

FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

(21) Číslo přihlášky : 5415-90
(22) Přihlášeno : 05.11.90
(30) Prioritní data :

(40) Zveřejněno : 13.05.92
(47) Uděleno : 24.06.92
(24) Oznámeno udělení ve Věstníku : 12.08.92

(13) Druh dokumentu : B6

(51) Int. Cl.⁵ :

C 11 C 3/10
C 07 C 69/30

(73) Majitel patentu : Vysoká škola chemicko-technologická, Praha, CS

(72) Původce vynálezu : Ranný Mojmir doc.ing.CSc., Praha, CS;
Petříková Dana ing., Praha, CS;
Sedláček Jiří ing.CSc., Praha, CS ;
Bělohav Zdeněk ing.CSc., Praha, CS

(54) Název vynálezu : Způsob přípravy diacylglycerolů mastných kyselin

(57) Anotace :

Způsob přípravy diacylglycerolů mastných kyselin reakcí monoacylglycerolu s oxidem fosforečným v nepolárním kapalném prostředí. Diacylglyceroly vznikají vedle glycerolfosforečné kyseliny disproportionací nestabilního meziprojektu. Finální produkty obsahují kolem 95 % hmot. diacylglycerolů a jsou vhodné jako biologicky aktivní aditiva do farmaceutických a kosmetických přípravků a jako výchozí látky pro přípravu glycerofosfolipidů.

Vynález se týká způsobu přípravy diacylglycerolů mastných kyselin reakcí monoacylglycerolů s oxidem fosforečným v nepolárním kapalném prostředí. Dalším produktem této reakce je kyselina glycerolfosforečná.

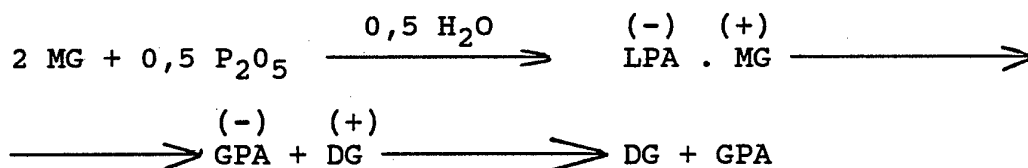
Diacylglyceroly se používají jako biologicky aktivní lipidy ve farmaceutických a kosmetických výrobcích, jako kosmetické a potravinářské netoxické emulgátory, jako aditiva zvyšující plastičnost potravinářských tuků, suroviny pro přípravu glycerofosfolipidů a podobně (Beridge M., et al, Nature 312, 315 /1984/, Moolenaar W.H., et al, Nature 323, 6084 /1986/, J.P. 63-104917 /1986/, Ranný M., doktorská disertační práce, VŠCHT Praha /1990/). Technické diacylglyceroly se běžně vyrábějí glycerolýzou tuků za přítomnosti alkalických katalyzátorů, například KOH a Ca(OH)₂, a při teplotě 200 až 240 °C (Čs. autorské osvědčení č 261 170 /1989/). Produkty glycerolýzy však obsahují kromě žádaného diacylglycerolu (40 až 50 % hmot.) ještě nezreagovaný triacylglycerol (20 až 40 % hmot.) a monoacylglycerol (15 až 25 % hmot.) a hodí se především jen jako surovina pro výrobu acylglycerofosfátů (například čs. autorské osvědčení č 173 220 /1978/, čs. autorské osvědčení č. 203 421 /1982/ a čs. autoské osvědčení č. 256 690 /1989/). Také modernější enzymatické postupy přípravy diacylglycerolů vedou ve své podstatě k směsím parciálních acylglycerolů, triacylglycerolů a nezreagovaných mastných kyselin (například Jap. p. 51-7754 /1976/, J.Amer. Oil Chemist s Soc., 61, 776 /1984/). Novější biotechnologické metody, založené na použití velkého množství selektivních lipáz (2 až 20 % hmot. na výchozí směs mastných kyselin a glycerolu) jsou nákladné a konečné produkty obsahují maximálně 80 % hmot. diacylglycerolu (E.P. 307 154 /1988/). Na druhé straně, postupy pro přípravu koncentrovanějších (to je kolem 90 % hmot. diacylglycerolu), respektive čistých diacylglycerolů (více než 95 % hmot. diacylglycerodu), jsou příliš složité, vyžadují těžce dostupné chemikálie a jsou většinou aplikovatelné jen pro přípravu malých množství diacylglycerolů pro vědecké práce. Tak například při přípravě strukturálně definovaných diacylglycerolů se vychází z 3,4-isopropyliden-D-mannitolu, který se převede několikastupňovou syntézou na 1,2-isopropyliden-3-benzyl-sn-glycerol a ten se potom acyluje mastnou kyselinou za přítomnosti 4-dimethylaminopyridinu a dicyklohexylkarbodiimidu; chránicí benzylová skupina se odstraní katalytickou hydrogenolýzou za přítomnosti paladia na uhlíku (Eibl H., Phospholipid Synthesis, v knize Liposomes /Knight C.G., ed./ Elsevier, Amsterdam 1981).

Popsané nevýhody odstraňuje způsob přípravy diacylglycerolů mastných kyselin podle vynálezu, jehož podstata spočívá v reakci monoacylglycerolu mastných kyselin s 8 až 22 atomy uhlíku v řetězci mastné kyseliny s oxidem fosforečným v nepolárním kapalném prostředí při 30 až 100 °C. Molární poměr mezi monoacylglycerolem a oxidem fosforečným je 1:0,5 až 1,0. Po zreagování 95 až 99,5 % hmot. výchozího monoacylglycerolu se roztok reakcí vzniklého diacylglycerolu oddělí od vyloučené kyseliny glycerolfosforečné, která je v nepolárním prostředí nerozpustná. Roztok diacylglycerolu se potom neutralizuje vhodnou bází, s výhodou hydroxidem vápenatým nebo plynným amoniakem a vyloučené nerozpustné fosfáty se odstraní buď filtrací, nebo odstředěním na centrifuze. V konečné fázi se z vyčereného roztoku odstraní rozpouštědlo destilací,

nejlépe za sníženého tlaku.

Výhoda způsobu přípravy diacylglycerolů podle vynálezu spočívá především ve vysokém výtěžku diacylglycerolů, protože finální produkty obsahují 95 až 99 % hmot. diacylglycerolů. Způsob nevyžaduje těžce dostupné chemikálie, je technologicky málo náročný. Umožňuje získávat čistý diacylglycerol v dostatečném množství.

Při vypracování uvedeného způsobu přípravy jsme vycházeli z našich poznatků o mechanismu fosforylace monoacylglycerolů v nepolárním prostředí. Ten lze stručně popsat takto: Monoacylglycerol je v nepolárním kapalném prostředí nedokonale rozpustný a díky své polárně-nepolární struktuře se hromadí na fázovém rozhraní mezi rozpouštědlem a dispergovanými částicemi oxidu fosforečného. Reakcí obou složek vzniká lysofosfatidová kyselina (LPA), která vytvoří s monoacylglycerolem reakční meziproduct (I), který je nestálý a disproportionuje na protonizovaný diacylglycerol a aniont glycerolfosforečné kyseliny (GPA). Přenosem protonu z diacylglycerolu na řečený aniont potom vzniknou oba finální produkty, to je diacylglycerol a glycerolfosforečná kyselina:



Průběh reakce ve směru produktů je podporován tím, že kyselina glycerolfosforečná je v nepolárním prostředí nerozpustná a vytváří oddělenou fázi.

Jako monoacylglycerol lze s výhodou použít produkty molekulární destilace směsi parciálních acylglycerolů, získaných glycerolýzou rostlinných a nebo živočišných tuků. Tyto lipidy se dnes běžně vyrábějí v tisícitunových množstvích jako potravinářské emulgátory a zlepšující přísady do pečiva. Podle druhu výchozího tuku obsahují nasycené i nenasycené mastné kyseliny s 8 až 22 atomy uhlíku v řetězci mastné kyseliny. Reakčním nepolárním prostředím mohou být rozpouštědla s relativní permitivitou 1,8 až 6, s výhodou potom jednoduché uhlovodíky, jako je například n-pentan, n-hexan, n-heptan, isooktan a cyklohexan.

Rychlost reakce je přímo úměrná teplotě, příslušná aktivační energie je kolem 40 až 50 kJ.mol⁻¹. Maximální reakční teplota je dána bodem varu rozpouštědla a závisí na rozpustnosti výchozího monoacylglycerolu v reakčním prostředí. Obecně platí, že deriváty nenasycených mastných kyselin, například molekulárně destilovaný monoacylglycerol z řepkového oleje, se v uhlovodících rozpouštějí již za normální teploty, zatímco monoacylglycerol s nasycenými mastnými kyselinami, jako je monoacylglycerol z hydrogenovaného loje jsou v nepolárním prostředí rozpustné až při teplotách 50 až 70 °C.

Poměr mezi reagujícími složkami je dán výše uvedeným reakčním mechanismem; při použití teoretického množství oxidu fosfo-

rečného je reakce ukončena až po několika hodinách, při nadbytku a vyšších teplotách může trvat jen několik minut; v tomto případě je však současně vznikající kyselina glycerolfosforečná znečištěna polyfosforečnými kyselinami.

Průběh reakce lze kontrolovat stanovením nezreagovaného monoacylglycerolu některým z rychlých kvantitativních chromatografických postupů, například metodou TLC-FID na komerčních vrstvách Chromarods s rozpouštědlovou soustavou benzen : ethylacetát : kyselina octová : voda (100:4:0,6:0,2 v/v).

Po ukončení reakce, to je jakmile zreaguje 95 až 99,9 % hmot. monoacylglycerolu, se roztok diacylglycerolu vypustí z reaktoru a neutralizuje se vhodnou bází. Teplota při neutralizaci je opět limitována bodem varu rozpouštědla, teplota při filtraci nebo odstředování rozpustností diacylglycerolu. Obecně platí, že roztoky diacylglycerolů mají být filtrovány nebo odstředovány při teplotě o několik stupňů vyšší než je bod zákalu příslušného roztoku.

Z odstředěných nebo filtrovaných roztoků diacylglycerolu se odstraní rozpouštědlo destilací, nejlépe za sníženého tlaku a získané diacylglyceroly se buď používají přímo, nebo se mohou rafinovat krystalizací, popřípadě na sloupcích aktivního adsorbentu. Další reakční produkt, to je glycerolfosforečnou kyselinu, lze po neutralizaci využít jako nutriční složku potravin, krmiv nebo v kosmetice.

Způsob přípravy diacylglycerolů mastných kyselin podle vynálezu je blíže objasněn v následujících příkladech. Pro srovnání jsou uvedeny referenční příklady 1 a 2.

Příklad 1

100 g (0,47 molu) molekulárně destilovaného monoacylglycerolu z kokosového tuku bylo rozpuštěno při zvýšené teplotě (50 až 60 °C) v 550 ml cyklohexanu. Vzniklý roztok byl přidán do reaktoru, v kterém bylo dispergováno 35 g (0,25 molu) oxidu fosforečného v 50 ml stejného rozpouštědla. Směs byla míchána při 50 °C a každou hodinu byly odebírány vzorky na analýzu TLC-FID. Po 5ti hodinách, kdy zreagovalo 95 % výchozího monoacylglycerolu, byla kapalná fáze vypuštěna z reaktoru do neutralizátoru a přidáno 40 g práškového hydroxidu vápenatého. Směs byla 15 min míchána při 45 až 50 °C a potom zfiltrována při téže teplotě. Filtrát byl odpařen na rotační vakuové odparce při 60 až 65 °C. Bylo získáno 75 g produktu (to je kolem 90 % teoretického množství), jehož složení je uvedeno v tabulce 1.

Příklad 2

Postupem podle příkladu 1 reagovalo 100 g (to je 0,27 molu) destilovaného monoacylglycerolu z hydrogenovaného loje (j.č. 3) s 33 g oxidu fosforečného (to je 0,23 molu) v prostředí n-heptanu (500 ml) při bodu varu (kolem 98 °C). Během 15 min zreagovalo kolem 98 % hmot. výchozího monoacylglycerolu. Oddělená kapalná fáze byla při 60 °C neutralizována plynným čpavkem a vy-loučené pevné podíly odstraněny centrifugací. Po oddestilování

n-heptanu na rotační vakuové odparce při 70 °C bylo získáno 80 g produktu (to je kolem 93 % teoretického množství). Složení produktu je uvedeno v tabulce 1.

Příklad 3

Postupem podle příkladu 1 byl připraven diacylglycerol z řepkového oleje, s nízkým obsahem kyseliny erukové ze 100 g (to je 0,27 molu) odpovídajícího monoacylglycerolu a 24 g oxidu fosforečného (to je 0,17 molu) v prostředí extrakčního benzínu (bod varu 65 až 72 °C, 400 ml) při 35 °C. Z analýzy reakčních vzorků metodou TLC-FIS vyplynulo, že po 8 h zreagovalo 97 % hmot. výchozího monoacylglycerolu. K neutralizaci bylo použito 28 g hydroxidu vápenatého. Bylo získáno 76 g finálního výrobku (to je 89 % teoretického množství), příslušná analýza produktu je uvedena v tabulce 1.

Referenční příklad 1

Směs 100 g hydrogenovaného loje (j.č. 3), 12 g glycerolu a 0,02 g Ca(OH)_2 byla 3 h zahřívána v dusíkové atmosféře při 220 °C. Po snížení teploty na 170 °C byl katalyzátor neutralizován 75% kyselinou fosforečnou a vzniklý anorganický fosfát oddělen centrifugací. Složení produktu je uvedeno v tabulce 1.

Referenční příklad 2

25 g imobilizované lipázy Lipozym 3 A (Novo Ind.), 85 g směsi mastných kyselin z řepkového oleje s nízkým obsahem kyseliny erukové a 15 g glycerolu bylo při 38 °C mícháno po dobu 15 h. Vznikající reakcí voda byla průběžně odstraňována destilací za sníženého tlaku. Potom byl produkt oddělen od enzymu odstředěním. Složení produktu je uvedeno v tabulce 1.

Produkty reakcí získané podle příkladu 1 až 3 a podle obou referenčních příkladů byly analyzovány TLC-FID na vrstvách Chromarods S III a hodnoceny na přístroji Iatroscan TH-10. Výsledky analýz v tabulce svědčí o výhodách našeho postupu.

Tabulka 1

Příklad	Složka (% hmot.)			
	monoacyl-glycerol	diacyl-glycerol	triacyl-glycerol	anorganický fosfát
1	4,3	95,4	0,1	0,2
2	1,9	98,0	-	0,1
3	3,1	96,5	0,1	0,3
RF 1	19,5	48,1	33,1	0,3
RF 2	14,8	75,1	4,5	5,6

P A T E N T O V É N Á R O K Y

1. Způsob přípravy diacylglycerolů mastných kyselin, vyznačující se tím, že se na monoacylglycerol s 8 až 22 atomy uhlíku v řetězci mastné kyseliny působí v nepolárním kapalném prostředí při 30 až 100 °C oxidem fosforečným v molárním poměru 1:0,5 až 1,0 a po zreagování 95 až 99,5 % hmot. výchozího monoacylglycerolu se roztok vzniklého diacylglycerolu oddělí od vyloučené kyseliny glycerolfosforečné, upraví se na neutrální reakci, přefiltruje nebo odstředí a diacylglycerol se získá z takto upraveného roztoku odpařením rozpouštědla.
2. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že roztok diacylglycerolu se před filtrací nebo odstředěním neutralizuje plynným amoniakem nebo oxidem vápenatým.

Konec dokumentu