

具有表面活性的酯化单宁酸的合成及其性质研究^{*}



马志红, 姚 开, 石 碧^{*}

(四川大学 皮革化学与工程教育部重点实验室, 四川 成都 610065)

MA ZH

摘 要: 单宁酸(TA)属水解类单宁, 是具有重要开发利用价值的天然产物。本研究以单宁酸为原料, 通过与饱和直链脂肪酰氯(C_{10} , C_{14} 和 C_{18} 脂肪酰氯)反应合成了酯化单宁酸(C_{10} TA, C_{14} TA 和 C_{18} TA)。用红外、紫外光谱鉴定了产物的结构, 测试了产物的表面张力、润湿力和乳化力及对微生物生长的抑制率。实验结果表明, 当单宁酸与脂肪酰氯的摩尔比为 1:5 时, 获得的酯化单宁酸具有明显的表面活性, 对革兰氏阴性细菌的抑制活性提高。该研究工作为单宁酸的精细化利用探索了一条新的途径。

关键词: 植物单宁; 单宁酸; 酯化单宁酸; 抑菌活性

中图分类号: TQ351.5; TQ943.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2417(2003)01-0021-04

SYNTHESIS OF ESTERIFIED TANNIC ACIDS POSSESSING SURFACE ACTIVITIES AND STUDIES ON PROPERTIES OF THE PRODUCTS

MA Zhi-hong, YAO Kai, SHI Bi

(The Key Laboratory of Leather Chemistry and Engineering of Ministry of Education, Sichuan University, Chengdu 610065, China)

Abstract: Tannic acid (TA), a hydrolysable tannin, is a very valuable natural product used widely in industries. Esterified tannic acids (C_{10} TA, C_{14} TA, C_{18} TA) were prepared by reaction of aliphatic acyl chloride (decanoyl chloride, myristyl chloride, stearyl chloride) and tannic acid in the mole ratio of 1:5. Structures of products were elucidated by IR, UV spectra. Surface tension, wetting and emulsifying properties of the products were determined, as well as their inhibitory functions on microbes. It is showed that esterified tannic acids possess significant surface activities and strong antibacterial activities, particularly to the microbe having hydrophobic cell membrane. This study might establish a new area for the use of TA.

Key words: vegetable tannin; tannic acid; esterified tannic acid; antibacterial activity

单宁酸在药典上又称鞣酸, 属于水解类单宁, 水解可得到鞣酸和葡萄糖, 是最早研究的单宁之一, 主要富含于中国五倍子、土耳其倍子、塔拉果荚、石榴、漆树叶、黄栌、金缕梅树等植物中^[1]。中国是五倍子的生产大国, 占世界产量的 75%~90%。单宁酸具有很强的生物和药理活性, 在医药、食品、日化等方面具有广泛的应用。然而, 单宁酸分子有多个羟基, 亲水性强, 亲脂性差, 化学活性敏感, 易被氧化而变色, 这在一定程度上影响了单宁酸的利用。近 10 多年来, 单宁酸的改性和应用引起了国内外学者广泛关注, 作者曾研究过酯化单宁酸的合成, 得到了油溶性优良、具有抗油脂氧化活性的油溶性单宁

* 收稿日期: 2002-06-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(29872025)

作者简介: 马志红(1976-), 女, 山东烟台人, 四川大学硕士研究生, 研究方向为植物单宁化学及应用。

* 通讯联系人

酸^[2]。本研究根据单宁酸的结构特性(见图 1),将单宁酸分子的部分酚羟基接入长链脂肪烃,不仅增强了其化学稳定性,还改善了单宁酸的表面活性,制备出一种新型的表面活性剂,并对产物的微生物抑制活性进行了初步研究。

由单宁酸与不同链长的脂肪烃制备的酯化单宁酸,其结构中既有极性基团(葡萄糖糖苷结构),又有非极性基团(脂肪烃基)。它可看作是一类具有表面活性的大分子化合物,目前尚无研究报道。由单宁酸为主体制备表面活性剂是一个新思路。特别应指出的是,单宁酸是一种具有多重化学和生物活性的化合物。因此以单宁酸为原料制备的表面活性剂可能具有一般表面活性剂难以比拟的应用特性。

1 实验部分

1.1 主要实验材料与仪器

单宁酸、癸酸、肉豆蔻酸、硬脂酸、氯化亚砷、乙酸乙酯等均为分析纯。

JZHYL-180 型界面张力仪,河北承德试验机厂生产。

1.2 酯化单宁酸的合成

1.2.1 脂肪酰氯的合成 分别选取碳原子数目为

10, 14, 18 的癸酸、肉豆蔻酸、硬脂酸与氯化亚砷反应,制备癸酰氯、肉豆蔻酰氯和硬脂酰氯^[3]。

1.2.2 含不同脂肪链的酯化单宁酸的合成 根据马志红等已确定的反应条件^[2],将质量为 m 的单宁酸加入三颈瓶中,加入 $10m$ 的二氧杂环己烷溶剂, $0.03m$ 催化剂对甲苯磺酸,搅拌使其溶解,然后加入摩尔量为单宁酸 15 倍的癸酰氯,充氮气保护,回流温度下($100\text{ }^{\circ}\text{C}$)反应 4 h。减压蒸出溶剂,剩余物溶于乙酸乙酯,用饱和食盐水多次洗涤以使剩余的脂肪酰氯水解,除去水层,乙酸乙酯溶解物真空抽滤得产物,记为 $C_{10}\text{TA}$ 。同法,制备单宁酸肉豆蔻酸酯($C_{14}\text{TA}$)和单宁酸硬脂酸酯($C_{18}\text{TA}$)。

1.3 样品的结构表征

傅立叶红外光谱仪: Nicolet 20SXB 型, KBr 压片; 紫外分光光度计: UV-2501PC 型, 乙醇为溶剂。

1.4 样品性能的测试

制备的酯化单宁酸易溶于有机溶剂,如丙酮、乙酸乙酯、乙醚、石油醚、氯仿等,强烈搅拌下溶于乙醇和水,而且随着脂肪链的增长,它们的水溶性逐渐变差。为了充分溶解样品,配制溶液时,本实验先用 5 mL 丙酮将试样溶解,然后用 250 mL 蒸馏水定容,准备了一系列不同浓度的待测溶液(乳化力测试除外)。同样,单宁酸溶液也以此方法配制。

1.4.1 表面张力的测试 采用吊环法, $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, 用 JZHYL-180 型界面张力仪测定一系列质量分数下的表面张力值(γ)^[4]。

1.4.2 润湿力的测试 采用帆布沉降法,首先配制不同浓度的样品, $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 测帆布在液体中沉降所需时间;然后选取质量分数为 0.5% 的样品测其在不同温度时的润湿时间^[5]。

1.4.3 乳化力的测试 将所测表面活性剂用蒸馏水配成质量分数为 0.1% 的水溶液,取 20 mL 样品溶液和 20 mL 液体石蜡于碘瓶中,上下摇动 5 次,静置 1 min。再同样摇动 5 次,然后将此乳液倒入 50 mL 量筒中,立即开启秒表记录乳液下层分出 5 mL 水所需的时间。乳化力愈强,分层时间愈长。

1.5 样品的抑菌性测试

1.5.1 供试菌种 大肠杆菌(*Escherichia coli*)和枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)由四川大学食品微生物学实验室提供。

1.5.2 培养基 采用营养琼脂培养基, $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灭菌 20 min。

1.5.3 样品抑菌率的测定 将一定的样品溶液加入到约 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的无菌营养琼脂培养基中,混合均匀后加入到含有 0.5 mL 菌悬液(约为 3.0×10^2 个/mL)的培养皿中,迅速摇匀,待凝固后, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 48 h 后计数。以不含样品的含菌培养基作为空白对照,每个质量分数样品平行重复 2 次,取其平均数,计算抑菌率^[6]。

抑制率(%) = (空白平板菌落平均数 - 加样品平板菌落平均数) / 空白平板菌落平均数 \times 100

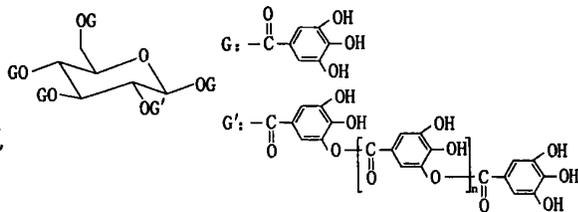


图 1 单宁酸的化学结构式

Fig. 1 Chemical structure of tannic acid

2 结果与讨论

2.1 样品的结构表征

产物在常温下的物理状态: 单宁酸(TA)为淡黄色粉末; 单宁酸癸酸酯($C_{10}TA$)为白色晶状体; 单宁酸肉豆蔻酸酯($C_{14}TA$)为黄棕色软蜡状体; 单宁酸硬脂酸酯($C_{18}TA$)为黄棕色硬颗粒状体。

在样品红外光谱分析数据中, 单宁酸和酯化单宁酸在 3422 cm^{-1} 附近均有酚羟基的特征吸收峰, 但酯化单宁酸的吸收峰明显减弱, 表明其酚羟基含量降低。产物在 $2920\sim 2850\text{ cm}^{-1}$ 区出现两个尖锐的吸收带, 分别由甲基和亚甲基的 C—H 伸缩振动产生, 证明直链脂肪基团还引入到单宁酸结构中。单宁酸谱图中的羰基吸收带在 1715 cm^{-1} 处有且仅有一吸收峰。而酯化单宁酸在 1740 和 1700 cm^{-1} 附近出现两个强吸收带, 表明产物中除了单宁酸自身含有的芳基酯($R-COOAr$)外, 还有一部分来自于与酰氯反应产生的羰基($R-COOR_1$)。

紫外光谱谱图中, 酯化单宁酸与单宁酸相似, 在 210 nm 附近有最大吸收峰。但是由于受发色团 $R-\overset{\text{O}}{\parallel}{C}-$ 的影响, 酯化单宁酸的 B 带最大吸收峰出现在 269 nm 处, 而单宁酸出现在 280 nm 处。

2.2 表面张力

对 TA, $C_{10}TA$, $C_{14}TA$ 和 $C_{18}TA$ 的表面张力测定结果如图 2 所示。所测样品溶液的表面张力均有所降低, 表明单宁酸及单宁酸衍生物具有一定的表面活性。而引入脂肪酰基的单宁酸的表面张力均低于单宁酸的表面张力, 说明改性产物呈现出较单宁酸优良的表面活性。图 2 也表明, 引入的脂肪链长度影响着化合物的表面活性。表面活性大小顺序为: $C_{10}TA > C_{14}TA > C_{18}TA > TA$ 。

样品的胶束浓度(CMC)不明显, 这可能是由于样品的组分和结构复杂的缘故。

2.3 润湿力

帆布在表面活性剂水溶液的沉降时间是表征表面活性剂润湿力的通用方法, 帆布沉降所需的时间越短, 说明表面活性剂的润湿力越强。对不同样品的润湿力测定(图 3)表明, 样品的润湿力随样品质量分数的增大而增强; 当烷基碳原子数较大时, 润湿力急剧下降。 $C_{10}TA$ 和 $C_{14}TA$ 的润湿力要优于 $C_{18}TA$ 。润湿力的大小

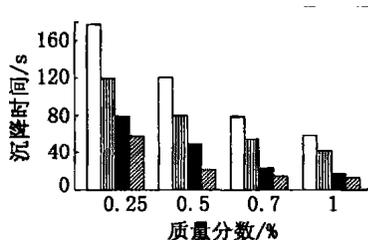


图 3 30 °C, 不同质量分数下帆布沉降时间
Fig. 3 Precipitating time of canvas at different mass parts of surfactants (30 °C)

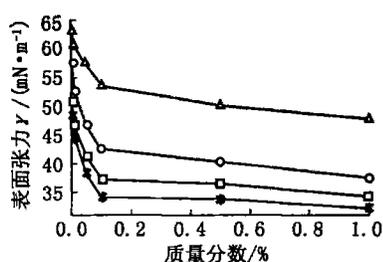


图 2 样品质量分数(c)与表面张力(γ)关系图

Fig. 2 Relations between concentration and surface tension of samples
— Δ —TA; — \circ — $C_{18}TA$;
— \square — $C_{14}TA$; — \times — $C_{10}TA$

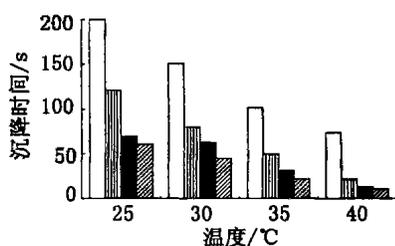


图 4 质量分数为 0.5% 时, 不同温度下帆布沉降时间
Fig. 4 Precipitating time of canvas at different temperature (0.5%)

顺序为 $C_{10}TA > C_{14}TA > C_{18}TA > TA$ 。由于改性单宁酸分子亲水基与疏水基比例的改善, 大大提高了改性后单宁酸的表面活性与润湿力。当脂肪烃碳原子数为 10 时, 产物润湿性能较佳。

图 4 表示了质量分数为 0.5% 时, 温度对样品润湿力的影响。结果表明, 随着温度的升高, 各样品的润湿力随之都有所增强。作为非离子型表面活性剂, 它们在水中的溶解主要靠氧原子与水中氢原子之间的氢键而起作用, 温度升高会提高样品的亲水性, 因此润湿性能有所变化。 $C_{18}TA$ 和 TA 润湿性较差而 $C_{14}TA$ 和 $C_{10}TA$ 则较好。尤其是 $C_{10}TA$ 具有较突出的润湿力, 在常温下即具有较好的润湿性能。

2.4 乳化力

分子中脂肪链的引入改善了分子的亲水亲油平衡, 有助于乳化力的提高。表 1 中, 乳化性能优劣顺

序为: $C_{10}TA > C_{14}TA > C_{18}TA > TA$ 。这一顺序与表面张力和润湿力一致。TA的乳化力明显不如改性的TA,表明分子中的疏水基对乳化力的影响是使乳化力增大。乳状液是热力学不稳定体系,加入表面活性剂,在降低表面张力的同时,在界面上形成对分散相液珠有保护作用的界面膜,使其相互碰撞时不易聚结。界面膜的形成与强度是乳状液稳定性的主要影响因素。本体系中,界面张力越低,乳化能力也就越大;越易形成胶束的分子结构,其乳化力越强。

2.5 样品对细菌的抑制率

物质的表面活性可显著影响细菌的生长繁殖,以及形态、革兰氏染色反应、运动性、芽孢形成与发展等^[7]。单宁酸本身具有抑菌活性,而酯化单宁酸又是一类具有降低表面张力效应的物质,因此将这类物质加入培养基中可以研究它们对微生物生长的影响。单宁酸分子中的酚羟基能与蛋白质结合具有收敛性,这一特性是单宁酸具有抑菌活性的主要原因之一。根据上述的结构分析,单宁酸和酯化单宁酸均具有酚羟基结构,但单宁酸分子中的酚羟基数目多于酯化单宁酸,从这一角度看,单宁酸应该具有更强的抑菌性;但另一方面,酯化单宁酸的部分酚羟基发生了酯化反应,具有表面活性,有利于透过菌体细胞膜而产生抑菌作用。

从图5和图6可以看出,TA, $C_{10}TA$, $C_{14}TA$ 和 $C_{18}TA$ 对大肠杆菌和枯草芽孢杆菌均有抑制作用。单宁酸对枯草芽孢杆菌的抑制作用强于酯化单宁酸,但对大肠杆菌的抑制作用弱于酯化单宁酸,其原因除了与样品结构不同有关外,还可从菌种细胞结构的差异加以解释。枯草芽孢杆菌属于革兰氏阳性细菌,其细胞壁主要由肽聚糖构成;而大肠杆菌为革兰氏阴性细菌,其细胞壁中脂类物质含量较多。因此单宁酸的亲水性使之更易透过枯草芽孢杆菌细胞壁,而酯化单宁酸的疏水性使之更易透过大肠杆菌的细胞壁。

结果表明本文所介绍的改性方法可以扩展单宁酸生物活性的多样性。

研究结果还表明,3种酯化单宁酸的抑菌顺序为 $C_{10}TA > C_{14}TA > C_{18}TA$ 。其结果恰好与3种物质的表面活性大小顺序吻合,说明样品的抑菌性确与表面活性有关,即表面活性越显著,其抑菌作用越明显。

3 结论

本研究利用单宁酸与脂肪酰氯反应,在适当的条件下制备了具有两亲结构的酯化单宁酸。结构分析表明,酯化单宁酸仍然保留了植物多酚的特征活性基团酚羟基,是一类具有表面活性的大分子化合物,因此在生物膜中的通透性增加,可能更利于其发挥生物学活性。

参考文献:

- [1] 陈箭鸿. 我国没食子单宁化学利用现状与展望[J]. 林产化学与工业, 2000, 20(2): 74-80.
- [2] 马志红, 王巧娥, 唐安斌, 等. 硬脂酰酯化单宁酸的合成及其抗氧化作用[J]. 精细化工, 2001, 18(11): 653-655.
- [3] 徐寿昌. 有机化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1993. 334.
- [4] 赵竹为, 朱灵炎. 精细化工实验[M]. 上海: 华东理工大学出版社, 1996. 151-152.
- [5] 毛培坤. 合成洗涤剂工业分析[M]. 北京: 轻工业出版社, 1990. 461-471.
- [6] 范秀容, 李广武, 沈萍. 微生物学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 1989. 133-140.
- [7] 武汉大学, 复旦大学生物系微生物学教研室. 微生物学(2版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 1987. 261.

表1 质量分数为0.1%时样品的乳化性能

样品 samples	乳化力 emulsifying property/s
对照 control	4
TA	110
$C_{10}TA$	122
$C_{14}TA$	117
$C_{18}TA$	115

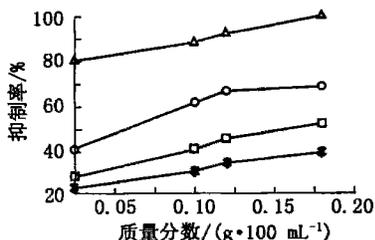


图5 样品对枯草芽孢杆菌的抑制率

Fig. 5 Inhibitory rate of samples on *B. subtilis*

—△—TA; —○— $C_{10}TA$;
—□— $C_{14}TA$; —×— $C_{18}TA$

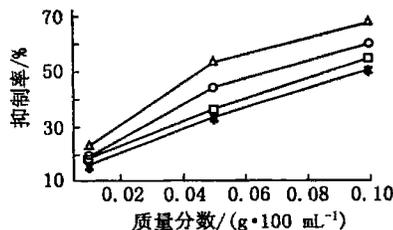


图6 样品对大肠杆菌的抑制率

Fig. 6 Inhibitory rate of samples on *E. coli*

—△— $C_{10}TA$; —○— $C_{14}TA$;
—□— $C_{18}TA$; —×—TA