

化学法合成不饱和脂肪酸植物甾烷醇酯工艺研究

王秀华¹, 杨瑞楠¹, 刘 君^{1,2}, 梁少华¹, 刘 伟¹

(1. 河南工业大学 粮油食品学院, 郑州 450001; 2. 河南工业大学 小麦和玉米深加工国家工程研究中心, 郑州 450001)

摘要:旨在为植物甾烷醇酯的开发和应用提供技术支撑,以植物甾烷醇和酰基供体为原料,合成不饱和脂肪酸植物甾烷醇酯,并通过溶剂萃取、柱层析等对产物进行分离纯化。通过单因素实验考察了酰基供体类型(不饱和脂肪酸、油酸甲酯、三油酸甘油酯)、催化剂种类、反应温度、催化剂用量、底物物质的量比、反应时间等因素对植物甾烷醇转化率的影响。测定了不饱和脂肪酸植物甾烷醇酯产品的纯度、反式脂肪酸含量,通过核磁共振波谱和傅里叶变换红外光谱对产品的结构进行了鉴定。结果表明:以不饱和脂肪酸为酰基供体时,植物甾烷醇的转化率高;以 4-十二烷基苯磺酸(DBSA)为催化剂,在 DBSA 用量 10% (以植物甾烷醇物质的量计)、酸醇物质的量比 3:1、反应时间 12 h、氮气作保护气的条件下,分别在反应温度 60℃ 和 90℃ 下合成植物甾烷醇油酸酯和植物甾烷醇亚油酸酯,植物甾烷醇转化率分别为 95.45% 和 93.60%;植物甾烷醇油酸酯和植物甾烷醇亚油酸酯产品纯度分别达 97.43% 和 94.98%,且不含反式脂肪酸;核磁共振波谱和傅里叶变换红外光谱确证了目标产物的合成。综上,在无溶剂和较低温度(≤90℃)下实现了不饱和脂肪酸植物甾烷醇酯的高效合成。

关键词:植物甾烷醇;不饱和脂肪酸;化学法;植物甾烷醇酯

中图分类号:TS201.2;O623.42+6.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1003-7969(2025)09-0061-08

Synthesis of unsaturated fatty acid phytostanol esters by chemical method

WANG Xiuhua¹, YANG Ruinan¹, LIU Jun^{1,2}, LIANG Shaohua¹, LIU Wei¹

(1. College of Food Science and Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China;

2. National Engineering Research Center for Wheat and Corn Further Processing, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: To provide technical support for the development and application of phytostanol esters, the unsaturated fatty acid phytostanol esters were synthesized from phytostanol and acyl donors, and then the product was obtained by isolation and purification with solvent extraction and column chromatography. The effects of acyl donor type (unsaturated fatty acid, methyl oleate, triolein glycerol ester), catalyst type, reaction temperature, catalyst dosage, substrate molar ratio, and reaction time on conversion rate of phytostanol were investigated by single factor experiment. The purity and *trans* fatty acids content of the product were analyzed, and the structures of the product were identified by NMR and FTIR. The results showed that using unsaturated fatty acids as acyl donors resulted in a high conversion rate of phytostanol. With 4-dodecyl benzene sulfonic acid (DBSA) as the catalyst, under the conditions of 10% DBSA (calculated based on the molar of phytostanol), molar ratio of fatty acid to phytostanol 3:1, reaction time

12 h, nitrogen as protection gas, the phytostanol oleate and linoleate were synthesized at the reaction temperature of 60℃ and 90℃, with the phytostanol conversion rates of 95.45% and 93.60%, respectively. The purity of phytostanol oleate and phytostanol linoleate reached 97.43%

收稿日期:2024-05-06;修回日期:2025-02-21

基金项目:国家自然科学基金面上项目(31972110)

作者简介:王秀华(1996),女,在读硕士,研究方向为油脂化学与品质(E-mail)2408239017@qq.com。

通信作者:刘 伟,教授,硕士生导师(E-mail)liuwei820307@126.com。

and 94.98%, respectively, and no *trans* fatty acids were detected. NMR and FTIR confirmed the synthesis of the target products. In general, the efficient synthesis of unsaturated fatty acid phytostanol esters can be achieved under solvent-free and low temperature ($\leq 90^\circ\text{C}$) conditions.

Key words: phytostanol; unsaturated fatty acid; chemical method; phytostanol esters

植物甾烷醇是植物甾醇的饱和形式,其不含碳碳双键,具有降胆固醇^[1]、抗炎^[2]、抗癌^[3]等多种功效,被誉为“生命的钥匙”。自然界中植物甾烷醇含量极少,工业上一般通过催化植物甾醇氢化来生产植物甾烷醇。然而,较差的水溶性和油溶性限制了植物甾烷醇的应用,工业上通常将植物甾烷醇与脂肪酸酯化,以得到油溶性好的植物甾烷醇酯。研究表明,一些不饱和脂肪酸具有清除自由基、增强免疫等功能^[4-5]。利用植物甾烷醇与功能性不饱和脂肪酸酯化合成的植物甾烷醇酯,不仅油溶性大幅提高,且具有不饱和脂肪酸和植物甾烷醇的双重生理活性,可以被广泛应用于食品、化妆品和医药等行业。

植物甾烷醇酯的合成方法与植物甾醇酯的类似,分为酶法和化学法。其中:酶法具有反应温和、副产物少的优点,但酶价格昂贵,导致其仍停留在实验室研究阶段;而化学法反应速率快、转化率高、成本低,是工业生产植物甾烷醇酯的主要方法。常用的化学催化剂包括碱催化剂和酸催化剂。碱催化剂(如甲醇钠等)催化反应速率快,但极易腐蚀设备,反应过程易产生皂化物,难以与产品分离^[6-7]。酸催化剂(如硫酸、硫酸氢钠、对甲苯磺酸等)具有成本低和催化效率高的优点,但通常需要在较高的温度条件($130 \sim 180^\circ\text{C}$)下进行,极易发生副反应^[8-9]。4-十二烷基苯磺酸(4-Dodecyl benzene sulphonic acid, DBSA)是一种布朗斯特酸性表面活性剂,近年来发现其可在较低温度下催化酸与醇的酯化反应,且能形成油包水型乳液,与水自动分离,促进反应向正向进行,提高转化率^[10-12]。

本文以植物甾烷醇和不饱和脂肪酸(油酸、亚油酸)为原料,在无溶剂体系下采用化学法催化植物甾烷醇与油酸、亚油酸酯化合成植物甾烷醇酯,考察催化剂种类、催化剂用量、底物物质的量比、反应温度、反应时间等因素对酯化反应的影响,以期得到植物甾烷醇酯的高效合成技术,从而为植物甾烷醇酯的开发和应用提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

植物甾烷醇(纯度 93.85%),自制;油酸(纯度

99.41%)、对甲苯磺酸(PTSA)、三油酸甘油酯($\geq 99\%$)、油酸甲酯(98%),上海麦克林生化科技股份有限公司;亚油酸(纯度 98.89%),自制;十二烷基苯磺酸钠(SDBS),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;硫酸氢钠(NaHSO_4)、氯化钠、碳酸氢钠,天津市科密欧化学试剂有限公司;硫酸(H_2SO_4)、无水乙醇、正己烷,天津市恒兴化学试剂制造有限公司;固相萃取小柱(氨基, $1\text{ g}/6\text{ mL}$),上海安谱实验科技股份有限公司;DBSA(纯度 $\geq 95\%$)、 5α -胆甾烷醇(纯度 $\geq 95\%$),西格玛奥德里奇化学有限公司(中国上海)。

1.1.2 仪器与设备

分析天平,赛多利斯科学仪器有限公司;恒温加热磁力搅拌器,艾卡仪器设备有限公司(IKA);数显电动搅拌机,上海科兴仪器有限公司;真空干燥箱,上海新苗医疗器械制造有限公司;旋转蒸发仪,瑞士步琦公司;气相色谱仪,日本 Shimadzu 公司;红外压片机,天津博天胜达科技发展有限公司;傅里叶变换红外光谱仪,布鲁克(北京)科技有限公司;ACANCE III HD 500M 超导核磁共振波谱仪,德国 Bruker 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 不饱和脂肪酸植物甾烷醇酯的合成

将一定量植物甾烷醇、酰基供体(不饱和脂肪酸、油酸甲酯、三油酸甘油酯)、催化剂和转子依次添加到圆底烧瓶中,充氮保护后在恒温加热磁力搅拌器中于一定温度下反应一定时间,以合成不饱和脂肪酸植物甾烷醇酯。

1.2.2 不饱和脂肪酸植物甾烷醇酯分离、纯化

向 1.2.1 反应产物中加入约 3 倍体积的饱和食盐水和饱和碳酸氢钠混合溶液(体积比 1:1)淬灭反应,再加入 2 倍体积的正己烷进行萃取,重复萃取 3 次,萃取液脱溶后得到不饱和脂肪酸植物甾烷醇酯粗品。

将不饱和脂肪酸植物甾烷醇酯粗品用正己烷-无水乙醇(体积比 1:1.5)溶液溶解,少量多次加入饱和碳酸氢钠水溶液,摇匀,静置分层,取上层有机相,进一步通过硅胶柱层析分离纯化。采用 $0.048 \sim 0.074\text{ mm}$ (200~300 目)硅胶,正己烷-乙醚(体积比 98:2)溶液为洗脱剂,流速保持在 $1.0\text{ mL}/\text{min}$,收

集洗脱液,并通过薄层色谱法检测目标产物。利用旋转蒸发仪除去洗脱液中溶剂后置于真空干燥箱充分干燥,得到高纯度的不饱和脂肪酸植物甾烷醇酯。

1.2.3 植物甾烷醇转化率的测定

植物甾烷醇含量的测定参考 Esche 等^[13]的方法并稍作修改。取 20 mg(精确至 0.000 1 g)待测样品于 5 mL 离心管中,加入 100 μL 5 α -胆甾烷醇(质量浓度 2 mg/mL)和 2 mL 正己烷涡旋混匀后,加入经正己烷活化后的固相萃取小柱中(上样量 1 mL),再依次向小柱中加入 10 mL 正己烷-乙醚(体积比 98:2)溶液(以洗脱植物甾烷醇酯,洗脱液为组分 A)、20 mL 正己烷-乙酸乙酯(体积比 96:4)溶液(以洗脱干扰组分)、10 mL 正己烷-乙酸乙酯(体积比 5:95)溶液(以洗脱植物甾烷醇,洗脱液为组分 B)。将组分 B 氮气吹干后,直接用正己烷复溶,过 0.45 μm 有机滤膜后进行气相色谱分析。气相色谱条件:氢火焰离子化检测器;Rtx-200MS 色谱柱(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.1 μm);进样口温度 280 $^{\circ}\text{C}$;升温程序为初始温度 100 $^{\circ}\text{C}$,以 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 310 $^{\circ}\text{C}$ 并保持 2 min,以 1.5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 315 $^{\circ}\text{C}$,以 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 340 $^{\circ}\text{C}$ 并保持 2 min;检测器温度 360 $^{\circ}\text{C}$;氮气流速 25 mL/min;氢气流速 11.2 mL/min;分流比 1:7.5;进样量 1 μL 。以内标法定量。

分别测定合成反应前混合底物(包括催化剂)中植物甾烷醇的含量(c_0),以及合成反应后产物中植物甾烷醇的含量(c_1),按下式计算转化率(Y)。

$$Y = (c_0 - c_1) / c_0 \times 100\% \quad (1)$$

1.2.4 不饱和脂肪酸植物甾烷醇酯纯度的测定

取 10 mg 样品用 2 mL 正己烷溶解,过 0.45 μm 有机滤膜后采用气相色谱法分析样品纯度。气相色谱条件:DB-1ht 毛细管色谱柱(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.1 μm);进样口温度 380 $^{\circ}\text{C}$;检测器温度 400 $^{\circ}\text{C}$;升温程序为初始温度 100 $^{\circ}\text{C}$,以 50 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 220 $^{\circ}\text{C}$,15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 290 $^{\circ}\text{C}$,以 40 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 320 $^{\circ}\text{C}$ 并保持 8 min,以 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至 360 $^{\circ}\text{C}$ 并保持 12 min;氮气流速 4.41 mL/min;氢气流速 30 mL/min;分流比 20:1;进样量 1 μL 。以胆固醇棕榈酸酯作标准品定性,峰面积归一化法定量。

1.2.5 产品结构鉴定

1.2.5.1 核磁共振波谱

称取适量样品,用适量氘代氯仿溶解,摇匀,置于洁净的核磁管中进行分析。分析条件: ^1H 谱频率 500 MHz,扫描次数 64 次,等待时间 1 s; ^{13}C 谱频率 100 MHz,扫描次数 1 024 次,采用 Topspin 6.0 软件

对数据进行处理。

1.2.5.2 傅里叶变换红外光谱

将样品充分干燥后,与溴化钾按质量比 1:100 碾磨混合均匀,使用压片机压片,室温下进行傅里叶变换红外光谱扫描。扫描条件:扫描范围 400 ~ 4 000 cm^{-1} ,分辨率 0.5 cm^{-1} ,扫描次数 32 次。

1.2.6 反式脂肪酸含量的测定

参照 GB 5009.168—2016《食品安全国家标准 食品中脂肪酸的测定》测定样品的反式脂肪酸含量,其中样品处理按如下操作:取 0.01 g 植物甾烷醇脂肪酸酯产品,加入 2 mL 1% 的硫酸甲醇溶液,在 80 $^{\circ}\text{C}$ 水浴反应 1 h 后,加入 1 mL 超纯水、1 mL 饱和氯化钠水溶液和 2 mL 正己烷,取有机相进行分析。

1.2.7 数据处理

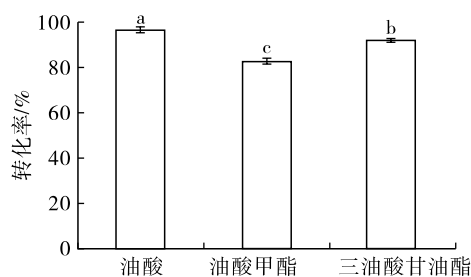
采用 Origin 8.0 软件对数据进行统计分析并作图,用 SPSS 进行方差分析,每个实验重复两次,结果用“平均值 $\pm$ 标准偏差”表示。

2 结果与分析

2.1 不饱和脂肪酸植物甾烷醇酯合成单因素实验

2.1.1 酰基供体的影响

植物甾烷醇可以与脂肪酸、脂肪酸甲酯和甘油三酯等酰基供体经酯化或酯交换反应制备植物甾烷醇酯。为探究不同酰基供体对不饱和脂肪酸植物甾烷醇酯合成的影响,分别以油酸、油酸甲酯、三油酸甘油酯为酰基供体,在酸/酯与醇(植物甾烷醇)物质的量比 3:1、DBSA 用量 20% (以植物甾烷醇物质的量计)、反应温度 60 $^{\circ}\text{C}$ 、反应时间 24 h 条件下,合成植物甾烷醇酯,并计算植物甾烷醇转化率,结果如图 1 所示。



注:不同字母表示具有显著性差异($p < 0.05$)

Note: Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$)

图 1 不同酰基供体对植物甾烷醇酯合成的影响

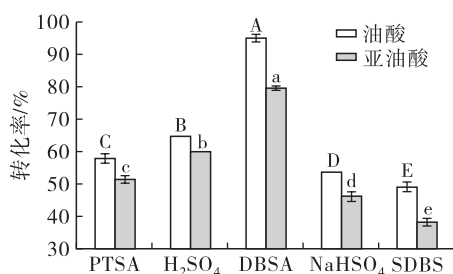
Fig.1 Effect of different acyl donors on the synthesis of phytosterol esters

由图 1 可知,油酸与植物甾烷醇反应的转化率为 96.57%,显著高于油酸甲酯和三油酸甘油酯的。这是因为 DBSA 对酯化反应具有高催化活性,而对酯交换反应催化效果差^[14]。此外,酯化和酯交换反

应虽可以同时发生,但在羧基端和羟基端含量相当时,羧基端与羟基端碰撞概率较大,所以酯化反应速率大于酯交换反应速率^[15]。因此,后续实验选用脂肪酸为酰基供体。

2.1.2 催化剂种类的影响

催化剂在酯化反应中起着关键作用,选取合适的催化剂是催化反应的第一要素。 H_2SO_4 、PTSA 等酸性催化剂常用在酯化和酯交换反应中,且不会在反应中生成皂;DBSA 作为一种布朗斯特酸性表面活性剂,可以在较低温度下催化酸与醇的酯化反应; $NaHSO_4$ 和 SDBS 通常在较高温度(130℃)下催化酯化反应效果较好,而在较低温度(60℃)下催化效果较差。在酸醇物质的量比 3:1、催化剂用量 10% (以植物甾烷醇物质的量计)、反应温度 60℃、反应时间 12 h 条件下,比较上述 5 种催化剂对酯化反应的影响,结果如图 2 所示。



注:相同底物不同字母表示具有显著性差异($p < 0.05$)。

下同

Note: Different letters of same substrate indicate significant differences ($p < 0.05$). The same below

图 2 催化剂种类对酯化反应的影响

Fig. 2 Influence of catalyst type on esterification reaction

由图 2 可知,以 DBSA 为催化剂时,油酸和亚油酸与植物甾烷醇反应的转化率分别达到 94.99% 和 79.61%,远远高于其他几种催化剂,这可能是因为 DBSA 具有一定疏水性和亲脂性,在反应过程中可以形成油包水型乳液,使产物与水隔离,避免了水解反应的发生,促进了反应向正反应方向进行,从而提高了反应转化率^[12]。因此,选择 DBSA 作催化剂。

2.1.3 反应温度的影响

在一定温度范围内,升高反应温度一方面可以提高反应活化能,增大分子间碰撞概率,从而加快反应速率,另一方面还可以减少底物黏度,利于传质,促进反应向正反应方向进行,从而提高植物甾烷醇的转化率。在 DBSA 用量 10%、酸醇物质的量比 3:1、反应时间 12 h 条件下,考察反应温度对酯化反应的影响,结果如图 3 所示。

由图 3 可知,当 DBSA 催化植物甾烷醇与油酸

酯化时,在反应温度 40 ~ 60℃ 时,随着反应温度的升高,植物甾烷醇的转化率不断升高,在反应温度为 60℃ 时植物甾烷醇的转化率达到 95.45%,之后随着反应温度的继续升高,转化率无显著变化,这是因为随着底物的消耗,反应接近平衡状态。考虑到高温能耗高且易产生副产物等原因,选择在反应温度 60℃ 下催化油酸与植物甾烷醇的酯化反应。当 DBSA 催化植物甾烷醇与亚油酸酯化时,在反应温度 40 ~ 90℃ 时,随着反应温度的升高,植物甾烷醇的转化率不断升高,在反应温度为 90℃ 时转化率达到 93.60%,之后转化率不再随反应温度的升高发生显著变化。因此,选择在反应温度 90℃ 下催化亚油酸与植物甾烷醇的酯化反应。亚油酸与植物甾烷醇酯化的反应温度较油酸与植物甾烷醇酯化的高,可能是因为亚油酸对该反应的选择性低于油酸,只能用更高的反应温度来平衡。

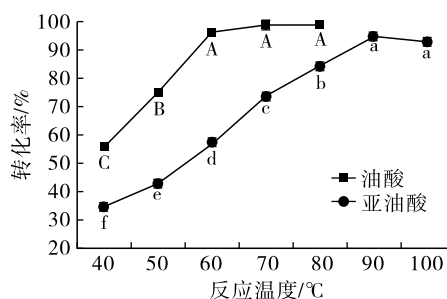


图 3 反应温度对酯化反应的影响

Fig. 3 Influence of reaction temperature on esterification reaction

2.1.4 催化剂用量的影响

催化剂是酯化反应不可或缺的因素,能提高转化率,促进产物生成。催化剂用量过多,造成浪费,而用量过少,反应速率太低。在酸醇物质的量比 3:1、反应时间 12 h、反应温度 60℃ (以油酸为酰基供体) 和 90℃ (以亚油酸为酰基供体) 条件下,考察催化剂 (DBSA) 用量对酯化反应的影响,结果如图 4 所示。

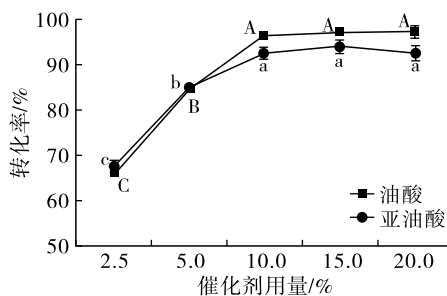


图 4 催化剂用量对酯化反应的影响

Fig. 4 Influence of catalyst dosage on esterification reaction

由图 4 可知,在催化剂用量 2.5% ~ 10% 范围内,随着催化剂用量的增多,植物甾烷醇的转化率不断升高,当催化剂用量为 10% 时油酸和亚油酸与植物甾烷醇反应的转化率分别达到 95.45% 和 92.50%,之后随着催化剂用量的继续增多,转化率不再有显著变化。因此,选择催化剂用量为 10%。

2.1.5 底物物质的量比的影响

理论上酸醇物质的量比 1:1 是理想的投料比,但在实际反应中增大酸醇物质的量比有助于反应物的充分接触,从而加快反应速率。在 DBSA 用量 10%、反应时间 12 h、反应温度 60 ℃ (以油酸为酰基供体) 和 90 ℃ (以亚油酸为酰基供体) 条件下,考察底物物质的量比对酯化反应的影响,结果如图 5 所示。

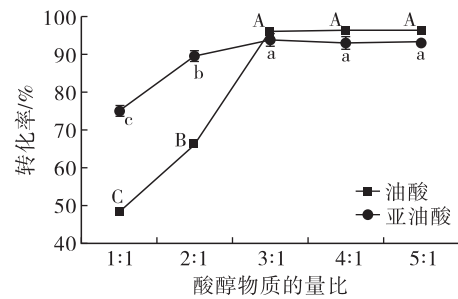


图 5 酸醇物质的量比对酯化反应的影响

Fig.5 Influence of molar ratio of acid to alcohol on the esterification reaction

由图 5 可知,在酸醇物质的量比 1:1 ~ 3:1 范围内,随着酸醇物质的量比的增加,植物甾烷醇的转化率不断提高。这是因为酯化反应是一个可逆反应,提高油酸/亚油酸的浓度,有利于反应向正反应方向进行,且过量的酸可以充当溶剂,减小反应体系的黏度,促进传质,从而使植物甾烷醇的转化率增大。当酸醇物质的量比为 3:1 时,油酸和亚油酸与植物甾烷醇反应的转化率分别为 95.45% 和 93.60%,之后随着酸醇物质的量比的继续增加,转化率没有明显变化。因此,选择酸醇物质的量比为 3:1。

2.1.6 反应时间的影响

适当的反应时间可以使反应进行彻底,但反应时间过长不仅增加能耗,还可能产生副产物。在 DBSA 用量 10%、酸醇物质的量比 3:1、反应温度 60 ℃ (以油酸为酰基供体) 和 90 ℃ (以亚油酸为酰基供体) 条件下,考察反应时间对酯化反应的影响,结果如图 6 所示。

由图 6 可知,在反应时间 3 ~ 12 h 内,随着反应时间的延长,植物甾烷醇的转化率不断增加,在反应

12 h 时油酸和亚油酸与植物甾烷醇反应的转化率分别为 95.45% 和 93.60%,之后随着反应时间的继续延长,转化率不再有显著变化。综合考虑,选择反应时间为 12 h。

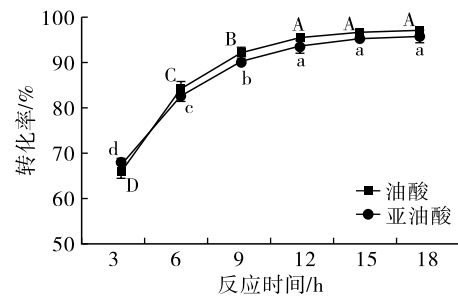


图 6 反应时间对酯化反应的影响

Fig.6 Influence of reaction time on esterification reaction

综上,油酸与植物甾烷醇酯化的最佳反应条件为酸醇物质的量比 3:1、DBSA 用量 10%、反应温度 60 ℃、反应时间 12 h,而亚油酸与植物甾烷醇酯化的最佳反应条件为酸醇物质的量比 3:1、DBSA 用量 10%、反应温度 90 ℃、反应时间 12 h。在最佳条件下,油酸和亚油酸与植物甾烷醇反应的转化率分别为 95.45% 和 93.60%。

2.2 植物甾烷醇酯的分析鉴定

2.2.1 纯度

在 2.1 确定的最佳反应条件下合成植物甾烷醇油酸酯和植物甾烷醇亚油酸酯,经分离纯化后,可得到纯度为 97.43% 的植物甾烷醇油酸酯和纯度为 94.98% 的植物甾烷醇亚油酸酯产品。其中:植物甾烷醇油酸酯为白色油性状固体,植物甾烷醇亚油酸酯为淡黄色油状液体,与文献[16]所得植物甾烷醇酯性状一致。

2.2.2 核磁共振波谱

利用核磁共振波谱仪对植物甾烷醇油酸酯和植物甾烷醇亚油酸酯产品的结构进行鉴定,结果如图 7 所示。

由图 7a 可知,植物甾烷醇油酸酯和植物甾烷醇亚油酸酯中均含有酯基中的羰基碳 ($\delta = 173$ 左右) 以及与氧结合的次甲基 ($\delta = 73$ 左右),表明发生了酯化反应^[17]。由图 7b 可知:植物甾烷醇油酸酯在化学位移 1.8 ~ 2.1 处有强峰出现,表明存在双键,且连接的应为 $-\text{CH}_2-$ 基团,推测是油酸分子中的双键;植物甾烷醇亚油酸酯在化学位移 2.77 处的峰表明存在 $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$ 基团,推测为亚油酸;在化学位移 2.3 处的峰表明分子中存在酯键。因此,可初步判定 2 种产品为不饱和脂肪酸酯。

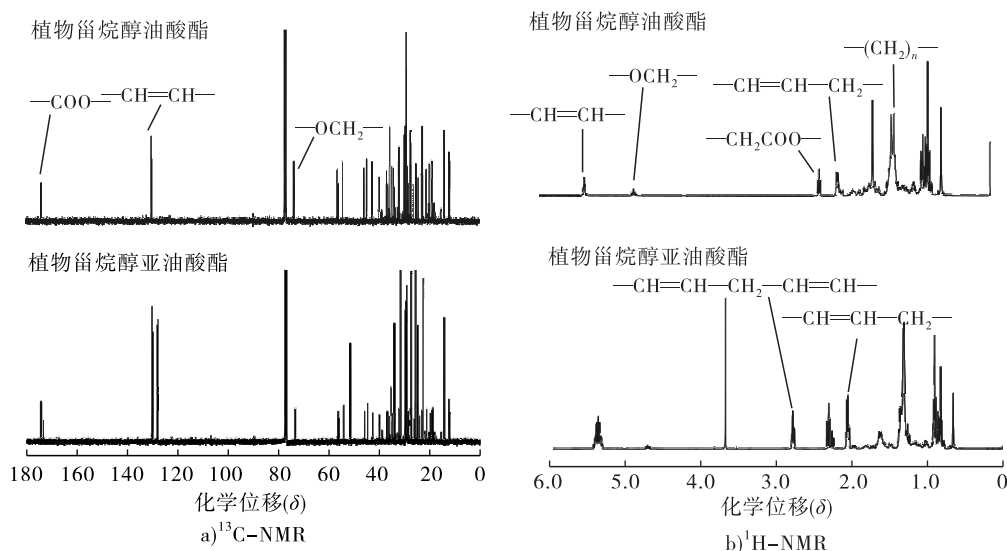


图7 植物甾烷醇油酸酯和植物甾烷醇亚油酸酯核磁共振谱图

Fig. 7 Nuclear magnetic resonance spectra of phytostanol oleate and phytostanol linoleate

2.2.3 傅里叶变换红外光谱

利用傅里叶变换红外光谱仪对植物甾烷醇油酸酯和植物甾烷醇亚油酸酯产品进行分析,结果见图8。

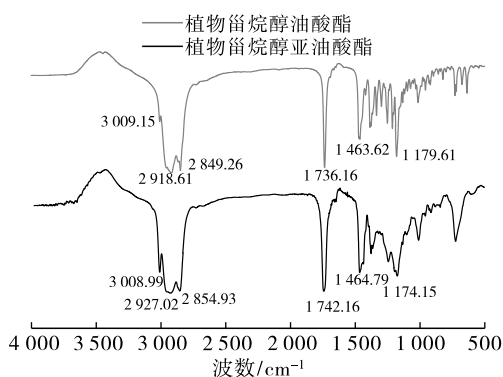


图8 植物甾烷醇油酸酯和植物甾烷醇亚油酸酯的傅里叶变换红外光谱图

Fig. 8 Fourier transform infrared spectra of phytostanol oleate and phytostanol linoleate

如图8所示, 1736.16 cm^{-1} 和 1742.16 cm^{-1} 处的强吸收峰为 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动, 1179.61 cm^{-1} 和 1174.15 cm^{-1} 处的强吸收峰为 $\text{C}-\text{O}$ 的伸缩振动, 因此证明产物中存在酯键^[18]。 3009.15 cm^{-1} 和 3008.99 cm^{-1} 处的吸收峰为碳碳双键的伸缩振动吸收峰, 说明油酸和亚油酸的不饱和键保留了下来。

此外, 依据反式脂肪酸在红外光谱图 966 cm^{-1} 处的吸收峰也可以判断有无反式脂肪酸, 且峰面积越大表明反式脂肪酸含量越多^[19], 图8中 966 cm^{-1} 处几乎没有特征吸收峰存在, 表明产物几乎不存在反式脂肪酸。

2.2.4 反式脂肪酸含量

反式脂肪酸是指含有一个或多个非共轭反式构

型双键的不饱和脂肪酸, 长期食用会导致肥胖、血栓、动脉粥样硬化、癌症等疾病的发生, 严重危害人体健康^[20-21]。不饱和脂肪酸在高温或酸碱作用下极易发生双键异构化生成反式脂肪酸。为探究酯化反应过程中反式脂肪酸的生成情况, 对植物甾烷醇油酸酯和植物甾烷醇亚油酸酯产品进行反式脂肪酸含量测定, 结果表明二者均未检出反式脂肪酸, 与傅里叶变换红外光谱结果一致。这可能是因为该反应在较低温度 ($60, 90\text{ }^{\circ}\text{C}$) 下进行, 油酸和亚油酸难以发生异构化生成反式脂肪酸。同时, 也表明该方法制备的植物甾烷醇酯产品安全性更高。

2.3 与其他化学法的比较

由于植物甾烷醇以环戊烷全氢菲为骨架, 空间位阻大, 导致反应缓慢, 为此, 一般通过选用合适的催化剂、升温或延时等方式提高植物甾烷醇的转化率。表1列出了不同条件下植物甾醇酯/植物甾烷醇酯的化学合成方法。

由表1可知, 油酸与植物甾醇的自催化反应需要在高温 ($220\text{ }^{\circ}\text{C}$) 下进行^[22]。选用适当的催化剂能降低反应温度, 但使用硫酸等均相酸催化剂催化植物甾醇酯化, 虽具有低成本和高效的特点, 但极易腐蚀反应设备, 一定程度上提高了成本, 且一般也要在较高温度下进行^[6]。DES (深共熔溶剂)、十二烷基硫酸钠 (SDS)、 Al_2O_3 等催化剂催化植物甾醇酯/植物甾烷醇酯的合成反应也需要在较高温度 ($132 \sim 190\text{ }^{\circ}\text{C}$) 下才能获得较好的催化效果^[23-25]。在高温下, 植物甾醇和植物甾烷醇的酯化反应极易发生副反应, 如甾醇脱水、不饱和脂肪酸氧化和异构化等, 不适于不饱和脂肪酸植物甾烷醇酯的制备。本文利

用 DBSA 催化植物甾烷醇与不饱和脂肪酸(油酸和亚油酸)酯化合成植物甾烷醇酯,分别在反应温度 60℃(油酸)和 90℃(亚油酸)条件下,得到了 95.45% 和 93.60% 的转化率,且无反式脂肪酸生成,该酯化反应不需要任何溶剂和脱水剂,适用于植物甾烷醇油酸酯和植物甾烷醇亚油酸酯的大规模制备。

表 1 不同条件下植物甾醇酯/植物甾烷醇酯的化学合成方法比较

Table 1 Comparison of chemical synthesis methods of phytosterol ester and phytostanol ester under different conditions				
催化剂	底物	温度/℃	转化率/%	文献
H ₂ SO ₄	植物甾醇、油酸	170	98.2	[6]
NaHSO ₄	植物甾醇、亚麻酸	130	96	[8]
无	植物甾醇、油酸	220	99.1	[22]
DES	豆甾醇、油酸	132	52.4	[23]
SDS	植物甾烷醇、亚油酸	150	81.23	[24]
Al ₂ O ₃	植物甾醇、油酸	190	99.5	[25]
NaHSO ₄	植物甾醇、油酸	135	84.3	[26]
DBSA	植物甾烷醇、油酸	60	95.45	本研究
DBSA	植物甾烷醇、亚油酸	90	93.60	本研究

3 结 论

在酸醇物质的量比 3:1、DBSA 用量 10%、反应时间 12 h、氮气作保护气条件下,分别在反应温度 60℃和 90℃下合成植物甾烷醇油酸酯和植物甾烷醇亚油酸酯,转化率分别为 95.45% 和 93.60%。反应产物经分离、硅胶柱层析纯化后可得到纯度分别为 97.43% 和 94.98% 的植物甾烷醇油酸酯和植物甾烷醇亚油酸酯产品。通过核磁共振波谱和傅里叶变换红外光谱证实了目标产物的生成,且均无反式脂肪酸生成。本研究采用化学法在较低温度(≤90℃)和无溶剂体系下实现了不饱和脂肪酸植物甾烷醇酯的合成,为植物甾烷醇酯的开发和应用提供了技术支撑。

参考文献:

[1] KATAN M B, GRUNDY S M, JONES P, et al. Efficacy and safety of plant stanols and sterols in the management of blood cholesterol levels[J]. Mayo Clin Proc, 2003, 78(8): 965–978.

[2] 周路, 徐宝成, 尤思聪, 等. 植物甾醇生理功能及安全性评估研究新进展[J]. 中国粮油学报, 2020, 35(6): 196–202.

[3] CIOCCOLONI G, SOTERIOU C, WEBSDALE A, et al. Phytosterols and phytostanols and the hallmarks of cancer in model organisms: A systematic review and meta-analysis[J]. Crit Revi Food Sci Nutr, 2022, 62(5): 1145–1165.

[4] ROCHE H M. Unsaturated fatty acids[J]. P Nutr Soc,

1999, 58(2): 397–401.

[5] CONIGLIO S, SHUMSKAYA M, VASSILIOU E. Unsaturated fatty acids and their immunomodulatory properties[J]. Biology, 2023, 12(2): 274–279.

[6] MENG X, PAN Q, YANG T. Synthesis of phytosteryl esters by using alumina-supported zinc oxide (ZnO/Al₂O₃) from esterification production of phytosterol with fatty acid[J]. J Am Oil Chem Soc, 2011, 88(1): 143–149.

[7] VAN A M P, LIEVENSE L C. Process for the production of stanol esters, and use thereof: EP 0897970A1 [P]. 1999–02–24.

[8] DENG Q C, ZHANG P, HUANG Q D, et al. Chemical synthesis of phytosterol esters of polyunsaturated fatty acids with ideal oxidative stability[J]. Eur J Lipid Sci Technol, 2011, 113(4): 441–449.

[9] MENG X, SUN P, PAN Q, et al. Synthesis of plant sterol esters catalyzed by heteropolyacid in a solvent-free system[J]. Eur J Lipid Sci Technol, 2006, 108(1): 13–18.

[10] MANABE K, IIMURA S, SUN X M, et al. Dehydration reactions in water. Brønsted acid-surfactant-combined catalyst for ester, ether, thioether, and dithioacetal formation in water[J]. J Am Chem Soc, 2002, 124(40): 11971–11978.

[11] 张丽静, 艾力吾满江, 孟庆勇, 等. 棕榈酸 1,4-丁二醇二酯的合成[J]. 化学试剂, 2008(3): 165–167.

[12] LIU W, XIAO B, WANG X, et al. Solvent-free synthesis of phytosterol linoleic acid esters at low temperature[J]. RSC Adv, 2021, 11(18): 10738–10746.

[13] ESCHE R, BARNSTEINER A, SCHOLZ B, et al. Simultaneous analysis of free phytosterols/phytostanols and intact phytosteryl/phytostanyl fatty acid and phenolic acid esters in cereals[J]. J Agric Food Chem, 2012, 60(21): 5330–5339.

[14] WALLIS C, CERNY M, LACROUX E, et al. Effect of water and lipophilic alcohols or amines on the 4-dodecylbenzenesulfonic acid-catalyzed esterifications, trans-esterifications, and amidations[J/OL]. Eur J Lipid Sci Technol, 2017, 119(9): 1600483[2024–05–06]. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201600483>.

[15] 陆烨邦, 马海燕, 王思齐, 等. r-PET 的改性研究进展及应用[J]. 化工新型材料, 2017, 45(10): 20–22.

[16] 何文森. 植物甾烷醇衍生物的制备、功效及降胆固醇机理研究[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2014.

[17] 张新. 虾青素-植物甾醇酯复合脂质体的构建及性质研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2022.

- 品科技, 2024, 40(3): 163 – 171.
- [18] FU W, CHEN C, LIU C, et al. Changes in wheat protein digestibility and allergenicity: Role of *Pediococcus acidilactici* XZ31 and yeast during dough fermentation [J]. Food Sci Hum Wellness, 2023, 12(6): 2381 – 2389.
- [19] XIONG Z, WANG W, MA X, et al. Development of a two – step hydrolysis hypoallergenic cow's milk formula and evaluation of residue allergenicity by peptidomics and immunoreactivity analysis[J]. J Agric Food Chem, 2023, 71(32): 12237 – 12249.
- [20] YU S, KUAN Y C, CHANG C F, et al. The effect of papain hydrolysis on tropomyosin levels in shrimp [J/OL]. Heliyon, 2023, 9(12): e22410[2024 – 07 – 02]. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22410>.
- [21] MEI L, FU Q, GUO T, et al. Structural changes and cholesterol – lowering in denatured whey protein isolate: Malic acid combined enzymolysis [J/OL]. Food Hydrocolloid, 2022, 127: 107502 [2024 – 07 – 02]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107502>.
- [22] WANG D, LIU Y, GUO M, et al. Effect of ball – milling treatment combined with glycosylation on the structure and functional properties of *Litopenaeus vannamei* protein [J/OL]. Foods, 2024, 13(9): 1284 [2024 – 07 – 02]. <https://doi.org/10.3390/foods13091284>.
- [23] YU J, MIKIASHVILI N, BONKU R, et al. Allergenicity, antioxidant activity and ACE – inhibitory activity of protease hydrolyzed peanut flour [J/OL]. Food Chem, 2021, 360: 129992 [2024 – 07 – 02]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129992>.
- [24] LI Y, DING J, DONG L, et al. Mechanism of targeted regulation of ovalbumin epitopes by pulsed electric field – assisted alcalase treatment [J]. J Agric Food Chem, 2023, 71(27): 10417 – 10426.
- [25] XI J, LI Y. The effects of ultra – high – pressure treatments combined with heat treatments on the antigenicity and structure of soy glycinin [J]. Int J Food Sci Technol, 2021, 56(10): 5211 – 5219.
- [26] LI Z, ZHENG Y, SUN Q, et al. Structural characteristics and emulsifying properties of myofibrillar protein – dextran conjugates induced by ultrasound Maillard reaction [J/OL]. Ultrason Sonochem, 2021, 72: 105458 [2024 – 07 – 02]. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105458>.
- [27] 李玉蝶, 李玟君, 汪海燕, 等. 戊糖乳杆菌发酵对花生不同蛋白组分结构的影响 [J]. 食品科学, 2023, 44(22): 74 – 79.
- [28] 巨倩. 大豆 7S 球蛋白亚基结构与功能特性研究 [D]. 陕西 杨凌: 西北农林科技大学, 2023.
- [29] 齐宝坤, 王琪, 钟明明, 等. 高压均质辅助酶解豆乳对蛋白结构及抗营养因子的影响 [J]. 农业机械学报, 2023, 54(2): 368 – 377.
- [30] 王晨, 马艳秋, 张梓湘, 等. 不同处理方法对蛋清蛋白免疫原性及结构的影响 [J]. 食品科学, 2022, 43(15): 93 – 100.
- [31] PANG L, LIU M, LI X, et al. Effect of enzymatic hydrolysis combined with processing on allergenicity of food allergens [J/OL]. Trends Food Sci Technol, 2024, 143: 104248 [2024 – 07 – 02]. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.104248>.
- [32] SHU E, WANG S, KONG X, et al. Effects of flavourzyme and alkaline protease treatment on structure and allergenicity of peanut allergen Ara h 1 [J]. Food Technol Biotechnol, 2024, 62(1): 4 – 14.
- [33] XING G, YANG S, HUANG L, et al. Effect of transglutaminase crosslinking combined with lactic fermentation on the potential allergenicity and conformational structure of soy protein [J]. J Sci Food Agric, 2024, 104(13): 7977 – 7984.
-
- (上接第 67 页)
- [18] 李静静. 离子液体催化法改性植物甾烷醇的研究 [D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2014.
- [19] 周阳. 植物甾烷醇油溶性及水溶性的改性研究 [D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2014.
- [20] 陈清平, 沈俊毅. 加工食品中反式脂肪酸研究进展 [J]. 现代食品, 2023, 29(17): 13 – 20.
- [21] 于殿宇, 唐洪琳, 周琪, 等. 酸碱对大豆油脂中反式脂肪酸的影响 [J]. 中国食品学报, 2020, 20(3): 74 – 80.
- [22] HE B, DENG T, LI J, et al. An innovative auto – catalytic esterification for the production of phytosterol esters: Experiment and kinetics [J]. RSC Adv, 2014, 4(109): 64319 – 64327.
- [23] 曾佳, 张怀宝, 张建会, 等. 深共熔溶剂催化油酸豆甾醇酯合成工艺的优化 [J]. 食品科技, 2019, 44(10): 276 – 282.
- [24] 马媛, 贾承胜, 张晓鸣, 等. 无溶剂直接酯化法合成亚油酸甾烷醇酯的研究 [J]. 食品工业科技, 2012, 33(6): 285 – 289.
- [25] 郭涛, 姜元荣, 王勇, 等. 植物甾醇酯制备方法的研究 [J]. 中国油脂, 2011, 36(1): 53 – 56.
- [26] 陈茂彬. 植物甾醇酯的制备、生物活性及应用研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2005.