

苹果酸工艺学

PINGGUOSUAN GONGYIXUE

胡永红 欧阳平凯 著

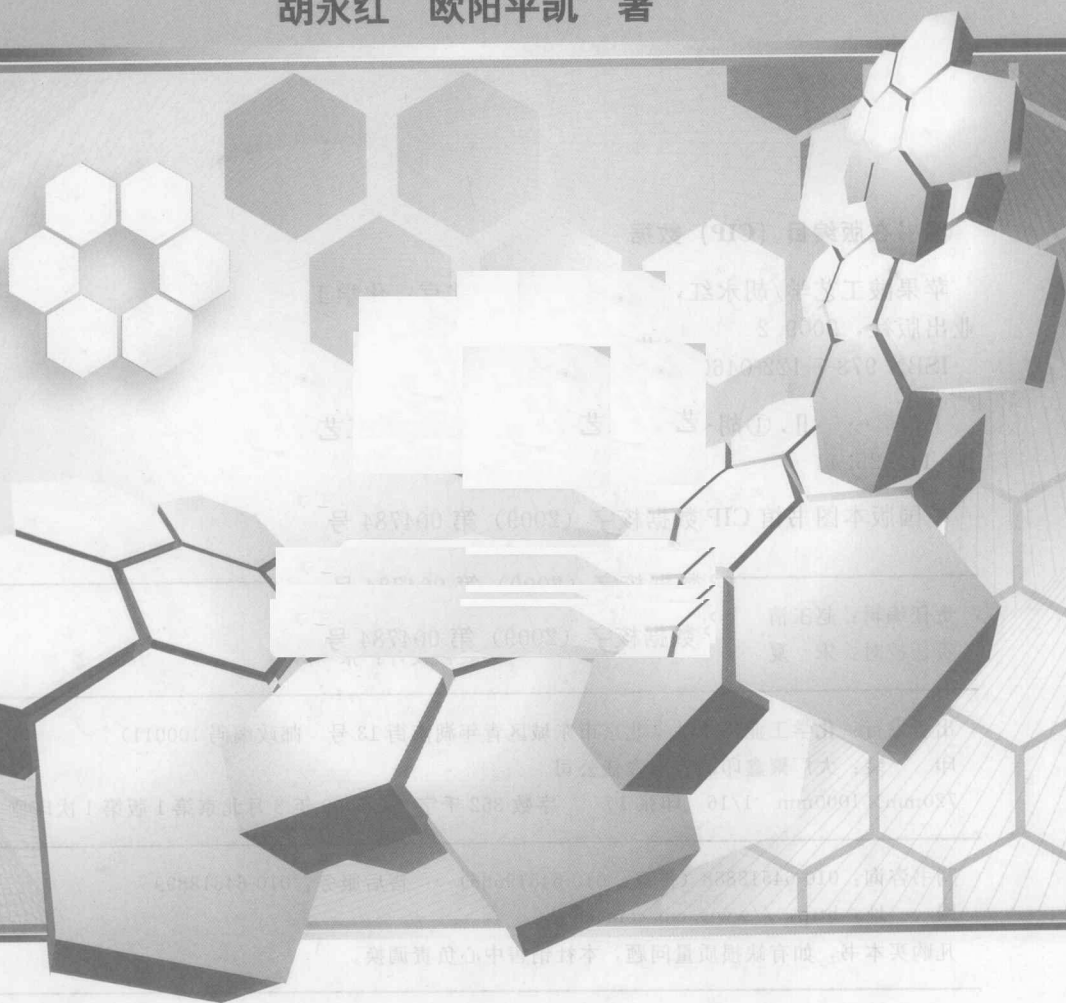


化学工业出版社

苹果酸工艺学

PINGGUOSUAN GONGYIXUE

胡永红 欧阳平凯 著



化学工业出版社

· 北京 ·

定价：49.00元

本书简要介绍苹果酸的理化性质、用途,苹果酸生产路线的发展历程和产业化概况,并通过研究实例分别介绍发酵法生产 L-苹果酸、固定化法生产 L-苹果酸以及过程集成技术在 L-苹果酸生产中的应用,全面系统地介绍了 L-苹果酸的工业化生产技术尤其是反应与分离耦合技术;此外还着重介绍了 L-苹果酸的分离提取工艺及相关设备。最后简要介绍了 DL-苹果酸的生产工艺和 D-苹果酸的制备工艺,苹果酸的质量检验方法及标准以及 L-苹果酸的衍生物性质及其工业应用。

本书可供从事苹果酸生产、科研和教学的技术人员、研究人员以及大中专高校师生作为参考书使用。

图书在版编目 (CIP) 数据

苹果酸工艺学/胡永红,欧阳平凯著. —北京:化学工业出版社, 2009. 2

ISBN 978-7-122-04601-4

I. 苹… II. ①胡…②欧… III. 苹果酸-生产工艺
IV. TQ225. 41

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 004784 号

责任编辑:赵玉清

文字编辑:张春娥

责任校对:宋 夏

装帧设计:张 辉

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 装:大厂聚鑫印刷有限责任公司

720mm×1000mm 1/16 印张 17 字数 352 千字 2009 年 8 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询:010-64518888 (传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价:49.00 元

版权所有 违者必究

序

苹果酸是一种非常重要的有机酸，广泛应用于化工、食品及医药工业等领域，在食品业中，L-苹果酸已成为目前用量最大的有机酸之一，且有逐渐代替柠檬酸的势头。近年来，国内外在研究、开发和应用苹果酸方面均取得明显进展。

以欧阳平凯院士为代表的团队在反应分离耦合技术生产苹果酸方面有重大突破，先后获得化工部科技进步一等奖、国家科技进步一等奖及杜邦科技创新奖，并将技术成果成功产业化。欧阳平凯院士领导的团队优秀、团结、进取，欧阳教授率领的生化工程技术研究中心在产业化、工程化上已形成了学科优势，在工业界树立了良好声誉。时至今日，该团队研发的气升式等系列高效生物反应器、生物分离等单元操作装置已率先形成了批量生产与工程配套能力，这些成果的产业化已遍及我国 10 多个省市，在一定程度上促进了生物技术生产专用化学品新领域的发展。胡永红作为欧阳平凯院士的学生，其科研能力非常强，由她主持的“反应分离耦合技术生产 L-苹果酸”项目实现了 1000t 规模的工业化生产，该企业生产的 L-苹果酸远销世界各地。设计的生物反应与分离耦合装置不仅适应于 L-苹果酸工业化生产而且成功用于多个生物产品的产业化生产，真正实现了一套装置多个产品的共享，为企业创造了良好的经济效益。目前胡永红作为课题组长独立承担着国家 863 项目、江苏省科技支撑项目及多个企业合作项目，在产业化方面积累了丰富的经验。

欧阳平凯院士和胡永红教授在苹果酸生产方面的经验有十余年，工艺较成熟，当发现国内目前尚没有一本系统的总结近几十年来苹果酸生产技术所取得的进步的书籍，便萌生了出书给国内的同行们作参考的想法，并请我作序。他们结合自己的科研和生产经验，为广大科研工作者精心准备了一份大餐。通过撰写这本书，与大家分享自己的经验，是非常有社会价值的。

该书将基础理论与实用技术相结合，补充了很多研究实例，侧重于实用性，将工程应用思想贯彻全书，以技术发展为主线向读者呈现苹果酸工艺，新颖、系统性强。不仅适用于有机酸生产相关领域的技术人员，也适用于大中专院校相关专业的师生们。我非常乐意为此书作序，因为他们是在进行资源共享，是为我国苹果酸产业及有机酸产业的发展作贡献。我坚信，本书的出版必将对提高我国有机酸生产水平发挥积极作用，从而促进我国有机酸工业的发展。

杨胜利
2009年1月

前 言

苹果酸是一种非常重要的有机酸，具有旋光性，存在 L-苹果酸和 D-苹果酸两个手性对映体。其中 L-苹果酸作为三羧酸循环和乙醛酸循环中的一种成分，在生命体的代谢调控中起着枢纽作用，而 D-苹果酸是一种极其重要的四碳有机手性源，长期以来它们在化工、食品及医药工业等领域均有着广泛的用途。目前苹果酸在国际市场需求量持续保持增长。在食品业中，L-苹果酸已成为目前用量最大的有机酸之一。

近年来，国内外在研究、开发和应用苹果酸方面取得了重大发展，苹果酸工业正成为一个朝气蓬勃的新兴有机酸工业体系。而目前国内尚缺乏一些系统的书籍来总结近几十年来苹果酸生产技术所取得的进步，这也是笔者着手撰写本书的出发点。为全面系统地介绍苹果酸生产技术的研究成果、先进工艺及实用技术，加强本书的实用性，笔者参照国内外近几十年来的发展成果，并结合自己在 L-苹果酸生产方面的研究经验和实践体会，撰写此书，以供从事苹果酸生产、科研和教学的同行们参考，为我国苹果酸生产技术的发展尽绵薄之力。

本书简要介绍苹果酸的理化性质、用途，苹果酸生产路线的发展历程和产业化概况，通过研究实例分别介绍了发酵法生产 L-苹果酸、固定化法生产 L-苹果酸以及过程集成技术在 L-苹果酸生产中的应用，全面系统地将 L-苹果酸的工业化生产技术尤其是将反应分离耦合技术介绍给读者；此外还着重介绍 L-苹果酸的分离提取工艺及相关设备。最后简要介绍了 DL-苹果酸的生产工艺和 D-苹果酸的制备工艺，苹果酸的质量检验方法及标准，以及 L-苹果酸的衍生物性质及其工业应用。希望能够通过各种实例加深读者对苹果酸生产过程的认识。

在本书成书过程中，管珺、杨文革、陈晓、王丹丹、李玲、陈林、雷子瑜、郑小菊、付珊等人此书收集资料，协助绘图、排版等，谨此致谢。

由于现代生物技术发展迅速，加上笔者水平有限，不妥之处恳请读者批评指正，不胜感激！

编 者
2009 年 5 月
于南京工业大学

目 录

第 1 章 绪论	1	2.4.1 灭菌与空气净化	59
1.1 苹果酸的发展历程	1	2.4.2 杂菌的检查与防治	69
1.2 苹果酸的理化性质	3	2.4.3 噬菌体的检查与防治	71
1.2.1 苹果酸的物理性质	3	2.5 苹果酸发酵生产设备	72
1.2.2 苹果酸的化学性质	5	2.5.1 机械搅拌通风发酵罐	73
1.3 苹果酸的生理特点	7	2.5.2 气升式发酵罐	75
1.4 苹果酸的应用	9	2.5.3 自吸式发酵罐	76
1.4.1 医药工业方面的应用	10	参考文献	78
1.4.2 食品工业方面的应用	10	第 3 章 固定化法生产 L-苹果酸	80
1.4.3 日用化工方面的应用	11	3.1 固定化方法	80
1.5 苹果酸的生产途径	12	3.1.1 吸附法	81
1.5.1 直接提取法	12	3.1.2 共价结合法	81
1.5.2 化学合成法	12	3.1.3 交联法	82
1.5.3 微生物发酵法	13	3.1.4 包埋法	83
1.5.4 固定化酶与固定化细胞转		3.1.5 膜间隔包埋法	85
化法	15	3.1.6 絮凝固定化技术	86
1.5.5 集成技术生产苹果酸	18	3.1.7 组合固定化技术	87
参考文献	21	3.2 细胞固定化载体材料	90
第 2 章 微生物发酵法生产 L-苹果酸	24	3.2.1 天然高分子材料	90
2.1 L-苹果酸发酵机理	24	3.2.2 合成高分子材料	93
2.2 L-苹果酸发酵微生物	27	3.2.3 传统载体材料的改性	94
2.2.1 L-苹果酸生产菌的主要		3.2.4 仿生膜的制备及改性研究	94
特征	27	3.3 固定化细胞菌株的筛选和	
2.2.2 菌种的保藏	32	培养	100
2.2.3 菌种的退化预防、复壮与		3.3.1 延胡索酸酶产生菌的	
活化	36	筛选	101
2.2.4 诱变育种及实例	38	3.3.2 培养条件对延胡索酸酶产生	
2.2.5 菌种扩大培养	41	菌发酵的影响	104
2.3 L-苹果酸发酵工艺	43	3.3.3 反应器条件的优化及发酵条	
2.3.1 直接发酵工艺	43	件的	107
2.3.2 两步发酵工艺	52	3.3.4 菌株在不同发酵罐中生长动	
2.3.3 酶转化法	54	力学的比较	111
2.3.4 其他发酵方法	58	3.4 延胡索酸酶的性质	112
2.4 发酵过程中灭菌技术及染菌的		3.4.1 延胡索酸酶的作用机理	112
防治	59	3.4.2 延胡索酸酶的结构	114
		3.5 固定化细胞法生产 L-苹果酸	116
		3.5.1 表面活性剂对产延胡索酸酶	

细胞的影响	117
3.5.2 不同处理方法对菌体延胡索 酸酶活力的影响	118
3.5.3 富马酸钠转化体系下的转化 反应	123
3.5.4 富马酸铵转化体系下的转化 反应	125
3.6 固定化细胞生物反应器	128
3.6.1 搅拌罐式反应器	128
3.6.2 鼓泡塔式反应器	128
3.6.3 填充床反应器	129
3.6.4 流化床反应器	129
3.6.5 膜反应器	130
参考文献	132
第4章 集成技术生产 L-苹果酸	135
4.1 反应与反应耦合技术生产 L-苹 果酸	137
4.1.1 反应与反应耦合技术生产 L-苹果酸原理	137
4.1.2 反应与反应耦合技术与传统 反应工艺的比较	137
4.1.3 反应与反应耦合过程中的影 响因素	139
4.1.4 富马酸铵转化体系中固定化 细胞反应动力学研究	141
4.1.5 残留富马酸铵反应生成 L-天 冬氨酸动力学研究	145
4.2 反应与分离耦合技术生产 L-苹 果酸	147
4.2.1 反应与分离耦合技术及其 应用	147
4.2.2 反应与分离耦合技术生产 L-苹果酸原理	150
4.2.3 反应与分离耦合技术路线与 固定化细胞生产工艺的 比较	151
4.2.4 反应与分离耦合反应的影响 因素	151
4.2.5 富马酸钙与苹果酸钙的溶解 动力学研究	153
4.2.6 反应与分离耦合过程中游离细胞 中延胡索酸酶反应动力学	156

参考文献	159
第5章 L-苹果酸的提取、精制与 干燥	162
5.1 提取工艺	162
5.1.1 盐酸酸化法	162
5.1.2 钙盐转晶工艺	163
5.2 中和	164
5.2.1 中和原理	164
5.2.2 中和工艺流程	165
5.2.3 中和主要设备	165
5.3 过滤	167
5.3.1 影响过滤的因素	167
5.3.2 过滤操作类型	167
5.3.3 过滤设备	167
5.4 酸解	170
5.4.1 酸解原理	170
5.4.2 酸解工艺流程	171
5.4.3 酸解主要设备	172
5.4.4 酸解操作规程	173
5.5 苹果酸溶液的净化	174
5.5.1 吸附净化原理	174
5.5.2 离子交换净化原理	176
5.5.3 净化工艺流程	179
5.5.4 净化设备及材料	180
5.5.5 净化操作规程	181
5.5.6 注意事项	182
5.6 浓缩	183
5.6.1 蒸发流程	184
5.6.2 蒸发设备	185
5.6.3 操作规程	187
5.6.4 注意事项	187
5.7 结晶	187
5.7.1 苹果酸结晶理论	188
5.7.2 工艺流程	192
5.7.3 结晶主要设备	192
5.8 干燥与包装	196
5.8.1 干燥操作原理	196
5.8.2 干燥设备	196
5.8.3 苹果酸干燥操作规程	200
5.8.4 干燥操作的要点	200
5.9 其他提取方法	201
5.9.1 络合萃取法	201

5.9.2 电渗析技术	203	8.1.9 富马酸和马来酸含量的 测定	232
参考文献	205	8.1.10 硫酸盐测定	233
第6章 DL-苹果酸的生产工艺	206	8.1.11 铁盐测定	233
6.1 DL-苹果酸的合成方法	206	8.1.12 氯化物测定	234
6.2 生产路线及评价	207	8.1.13 pH的测定	234
6.3 生产路线的发展	209	8.2 产品质量标准	234
6.3.1 微波法制备苹果酸	210	参考文献	235
6.3.2 顺丁烯二酸酐水合制成 DL-苹果酸	210	第9章 苹果酸衍生物及其工业 应用	236
参考文献	211	9.1 L-苹果酸脲	236
第7章 D-苹果酸制备工艺	213	9.1.1 L-苹果酸脲晶体的制备	237
7.1 不对称合成法	213	9.1.2 L-苹果酸脲的晶体生长 研究	238
7.2 DL-苹果酸拆分法	215	9.1.3 L-苹果酸脲晶体的二次 谐波 (SHG) 效应	241
7.2.1 物理拆分法	215	9.1.4 L-苹果酸脲分析	242
7.2.2 化学拆分法	216	9.1.5 L-苹果酸脲薄膜制备	245
7.2.3 微生物拆分法	216	9.2 L-苹果酸铵	246
7.2.4 酶拆分法	217	9.3 L-苹果酸钾	246
7.2.5 基因工程方法在拆分 DL- 苹果酸中的应用	218	9.4 氨基酸-苹果酸复合盐	247
7.3 生物转化法	219	9.4.1 L-组氨酸-苹果酸氢盐	247
7.3.1 马来酸水合酶转化法	219	9.4.2 L-瓜氨酸-苹果酸	247
7.3.2 反应与分离耦合技术生产 D-苹果酸	220	9.5 苹果酸金属络合物	248
参考文献	226	9.6 聚苹果酸的结构及性质	248
第8章 苹果酸的质量检验和 标准	228	9.6.1 聚苹果酸的结构	248
8.1 产品质量检验	228	9.6.2 聚苹果酸的制备方法	250
8.1.1 外观性状	228	9.6.3 聚苹果酸的应用	253
8.1.2 含量检验	228	9.7 营养强化剂——柠檬酸苹果酸钙 螯合物及苹果酸钙	254
8.1.3 熔点测定	231	9.7.1 柠檬酸苹果酸钙螯合物	254
8.1.4 比旋光度测定	232	9.7.2 苹果酸钙	255
8.1.5 灼烧残渣	232	9.8 苹果酸酯	255
8.1.6 水不溶物	232	9.9 荧光增白剂 DT	257
8.1.7 重金属的测定	232	参考文献	259
8.1.8 砷盐的测定	232		

第1章 绪 论

1.1 苹果酸的发展历程

苹果酸是非常重要的有机酸之一，广泛地应用于化工、食品及医药工业等领域。因其分子结构中含有一个不对称碳原子，所以具有旋光性，即存在 L-苹果酸和 D-苹果酸两个手性对映体（图 1-1）。L-苹果酸呈左旋，常以 L(-) 或符号 S 表示，广泛存在于生物体中，作为三羧酸循环的一员参与细胞代谢；D-苹果酸呈右旋，常以 D(+) 或符号 R 表示，人体不易代谢，吸入或吞咽其对人体有害，作为手性合成的手性源，可以合成许多重要的有机化合物；等量 L-苹果酸和 D-苹果酸的混合物为外消旋体 DL-苹果酸，在化学工业方面用途广泛。

早在 1928 年，Yuill 就报道在培养黄曲霉时有少量苹果酸伴随琥珀酸和富马酸产生^[1,2]。随后世界各国陆续开展了对苹果酸的研究，日本从 1959 年开始迄今从未中断过对菌种直接发酵淀粉（或糖质）一步转化为 L-苹果酸的研究，并于 20 世纪五六十年代取得了较大突破。除日本外，泰国、以色列等国也有报道采用葡萄糖、淀粉水解糖发酵来生产 L-苹果酸的。我

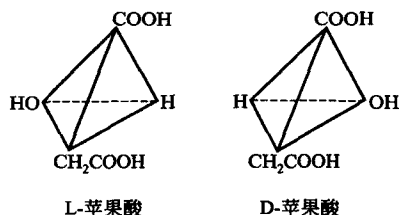


图 1-1 苹果酸对映体立体结构

国已见报道的进行发酵生产 L-苹果酸的单位有无锡轻工业大学（现为江南大学）、山西省生物研究所、福建师范大学、广东微生物研究所、山东食品发酵工业研究设计院、华侨大学和南通大学等。金其荣教授^[3]建议采取类似我国的柠檬酸发酵工艺，使用单一纯菌种一步法直接发酵淀粉（或糖质原料），并于 1986 年通过了技术鉴定。山西省生物研究所^[4]利用筛选的无根根霉 R25 和普通变形杆菌 P1 混合发酵生成 L-苹果酸，曾经于 20 世纪 80 年代末期在南通发酵厂进行中试，当时建成了 800t 规模的 L-苹果酸车间并列国家计划，准备投入大生产，后因发酵时间长、产酸率低以及成本高等诸多原因，无法与固定化细胞及酶转化法相比而搁浅。由于发酵法生产 L-苹果酸培养时间长、能耗大、产酸率低，糖的利用率不高，所以很难实现工业化生产，更谈不上与化学合成法生产 DL-苹果酸的竞争了。但由于发酵法生产苹果酸理论生产率高，发展潜力大，一些高校及科研机构仍然一直在对 L-苹果酸的发酵进行着研究。

20 世纪 60 年代初，英美等国开始采用化学合成法生产 DL-苹果酸。1963 年美国 DL-苹果酸的产量为 453.6t，到 1965 年在西弗吉尼亚（West Virginia）建厂年产 900t DL-苹果酸。1965 年英国在维德莱斯（Widness）建厂，年产 DL-苹果酸

1000t。日本 1965 年建成两个工厂，年产 DL-苹果酸 700t。我国于 1967 年在东北制药总厂进行 DL-苹果酸试制工作，后因反应釜严重腐蚀，每年需更换一次，于 1974 年停产。之后于 80 年代中期兴起 L-苹果酸的研究开发热潮，1985 年河北黄骅县津福化工厂建成年产 100t 的 DL-苹果酸车间，90 年代六合化工厂建成了年产 300t 的 DL-苹果酸车间。

除化学合成法实现了 DL-苹果酸的工业化生产外，固定化酶和固定化细胞转化法也实现了 L-苹果酸的工业化生产。L-苹果酸的固定化酶、固定化细胞法生产始于日本，千佃一郎等^[5~10]以延胡索酸酶或富含该酶的微生物细胞作为催化剂，将非手性的富马酸专一地转化为 L-苹果酸。当时，菌体培养时间长、能耗高且单位菌体的酶活力低，并且菌体收集需要高速离心设备，投资也很大。1974 年，日本田边制药公司首先采用固定化细胞技术对其进行连续生产，并获得成功^[11]。

20 世纪 80 年代以来，我国科研人员在产酶菌株选育、固定化材料及 L-苹果酸提取方法上均取得很大进展，使得酶转化法生产成本低于日本。中科院微生物研究所、中国药科大学、大连轻工业学院、浙江工业大学以及南京工业大学（原南京化工学院）是国内从事 L-苹果酸研究与开发较早的科研单位。

90 年代初受外贸需求的刺激与推动，我国掀起了 L-苹果酸的生产热潮，先后有近 20 家企业建成大小不等的生产装置，总生产能力达到每年 10000t 以上。并于 1985 年至 1993 年间建成了一批年产 300~2000t 规模的 L-苹果酸生产厂家，如南京药械厂、江苏六合第一化工厂、常州曙光化工厂及当时国内最大的生产厂深圳南头新元实业有限公司南国生化厂等数十家工厂。采用固定化细胞技术生产 L-苹果酸的工业平均转化率为 70%~80%，尚有 20%~30%富马酸残留^[2,5,12~20]，反应液中 L-苹果酸的含量较低，仅为 100~120 g/L，L-苹果酸转化液需进行多步分离纯化方能获得合格的 L-苹果酸，从而造成分离成本高。

以固定化细胞法生产 L-苹果酸的方法较提取法和发酵法有着明显的优势，且实现了工业化，但过高的生产成本阻碍了其工业化进程。针对此问题，南京工业大学率先在国内开展了苹果酸手性合成新技术的研究，建立了新的固定化细胞生产手性苹果酸工艺流程，并且创新地采用集成技术，集反应过程和产物分离过程于一体，通过物理化学或生物学分离方法使高浓度的产物从发酵体系中分离出来，消除了高浓度有机酸对微生物菌体生长和体内酶活力的抑制作用，实现了高浓度底物的发酵，转化效率高，底物富马酸残留量少，降低了产物分离能耗，简化了产物分离过程。产品的各项指标均符合美国药典要求，生产成本基本与化学合成法制得的 DL-苹果酸相当。而以该项工作为主的多项工作先后获得了国家科技进步一等奖、江苏省科技进步二等奖、化工部科技进步一等奖及杜邦科技创新奖等。目前，反应与分离耦合技术已成功应用到 L-苹果酸的工业化生产中，设计的生物反应与分离耦合装置还成功地应用于多个生物产品的产业化生产中，实现了一套装置多个产品的共享。

鉴于苹果酸在有机酸工业中的重要地位和作用，国际市场对苹果酸的需求量快速增加，近年来需求量一直以年均 10%左右的高速度增长和保持。由于 D-苹果酸

可生化代谢性差,美国食品与药物管理局(FDA)已开始限制 DL-苹果酸在老年人、肝肾功能障碍患者和儿童食品中的使用,而 L-苹果酸在医药、食品、洗涤、材料等领域的开发与应用极大地促进了 L-苹果酸的消费与发展。苹果酸主要生产国有美国、加拿大、日本等,世界总产量每年约为 10 万吨,其中 L-苹果酸产量每年约为 4 万吨,世界市场潜在需求量达到每年 6 万吨,可见其市场发展空间之大。

目前苹果酸在日本的市场规模较大,约为 6000t/年以上,同时,在日本苹果酸作为酸味剂复配制剂的原料约为 4000t/年。美国是世界上主要的 L-苹果酸生产国,年产量超过 8000t,目前仍要从日本进口相当数量的产品以满足国内的需求。日本是世界主要的 L-苹果酸生产国与出口国,主要生产厂家有川崎化学公司、扶桑化学公司、协和发酵公司和三菱化学公司等,还有最早采用酶工程技术生产 L-苹果酸的田边制药公司,这几家企业的生产能力接近世界总生产能力的一半,并且随着 L-苹果酸市场形势的好转还有扩大生产规模的趋势。其他的 L-苹果酸主要生产企业还有美国的 Miles 公司,年产量为 8000t^[21]。2004 年我国 L-苹果酸生产能力接近 12000t,大的生产公司有深圳南头新元实业有限公司南国生化厂,有 2000t/年的生产能力,生产规模在 500t/年以上的厂家有南京药械厂、江苏六合第一化工厂、常州曙光化工厂等^[22]。目前国内 L-苹果酸主要生产厂家有南京国海生物工程有限公司(原南京六合化工一厂)、常茂生物化学工程股份有限公司(原常州曙光化工厂)、山西太原侨友化工有限公司等。

D-苹果酸作为一种重要的四碳手性化合物中间体,在医药、化工领域应用广泛,其合成方法有不对称合成法、消旋体拆分法以及生物合成法等。由于不对称合成法的原料或催化剂均比较昂贵,且反应步骤长,产率较低,目前应用此方法生产 D-苹果酸仅停留在研究阶段。而消旋体物理拆分法使用的拆分试剂成本较高,收率较低,影响了该法的发展。生物法制备 D-苹果酸是近十几年发展起来的,主要有微生物拆分法和酶法等,目前日本和荷兰已采用酶转化法实现了 D-苹果酸微生物转化法工业化生产。此外,反应与分离耦合技术也被应用于 D-苹果酸的酶法合成中,吴俊清等^[23]应用反应与分离耦合技术,以马来酸钙为底物,反应 36h,生成 385g/L 的 D-苹果酸钙,折合 D-苹果酸 300g/L,其转化率可接近 99%。

1.2 苹果酸的理化性质

苹果酸,又名羟基丁二酸、羟基琥珀酸或 1-羟基乙烷二羧酸($C_4H_6O_5$)^[2,5,23~26],英文文献中一般采用俗名 malic acid,美国化学文摘化学物质索引采用学名 butanedioic acid-hydroxy,分子式为 $HOOCCH_2-CH(OH)COOH$,相对分子质量为 134.09, D-苹果酸、L-苹果酸、DL-苹果酸的 CA 登记号分别为 636-61-3、97-67-6 和 617-48-1。

1.2.1 苹果酸的物理性质

(1) 性状 白色结晶颗粒或结晶性粉末,有特殊酸味。

(2) 旋光性 L-苹果酸的比旋光度为 -23° (8.5g/100 mL 水), D-苹果酸的比旋光度为 $+2.92^{\circ}$ (甲醇)。

Bancroft 和 Davis 认为苹果酸为线性分子, 在水溶液中会形成环状结构 (图 1-2), 环状分子和线性分子之间呈可逆平衡。在 20°C 下, 34% 的 L-苹果酸水溶液无旋光性, 加水稀释后可出现左旋, 当其浓度超过 34% 时, 又出现右旋。

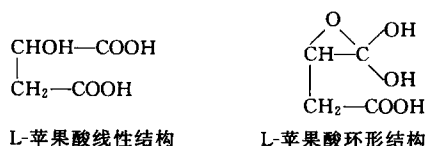


图 1-2 苹果酸分子结构

1896 年德国化学家瓦尔登在研究结构与旋光方向之间的关系时, 发现 L-苹果酸与五氯化磷作用, 生成 D-氯丁二酸, 再与湿的氧化银 (Ag_2O) 作用, 即生成 D-苹果酸; 相反, 若以 D-苹果酸与五氯化磷作用, 则生成 L-氯丁二酸, 进一步与湿的氧化银作用, 生成 L-苹果酸。当时瓦尔登未能阐明其原因。经后人研究发现, 当苹果酸与五氯化磷作用时, 发生了构型反转, 而与湿的氧化银作用时, 构型保持不变。因瓦尔登首先发现了构型反转和构型保留现象, 故在亲核取代等反应中发生的构型反转现象被称为瓦尔登构型反转, 简称瓦尔登反转。反应过程如图 1-3 所示。

(3) 相对密度 即在 20°C 时测定物质相对于水的密度 (4°C 时水的密度为 1g/mL)。

L-苹果酸和 D-苹果酸的相对密度为 1.595, DL-苹果酸的相对密度为 1.601。

(4) 熔点 L-苹果酸为 100°C , D-苹果酸为 101°C , DL-苹果酸为 $129\sim 131^{\circ}\text{C}$ 。

(5) 吸湿性 苹果酸分子中含有一 OH 和一 COOH , 因此对极性溶剂的溶解度很大, 纯品更易吸湿, 在相对湿度较大的空气中易吸湿液化。于 25°C 、98% 的相对湿度条件下存放 6d 后观察, 其质量增加 50.4%。

(6) pH 和解离常数 苹果酸酸性较强, 其 0.1% 水溶液的 pH 为 2.8、1.0% 水溶液的 pH 为 2.4。 25°C 时第一解离常数为 4.0×10^{-4} , 第二解离常数为 9×10^{-6} 。

(7) 热稳定性 室温下稳定, 加热至 180°C 可以失水分解成富马酸或马来酸。

(8) 溶解度 苹果酸易溶于水, 微溶于乙醇和醚。在 100g 水中, 5°C 时溶解 48g, 25°C 时溶解 58.0g, 50°C 时溶解 68.9g, 75°C 时溶解 80.0g。

(9) 螯合作用 苹果酸的许多物理性质与柠檬酸相似, 也与其他有机酸一样能与金属离子起螯合作用, 其螯合常数是 46.3, 而柠檬酸、酒石酸、乳酸和乙酸的螯合常数分别是 70.5、52.1、13.5 和 4.3。

1896 年德国化学家瓦尔登在研究结构与旋光方向之间的关系时, 发现 L-苹果酸与五氯化磷作用, 生成 D-氯丁二酸, 再与湿的氧化银 (Ag_2O) 作用, 即生成 D-苹果酸; 相反, 若以 D-苹果酸与五氯化磷作用, 则生成 L-氯丁二酸, 进一步与湿的氧化银作用, 生成 L-苹果酸。当时瓦尔登未能阐明其原因。经后人研究发现, 当苹果酸与五氯化磷作用时, 发生了构型反转, 而与湿的氧化银作用时, 构型保持不变。因瓦尔登首先发现了构型反转和构型保留现象, 故在亲核取代等反应中发生的构型反转现象被称为瓦尔登构型反转, 简称瓦尔登反转。反应过程如图 1-3 所示。

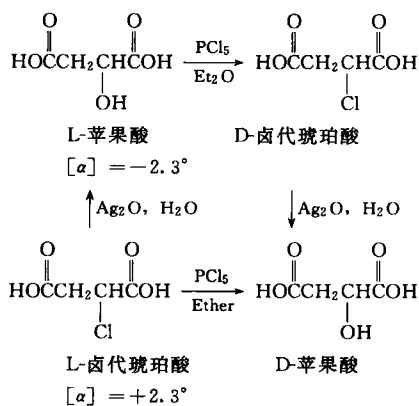


图 1-3 瓦尔登构型反转

1.2.2 苹果酸的化学性质

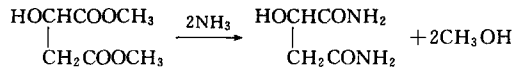
苹果酸能与许多物质发生重要的化学反应，下面分别加以介绍。

(1) 酯化作用 在酯化催化剂存在的条件下，苹果酸与醇通常生成双酯类。苹果酸分子的完全酯化作用能借助于苹果酸的双酯类和乙酰氯、硬脂酰氯等酰基氯的反应来完成，如苹果酸与硬脂酰氯 (stearoyl chloride) 生成十八烷基苹果酸二酯。用三氟化硼作催化剂，苹果酸与醇回流易生成单酯。与多元醇、芳香多元羧酸作用，可形成树脂类产品，如苹果酸聚烷酯树脂。苹果酸酯在氨的醇溶液中能形成苹果酸酰胺。

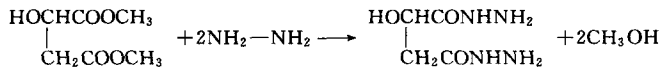
(2) 醚化作用 在 Ag_2O 的作用下，烷基卤化物与烷基苹果酸酯反应生成琥珀酸的烷氧基衍生物，如 α -乙氧基琥珀酸，即 $\text{HOOCCH}_2\text{CHOC}_2\text{H}_5\text{COOH}$ 。

另外，苹果酸醚的合成是用马来酸酯与醇钠反应，生成 α -烷氧基琥珀酸酯。

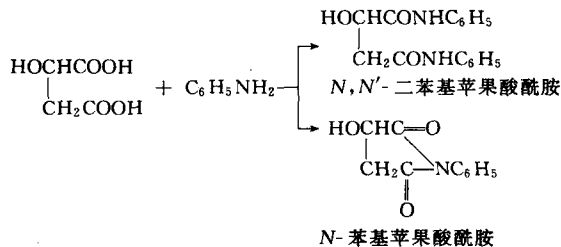
(3) 酰胺化作用 苹果酸烷基酯在乙醇溶液中用氨处理，得到其酰胺化物，反应式如下：



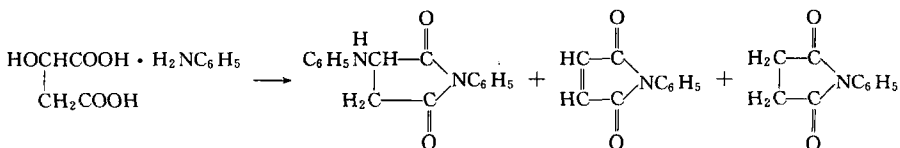
与此类似，苹果酸烷基酯与肼反应，生成苹果酸二酰肼，反应式如下：



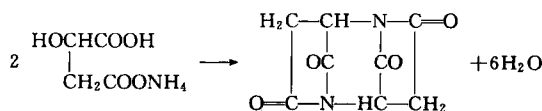
苹果酸与苯胺反应可生成 N, N' -二苯基苹果酸酰胺或 N -苯基苹果酸酰胺环状化合物，随反应中存在的水的比例而定，反应式如下：



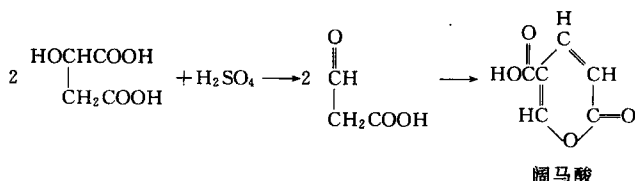
减压蒸馏苹果酸-苯胺时得到 C -苯胺- N -苯基琥珀酰亚胺、 N -苯基马来酰亚胺和 N -苯基琥珀酰亚胺的混合物，反应式如下：



加热苹果酸单铵盐时，可生成杂环化合物 2,5-二氧化哌嗪二乙酸双酰胺，反应式如下：



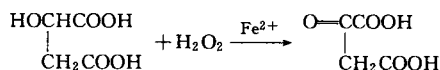
(4) 氧化作用 用发烟硫酸处理苹果酸，可生成 75%~80% 阔马酸，反应式如下：



在酚和取代酚存在的条件下，苹果酸经过类似处理，提供了一个在芳香环上取代合成香豆素的简易方法，此反应称为 Pechman 反应。

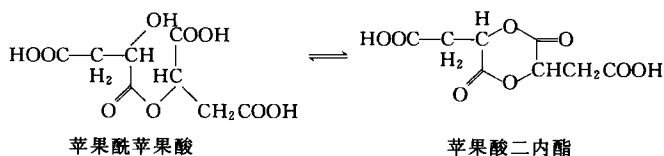
用苯磺酚和取代苯磺酚与苹果酸发生类似反应，可以生成一种红色染料。

以亚铁离子作催化剂，苹果酸水溶液与过氧化氢作用产生丁酮二酸，反应式如下：

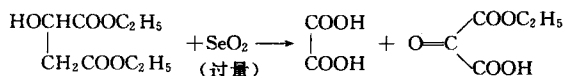


此反应在 Fe^{3+} 、 Cr^{2+} 、 Ti^{2+} 等存在下，或在它们混合存在的情况下，产物是酒石酸。

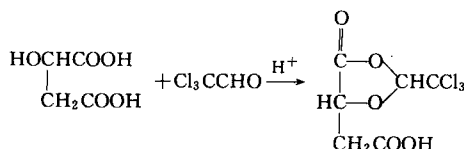
苹果酸不形成酸酐，但产生两种聚合产物，即线性的苹果酸和环状的苹果酸二内酯。



二氧化硒与过量的苹果酸乙酯反应产生二氧合琥珀酸乙酯及部分富马酸乙酯。用过氧化剂时，苹果酸乙酯转化为草酸和 2-酮-丙二酸单乙酯，反应式如下：



(5) 与醛类反应 在硫酸或其他催化剂存在时，三氯乙醛与苹果酸反应，可以产生一种杂环化合物 4-酮二氧杂茂酮的衍生物，反应式如下：



1.3 苹果酸的生理特点

在苹果酸的 3 个消旋体中, L-苹果酸在生物体中具有重要生理功能, D-苹果酸是非生理活性的^[17], 故 DL-苹果酸可生化代谢性比 L-苹果酸差。生命体必须借助于肝脏分泌的消旋酶处理 D-苹果酸, 并由肾脏的氧化还原酶将 D-苹果酸转化为 L-苹果酸, 方能进入代谢循环, 所以 DL-型苹果酸在食品及医药上的应用受到了限制, 婴幼儿和肝、肾疾病患者不宜食用。1970 年美国 FDA 规定外消旋的 DL-苹果酸不能用于婴儿食品添加剂^[27]。

L-苹果酸广泛存在于动物、植物和微生物等各种生物体中, 是生物体内基本的氧化代谢循环——三羧酸循环 (TCA) 中的重要一员 (图 1-4), 也是乙醛酸循环中的一员 (图 1-5), 同时亦是 CO_2 固定反应的产物^[5,19], 为人体吸收的必需养分。它在代谢过程中不断更新, 有时被用于合成其他物质, 有时又由其他物质衍生, 直

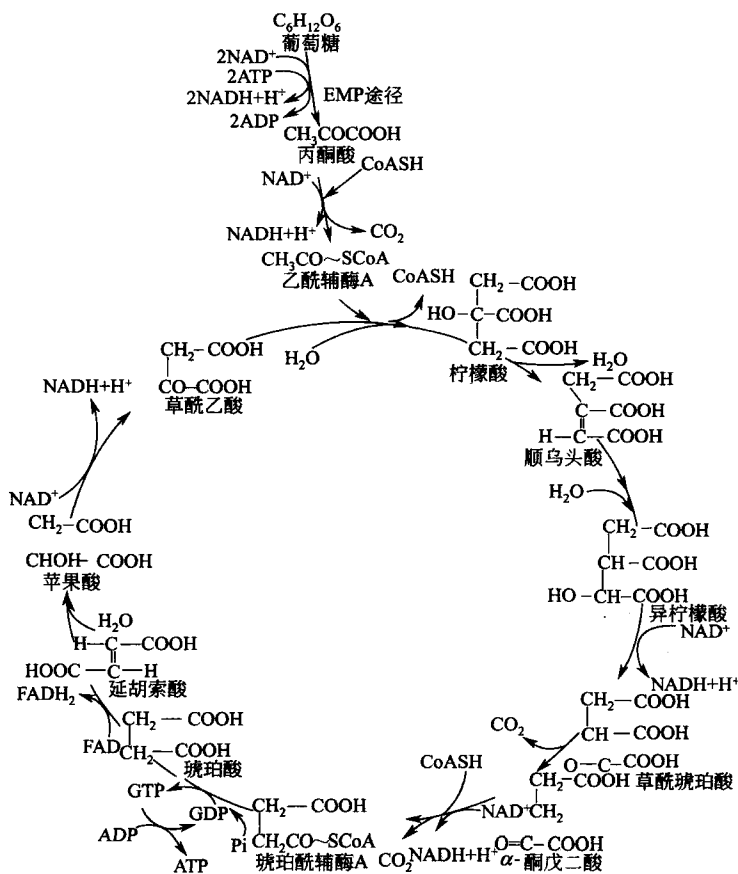


图 1-4 三羧酸循环 (未标出逆反应)

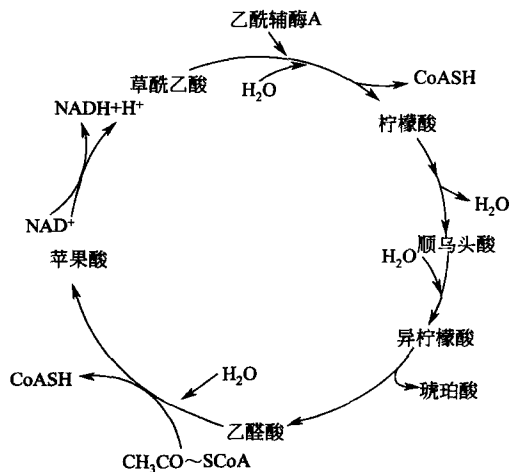
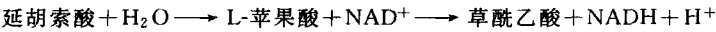


图 1-5 乙醛酸循环（未标出逆反应）

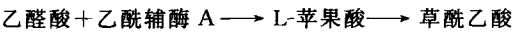
接参与线粒体的能量代谢，在生物体代谢过程中处于枢纽地位。因此，L-苹果酸在调节生物体内的代谢活动方面有着极其重要的作用。

L-苹果酸在 TCA 循环中的地位，可由下式表示：



式中参与反应的酶主要是延胡索酸酶和苹果酸脱氢酶。

在乙醛酸循环中，有



CO₂ 固定反应中，L-苹果酸由磷酸烯醇式丙酮酸或丙酮酸固定 CO₂ 生成草酰乙酸后转化得到，或者由丙酮酸经还原羧化反应直接生成 L-苹果酸。固定 CO₂ 生成的 L-苹果酸亦可在苹果酸酶的作用下氧化脱羧生成丙酮酸。

L-苹果酸在抗体力疲劳、治疗心脏病、保护肝脏、降低药物对肾脏和骨髓细胞的毒害以及对学习记忆的正性调节等方面有着显著作用。

(1) 抗疲劳作用 L-苹果酸对于不同强度的体力劳动恢复均有显著影响。Cal-lis^[20]等的研究进一步证实了 L-苹果酸的抗疲劳作用；抗疲劳复合物瓜氨酸-L-苹果酸盐的人体及动物实验结果也显示：瓜氨酸-L-苹果酸刺激肝尿素形成，同时促进肾脏对重碳酸盐的再吸收，这些代谢可帮助机体对抗酸中毒及氨毒性，因而在人体中产生抗疲劳作用。

(2) 治疗心脏病作用 有研究表明：在组织缺氧进行无氧酵解时，L-苹果酸可以成为草酰乙酸的主要来源，维持 TCA 循环的继续进行^[28]；L-苹果酸可使经过氧化磷酸化的缺氧线粒体内膜发生能量转换，产生 ATP，已证明其能量源于氧化磷酸化抑制剂的 I 位^[29]。因此，L-苹果酸对心肌梗死时的缺血性心肌层有保护作用；临床上已作为心脏基础液的成分之一用于 K⁺、Mg²⁺ 的补充，可保护心肌的能量代谢^[30]。

(3) 保护肝脏作用 L-苹果酸能促进肝脏的氨代谢^[28]，降低血氨浓度，对

肝脏有保护作用，是治疗肝脏功能不全、肝衰竭、肝癌，特别是多氨症的有效药物。

(4) 降低药物对肾脏和骨髓细胞的毒害 日本 Sugiyama 等人^[31]从白芷根中提取的有效成分 L-苹果酸钠能有效地保护肾脏和骨髓，可以大大降低抗癌药 CDDP 产生的毒性作用，但又不降低抗癌药的活性，因而可以减少癌症患者因化疗引起的副作用。

(5) 学习记忆的正性调节作用 谷氨酸的记忆促进作用已经得到肯定，与此相反， γ -氨基丁酸则会损害记忆。据文献报道，脑内 γ -氨基丁酸受体对学习记忆过程具有负性调节作用，脑内 γ -氨基丁酸水平升高可引起记忆获得障碍，降低 γ -氨基丁酸水平则能改善记忆。在脑内谷氨酸脱羧形成 γ -氨基丁酸，谷氨酸脱羧酶是其限速酶^[32~42]。因此，如果能抑制谷氨酸脱羧酶的活性，脑内谷氨酸将会处于优势地位。据 Tabener 等报道，10 mmol/L 的 L-苹果酸可以百分之百抑制谷氨酸脱羧酶，而对于 γ -氨基丁酸的代谢酶 γ -氨基丁酸转氨酶，5mmol/L 时仅抑制 14%，作用很弱，因此，L-苹果酸是一个比较理想的谷氨酸脱羧酶抑制剂，对学习记忆有促进作用，这为寻找促智药物提供了一条新的思路。

D-型苹果酸和 L-型苹果酸在生理功能上的区别导致了两者在社会工业各方面的不同用途。

1.4 苹果酸的应用^[43~49]

苹果酸是天然果酸的重要组成部分。天然果汁所含的有机酸中，苹果酸的含量仅次于柠檬酸，苹果、樱桃、葡萄、李子等水果中含有较丰富的苹果酸，均为 L-型（见表 1-1），它可提供特别风味。未成熟苹果中含 0.5% 左右的有机酸，其中 L-苹果酸占 97.2% 以上，苹果酸也因此而得名。苹果酸与柠檬酸、酒石酸以 1:3:0.1 的比例配合使用可模拟天然果实的酸味特征，使甜酸口感显得更加自然、丰富、协调。

表 1-1 不同水果中 L-苹果酸含量

水果	占总酸比例/%	水果	占总酸比例/%
苹果	97.2	橘(肉)	痕量
杏	23.7~69.8	桃	50~96.2
香蕉	53.7~92.3	梨	33~86.6
乌饭树果	6.0	柠檬	4.5
樱桃	94.2	菠萝	12.5
大酸果蔓	19.1~23.5	李子	98.5
鹅莓	46.2	橘(皮)	59.6~80
葡萄	60	大黄	77
葡萄柚	5.6	草莓	9.9~11.9

苹果酸的呈味作用明显，酸味持久柔和、风味别致、解渴爽口、性质稳定，是优良的酸味剂和调酸剂，于 1967 年在美国 FDA 登记，是国际上公认的安全、无毒