

甘油酸的生产方法及其应用研究进展

范文利, 包欢新, 张焱 (天津市半导体技术研究所, 天津 300051)

摘要 以甘油酸的生产 and 应用为例, 总结了近年来国内外的研究进展, 针对我国生物柴油及其副产物——甘油的发展趋势, 分析了不同构型的甘油酸的生产方法和应用前景, 为社会完善甘油酸生产产业链, 提高甘油的生物利用率提供了参考。

关键词 甘油酸; 生产工艺; 生物活性

中图分类号 S-3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)36-0116-03

Research Progress on Production Methods and Practical Applications of Glyceric Acid

FAN Wen-li, BAO Huan-xin, ZHANG Yan (Tianjin Semiconductor Technology Research Institute, Tianjin 300051)

Abstract We took the production and applications of glyceric acid as an example, introduced the related research progresses at home and abroad, and summarized the production methods and applications prospects of glyceric acid with different configurations in allusion to the development tendency of biodiesel and its by-product (glycerinum), hoping to improve the production industry chain of glyceric acid and the bioavailability of glycerin.

Key words Glyceric acid; Production process; Biological activity

生物柴油是指利用生物油脂生产的生物燃料, 可以替代化石柴油, 主要成分为长链脂肪酸的单烷基酯。生物柴油与传统的化石柴油相比有很多的优越性, 不仅具有较高的安全性和良好的燃烧性能, 还可延长催化剂和发动机机油的使用寿命。最重要的是, 作为生物可降解的可再生能源, 生物柴油的使用将大幅度减少 CO₂ 的排放, 减缓温室效应, 生物柴油的硫和芳香烃含量较少, 可大大减小燃烧尾气毒性, 其对环境的影响远小于化石燃料。近十几年来, 生物柴油产业在各国发展很快, 主要应用国家包括美国和欧盟各国。在制备生物柴油的过程中, 每生产 10 t 生物柴油会副产约 1 t 的甘油。随着生物柴油的规模化生产, 副产甘油的有效利用已成为影响生物柴油企业发展的重要因素。研究发现甘油可通过现有的科技手段转化成为具有多种生物活性和实际应用价值的甘油酸。

甘油酸 (glyceric acid, 化学名 2,3 - dihydroxypropionic acid) 分子含有 3 个官能团, 化学性质活泼, 广泛参与聚合、缩合等化学反应, 是一种重要的化学合成的中间体和多功能试剂, 也是一种重要的甘油衍生物, 分为 D 型和 L 型, 由于体内酶种类的不同, 这 2 种异构体来源于体内不同的代谢过程, 而目前只发现 D - 甘油酸具有生物学活性^[1], 具有利尿、刺激肝组织再生、降胆固醇、加速体内乙醇和乙醛的氧化代谢等功能。当人体血液或者尿液中的其中一种异构体浓度异常将会引起不同类型的疾病^[2]。D - 甘油酸是一种重要的具有多种生物功能的甘油衍生物, 在化工合成及医药保健等行业中具有广泛的应用^[3]。而目前对 D - 甘油酸的生产方法主要有化学合成法、生物发酵法及生物转化法等^[4], 不同的生产方法对应的产品应用领域也各不相同, 利用该物质为原料合成手型化合物和药物以及类脂物质是目前研究的热点领域。虽然 D - 甘油酸及其衍生物有重要的生物学功能, 但

是现有的来源比较单一, D - 甘油酸主要来源于豆科植物蚕豆 (*Vicia faba* L.) 的叶、花、豆荚, 葡萄科植物葡萄 (*Vitis vinifera* L.) 的叶等, 产量很低, 价格昂贵, 市场售价高达 80 万元/t, 市场潜力巨大。

随着现代细胞工程、微生物工程及酶工程等生物科技的发展以及各种生物活性检测方法的完善, 关于 D - 甘油酸的生产应用及其相关活性的研究引起了人们的广泛关注。笔者综述了近几年国内外关于 D - 甘油酸的生产工艺及其相关的生物活性检测手段的研究进展, 以期对 D - 甘油酸的进一步研究与利用提供参考。

1 D - 甘油酸的生产方法

1.1 化学合成法 化学合成法是指通过一系列化学反应得到 1 种或多种产物的方法。合成通常表现为通过物理或化学方法操纵的 1 步或多步反应, 其实质是为了得到不同类型、不同性质的有机物, 而通过化学反应使有机物的碳链增长、缩短或在碳链上引入甚至调换各种官能团。近年来, 很多种类的已知明确结构的化合物均可通过化学合成的方法进行生产, 如番茄红素、香兰素、儿茶素以及一些类靶向抗肿瘤药物等, 可达到很高的纯度, 且生产量非常可观。

甘油是以天然油脂为原料生产柴油的副产物 (10%), 随着世界范围内柴油产量的提高, 甘油的高效利用成为了生物柴油产业迫切需要解决的难题^[5]。甘油的选择性氧化产物 D - 甘油酸是生化研究中的一种重要活性物质, 可用于肌肉生理学、制药工程和有机合成, 但由于其工业化生产方法的不健全以及化学合成的产物中将有 50% 的无活性的 L - 甘油酸, 分离难度很大, 且生产过程容易造成环境污染, 从而导致其市场价格一直较高^[6-7]。

1.2 微生物发酵法 微生物发酵法是生物工程的一个重要组成部分, 通过微生物对碳水化合物的发酵从而生产出各种工业溶剂和化工原料, 如酒精发酵过程中酿酒酵母利用葡萄糖、蔗糖或麦芽糖发酵生产出乙醇, 丙酮 - 丁醇发酵过程中糖丙酮 - 丁醇梭菌以糖蜜、纤维素水解液或亚硫酸纸浆废液等糖质为原料发酵进行生物化学反应生产丁醇等, 之后又将

基金项目 天津市科技计划项目 (15YFFCTG00090)。

作者简介 范文利 (1961—), 男, 天津人, 高级工程师, 从事分析化学和合成应用开发工作。

收稿日期 2017-11-03

微生物发酵应用于中药的炮制。

现代发酵过程研究表明,微生物菌群具有多种生物转化能力,如氧化、酯化、甲基化、羟基化、还原化等。中草药经发酵的产品不仅降低了用药成本,而且更具生物活性,服用后可被机体组织细胞迅速吸收,从而更好地发挥天然中草药的药效,达到祛病、健体、增强免疫调节的功能。近年来微生物发酵也被证实可利用于生产甘油酸,但也仅限于 D-甘油酸。

和化学合成法相比,利用微生物发酵生产 D-甘油酸,可以通过大规模发酵实现其工业化生产,从而降低 D-甘油酸生产成本,满足市场需要。微生物发酵法有着广阔的前景,但目前只有日本、德国等有微生物发酵生产 D-甘油酸的报道,且为实验室规模,产率较低,不能实现工业化生产。目前该法后期需要从发酵液中分离得到纯度较高的 D-甘油酸,但其生产效率有限,且使用过程中发酵液中的细胞常黏附于膜上,从而大大缩短了膜的使用寿命,限制了其实际应用。

1.3 生物转化法 生物转化是指利用生物体系多种酶催化作用对外源化学物进行特异性结构修饰,以获得有所需目的产物的化学反应过程^[8-9]。生物转化具有优良的化学、区域和立体选择性的优点,反应条件温和,转化率高、副产物少,能够进行传统有机合成难以进行的化学反应^[10],且生物转化产物被认为是环保、天然的^[11]。

据报道,一株弗托氏葡糖杆菌属的乙酸菌 NBRC103465 可将甘油转化成为甘油酸,其中 D-甘油酸含量可达 72%,另一株热带醋酸杆菌 NBRC16470 也可从含甘油的培养基中转化成为甘油酸,D-甘油酸含量达 99%^[12]。此外,还可以在生物转化过程中补加底物以及可能起着关键作用的各种中间产物,提高 D-甘油酸的产量并缩短发酵周期。生物合成过程中产物的反馈抑制会极大降低转化效率,因此,还需要利用特定的离子交换树脂作为吸附剂,用于转化过程中 D-甘油酸的富集并解除产物的反馈抑制作用。

利用生物转化方式生产自然界中缺少的物质是一个非常广阔的极具知识创新价值的研究领域,D-甘油酸的生物转化方法不仅具有丰富新颖的研究结果,而且在技术和工业上具有巨大应用开发潜力。自动发酵设备和现代检测分析的快速发展已经使人们对发酵生产和产物分析分离过程的监控成为可能。

2 D-甘油酸的生物活性

2.1 解酒保肝 在全世界范围内普遍存在酒精滥用问题,酒精中毒可严重损害人类身心健康,影响全身多组织器官,尤其是肝脏。人体长期饮酒或短期大量饮酒会造成乙醇在肝脏的过度累积,导致肝细胞发生脂肪变性、炎症和坏死等现象^[13],从而引发肝细胞损伤,导致肝脏病变,影响正常的生理功能,其发病机制与酒精代谢引发的氧化应激、线粒体损伤、肝细胞凋亡等密切相关^[14]。西方国家已开发出多种可以治疗酒精中毒的化学合成药物,但大多存在各种毒副作用;亚洲国家则偏向于天然药物的利用,从中草药中提取各种活性成分,作用于多靶点,通过多向调节达到解酒保肝的

目的。近年来,Eriksson 等^[15]发现 D-甘油酸可有效加速大鼠体内乙醇的氧化,减小乙醇对机体的损伤,Hebe 等^[16]将不同的甘油酸钙盐与一定浓度的乙醇处理过的人胃癌细胞共培养时发现,2 种甘油酸的混合物比任何 1 种表现出更强的体外抵抗酒精损伤的能力。

2.2 降低胆固醇 胆固醇又称胆甾醇,是一种环戊烷多氢菲的衍生物,有来自膳食中和自身肝脏合成两部分组成,广泛存在于大脑及神经组织中,同时在肾、脾、皮肤、肝和胆汁中含量也高。胆固醇在动物体内不能被完全氧化分解为机体提供能量,而是主要参与细胞膜、胆汁酸,维生素 D 以及甾体激素的生成,在物质代谢和酶促反应方面发挥重要作用,同时可在血液中参与运输胆固醇酯和甘油三酯。但低密度胆固醇的偏高会增加冠心病的危险性,而高密度胆固醇能把周围组织(如巨噬细胞),包括动脉粥样硬化斑块内的胆固醇与磷脂转移到肝脏,经胆汁排出体外,此外还具有抗氧化、抗炎症、改善血管内皮功能和抑制血栓形成等作用^[17]。目前已有一些化学药物可快速降低体内血清胆固醇水平,但通常伴随着较明显的副作用,且长期服用成本高,易反复。Handa 等^[18]研究发现甘油酸也同样具有降低低密度胆固醇的作用,且无明显的副作用。

2.3 利尿 肾脏和膀胱方面的疾病会引起排尿困难、全日总尿量减少等的症状。目前对该类症状进行治疗时以通利小便为主,辅以滋补脾肾,并在保持食物营养的原则下,饮食以清淡为主,且需给予充分的热量以节约蛋白质的利用,从而减轻肾脏的负担,同时还补充足量维生素,适量增加饮水量,以调节体内的酸碱平衡,注意休息。在长期的临床应用中,车前子和车前草等药材常被用于治疗水肿胀满、热淋涩痛等症,可有效促进 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 排泄。D-甘油酸具有利尿的功能。

3 L-甘油酸的研究进展

研究发现很多菌株可大量生产 D-甘油酸,然而目前 L-甘油酸并不能通过微生物从原料(如甘油)中生产^[19],但可通过化学合成的方式获得。近年来,L-甘油酸已经成为磷脂酰胆碱类似物基因和光学纯 L-己糖等附加化学品的主要原料^[20-21],而 L-己糖是几种生物活性低聚糖、抗生素、糖肽、萜烯苷、类固醇糖苷及多种临床药物的关键成分^[22]。大多数的糖类化合物以右旋(D-)的形式在自然界存在,且经常用于合成复杂的天然产物,相比之下,相应的左旋化合物(L-)在自然界十分罕见,价格昂贵。因此,左旋化合物在有机化学中的应用受到了很大限制。

研究表明,以 L-甘油酸为原料合成的其他对映体纯化学物质可能在许多化学、药理学和生物学应用中发挥重要作用。尽管 L-甘油酸具有潜在的重要性,但其生产成本依然较高,目前可采用的生产方法主要还是化学合成和微生物转化法^[19]。但这些方法生产的甘油酸为 2 种构型的混合物,需要根据特性进行分离。

4 展望

生物柴油已经成为我国对可再生资源的研究热点,因而

目前对作为生物柴油的副产物——甘油的有效利用也需投入大量的研究,使生物柴油行业的综合利用率提高,经济效益得到提升。以生物柴油副产物——粗甘油为原料,利用先进的技术将其转化为高附加值 D-甘油酸,不仅可以解决目前 D-甘油酸生产成本过高、产量较低的问题,而且可以带动以 D-甘油酸为中间体的其他生物产品的发展,形成一条完善的产业链,而转化的 L-甘油酸也同样可在许多化学、药理学和生物学应用中发挥重要作用。

参考文献

- [1] HABE H, FUKUOKA T, KITAMOTO D, et al. Biotransformation of glycerol to D-glyceric acid by *Acetobacter tropicalis* [J]. Applied microbiology and biotechnology, 2009, 81(6): 1033-1039.
- [2] STEFAN R I, NEJEM R M. Enantioanalysis of glyceric acid using enantioselective, potentiometric membrane electrodes: Applications for the diagnosis of PH II and d-glyceric acidemia/acidurias [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2005, 106(2): 736-740.
- [3] 王宝贝, 蒲洋, 林丽芹, 等. 离子交换树脂对 D-甘油酸的吸附热力学和动力学 [J]. 化工学报, 2016, 67(11): 4671-4677.
- [4] 方亚坤, 靳魁奇, 刘宇鹏. 离子排斥色谱法分析发酵液中甘油酸等代谢产物 [J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(7): 171-174.
- [5] 王晓丽, 吴功德, 刘胤锋, 等. 负载型纳米 Au/Cr₂O₃ 催化甘油氧化合成甘油酸 [J/OL]. 分子催化, 2017, 31(4): 1-7 [2017-09-18]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/62.1039.06.20170918.1330.006.html>.
- [6] XI Y Z, DAVIS R J. Glycerol-intercalated Mg-Al hydroxalite as a potential solid base catalyst for transesterification [J]. Clay & clay minerals, 2010, 58(58): 475-485.
- [7] ZHOU C H, BELTRAMINI J B, FAN Y X, et al. Chemoselective catalytic conversion of glycerol as a biorenewable source to valuable commodity chemicals [J]. Cheminform, 2008, 37: 527-549.
- [8] LAVADO R, SCHLENK D. Microsomal biotransformation of chlorpyrifos, parathion and fenthion in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*): Mechanistic insights into interspecific differences in toxicity [J]. Aquatic toxicology, 2011, 101(1): 57-63.
- [9] MA B P, BING F, HUANG H Z, et al. Biotransformation of Chinese herbs and their ingredients [J]. World science and technology, 2010, 12(2): 150-154.

- [10] 崔莉, 孙娥, 陈玲玲, 等. 生物转化在黄酮类化合物中的研究与应用 [J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(3): 764-767.
- [11] XU P, HUA D L, MA C Q. Microbial transformation of propenylbenzenes for natural flavour production [J]. Trends in biotechnology, 2007, 25(12): 571-576.
- [12] HABE H, SHIMADA Y, YAKUSHI T, et al. Microbial production of glyceric acid, an organic acid that can be mass produced from glycerol [J]. Applied & environmental microbiology, 2009, 75(24): 7760-7766.
- [13] YIN H Q, CHOI Y J, KIM Y C, et al. *Salvia miltiorrhiza* Bunge and its active component cryptotanshinone protects primary cultured rat hepatocytes from acute ethanol-induced cytotoxicity and fatty infiltration [J]. Food and chemical toxicology, 2009, 47(1): 98-103.
- [14] SONG Z, DEACIUC I, SONG M, et al. Silymarin protects against acute ethanol-induced hepatotoxicity in mice [J]. Alcoholism, 2006, 30(3): 407-413.
- [15] ERIKSSON C J P, SAARENMAA T P S, BYKOV I L, et al. Acceleration of ethanol and acetaldehyde oxidation by d-glycerate in rats [J]. Metabolism, 2007, 56(7): 895-898.
- [16] HABE H, SATO S, FUKUOKA T, et al. Effect of glyceric acid calcium salt on the viability of ethanol-dosed gastric cells [J]. Journal of oleo science, 2011, 60(11): 585-590.
- [17] 佚名. 治疗高密度脂蛋白胆固醇减低的老方法与新思路 [J]. 高血压杂志, 2005, 13(9): 523-525.
- [18] HANDA S S, SHARMA A, CHAKRABORTI K K. Natural products and plants as liver protecting drugs [J]. Fitoterapia, 1986, 57(5): 307-351.
- [19] SATO S, MORITA T, FUKUOKA T, et al. Microbial resolution of DL-glyceric acid for L-glyceric acid production with newly isolated bacterial strains [J]. J Biosci Bioeng, 2015, 119(5): 554-557.
- [20] ROSSETO R, TCACENCO C M, RANGANATHAN R, et al. Synthesis of phosphatidylcholine analogues derived from glyceric acid: A new class of biologically active phospholipid compounds [J]. Tetrahedron letters, 2008, 49(21): 3500-3503.
- [21] GUARAGNA A, D'ALONZO D, PAOLELLA C, et al. Highly stereoselective de novo synthesis of L-hexoses [J]. Journal of organic chemistry, 2010, 75(11): 3558-3568.
- [22] LEE J C, CHANG S W, LIAO C C, et al. From D-glucose to biologically potent L-hexose derivatives: Synthesis of alpha-L-iduronidase fluorogenic detector and the disaccharide moieties of bleomycin A2 and heparan sulfate [J]. Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany), 2004, 10(2): 399-415.

(上接第 101 页)

- [6] 吕军, 文庭池, 郭坤亮, 等. 酒糟生物有机肥和微生物菌剂对土壤微生物数量及高粱产量的影响 [J]. 农业现代化研究, 2013, 34(4): 502-506.
- [7] 王婧, 逢焕成, 李玉义, 等. 微生物菌肥对盐渍土壤微生物区系和食葵产量的影响 [J]. 农业环境保护, 2012, 31(11): 2186-2191.
- [8] PIKOVSKAYA R I. Mobilization of phosphorus in soil connection with the vital activity of some microbial species [J]. Microbiologiya, 1948, 17: 362-370.
- [9] ZHANG H H, TANG M, CHEN H, et al. Effects of inoculation with ectomycorrhizal fungion microbial biomass and bacterial functional diversity in the rhizosphere of *Pinus tabulaeformis* seedlings [J]. European journal of soil biology, 2010, 46(1): 55-61.
- [10] 魏玉奎, 李新平, 刘瑞丰, 等. 设施农业土壤磷素富集的动态变化 [J]. 干旱地区农业研究, 2011, 29(1): 126-131.
- [11] 余海英, 李廷轩, 周健民. 设施土壤次生盐渍化及其对土壤性质的影

响 [J]. 土壤, 2005, 37(6): 581-586.

- [12] 张志刚, 董春娟, 高苹, 等. 蔬菜残株、生物菌肥施用下日光温室辣椒土壤微生物学特征 [J]. 植物营养与肥料学报, 2011, 17(3): 710-717.
- [13] 陈波浪, 吴海华, 罗佳, 等. 土壤速效磷浓度对立架甜瓜生物量和磷素累积特征的影响 [J]. 干旱地区农业研究, 2016, 34(4): 153-158.
- [14] 曹恩琿, 侯宪文, 李光义, 等. 复合菌剂对盆栽番茄土壤理化性质及微生物活性的影响 [J]. 生态环境学报, 2011, 20(5): 875-880.
- [15] 邓志平, 陶丽, 李伟群, 等. 微生物菌剂·沼液及其复配对蔬菜品质和产量的影响 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39(16): 9683-9686.
- [16] 李萍萍. 设施园艺中的土壤生态问题分析及清洁生产对策 [J]. 农业工程学报, 2011, 27(2): 346-351.
- [17] 李彦超, 廖新弟, 林东教, 等. 不同沼液灌溉强度对土壤和渗滤液的影响 [J]. 家畜生态学报, 2009, 30(4): 52-56.
- [18] 刘浩, 苏存录, 代国鹏, 等. 生物菌肥对连作芹菜根际土壤酶活性影响的研究 [J]. 宁夏农林科技, 2016, 57(4): 27-28.

科技论文写作规范——工作单位

在圆括号内书写作者的工作单位(用全称)、城市名及邮政编码。若为外国的工作单位,则加国名。多个作者不同工作单位时,在名字的右上角分别加注“1”“2”,和地址前注“1.”“2.”。