

无催化酯化合成不饱和蜡酯及其分离纯化工艺

李真真, 刘伟, 杨国龙

(河南工业大学粮油食品学院, 郑州 450001)

摘要: 不饱和蜡酯在食品、化妆品以及医药产品中有着广泛的用途。研究了无催化条件下, 油酸与十六醇直接酯化合成不饱和蜡酯(油酸十六醇酯)的工艺条件。通过单因素试验得到最佳酯化合成工艺条件为反应温度 180 °C、反应时间 8 h、酸醇摩尔比 1.5:1, 此时十六醇转化率达到 99.1%, 蜡酯产率为 98.1%。采用溶剂萃取法对蜡酯粗产品进行分离纯化, 采用单因素试验对溶剂萃取工艺条件进行优化, 得到最佳工艺条件为: 以甲醇为萃取溶剂, 萃取温度 20 °C, 液料比 4:1, 萃取时间 0.5 h, 萃取次数 5 次。在最佳分离纯化条件下, 油酸十六醇酯得率为 92.0%, 纯度可达到 98.7%, 酸值(KOH)为 2.7 mg/g, 达到美国药典(酸值(KOH)为 3 mg/g 以下)的要求。

关键词: 蜡酯; 无催化; 酯化; 分离纯化

中图分类号: TQ645.9; O623.624 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2021)11-0063-05

Synthesis of unsaturated wax esters by non-catalytic esterification and its separation and purification

LI Zhenzhen, LIU Wei, YANG Guolong

(College of Food Science and Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: Unsaturated wax esters are widely used in food, cosmetics and pharmaceutical products. The synthesis of unsaturated wax ester (cetyl oleate) by direct esterification of oleic acid and hexadecanol without catalysis was studied. The optimal synthesis conditions were obtained by single factor experiment as follows: reaction temperature 180 °C, reaction time 8 h, molar ratio of oleic acid to hexadecanol 1.5:1. Under these conditions, the conversion rate of hexadecanol reached 99.1% and the yield of the wax ester was 98.1%. The solvent extraction method was used to purify the crude wax ester products, and the extraction process was optimized by single factor experiment as follows: methanol used as the solvent, extraction temperature 20 °C, ratio of methanol to crude products 4:1, extraction time 0.5 h and extraction times 5. Under these conditions, the yield of cetyl oleate was 92.0%, the purity reached 98.7%, and the acid value was 2.7 mgKOH/g, which met the requirements of United States Pharmacopoeia with acid value below 3 mgKOH/g.

Key words: wax ester; non-catalytic; esterification; separation and purification

蜡酯是由含 12 个以上的偶数碳原子的长链脂肪酸和长链脂肪醇组成的长链酯, 其无毒、可生物降解、界面润湿性优异, 在食品、化妆品、制药和润滑剂

行业有广泛的应用^[1]。蜡酯可分为饱和蜡酯和不饱和蜡酯两大类。与饱和蜡酯相比, 不饱和蜡酯的低温流动性较好, 可用于精密仪器的润滑剂。不饱和蜡酯天然来源于动物和植物(如抹香鲸和霍霍巴油^[2]), 其常温下多呈液态。在全球禁止捕鲸后, 霍霍巴油就成了生产不饱和蜡酯的主要天然来源^[3]。然而, 影响大规模使用霍霍巴油的主要问题仍然是居高不下的成本和有限的来源^[4]。因此, 合成不饱和蜡酯是满足大规模工业应用的主要途径。

蜡酯可以通过化学法^[5]或酶法^[6]合成。酶法

收稿日期: 2021-01-25; 修回日期: 2021-07-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(31772003)

作者简介: 李真真(1994), 女, 硕士研究生, 研究方向为油脂化学(E-mail) 2767004028@qq.com。

通信作者: 杨国龙, 教授, 博士(E-mail) ygl88888@haut.edu.cn。

反应条件温和,但存在反应时间长、酶制剂易失活、成本高等不足^[2,4]。化学法常用酸性催化剂,包括硫酸、对甲苯磺酸、离子交换树脂、沸石等,具有效率高和成本低的优点,但存在着催化剂回收分离困难、副反应严重等问题^[5]。近年来,非催化酯化反应作为一种环境友好的绿色合成方法而受到人们的关注^[7-8]。非催化反应不使用化学催化剂或酶催化剂,最大程度减少了后处理的成本。He等^[9]通过自催化酯化成功实现了植物甾醇酯的制备,在油酸与植物甾醇摩尔比3:1、反应温度220℃、反应时间4 h的条件下,植物甾醇转化率为99.1%,植物甾醇酯产率为94.9%。目前还没有关于无催化合成蜡酯的报道。

本试验在无催化剂条件下,通过优化油酸与十六醇的酯化反应条件(反应温度、反应时间以及底物摩尔比)制备不饱和蜡酯(油酸十六醇酯),并对蜡酯产品的分离纯化工艺条件进行了优化,使最终合成的蜡酯满足相关标准的要求,以期为高效制备不饱和蜡酯产品提供理论参考和技术借鉴。

1 材料与方法

1.1 试验材料

油酸(80%)、十六醇(99%),分析纯,上海阿拉丁化学试剂有限公司;蜡酯(油酸十六醇酯,99%),实验室自制;甲醇、乙醇、异丙醇、碳酸氢钠、丙酮、无水硫酸钠,分析纯,天津科密欧化学试剂有限公司;正己烷,色谱纯,天津科密欧化学试剂有限公司。

BSA224S 电子天平;RV10DS25 旋转蒸发仪、磁力加热搅拌器,德国 IKA 公司;SHZ-D 循环水式真空泵;WGL-125B 烘箱;GC-6890N、GC-7890B 型气相色谱仪,安捷伦科技有限公司;厚壁耐压瓶(容量35 mL、工作压力0.6 MPa)。

1.2 试验方法

1.2.1 油酸组成分析

取3~4滴油酸于圆底烧瓶中,加入沸石,加入7 mL 三氟化硼-甲醇溶液(体积比2:5),加热冷凝回流1 min,再加入3 mL 正己烷,冷凝回流1 min后撤去热源。加入饱和 NaCl 溶液,静置30 min,取上清液,用无水硫酸钠干燥,膜过滤后用气相色谱仪分析。

气相色谱条件:SGE BXP-70 毛细管色谱柱(30.0 m×250 μm×0.25 μm);进样口温度250℃;升温程序为初始柱温170℃,以2℃/min的速率升温至210℃;氢火焰离子化检测器温度260℃;载气为氮气,流速1.0 mL/min;分流比50:1。

1.2.2 十六醇和蜡酯标准曲线的绘制

十六醇标准曲线:准确称取0.05 g(精确到0.10 mg)十六醇标准品于25 mL 容量瓶中,用正己烷(色谱纯)溶解并定容,制得质量浓度为2 000 μg/mL 的十六醇储备液,逐步稀释为800、600、400、200、100、50、10 μg/mL 不同质量浓度梯度,进气相色谱仪测定峰面积,并进行线性拟合,得到峰面积(y)与十六醇质量浓度(x)的线性回归方程: $y = 0.894 6x, R^2 = 0.998 8$ 。

蜡酯标准曲线:准确称取0.25 g(精确到0.10 mg)蜡酯标准品于50 mL 容量瓶中,用正己烷(色谱纯)溶解并定容,制得质量浓度为5 000 μg/mL 的蜡酯储备液,逐步稀释为4 000、3 000、2 000、1 000、500、100、50 μg/mL 不同质量浓度梯度,进气相色谱仪测定峰面积,并进行线性拟合,得到峰面积(y)与蜡酯质量浓度(x)的线性回归方程: $y = 1.108 2x, R^2 = 0.999 7$ 。

气相色谱条件:氢火焰离子化检测器(FID);DB-1ht 毛细管柱(30 m×250 μm×0.1 μm);自动进样量1 μL;进样口温度350℃;升温程序为初始温度100℃,以10℃/min 升高到180℃并保持2 min,然后以10℃/min 升高到230℃,以20℃/min 升高到330℃并保持2 min。

1.2.3 蜡酯的合成

将一定量的油酸、十六醇加入到厚壁耐压瓶中,置于油浴中,在厚壁耐压瓶工作压力(0.6 MPa)范围内,氮气保护下以900 r/min 转速搅拌反应一定时间。反应结束后冷却至室温,得蜡酯粗产品。

取0.02 g 蜡酯粗产品于10 mL 容量瓶,用正己烷定容摇匀,经无水硫酸钠干燥后进气相色谱仪按1.2.2 气相色谱条件进行检测,根据标准曲线回归方程得到十六醇和蜡酯的质量,按面积归一化法计算蜡酯粗产品各成分含量。

按式(1)、(2)分别计算十六醇转化率(x)和蜡酯产率(y)。

$$x = (1 - m_1/m) \times 100\% \quad (1)$$

$$y = m_2/m_0 \times 100\% \quad (2)$$

式中: m_1 为剩余的十六醇质量; m 为加入反应的十六醇总质量; m_2 为反应后蜡酯的实际生成质量; m_0 为理论蜡酯生成质量。

1.2.4 蜡酯的分离纯化

柱层析法:按料液比1:3 称取一定量的蜡酯粗产品溶于正己烷中,上硅胶柱进行分离。以正己烷-乙醚(体积比80:20)洗脱,收集洗脱液,旋转蒸发除去溶剂,得到产物蜡酯。

中和法:称取5 g 蜡酯粗产品于锥形瓶中,先用5 mL 正己烷-无水乙醇(体积比1:1.5)溶解,再用0.5 mol/L NaHCO_3 溶液(热)调pH至7~8中和后,振荡5~10 min,取上清液离心7~10 min后,旋转蒸发除去溶剂,得到产物蜡酯^[10]。

洗涤法:称取5 g 蜡酯粗产品于锥形瓶中,用5 mL 正己烷溶解并转移至分液漏斗中,向分液漏斗中加入5 mL 0.5 mol/L 的 NaHCO_3 溶液洗涤两次除去蜡酯粗产品中的油酸,然后用5 mL 热的无水乙醇洗涤3次,真空干燥去除溶剂,得到产物蜡酯。

萃取法:称取5 g 蜡酯粗产品于锥形瓶中,加入溶剂混合,一定温度下静置一定时间,离心分离、旋蒸除去溶剂得到产物蜡酯。

蒸馏法:利用脂肪酸、脂肪醇和蜡酯沸点的差异,在蒸馏的过程中先后蒸发回收,实现蜡酯的分离纯化。称取20 g 蜡酯粗产品于圆底烧瓶中,调蒸馏温度180℃、压力0.1 Pa 进行蒸馏,得到的重相即为产物蜡酯。

酸值参照 GB 5009. 229—2016(热乙醇法)测定。

按式(3)计算蜡酯得率(w)。

$$w = m/m_0 \quad (3)$$

式中: m 为产物蜡酯的质量; m_0 为蜡酯粗产品的质量。

1.2.5 数据处理

所有试验重复3次,结果以“平均值±标准差”表示。

2 结果与讨论

2.1 原料油酸的组成(见表1)

表1 油酸组成

脂肪酸	结构	含量/%
月桂酸	C12:0	1.9±0.09
肉豆蔻酸	C14:0	0.4±0.01
棕榈酸	C16:0	4.4±0.07
硬脂酸	C18:0	1.9±0.05
油酸	C18:1	79.1±0.09
亚油酸	C18:2	12.2±0.06

由表1可知,所购油酸(工业级)纯度为79.1%,满足大规模制备不饱和蜡酯的要求。事实上,这种纯度的油酸产品价格低廉,适合于液态蜡酯的制备。

2.2 蜡酯合成工艺条件的考察

2.2.1 反应温度的考察

在酸醇摩尔比1.5:1、反应时间8 h的条件下,考察反应温度对蜡酯酯化合成的影响,结果见图1。

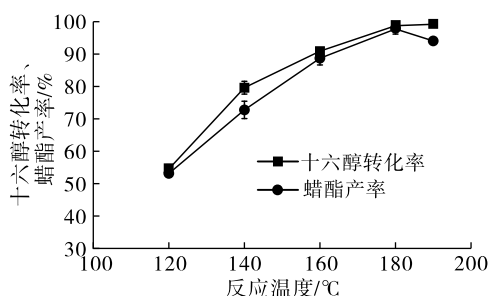


图1 反应温度对十六醇转化率与蜡酯产率的影响

由图1可知,反应温度在120~180℃时,随着反应温度的升高,十六醇转化率显著增加,由53.2%增加到99.1%,之后继续升高反应温度至190℃,十六醇转化率变化不大(99.5%)。蜡酯产率随反应温度的升高而增加,在180℃时达到最大值,为98.1%。但是当反应温度过高(190℃)时,可能发生脂肪酸碳链脱氢等副反应^[11],导致蜡酯产率有所下降。因此,选择反应温度180℃进行下一步研究。

2.2.2 反应时间的考察

在酸醇摩尔比1.5:1、反应温度180℃的条件下,考察反应时间对蜡酯酯化合成的影响,结果见图2。

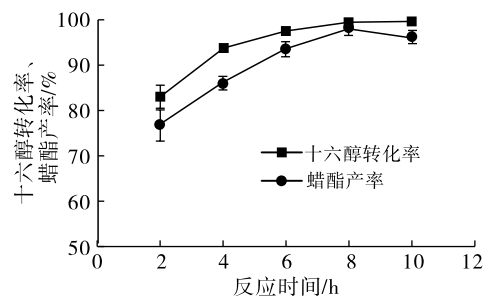


图2 反应时间对十六醇转化率与蜡酯产率的影响

由图2可看出:当反应时间从2 h延长到8 h时,十六醇转化率和蜡酯产率迅速提高,分别由83.0%、76.9%增加到99.1%、98.1%;随着反应时间的继续延长,十六醇转化率不再增加,而蜡酯产率有所降低。蜡酯产率降低可能是因为反应时间过长导致生成的不饱和蜡酯发生热降解。因此,选择8 h作为合成不饱和蜡酯的最佳反应时间。

2.2.3 酸醇摩尔比的考察

在反应温度180℃、反应时间8 h的条件下,考察酸醇摩尔比对蜡酯酯化合成的影响,结果见图3。

由图3可知,当酸醇摩尔比从1:1提高到1.5:1时,十六醇转化率由87.5%提高到99.1%,蜡酯产率由72.1%增加到98.1%。理论上讲,该酯化反应如果没有副反应,十六醇转化率就应该基本等于产物蜡酯的产率。在本试验中,当酸醇摩尔比

较低时(1:1~1.3:1),部分十六醇可能发生分子内脱水副反应,从而使蜡酯产率明显低于十六醇转化率^[11];而增加油酸用量至酸醇摩尔比为1.5:1时,正反应速率增加,从而促进蜡酯的生成,进而使十六醇转化率与蜡酯产率基本保持一致。值得注意的是,增加油酸用量至酸醇摩尔比为2:1时,十六醇转化率和蜡酯产率均不再增加。此外,加入过量油酸不仅造成原料的浪费,而且还会影响产品的分离纯化过程。因此,酯化反应的最适酸醇摩尔比为1.5:1。

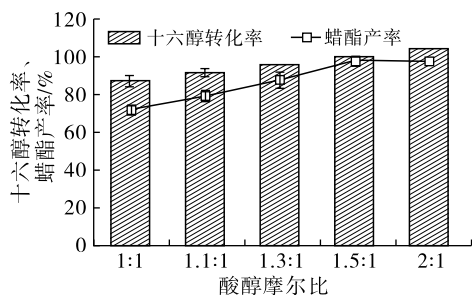


图3 酸醇摩尔比对十六醇转化率与蜡酯产率的影响

2.3 蜡酯粗产品的成分

在氮气保护、油酸与十六醇摩尔比1.5:1、反应温度180℃、反应时间8h的条件下得到的蜡酯粗产品的成分如表2所示。

表2 蜡酯粗产品的成分 %

十六醇	油酸	蜡酯
0.3	16.0	83.8

从表2可知,酯化反应得到的粗产品中含有0.3%的十六醇和16.0%的油酸,测得蜡酯粗产品的酸值(KOH)为32.1 mg/g。产品中少量十六醇的存在会影响蜡酯的低温性能,油酸会影响蜡酯的氧化稳定性。因此,需要对蜡酯产品进行分离纯化。

2.4 蜡酯的分离纯化工艺研究

2.4.1 分离纯化工艺的筛选

在萃取法(甲醇作溶剂)液料比(萃取溶剂与粗产品体积质量比,下同)4:1、萃取温度30℃、萃取时间0.5h条件下,比较了5种蜡酯分离纯化工艺的分

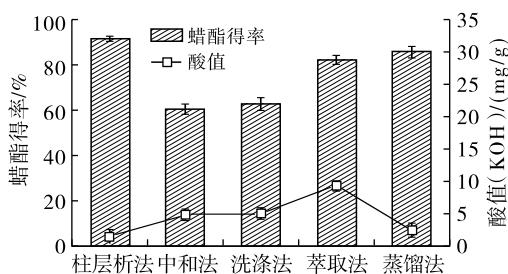


图4 不同工艺对蜡酯分离纯化效果的影响

由图4可知,中和法和洗涤法虽能降低蜡酯的

酸值,但蜡酯得率较低(60.3%与63.0%),主要是因为碱液处理时,发生了皂化反应,生成的皂会包夹蜡酯产品进入碱液(水相)。利用硅胶柱层析法可以很好地达到分离纯化蜡酯粗产品的目的(蜡酯得率为92.0%),但柱层析法耗时,并不适用于工业化生产。蒸馏法在工业化生产中比较常见,且分离出的脂肪酸与十六醇都可以再次利用。但蒸馏法温度过高,会使产品颜色加深且能耗较大。溶剂萃取法(甲醇)具有操作简便和能耗低的特点,且溶剂可回收再利用。综合考虑,本试验采用萃取法分离纯化饱和蜡酯粗产品,并进一步对其工艺条件进行优化。

2.4.2 萃取溶剂对分离纯化效果的影响

在液料比4:1、萃取温度30℃、萃取时间0.5h的条件下,研究萃取溶剂对分离纯化效果的影响,结果如图5所示。

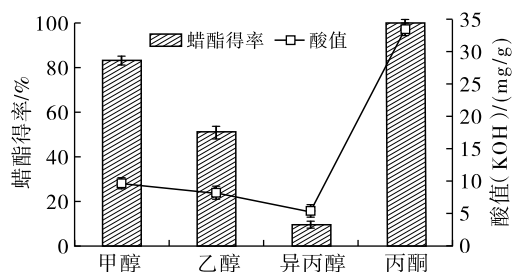


图5 萃取溶剂对分离纯化效果的影响

由图5可知,对醇类溶剂来说,甲醇的萃取效果比乙醇和异丙醇好。这是因为随着醇类溶剂碳链长度的增加,其极性减小,对蜡酯的溶解性也增加,故蜡酯得率下降明显。值得注意的是,甲醇萃取脱酸的过程中,也可以同时除去粗产品中少量的十六醇。虽然丙酮萃取的蜡酯得率高,但丙酮萃取无法达到脱酸的目的。因此,选择甲醇作为萃取溶剂进行下一步研究。

2.4.3 萃取温度对分离纯化效果的影响

在液料比4:1、萃取时间0.5h的条件下,研究萃取温度对分离纯化效果的影响,结果如图6所示。

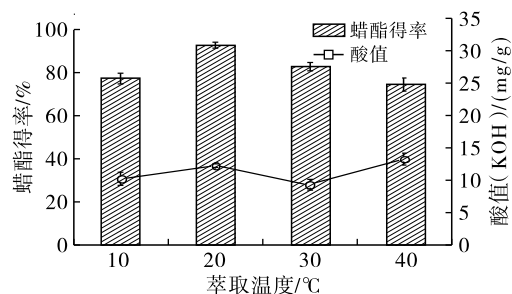


图6 萃取温度对分离纯化效果的影响

由图6可知,随着萃取温度的升高,蜡酯得率升

高,在萃取温度为 20℃ 时,蜡酯得率最高,为 92.4%,之后随萃取温度的升高,蜡酯得率降低,这是因为温度升高更多的蜡酯倾向于进入甲醇溶液层,从而使得蜡酯得率减少。随萃取温度的升高,产品酸值呈先升高后降低再升高的趋势,在萃取温度为 30℃ 时,酸值(KOH)最低,为 9.3 mg/g。综合考虑蜡酯得率和酸值,选择萃取温度 20℃,此时产品酸值(KOH)为 12.2 mg/g,蜡酯得率为 92.4%。

2.4.4 液料比对分离纯化效果的影响

在萃取温度 20℃、萃取时间 0.5 h 的条件下,研究液料比对分离纯化效果的影响,结果如图 7 所示。

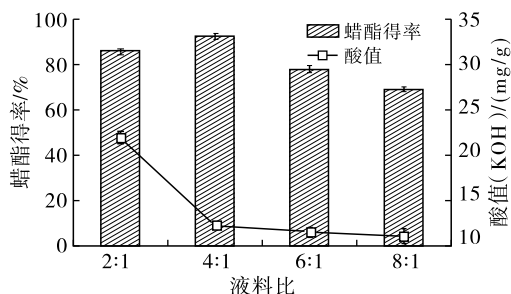


图7 液料比对分离纯化效果的影响

由图 7 可知,随着液料比的增加,蜡酯得率呈先增加后降低的趋势,酸值明显降低。在液料比为 4:1 时,蜡酯得率最高,为 92.4%,此时产品酸值(KOH)为 12.2 mg/g。之后,随液料比继续增加,蜡酯得率下降,酸值降低但不明显。因此,选择液料比为 4:1。

2.4.5 萃取次数对分离纯化效果的影响

在萃取温度 20℃、液料比 4:1、萃取时间 0.5 h 的条件下,研究甲醇萃取次数对分离纯化效果的影响,结果如图 8 所示。

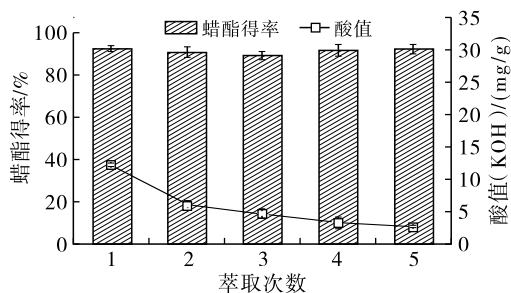


图8 萃取次数对分离纯化效果的影响

由图 8 可知,随着甲醇萃取次数的增加,蜡酯得率几乎无变化,而酸值则呈不断下降的趋势。当用甲醇萃取 5 次后,产品的酸值(KOH)降为 2.7 mg/g,达到美国药典对蜡酯酸值(KOH)的要求(≤ 3 mg/g);此时油酸十六醇酯得率为 92.0%,蜡酯纯度为 98.7%。

3 结论

本文研究了在无催化剂条件下,利用油酸与十

六醇的酯化反应合成不饱和蜡酯(油酸十六醇酯),并对粗产品进行了分离纯化。采用单因素试验对合成工艺及分离纯化工艺条件进行优化。结果表明,最佳酯化反应条件为:反应温度 180℃,反应时间 8 h,酸醇摩尔比 1.5:1。在最佳酯化条件下,十六醇转化率达到 99.1%,蜡酯产率为 98.1%。蜡酯粗产品分离纯化的最佳工艺条件为:甲醇为萃取溶剂,萃取温度 20℃,液料比 4:1,萃取时间 0.5 h,萃取次数 5 次。在最佳条件下,蜡酯得率为 92.0%,产品纯度可达到 98.7%,酸值(KOH)为 2.7 mg/g,达到美国药典关于蜡酯酸值(KOH)的要求(≤ 3 mg/g)。

参考文献:

- [1] 王晓静. 酶促蜡酯合成及长链酯的改性研究[D]. 北京:北京化工大学,2011.
- [2] DENG L, WANG X J, NIE K L, et al. Synthesis of wax esters by lipase - catalyzed esterification with immobilized lipase from *Candida* sp. 99 - 125[J]. *Chin J Chem Eng*, 2011, 19(6):978 - 982.
- [3] PAPADAKI A, MALLOUCHOS A, EFTHYMIU M N, et al. Production of wax esters via microbial oil synthesis from food industry waste and by - product streams[J]. *Bioresour Technol*, 2017, 245:274 - 282.
- [4] KENG P S, BASRI M, ZAKARIA M R S, et al. Newly synthesized palm esters for cosmetics industry[J]. *Ind Crop Prod*, 2009, 29(1):37 - 44.
- [5] ARACIL J, MARTINEZ M, SANCHEZ N, et al. Formation of jojoba oil analog by esterification of oleic acid using zeolite as catalyst[J]. *Zeolites*, 1992, 12(3):233 - 236.
- [6] 赵晶晶,王芳,邓利,等. 酶促棕榈酸鲸蜡酯合成的底物抑制作用[J]. *北京化工大学学报(自然科学版)*, 2007(5):540 - 543.
- [7] KERAMAT M, GOLMAKANI M T. A kinetic approach to microwave - assisted auto - catalytic synthesis of sesamyl butyrate and evaluating its antioxidant activity on improving canola oil thermal stability[J]. *LWT - Food Sci Technol*, 2020, 127:1 - 10.
- [8] RANI K N P, NEEHARIKA T S V R, KUNMAR T P, et al. Kinetics of non - catalytic esterification of free fatty acids present in *Jatropha* oil[J]. *J Oleo Sci*, 2016, 65(5):441 - 445.
- [9] HE B Q, DENG T, LI J X, et al. An innovative auto - catalytic esterification for the production of phytosterol esters: experiment and kinetics[J]. *RSC Adv*, 2014, 4(109):64319 - 64327.
- [10] 张硕. 油酸豆甾醇酯的合成与分离方法的研究[D]. 杭州:浙江大学,2015.
- [11] MENG X, PAN Q, YANG T. Synthesis of phytosteryl esters by using alumina - supported zinc oxide (ZnO/Al_2O_3) from esterification production of phytosterol with fatty acid[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2011, 88(1):143 - 149.