棉籽糖月桂酸单酯的分离及性质分析

逯与运，晏日安，马祥，汪勇
（暨南大学食品科学与工程系，广东广州 510632）

摘要：研究了超声波处理条件下二甲基亚砜中无水碳酸钾催化棉籽糖和月桂酸甲酯的酯交换反应，得到了酯化位置不同的两种棉籽糖月桂酸单酯。薄层层析（TLC）分离棉籽糖月桂酸酯的理想条件为：点样量4 μL，以氯仿/甲醇/冰乙酸(*V/V/V*, 75:25:4)展开10 min，用10%磷钼酸乙醇溶液均匀喷雾后在105 ℃显色10 min。硅胶柱层析分离棉籽糖酯的理想条件为：1 g样品溶于3 mL的洗脱剂，过15 mm×700 mm硅胶（200~300目），流动相为TLC展开剂配比，流速为1 mL/min，10 min收集一份洗脱液。对纯化后的组分采用高效液相（HPLC），红外光谱（IR），质谱（MS），及核磁共振（^{1}H-NMR、^{13}C-NMR）进行了结构鉴定和表征，确定两单酯组分分别为1”-棉籽糖月桂酸酯和6”-棉籽糖月桂酸酯。同时测定并比较了两种单酯的溶解性和热稳定性，结果表明两种单酯具有相似的溶解性和热稳定性。

关键词：超声处理；硅胶柱层析；1”-棉籽糖月桂酸酯；6”-棉籽糖月桂酸酯
文章篇号：1673-9078(2013)8-1857-1861

Separation and Characteristics of Raffinose Lauric Acid Monoester

LU Yu-yun, YAN Ri-an, MA Xiang, WANG Yong
(Department of Food Science and Engineering, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: Raffinose long-chain fatty acid monoester, acylated at the 1”-and 6”- positions, was synthesized in dimethylsulfoxide by the acylation of raffinose with methyl laurate under reduced pressure with ultrasound irradiation. TLC analysis of 4μL reaction mixture were carried out on silica gel G plates using chloroform-methanol-aceticacid (*V/V/V*, 75:25:7) as eluent. Spots were located by spraying with 10% of phosphomolybdic acid hydrate in ethanol and heated at 105 ℃ for 10min. The product was then separated with silica gel column chromatography by dissolving 1 g sample in eluent and then eluted by chloroform-methanol-acetic acid on a 15 mm × 700 mm silica gel column (200~300 mesh) at flow rate of 1 mL/min. The eluent of 1 bottle/10 min was collected and the purified products were analyzed by HPLC, IR, MS and NMR, and identified as 1”-*O*-lauroylraffinose and 6”-*O*-lauroylraffinose. The two lauroylraffinose isomerides had similar solubility in polar solvent and high thermal stability.

Key words: ultrasonic processing; silica gel chromatography; 1”-*O*-lauroylsucrose; 6”-*O*-lauroylsucrose;

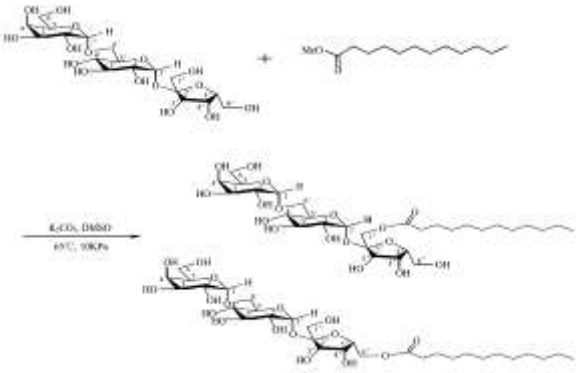
糖酯化合物是一类具有重要生理活性的非离子型表面活性物质，通过控制糖和脂肪酸酯的酯交换程度，可以得到亲水-亲油平衡值（HLB值）范围较广的表面活性剂[1~2]。此外，糖酯还具有无毒、无味及生物降解性和无刺激性，广泛应用于食品、化妆品、医药、洗涤剂等行业[3~5]。棉籽糖脂肪酸酯可被用作乳化剂，分散剂与增溶剂等。它可以单独使用，也可以与蔗糖脂肪酸酯合用。国内外有很多关于单糖、二糖、糖醇、糖苷脂肪酸酯的合成研究，然而对于三糖或多糖脂肪酸酯的合成研究却不多[2,4]。

收稿日期：2013-04-17
基金项目：“十二五”农村领域国家科技计划课题（2011BAD02B04）。
作者简介：逯与运（1988-），男，硕士，研究方向：食品添加剂的制备与应用
通讯作者：晏日安（1962-），男，博士，教授，研究方向：食品添加剂的制备与应用

近年来超声辐射在有机合成中的应用得到了迅速发展。与传统的有机合成方法相比，超声合成方法具有操作简单、反应条件温和、反应时间缩短、反应产率提高，甚至能引起某些在传统条件下不能进行的反应的优点，已被广泛应用于有机合成中[6]。超声波的高频振动可以促进底物快速溶解并均匀分散在溶剂中，能提高底物与催化剂的有效碰撞次数，加速反应的进行[7~10]。现有的棉籽糖脂肪酸酯的合成方法国内外研究较少，主要是采用酶法将长链脂肪酸链选择性连接在半乳糖配体上[4]，连接在果糖配体上的棉籽糖脂肪酸单酯鲜有报道。另外，在超声波作用下合成方法的研究以及对合成的单酯进一步分离纯化的研究国内外也均鲜有报道。因此，探究超声条件下棉籽糖月桂酸酯的合成具有重要的理论及现实意义。

本文探讨了超声波处理条件下棉籽糖月桂酸单酯的合成，应用薄层层析、硅胶柱层析分离纯化获得单

体物质，实现酯化产物的定量分析。采用HPLC、IR、MS、NMR等方法对两种棉籽糖单酯同分异构体进行了结构鉴定。合成步骤如下：



1 材料与方法

1.1 材料与仪器

棉籽糖，陕西森弗高科实业有限公司；无水碳酸钾、无水硫酸镁、磷钼酸、氯仿、氯化钠，天津市福晨化学试剂厂；正丁醇、冰醋酸、甲醇、二甲基亚砜（DMSO），天津市富宇精细化工有限公司；柱层析硅胶（200~300目）、薄层层析板，青岛海洋化工厂；月桂酸甲酯（阿拉丁），上海晶纯实业有限公司；以上材料均为分析纯。

SB25-12DTDN 超声波处理机，宁波新芝生物科技有限公司；RE-52AAB 型旋转蒸发器，上海嘉鹏科技有限公司；SHZ-DIII 型循环水式真空泵，巩义宁于华仪器有限责任公司；DZF-6030A 真空干燥箱，上海一恒科学技术有限公司；2XZ 型旋片式真空泵，上海仪器供销公司；EL104 型电子天平，梅特勒-托利多仪器上海有限公司；B-260 恒温水浴锅，上海亚荣生化仪器厂；DHG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱，上海一恒科学仪器有限公司；LC-20A 型高效液相色谱仪，日本岛津公司；EQUINOX-55 型红外光谱仪，布鲁克光谱仪器公司；4000Q Trap 质谱仪，AB SCIEX 公司；AVANCEIII 型核磁共振波谱仪（500 MHz），瑞士布鲁克公司。

1.2 实验方法

1.2.1 棉籽糖酯的合成

称取棉籽糖 5.04 g（10 mmol）溶解于 20 mL DMSO 中，后加入 1.25 mL（5 mmol）月桂酸甲酯及催化剂无水碳酸钾 0.165 g（以棉籽糖 mol 数的 12%计），置于超声处理器中，开始反应，反应过程用薄层层析（TLC）定性监测，展开剂为氯仿/甲醇/冰乙酸（75:25:4，*V/V/V*），用 10%磷钼酸乙醇溶液显色，于 105 ℃加热 10 min，反应结束后，抽滤除去催化剂，油浴减压蒸出 DMSO，之后加 20% NaCl 溶液和正丁醇（*V/V*=1:1）混合液萃取三次，用少量水洗涤分液两次，用无水硫酸镁除水，抽滤，旋蒸除去溶剂，室温下真空干燥至恒重，产物用层析柱分离，洗脱剂与 TLC 层析液配比相同。

1.2.2 棉籽糖月桂酸单酯的薄层层析（TLC）及柱层析方法[10]

1.2.3 棉籽糖月桂酸单酯的HPLC检测

HPLC(shimadzu LC-20A, Japan)，检测器 RID (shimadzu, Japan)，ECOSIL-C18(5 μm, 4.6×250 mm)色谱柱，流动相为甲醇:水(90:10, *V/V*)，流速 1 mL/min，柱温 40 ℃，进样量 25 μL。

1.2.4 棉籽糖月桂酸单酯分离产物的 ESI-MS 和 NMR

ESI-MS (ES^-) m:z requires 721.8 $[M+Cl]^-$, 731.9 $[M+HCOO]^-$. ^1H NMR (MeOD) δ 5.42, 4.93, 4.39-4.20, 4.14-4.05, 3.98-3.81, 3.81-3.69, 3.67-3.60, 3.47-3.43, 3.30-3.25, 2.42-2.33, 1.68-1.60, 1.32, 0.92.

1''-棉籽糖月桂酸酯：^{13}C NMR (DMSO) δ 173.25, 104.63, 99.38, 92.17, 82.92, 77.53, 74.86, 73.24, 71.99, 71.63, 70.88, 69.59, 69.50, 68.76, 68.71, 67.23, 64.21, 62.85, 62.51, 33.96, 31.77, 29.47, 28.96, 24.85, 22.57, 14.44.

6''-棉籽糖月桂酸酯：^{13}C NMR (DMSO) δ 173.36, 104.78, 99.69, 92.05, 79.47, 76.78, 75.03, 73.39, 71.95, 71.59, 71.35, 70.80, 69.93, 69.20, 69.06, 67.50, 66.08, 62.29, 60.98, 33.80, 31.77, 29.64, 29.21, 24.89, 22.56, 14.44.

1.3 热重分析

热重分析由耐驰 NETZSCH 公司的 TG209F3-ASC 热重分析仪进行分析，温度范围设定为 30~400 ℃，升温速率为 10 ℃/min，样品处于 N_2 保护的 Al_2O_3 坩埚环境中。

2 结果与讨论

2.1 棉籽糖月桂酸酯分离及结构鉴定

2.1.1 棉籽糖单月桂酸酯混合物 TLC 分离效果

在前期实验的基础上[10]，通过调整展开剂各组分的比例，得到了最佳的展开剂配比：氯仿:甲醇:冰乙酸=75:25:4，在此配比条件下，上样量 4 μL，展开 10 min，用 10%磷钼酸乙醇溶液均匀喷雾，于 105 ℃条件下显色 10 min。TLC 谱图如图 1 所示，初产物在薄层层析

板上得到了较为理想的分离，其中棉籽糖单酯 a 表示 1’’-棉籽糖月桂酸酯，棉籽糖单酯 b 表示 6”-棉籽糖月桂酸酯。

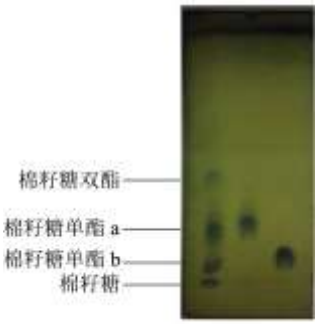


图 1 棉籽糖月桂酸酯 TLC 图谱结果

Fig.1 TLC diagram of lauroylraffinose

2.1.2 棉籽糖月桂酸酯的硅胶柱层析分离

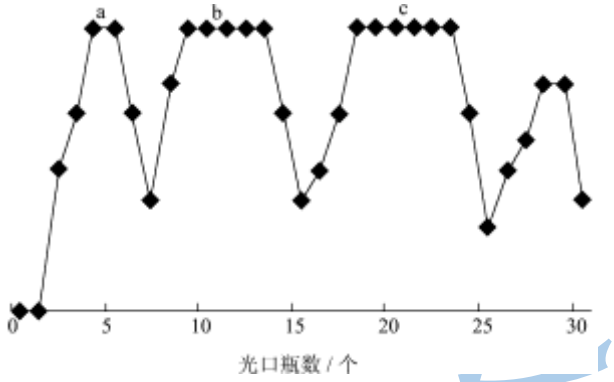


图 2 棉籽糖月桂酸酯的硅胶柱层析

Fig.2 Silica gel column chromatography of lauroylraffinose

为获得两种单酯组分，将优化后的TLC分离条件应用于硅胶柱层析。柱层析分离后的棉籽糖酯的情况如图2所示。图2表明，硅胶柱层析能将物料分离成4个组分，根据物质在TLC板（如图1）上所表现出的极性差异，可确定b，c两组分为目标组分。旋蒸除去溶剂得到单酯组分，可确定b为1”-棉籽糖月桂酸酯，c为6”-棉籽糖月桂酸酯。

2.1.3 棉籽糖月桂酸单酯同分异构体的 HPLC 分析

将柱层析分离获得的组分b、c进行HPLC分析，如图3所示，A、B分别为两种单酯单体的HPLC谱图，图谱中除最初的溶剂峰外均只有一个单峰，保留时间分别为：4.21及4.37 min，十分接近，说明两种物质的极性相似，为棉籽糖单酯的两同分异构体，其中A图表示的是1’’-棉籽糖月桂酸酯，B图表示的是6’’-棉籽糖月桂酸酯。

2.1.4 棉籽糖月桂酸单酯 IR 分析

组分b的红外扫描图谱如图4中的（a）所示，3362.25 cm^{-1}处的强宽峰为缔合-OH 的伸缩振动吸收（γ_{O-H}）；2923.19 cm^{-1}及2853.43 cm^{-1}处的吸收峰为烷烃饱和C-H伸缩振动的特征吸收(γ_{C-H})；1727.85 cm^{-1}处的强吸收峰为$\gamma_{C=O}$吸收，是酯的特征吸收峰；1263.59 cm^{-1}处有酯基中C-O伸缩振动吸收峰(γ_{C-O})；1138.93 及1049.88 cm^{-1}处为-CH_2OH中C-O伸缩振动的特征吸收峰（γ_{C-O}），993.31 cm^{-1}处的强吸收峰为糖环特征吸收。组分c的红外扫描图谱如图4中的（b）所示，图中的各个吸收峰位均与（a）中的谱图基本相对应，可确定两种物质的结构相似，符合棉籽糖单酯的结构特征。

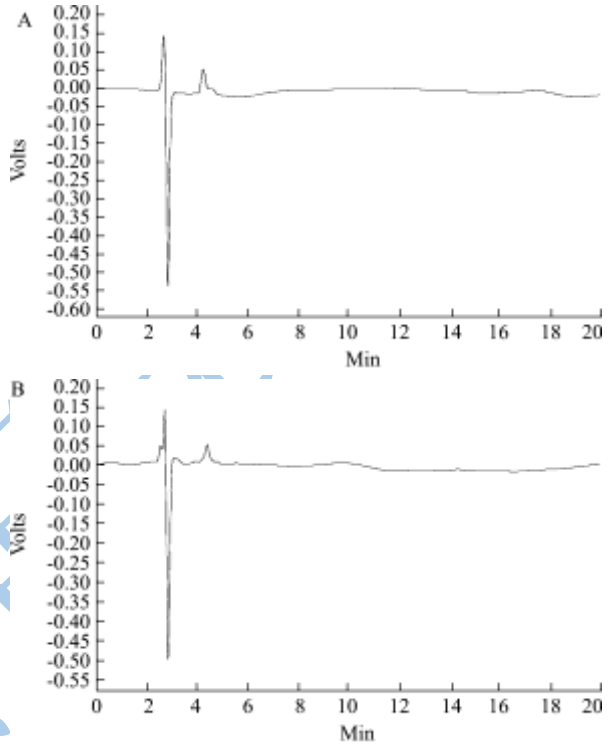


图 3 棉籽糖月桂酸单酯同分异构体的 HPLC 分析图谱

Fig.3 HPLC chromatogram of lauroylraffinose isomeride

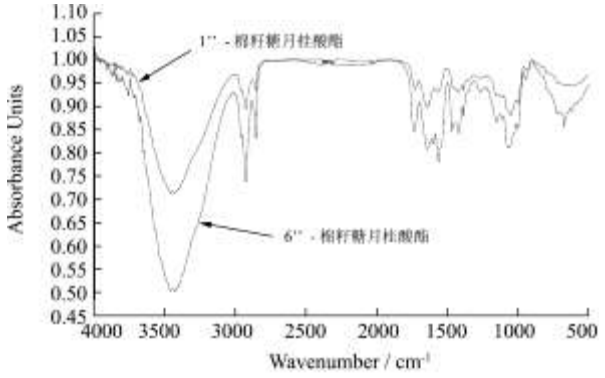


图4 棉籽糖月桂酸单酯同分异构体红外谱图

Fig.4 IR spectrum of lauroylraffinose isomeride

2.1.5 棉籽糖月桂酸酯 MS 分析

将柱层析分离组分b和c进行MS分析，结果见图5和图6。图5中出现的721.8和731.9峰分别为$[M+Cl]^-$、$[M+HCOO]^-$质谱信号峰。所对应的M值与棉籽糖月桂酸单酯的分子量686.5相符合，分离组分应为棉籽糖月桂酸单酯。图6中的质谱数据与图5中的质谱数据相互

对应，图6中的749.5峰为[M+CH3COO]-质谱信号峰，也与棉籽糖月桂酸单酯的分子量686.5相符合，可以确定两种物质为棉籽糖月桂酸单酯同分异构体。

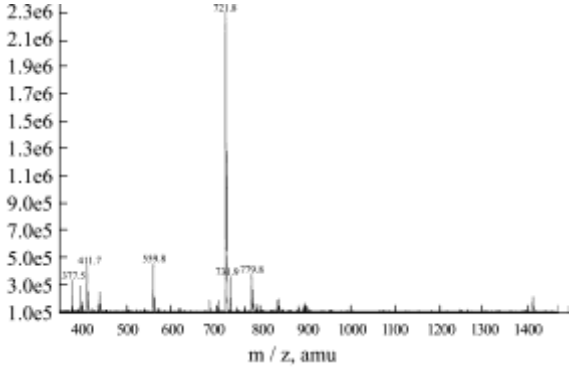


图 5 1”−棉籽糖月桂酸单酯一级质谱图

Fig.5 MS spectra of 1”-O-lauroylraffinose

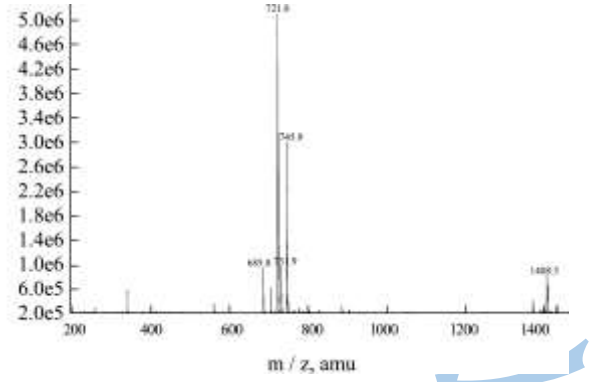


图 6 6”−棉籽糖月桂酸单酯一级质谱图

Fig.6 MS spectra of 6”-O-lauroylraffinose

2.1.6 棉籽糖月桂酸单酯化产物结构表征及酯化区域选择性分析

表 1 1”−棉籽糖月桂酸单酯和 6”−棉籽糖月桂酸单酯的 ^{13}C-NMR 中的化学位移

Table 1 Chemical shifts (ppm) of ^{13}C-NMR of 1”-O-lauroylraffinose and 6”-O-lauroylraffinose in DMSO-d_6

碳位	1”-棉籽糖月桂酸酯	6”-棉籽糖月桂酸酯
C-2”	104.63	104.78
C-1	99.38	99.69
C-1’	92.17	92.05
C-5”	82.92	79.47
C-3”	77.53	76.78
C-4”	74.86	75.03
C-3’	73.24	73.39
C-2’	71.99	71.95
C-5’	71.63	71.59
C-5	70.88	71.35
C-4’	69.59	70.80
C-3	69.50	69.93
C-4	68.76	69.20
C-2	68.71	69.06
C-6’	67.23	67.50
C-1”	64.21	62.29
C-6”	62.85	66.08
C-6	62.51	60.98
C=O	173.48	173.37
-CH_2-	33.96, 31.77, 29.47, 28.96, 24.85, 22.57	33.80, 31.77,29.64, 29.21, 24.89, 22.56,
CH_3-	14.44	14.44

由产物与棉籽糖核磁数据相比，棉籽糖月桂酸单酯的C-1”的化学位移由63.49下降到64.21，与文献值一致[11]，说明该化合物为1”-棉籽糖月桂酸酯。棉籽糖月桂酸单酯的C-6’’化学位移从62.76下降到66.08，而相邻的C-5’’由82.40上升到79.47，符合文献规律[12]，说明该化合物为6’’-棉籽糖月桂酸酯。

2.2 1’’-棉籽糖月桂酸酯及 6’’-棉籽糖月桂酸酯的性能比较

2.2.1 溶解性能

取少量分离的两种棉籽糖月桂酸单酯，分别加入水、甲醇、乙醚、氯仿、正丁醇、苯、二甲基亚砜试剂，检测两物质在不同溶剂中的溶解性。

表 2 两种棉籽糖单酯在不同溶剂中的溶解性

Table 2 Solubility of mono-O-stearoylraffinose in different solvents

溶剂	水	甲醇	乙醚	氯仿	正丁醇	苯	二甲基亚砜
1”-棉籽糖月桂酸酯	±	+	-	±	+	-	+
6”-棉籽糖月桂酸酯	±	+	-	±	+	-	+

注：+，溶解性好；±，溶解性一般；-，溶解性差。

由表 2 可知：两种单体在极性溶剂中的溶解性较大，中等极性溶剂中的溶解性次之，非极性溶剂中的溶解性较差。这是因为单酯中羟基的含量较高，根据相似相容性原理，说明两种单酯的极性较高，进一步表征了结构特征，通过对比发现两种棉籽糖单酯的溶解性能相似。

2.2.2 热重分析

1’’-棉籽糖月桂酸酯及 6”-棉籽糖月桂酸酯热重分析如图 7 所示，由于物质具有一定的吸湿性，图中 30~100 ℃所呈现状态可能为水分蒸发引起的质量损失。1’’-棉籽糖月桂酸酯（图 a）质量发生明显变化的温度为 184 ℃；6’’-棉籽糖月桂酸酯（图 b）质量发生明显变化的温度为 204 ℃，由此可知 1”-棉籽糖月桂酸酯及 6”-棉籽糖月桂酸酯的热稳定性均较高，而两者相

比，6’’-棉籽糖月桂酸酯比 1’’-棉籽糖月桂酸酯的稳定性更好。

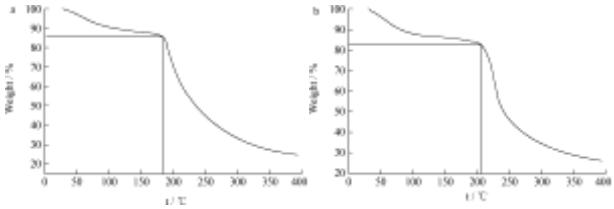


图 7 棉籽糖月桂酸单酯热重分析

Fig.7 TG analysis of mono-O-stearoylraffinose

注：a：1’’-棉籽糖月桂酸单酯，b：6’’-棉籽糖月桂酸单酯。

3 结论

以无水碳酸钾为催化剂，在超声波处理条件下合成了高酯化度的棉籽糖月桂酸单酯。采用薄层层析（TLC）和硅胶柱层析对超声处理条件下合成的棉籽糖月桂酸酯进行了分离纯化。获得了 TLC 和硅胶柱层析分离棉籽糖月桂酸单酯的理想条件，经 IR、HPLC、MS、NMR 鉴定，确定两种分离组分分别为 1’’-棉籽糖月桂酸酯和 6’’-棉籽糖月桂酸酯，两种单酯具有相似的溶解性和热稳定性。

参考文献

[1] 吴起,吕德水,陈志春,等.棉子糖乙烯酯的酶催化选择性合成研究[J].高等学校化学学报,2003,10,24(10):1806-1810
Wu Q, Lu D S, Chen Z C, et al. Enzyme-catalyzed Regioselective Synthesis of Novel Raf f inose Vinyl Esters [J]. Chemical Journal of Chinese Universities, 2003, 10, 24(10): 1806-1810

[2] Irene J A. Baker B M, Hector S, et al. Sugar Fatty Acid Ester Surfactants Structure and Ultimate Aerobic Biodegradability [J]. Journal of Surfactants and Detergents, 2000, 3: 1-11

[3] Manuel F, Francisco C, Francisco J P. et al. Comparative Surface Activities of Di- and Trisaccharide Fatty Acid Esters [J]. Langmuir, 2002, 18: 667-673

[4] Perez-Victoria I, Perez-Victoria F J, Roldan-Vargas S, et al. Non-reducing Trisaccharide Fatty Acid Monoesters: Novel Detergents in Membrane Biochemistry [J]. Biochimica et biophysica acta, 2011, 1808: 717-726

[5] K D, Tao B Y. Synthesis and Characterization of Maltose Fatty Acid Monoesters as Biosurfactants [J]. Journal of Surfactants and Detergents.2002, 5: 245-255

[6] Huang D, Jiang X, Zhu H, et al. Improved synthesis of sucrose fatty acid monoesters under ultrasonic irradiation [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2010, 17: 352-355

[7] Hanh H D, Dong N T, Starvarache C, et al. Methanolysis of Triolein by Low Frequency Ultrasonic Irradiation [J]. Energy Conversion and Management, 2008, 49: 276-280

[8] Brito J Q A, Silva C S, Almeida J S. et al. Ultrasound-assisted Synthesis of Ethyl Esters from Soybean Oil via Homogeneous Catalysis [J]. Fuel Processing Technology, 2012, 95: 33-36

[9] Xiao Y M, Wu Q, Cai Y, et al. Ultrasound-accelerated Enzymatic Synthesis of Sugar Esters in Nonaqueous Solvents [J]. Carbohydrate Research, 2005, 340: 2097-2103

[10] 逯与运,晏日安,马祥.超声条件下蔗糖-6-及-6'-月桂酸单酯的合成、纯化与结构鉴定[J].食品工业科技,2013,34(4): 129-132
Lu Y Y, Yan R A, Ma X. Synthesis, Purification and Identification of the 6-O-lauroylsucrose, 6’-O-lauroylsucrose under Ultrasonic Condition [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(4): 129-132

[11] Pérez-Victoria I, Morales J C. Regioselectivity in Acylation of Oligosaccharides Catalyzed by the Metalloprotease Thermolysin [J]. Tetrahedron 2006, 62: 2361-2369

[12] Yoshimoto K, Itatani Y, Tsuda Y. ^{13}C-Nuclear magnetic Resonance Spectra of O-acylglucose. Additivity of Shift Parameters and its Application to Structure Elucidations [J]. Chem Pharm Bull, 1980, 28: 2065-2074