

文章编号 :1009-038X(2001)04-0344-03

发酵法生产工业级丙三醇中显“酸性”关键组分的研究

金海如, 诸葛健

(无锡轻工大学 生物工程学院, 江苏 无锡 214036)

摘 要:脂肪酸和脂肪酸酯是呈“酸性”的,它是使发酵法生产丙三醇的 NaOH 滴定值超标的一类杂质.为分析其产生来源及进一步提出控制策略,确定了显“酸性”的关键脂肪酸酯. GC-MS 分析发现,发酵法生产工业级丙三醇中脂肪酸及脂肪酸酯为乙酸、丙酸、丁酸甘油酯及甘油单乙酸酯等,其中甘油单乙酸酯含量最高. HPLC 法测定了不同厂家发酵生产的工业级丙三醇中甘油单乙酸酯的含量,一般在 0.5~3.0 g/100 g 丙三醇.它对工业级丙三醇的脂肪酸滴定值影响最大,是发酵法生产工业级丙三醇显“酸性”的关键物质.

关键词:脂肪酸酯;脂肪酸;丙三醇;发酵

中图分类号: TQ225.1

文献标识码: A

Determination of the Key Component Showing Acidification in Commercial Glycerol by Fermentation

JIN Hai-ru, ZHUGE Jian

(School of Biotechnology, Wuxi University of Light Industry, Wuxi 214036, China)

Abstract: Fatty acids and fatty acid esters were some impurities in commercial glycerol by fermentation, which show acidification and make the titration of NaOH above the normal level. In order to analyze its origin and further afford the controlling methods, the key component of fatty acids esters was determined. There were acetic acid, propanoic acid, butyric glycerol and glycerol monoacetin determined by GC-MS. It proved that glycerol monoacetin in fatty acid esters in commercial glycerol was highest. The amount of glycerol monoacetin in commercial glycerol from different plants was in the range of 0.5~3.0 g/(100 g glycerol) by HPLC. The amount of glycerol monoacetin mostly affects the titration of fatty acid esters in commercial glycerol with 0.1 mol/L NaOH and it was main component that showed the commercial glycerol acidification.

Key words: fatty acid esters; fatty acids; glycerol; fermentation

丙三醇,俗名甘油,是重要的轻化工原料,用途极广.丙三醇的来源主要有 3 种:皂化法、化学合成法和发酵法.目前国外主要采用前两种方法.在国内,除了常规的皂化水解法,产甘油假丝酵母好氧

发酵法生产工业级丙三醇的技术已经推广并实现了产业化^[1~4],其生产能力已超过 10 000 t/a,是我国的一个新兴产业.此外,发酵法生产医药级丙三醇在我国也已经投产^[5].但发酵法生产的工业级丙

收稿日期 2000-10-23; 修订日期 2001-04-02.

基金项目:国家“九五”科技攻关项目(96-C03-03-03).

作者简介:金海如(1970-),男,浙江东阳人,工学博士,讲师.

三醇中脂肪酸及脂肪酸酯往往超标,使得工业级丙三醇显“酸性”,对发酵法进一步精制医药级丙三醇是一个阻碍。

在丙三醇的精制过程中,往往因脂肪酸及脂肪酸酯的种类不清楚,因此无法探讨脂肪酸及脂肪酸酯的来源,也无法对其含量进行控制,精制去除该类杂质的工艺流程的确定也无从谈起。为此,作者采用 GC-MS 和 HPLC 等手段确定发酵法生产工业级丙三醇中关键脂肪酸酯及其含量,对丙三醇的提纯有借鉴意义。

1 材料与方法

1.1 材料与设备

工业级丙三醇:国内不同发酵甘油厂生产;超纯水:江苏无锡华晶电子集团生产;乙酸甘油酯标准品:化学纯,上海化学试剂二厂生产;其它试剂皆为分析纯。

样品的色谱和质谱联用分析仪为 GC8000^{TOP}气相色谱仪, FID 检测器,极性毛细管色谱柱, Voyager 质谱仪, Gateway2000 色谱图处理软件。

高效液相色谱仪为美国 ALLTECH 公司 HPLC, ChromTeKTM 色谱数据系统(American Sage Inc.), Alltech 426 HPLC pump, LinearTM UVIS 200 检测器。

1.2 分析方法

1.2.1 样品 GC-MS 分析 取 2 g 工业级丙三醇,加 2 mL 水和 2 g NaCl,摇匀后,加 2 mL 无水乙醚,离心 5 min,醚层转入另一试管中,醚层挥发后用甲醇适当稀释,取 0.1 μ L 进样。GC-MS 检测条件是:柱温为 40 $^{\circ}$ C(保持 3 min)~240 $^{\circ}$ C(保持 10 min),升温速度为 10 $^{\circ}$ C/min,汽化温度为 250 $^{\circ}$ C,进样量为 0.1 μ L,载气(流量):He(1.0 mL/min),分流比为 15:1,质谱检测器电离电压为 70 eV。气相色谱程序升温步骤是:由 40 $^{\circ}$ C 逐步以 7 $^{\circ}$ C/min 升温至 250 $^{\circ}$ C。

1.2.2 HPLC 分析乙酸甘油酯 Alltech IC Wes-can Anion Exclusion Column 柱子,粒子大小 10 μ m, 300 mm $\times$ 7.8 mm。工业级丙三醇样品用超纯水稀释 10 倍,再用 0.45 μ m 的微孔膜过滤样品,进样量为 20 μ L,流动相为 1 mmol/L H₂SO₄,并进行脱气, 210 nm 波长测吸光度。

1.2.3 产品丙三醇中脂肪酸与酯类滴定 取本品 40 g,加新制备的煮沸过的冷水 40 mL,再加氢氧化钠滴定液(0.1 mol/L),摇匀后,煮沸 5 min,放冷,加酚酞指示液数滴,用盐酸滴定液(0.1 mol/L)滴定

剩余的氢氧化钠,并将滴定的结果用空白实验校正,计算消耗的氢氧化钠毫升数(0.1 mol/L)。

2 结果与讨论

2.1 工业级丙三醇中脂肪酸及脂肪酸酯的定性鉴定

由发酵法生产的工业级丙三醇,其萃取成分先进行红外光谱分析,发现其在 1 740 cm^{-1} 处有强烈的吸收^[6],这说明该成分含有脂肪酸或脂肪酸酯,而没有羟基的吸收,可见成品丙三醇中不含有羟基酸,只有低级脂肪酸或脂肪酸酯。为了进一步确定工业级丙三醇中脂肪酸酯的种类,采用气相色谱和质谱联用分析,结果(其中各组分质谱图略)见图 1。可见成品丙三醇中含有乙酸、丙酸、乙酸-丙三醇的单酯(乙酸甘油酯)、丙三醇、丁酸-2,3-二羟基丙酯,其中乙酸甘油酯是含量最高的杂质(以峰面积归一化计算)。

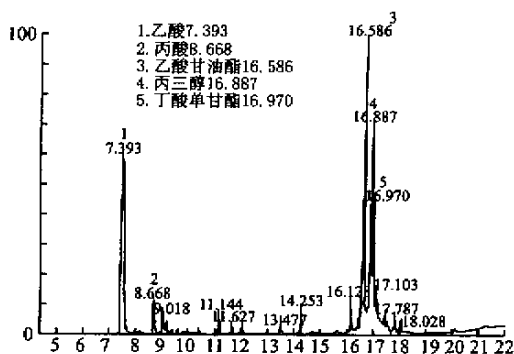


图1 发酵法生产工业级丙三醇制品中脂肪酸及脂肪酸酯的 GC-MS 分析结果

Fig.1 The analysis result of fatty acids and its esters in commercial glycerol by GC-MS

2.2 主要杂质组分的 HPLC 分析验证

HPLC 法分析标准乙酸甘油酯及工业级丙三醇样品的结果见图 2, 3。工业级丙三醇的 HPLC 色谱图中保留时间为 8.247 min, 色谱峰与标准乙酸甘油酯的前一个色谱峰相近,这说明了标准的乙酸甘油酯存在两种异构体,而发酵法生产的工业级丙三醇中乙酸甘油酯主要以其中一种异构体形式存在。

为了进一步验证,又进行了工业级丙三醇制品的水解物与乙酸甘油酯的 NaOH 水解物的比较。工业级丙三醇和乙酸甘油酯加 NaOH 煮沸水解, HPLC 分析其水解物,色谱条件不变,结果见图 4, 5。HPLC 测定发现,工业级丙三醇的水解物和乙酸甘油酯的水解物都为乙酸,这进一步说明了工业级丙三醇中主要存在乙酸和丙三醇形成的酯,即甘油单乙酸酯(乙酸甘油酯)。

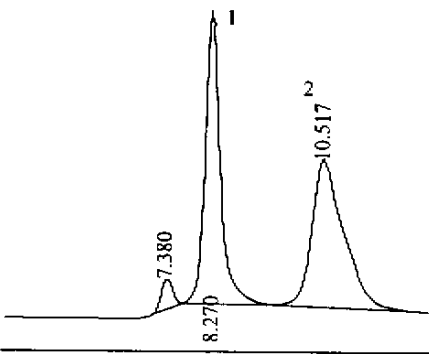


图 2 标准乙酸甘油酯的 HPLC 色谱图

Fig. 2 The HPLC graph of standard glycerol monoacetin

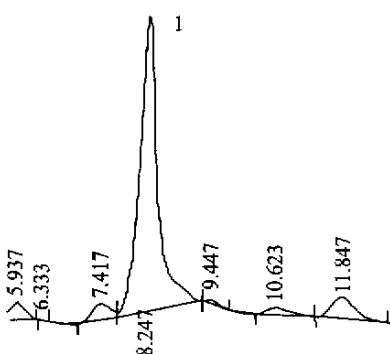


图 3 工业级丙三醇的 HPLC 色谱图

Fig. 3 The HPLC graph of commercial glycerol

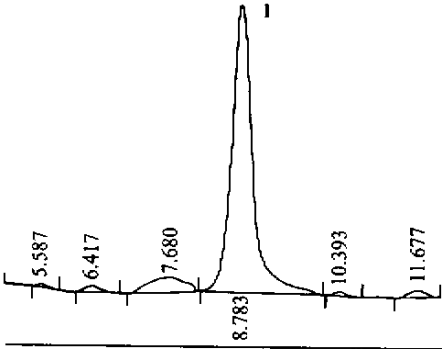


图 4 工业级丙三醇水解物的 HPLC 色谱

Fig. 4 The HPLC graph of commercial glycerol hydrolyzate

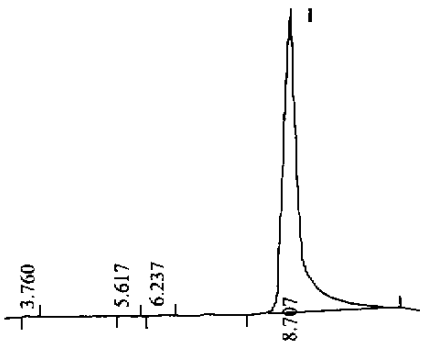


图 5 乙酸甘油酯水解物的 HPLC 色谱图

Fig. 5 The HPLC graph of glycerol monoacetin hydrolyzate

2.3 发酵法生产工业级丙三醇中乙酸甘油酯含量的测定及与 NaOH 滴定值的关系

采用 HPLC 可以快速准确地测定乙酸甘油酯的含量. 经比较, 确定 HPLC 的测定条件为: 紫外检测波长 210 nm, 以 1 mmol/L H₂SO₄ 作流动相. 测定前取 10 g 样品, 稀释至 100 mL, 膜过滤后, 进样 20 μ L. 取不同甘油生产厂家的工业级丙三醇实验用样品 6 份, 稀释 10 倍, 测定结果见表 1. 工业级丙三醇中乙酸甘油酯的含量一般在 0.44 ~ 3.09 g/100 g 丙三醇.

工业级丙三醇中乙酸甘油酯含量与 0.1 mol/L NaOH 滴定值的关系见表 1 和图 6. 工业级丙三醇中乙酸甘油酯含量越高, 滴定所消耗的 NaOH 越

高. 如 5 # 样品乙酸甘油酯含量为 3.09%, 消耗 0.1 mol/L 的 NaOH 104.3 mL, 而其中仅仅乙酸甘油酯消耗的 0.1 mol/L 的 NaOH 92.23 mL, 所以乙酸甘油酯约占总消耗量的 88.42%. 即使在乙酸甘油酯含量为 0.44% 的 1 # 样品, 其消耗的 0.1 mol/L 的 NaOH 占 66.37%, 这样在这几家不同甘油生产厂家生产的工业级丙三醇中, 用 0.1 mol/L NaOH 滴定工业级丙三醇所消耗的滴定值, 其中乙酸甘油酯消耗的滴定值约占 66% ~ 88%, 所以乙酸甘油酯的存在是工业级丙三醇中使产品脂肪酸及脂肪酸酯这一项指标超标的关键物质, 是使产品显“酸性”的主要来源.

表 1 发酵法生产工业级丙三醇中乙酸甘油酯含量及其 NaOH 滴定值

Tab.1 The content of glycerol monoacetin in commercial glycerol and its titration value of 0.1 mol/L NaOH				
样品号	乙酸甘油酯 (g/100g glycerol)	工业级丙三醇的 NaOH 滴定值/mL	工业级丙三醇中乙酸 甘油酯的滴定值/mL	乙酸甘油酯的滴定值 占总滴定值的百分比 /%
1	0.44	19.60	13.01	66.37
2	2.88	100	85.97	85.97
3	2.51	92	74.92	81.43
4	2.12	87.6	63.28	72.23
5	3.09	104.3	92.23	88.42
6	1.63	69.6	48.66	69.91

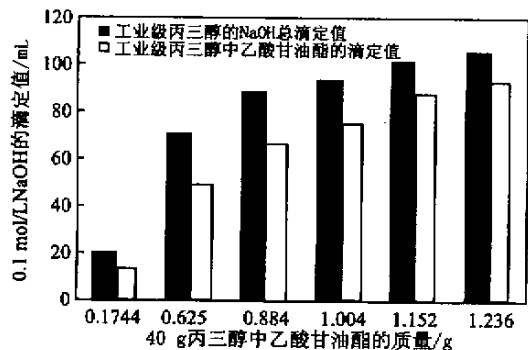


图 6 乙酸甘油酯含量和 NaOH 滴定值之间的关系
Fig. 6 The relationship between its content and the titration value of NaOH

3 结 论

通过对工业级丙三醇杂质的分析,确定了乙酸甘油酯是使成品工业级丙三醇显“酸性”的主要来源,一般工业级丙三醇中乙酸甘油酯的含量在 0.5 ~ 3.0 g/100 g 丙三醇.由发酵液蒸馏提取丙三醇产生乙酸甘油酯的机制还有待进一步研究.总之,通过对发酵法生产工业级丙三醇中乙酸甘油酯的研究,探明了导致产品呈酸性的物质基础,对丙三醇质量的进一步提高提供了明确的控制目标.

参考文献:

- [1] 诸葛健,方惠英.发酵法生产甘油的研究进展[J].食品与发酵工业,1994(4):65~70.
- [2] 诸葛健,方惠英,诸葛斌.用于高粘度易焦化基质高沸点蒸馏的新技术[J].工业微生物,1997(3):34~36.
- [3] 诸葛健,刘小震.发酵法生产甘油的甘油提取技术[P].中国专利 CN1047532A,1990-06-08.
- [4] 诸葛健,方惠英.好氧发酵法生产甘油[P].中国专利 CN1110321A,1995-12-21.
- [5] 诸葛健.建校 40 载与发酵甘油的 30 年[J].无锡轻工大学学报,1998,18(3):34~36.
- [6] 金海如.产甘油假丝酵母代谢产物及其控制的研究[D].无锡:无锡轻工大学,2000.