备月桂酸植物甾醇酯的影响,并得到了酯化率与各因素的关系曲线。

2.1.1 反应体系的选择 以甲苯作为带水剂,在体系中加入不同量甲苯的酯化率如图1和图2。

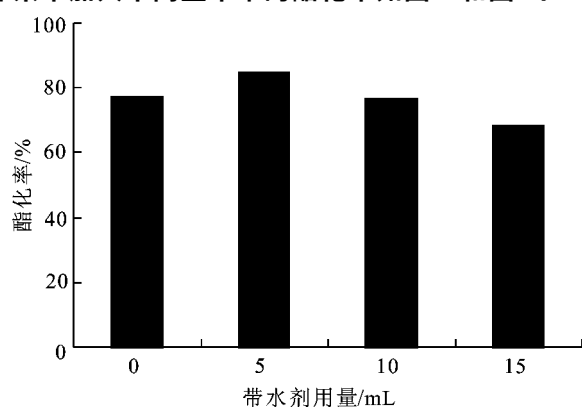


图1 120 °C 带水剂添加量对酯化率的影响

Fig. 1 Effect of the additional amount of water-carrying agent on the yield of phytosterol ester at 120 °C

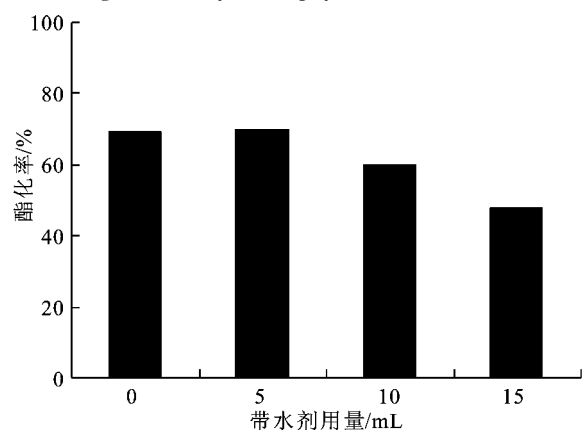


图2 110 °C 带水剂添加量对酯化率的影响

Fig. 2 Effect of the additional amount of water-carrying agent on the yield of phytosterol ester at 110 °C

由图1可见在体系沸腾的条件下少量(5mL)的带水剂可以提高酯化率。因为反应生成的水被及时从体系中排除,从而影响了化学反应平衡,反应向酯化方向进行的推动力增强,合成速率加快,但是随着带水剂用量的增加,体系中反应物被稀释,浓度降低,导致单位时间内底物分子接触几率降低,从而减小反应效率。

由图2可以看出在110 °C条件下,带水剂对酯化率的提高没有明显提高,因为在较低的温度下甲苯与水的混合物蒸发较为缓慢,除水速率较低。虽然体系中水减少使得反应动力增加,但同时底物也被稀释,分子接触几率降低,从而导致酯化率降低。常用的带水剂苯,甲苯及二甲苯等都对人体有害,反应结束后需要除去,增加了生产能耗和操作复杂性。通过综合考虑,不使用带水剂。

2.1.2 酸醇摩尔比对酯化率的影响 不同的酸醇比(催化剂摩尔量为植物甾醇摩尔量的1%,反应温度为110 °C,反应时间为2 h)对酯化率的影响见图3。随着月桂酸与植物甾醇摩尔比的增加,产品的酯化率呈缓慢上升趋势,达到摩尔比为1.2:1后,增加月桂酸对酯化率提升影响不大,而且过多添加月桂酸也会给后续的分工作增加负担,因此选择酸醇摩尔比为1.2:1。

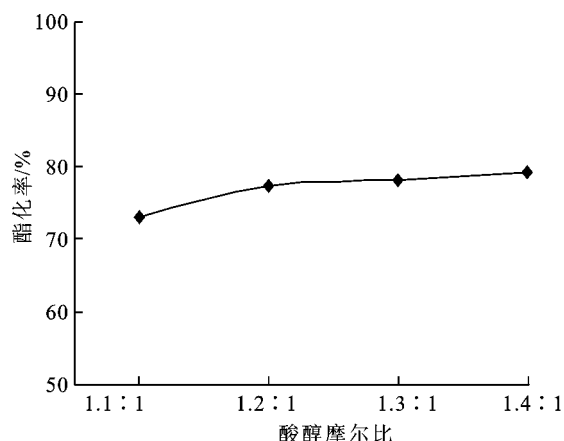


图3 酸醇摩尔比对酯化率的影响

Fig. 3 Effect of molar ratio of lauric acid to phytosterol on the yield of phytosterol ester

2.1.3 催化剂用量对酯化率的影响 为直观起见,作者以植物甾醇物质的量为基准,采用摩尔分数来表示催化剂的用量。催化剂用量对酯化率的影响见图4(酸醇摩尔比1.2:1,反应温度110 °C,反应时间2 h)。随着催化剂用量增加,酯化率上升,但当催化剂用量达到摩尔百分比1%以上,增加催化剂对酯化率提高影响不大。同时,催化剂的用量增加,使反应物颜色变深,因此选择催化剂用量为摩尔百分比1%。

2.1.4 反应温度对酯化率的影响 反应温度对酯化率的影响见图5(酸醇摩尔比1.2:1,催化剂摩尔百分比1%,反应时间2 h)。可以看出在90-110 °C的区间酯化率随温度的升高而增加很快,但到了110 °C以后,酯化率随温度升高增幅变小。继续升高温度,产品的颜色逐渐加深,而且高温下甾醇易发生脱水等副反应。综合考虑温度控制在110 °C为宜。

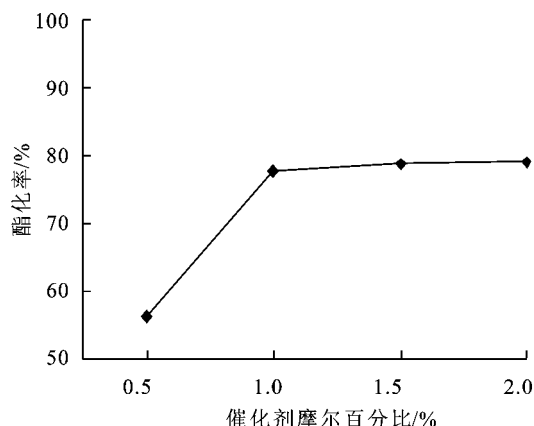


图 4 催化剂用量对酯化率的影响

Fig. 4 Effect of catalyst amount on the yield of phytosterol ester

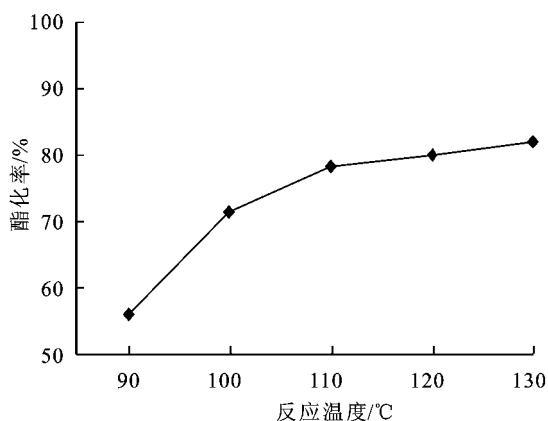


图 5 反应温度对酯化率的影响

Fig. 5 Effect of reaction temperature on the yield of phytosterol ester

2.1.5 反应时间对酯化率的影响 反应时间对酯化率的影响如图 6(酸醇摩尔比 1.2 : 1, 催化剂摩尔百分比 1%, 反应温度 110 °C)。从图中可以看出, 该酯化反应在较短的时间内即可趋向化学热力学平衡, 因此该催化剂对目标产物的合成有较好的催化活性。反应 4 h, 酯化率达到 86.7% 的, 4 h 后随时间延长酯化率提高不大。从产品质量、能源消耗两个方面综合考虑, 取反应时间 4 h 即可。

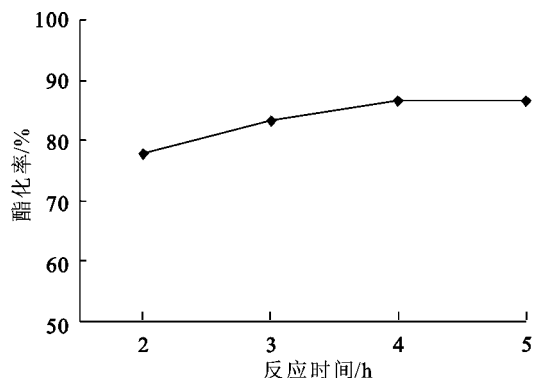


图 6 反应时间对酯化率的影响

Fig. 6 Effect of reaction time on the yield of phytosterol ester

2.1.6 植物甾醇脂肪酸酯的合成 根据上述优化实验, 得到合成脂肪酸植物甾醇酯的反应条件为: 酸醇摩尔比 1.2 : 1, 催化剂用量 1 mol%, 反应温度 110 °C, 在无溶剂下反应 4 h, 在该条件下, 月桂酸植物甾醇酯的酯化率为 86.4%。

此外, 在最佳条件下还分别合成了豆蔻酸植物甾醇酯, 棕榈酸植物甾醇酯和硬脂酸植物甾醇酯, 结果如表 1。

表 1 不同脂肪酸植物甾醇酯的酯化率

Tab. 1 The esterification rate of different phytosteryl esters

脂肪酸植物甾醇酯	酯化率/%
月桂酸植物甾醇酯	86.4
豆蔻酸植物甾醇酯	85.2
棕榈酸植物甾醇酯	83.4
硬脂酸植物甾醇酯	80.7

可以看出随着脂肪酸碳原子数的增加, 酯化率下降。由于脂肪酸分子空间位阻增大, 导致催化剂表面结合能力以及和植物甾醇碰撞几率下降, 从而使酯化率降低。

2.1.7 催化剂的回收和重复利用 在植物甾醇酯合成反应结束后, 向反应混合物中加入正己烷(料液比 1:4), 加热使之完全溶解, 趁热过滤、洗涤和干燥, 回收得到催化剂。将该催化剂在上述最优条件(酸醇摩尔比 1.2 : 1, 催化剂摩尔百分比 1%, 温度 110 °C, 反应 4 h)下重复用于植物甾醇月桂酸酯合成, 得到的酯化率如图 7。

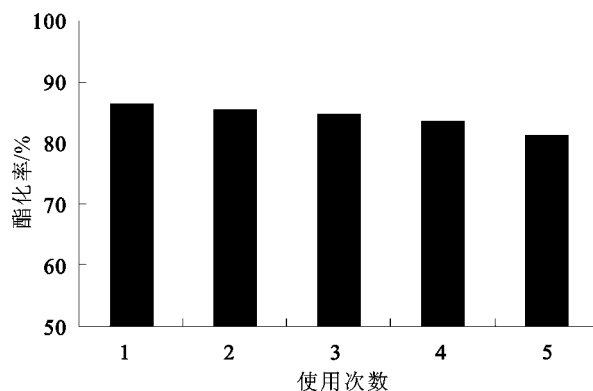


图 7 催化剂重复使用对酯化率的影响

Fig. 7 Effect of catalysts recycled on esterification rate

由图 7 可见, 催化剂连续使用 5 次, 酯化率没有明显降低, 因此十二烷基硫酸铜是一种可循环利用的有效催化剂。

2.2 植物甾醇月桂酸酯的纯化

向植物甾醇月桂酸酯粗产品中加入无水乙醇, 料醇质量体积比为 1 g : 5 mL, 加热至 60 °C, 充分

振荡,反应混合物熔化,呈油状处于底层,加入两滴酚酞,用 0.1 mol/L 的 KOH 乙醇溶液滴至溶液变红,振摇 30 s 不变色,将上层乙醇倾出,再用 60 °C 乙醇洗涤两次,真空干燥,产品用少量乙醚溶解,用硅胶层析柱分离,洗脱液为环己烷/无水乙醚(19 : 1, V : V),收集含有产品的洗脱液,减压除去溶剂,干燥得到白色植物甾醇月桂酸酯纯品(纯度 99.8%),产率为 84%。

2.3 植物甾醇月桂酸酯红外光谱分析

月桂酸植物甾醇酯:IR (ν , cm^{-1}) 2916 (C-H, vs), 2850 (C-H, s), 1742 (C=O, vs), 1464, 1377, 1178 (C-O-C, vs), 1090。

红外光谱中, 2 916 和 2 850 cm^{-1} 为饱和 C-H 伸缩振动, 1 741 cm^{-1} 的强吸收为酯 C=O 的特征伸缩振动, 1 177 cm^{-1} 的强吸收为酯键上特征 C-O 伸缩振动。谱图中没有出现植物甾醇酯在 3 423 cm^{-1} 的

OH 特征峰,确定产品中不含甾醇。因此,产物为月桂酸植物甾醇酯。

3 结 语

采用十二烷基硫酸铜胶束催化剂合成脂肪酸植物甾醇酯,最佳合成条件为:酸醇摩尔比 1.2 : 1, 催化剂用量为摩尔百分比/%,反应温度 110 °C,无溶剂反应 4 h。在此条件下,月桂酸植物甾醇酯、豆蔻酸植物甾醇酯、棕榈酸植物甾醇酯和硬脂酸植物甾醇酯的酯化率分别为 86.4%、85.2%、83.4% 和 80.7%。

十二烷基硫酸钠系列胶束催化剂为合成植物甾醇脂肪酸酯的环境友好的新型高效催化剂,并可回收循环使用。

参考文献(References):

- [1] Chen Z Y, Jiao R, Ma K Y. Cholesterol-lowering nutraceuticals and functional foods[J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56: 8761—8773.
- [2] King J W, Snyder J M, Frykman H, et al. Sterol ester production using lipase-catalyzed reactions in supercritical carbon dioxide[J]. *Eur Food Res Technol*, 2001, 212: 566—569.
- [3] 许文林, 黄一波, 沙鸥, 等. 回流操作条件下植物甾醇与过量乙酸酯化反应动力学[J]. *高校化学工程学报*, 2005, 19(3): 379—383.
XU Wen-lin, Huang Yi-bo, SHA Ou, et al. Study on the esterification kinetics of phytosterols with excess acetic acid under reflux conditions[J]. *Journal of Chemical Engineering of Chinese Universities*, 2005, 19(3): 379—383. (in Chinese)
- [4] 陈茂彬, 黄琴, 吴谋成. 植物甾醇油酸酯产品的合成工艺研究[J]. *中国油脂*, 2005, 30 (6): 63—65.
CHEN Mao-bin, Huang Qin, WU Mao-cheng. Synthesis of phytosterols oleate[J]. *China Oils and Fats*, 2005, 30 (6): 63—65. (in Chinese)
- [5] Pouilloux Y, Courtois G, Boisseau M, et al. Solid base catalysts for the synthesis of phytosterol esters[J]. *Green Chem*, 2003, 5: 89—91.
- [6] 刘启发, 于亚明, 高保娇. 胶束催化及其在有机合成中的应用[J]. *中北大学学报: 自然科学版*, 2006, 27(5): 442—447.
LIU Qi-fa, YU Ya-ming, GAO Bao-jiao. Micellar catalysis and its applications in organic synthesis[J]. *Journal of North University of China: Natural Science Edition*, 2006, 27(5): 442—447. (in Chinese)