

低温化学甘油解法制备1,3-甘油二酯工艺优化

王熠璠,刘柯纓,黄雅祺,黄 晔,高雅慧,王小三

(江南大学食品学院,江苏省食品安全与质量控制协同创新中心,江苏无锡214122)

摘要:为制备富含1,3-甘油二酯(1,3-DAG)的甘油二酯油,以大豆油和甘油为原料,采用低温化学甘油解法制备1,3-DAG。利用单因素实验考察溶剂种类、溶剂用量、催化剂种类、催化剂用量、反应时间、反应温度对产品组成的影响,以优化工艺条件,并在最优条件下进行放大实验。结果表明:低温化学甘油解法制备1,3-DAG的最优条件为以丙酮为溶剂、溶剂与反应物质量比2:1、以甲醇钠为催化剂、催化剂用量0.6%(以反应物质量计)、反应温度50℃、反应时间3h;在最优条件下经验证实验,产物中甘油三酯(TAG)含量为44.03%,DAG含量达43.97%,其中1,2-DAG含量为13.53%,1,3-DAG含量为30.44%;将反应物用量放大10倍,产物中TAG含量为46.35%,1,3-DAG含量为29.13%。综上,以大豆油为原料,采用低温化学甘油解法得到了富含1,3-DAG的甘油二酯油,且该方法具有可以应用于大规模生产1,3-DAG的潜力。

关键词:1,3-甘油二酯;低温;化学甘油解;大豆油

中图分类号:TS201.4;TS201.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1003-7969(2023)08-0041-05

Optimization of low-temperature chemical glycerolysis process for preparation of 1,3-diacylglycerol

WANG Yifan, LIU Keying, HUANG Yaqi, HUANG Ye,
GAO Yahui, WANG Xiaosan

(Jiangsu Collaborative Innovation Center for Food Safety and Quality Control, School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China)

Abstract: In order to prepare oil rich in 1,3-diacylglycerols (1,3-DAG), using soybean oil and glycerol as raw materials, 1,3-DAG was prepared by low-temperature chemical glycerolysis. The effects of solvent type, solvent dosage, catalyst type, catalyst dosage, reaction time and reaction temperature on product composition were investigated by single factor experiment to optimize the process conditions. The scale-up experiment was conducted under the optimal conditions. The results showed that the optimal conditions of preparing 1,3-DAG by low-temperature chemical glycerolysis were obtained as follows: with acetone as solvent, mass ratio of solvent to reactant 2:1, with sodium methoxide as catalyst, catalyst dosage 0.6% (based on reactant mass), reaction temperature 50℃, and reaction time 3 h. Under these conditions, the content of TAG in the product was 44.03%, and the content of DAG was 43.97%, with the content of 1,2-DAG 13.53%, and the content of 1,3-DAG 30.44%. Increasing the dosage of reactants by 10 times, the TAG content was 46.35% and the 1,3-DAG content was 29.13%. In conclusion, with soybean oil as raw material, diglyceride oil rich in 1,3-DAG can be obtained by low-temperature chemical glycerolysis, and this method has the potential to be applied to large-scale production of 1,3-DAG.

Key words: 1,3-DAG; low-temperature; chemical glycerolysis; soybean oil

收稿日期:2022-04-27;修回日期:2023-04-29

作者简介:王熠璠(2000),女,在读本科,专业为食品科学与工程(E-mail)1012190713@stu.jiangnan.edu.cn。

通信作者:王小三,副教授,硕士生导师(E-mail)wxstongxue@163.com。

甘油二酯(DAG)是油脂中的微量成分之一,其整体外观和风味与主要成分为甘油三酯(TAG)的食用油相似。DAG,尤其是1,3-DAG,具有减少脂肪、抑制增重^[1-4]、降低血脂^[5-9]和降低血糖^[10-12]

等作用。因此,作为食用油的替代品,DAG 的相关研究受到广泛关注。

目前,1,3-DAG 的制备方法主要为酶法和化学法。酶法是研究的热点,但脂肪酶具有价格昂贵,在特定反应体系和反应条件下 1,3 位特异性不高等缺点^[13],使得酶法规模化生产成本高;而化学法制备 1,3-DAG 具有费用较低、操作简便、反应速率高等优点^[14]。化学法包括直接酯化法、甘油解法、水解法和酯交换法。直接酯化法需要脂肪酸作为原料,成本高,且反应时间长;水解法水解程度难以控制,易产生多种副产物,且产品中 DAG 含量较低;酯交换法需要单甘酯(MAG)作为原料,价格昂贵;而甘油解法以甘油为原料,具有成本低、反应时间短、过程简单等优点。因此,化学甘油解法工艺优化对 1,3-DAG 的工业化生产具有重要意义。

化学甘油解法一般是利用碱性催化剂催化甘油和油脂在 200~260℃ 下反应。虽然高温下 MAG 和 DAG 的生成速率有所提高,但不适合生产富含热敏性脂肪酸的 DAG,而低温化学甘油解法克服了这个问题。但目前低温化学甘油解法面临的关键问题是甘油和 TAG 的混溶性差,使反应的传质受阻,整体反应速率较低。因此,本实验以制备富含 1,3-DAG 的甘油二酯油为目的,优化低温化学甘油解法制备 1,3-DAG 的工艺条件,探究了溶剂体系、催化剂的种类及添加量、反应温度、反应时间等对产物中 1,3-DAG 含量的影响,以期对 1,3-DAG 的规模化生产条件提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

一级大豆油,(上海)益海嘉里有限公司;甲醇钠为分析纯,梯希爱(上海)化成工业发展有限公司;甘油、丙酮、正己烷、乙醚、2-丁酮、乙腈、异丙醇、叔丁醇、氢氧化钾、氢氧化钠均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司;油酸甘油二酯(15% 1,2-DAG 和 85% 1,3-DAG),西格玛有限公司。

1.1.2 仪器与设备

低温恒温槽,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;Waters 1525 高效液相色谱仪和 Waters 2414 型示差折光检测器,沃特世科技(上海)有限公司;CJJ-6S 数显磁力加热搅拌器,常州市金坛大地自动化仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 化学甘油解反应

将 9.0 g 大豆油和 0.5 g 甘油置于夹层反应釜

中混合,加入一定量的催化剂,使用溶剂体系或不使用溶剂体系,采用磁力搅拌器在 500 r/min 条件下水浴加热反应一定时间后,旋蒸除去反应溶剂,得甘油解产物,于室温下保存、备用。

1.2.2 产物脂质组成的测定

滴入一滴产物于容器中,加入一滴甲酸中和碱性催化剂,与 1 mL 流动相混合均匀,混合液经 0.22 μm 微过滤器过滤,用示差高效液相色谱法(NP-HPLC)测定样品中脂质组成。

NP-HPLC 条件:Sepax HP Silica 色谱柱(5 μm, 4.6 mm × 250 mm),进样量 20 μL,柱温 25℃,流动相为正己烷、异丙醇与甲酸(体积比 15:1:0.003),流速 1 mL/min,测定时间 25 min。

通过外标的出峰时间对样品中脂质组成进行定性,通过峰面积归一化法对 TAG、游离脂肪酸(FFA)、1,3-DAG、1,2-DAG、MAG 进行定量。

1.2.3 数据统计与分析

每组实验重复两次,实验结果以平均值表示。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 溶剂种类的影响

在反应温度 50℃、反应时间 3 h、以甲醇钠为催化剂、催化剂用量 0.5% (以反应物质量计)的条件下,考察了无溶剂体系和正己烷、叔丁醇等溶剂体系(用量为 25 g)对产物组分含量的影响,结果如图 1 所示。

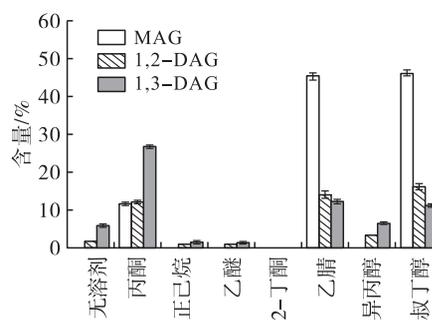


图 1 溶剂种类的影响

由图 1 可知:丙酮体系所得的产物的 1,3-DAG 含量最高,达到 27.0%;叔丁醇体系下 1,3-DAG 含量与乙腈体系差别不明显;叔丁醇体系中 MAG 含量最高,为 46.51%,乙腈体系次之,为 45.51%;2-丁酮体系中没有 MAG、1,2-DAG 和 1,3-DAG 生成。这种现象与溶剂不同的油水分配系数(log P 值)有关^[14]。丙酮、乙腈、叔丁醇的 log P 值与大豆油和甘油混合物的 log P 值接近,因此反应体系混合更加均匀,增大了反应面积。另外,丙酮和乙腈等溶剂的相对分子质量均较小,结构较为简单,

故推测溶剂相对分子质量也是影响体系混溶性的因素之一。在后续实验中,使用丙酮作为溶剂。

2.1.2 溶剂用量的影响

在反应温度 50℃、反应时间 3 h、以甲醇钠为催化剂、催化剂用量 0.5%、以丙酮为溶剂的条件下,探究丙酮用量对产物组分含量的影响,结果如图 2 所示。

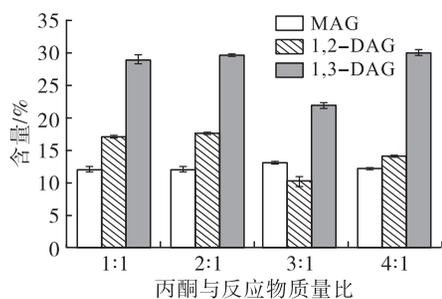


图 2 丙酮用量的影响

由图 2 可知:随着丙酮用量增大,MAG 含量无明显变化,丙酮与反应物质量比为 1:1 时 MAG 含量为 12.10%,丙酮与反应物质量比为 4:1 时 MAG 含量为 12.21%;1,2-DAG 含量总体随着丙酮用量增大而降低;1,3-DAG 含量随着丙酮用量增大呈先小幅度上升然后降低再升高的趋势。在实际反应中,丙酮存在挥发现象,综合考虑产品中 1,3-DAG 含量、制备成本以及溶剂挥发损耗,选择丙酮与反应物质量比为 2:1。

2.1.3 催化剂种类的影响

在以丙酮为溶剂、丙酮与反应物质量比 2:1、反应温度 50℃、反应时间 3 h 条件下探究催化剂种类对产物中 1,3-DAG 含量的影响(为排除催化剂用量干扰制备效果,也为后续条件优化做预实验,选择 0.3%、0.5% 和 0.7% 3 个催化剂用量水平),结果如图 3 所示。

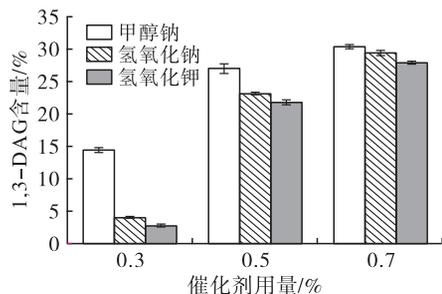


图 3 催化剂种类的影响

由图 3 可知,在 3 个催化剂用量水平下,催化剂的催化效果从大到小排序均为甲醇钠、氢氧化钠、氢氧化钾,当催化剂用量为 0.5% 时,1,3-DAG 含量分别为 27.01%、23.15%、21.85%。由于催化效果与 3 种碱金属盐的碱性强弱排序一致,故推测催化剂碱

性越强催化效果越好。因此,选择甲醇钠为催化剂。

2.1.4 催化剂用量的影响

在以丙酮为溶剂、丙酮与反应物质量比 2:1、以甲醇钠为催化剂、反应温度 50℃、反应时间 3 h 条件下,探究甲醇钠用量对产物组分含量的影响,结果如图 4 所示。

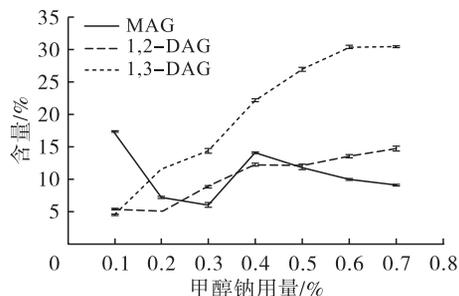


图 4 甲醇钠用量的影响

由图 4 可知:随着甲醇钠用量增加,1,2-DAG 含量以相对缓慢的速率上升,而 1,3-DAG 含量则快速提高,甲醇钠用量为 0.6% 时,1,3-DAG 含量达 30.44%,甲醇钠用量超过 0.6% 后,1,3-DAG 含量无明显变化;在甲醇钠用量为 0.1%~0.7% 范围内,MAG 含量先降低后上升,最后又降低,推测这种现象是由于甲醇钠用量较低时,大部分 TAG 反应生成 MAG,故 MAG 积累,随着甲醇钠用量增加,DAG 生成速度提高,MAG 含量则降低,甲醇钠用量继续增加时,MAG 生成速率也会相应提高,但在更高催化剂用量下 DAG 生成速率大于 MAG 生成速率,故其含量再次下降。考虑到要获得富含 1,3-DAG 的产品而避免其他副产物含量过多,选择甲醇钠用量为 0.6%。

2.1.5 反应时间的影响

在以丙酮为溶剂、丙酮与反应物质量比 2:1、以甲醇钠为催化剂、甲醇钠用量 0.6%、反应温度 50℃ 条件下,探究反应时间对产物组分含量的影响,结果如图 5 所示。

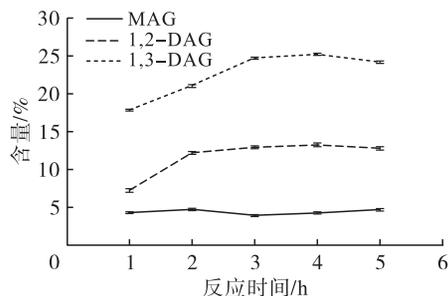


图 5 反应时间的影响

由图 5 可知:在 1~3 h 范围内,1,3-DAG 含量明显增长,而后变化趋势平缓;在 1~2 h 内,1,2-DAG 含量明显增长,而后无明显变化;MAG 含量则

是先增加后小幅度降低,至3 h时其含量最低,之后缓慢回升。由于1,3-DAG比1,2-DAG更稳定^[15],因此随着反应时间的延长,1,3-DAG含量可以进一步提高,但考虑到延长反应时间会增加成本,选择反应时间为3 h。

2.1.6 反应温度的影响

在以丙酮为溶剂、丙酮与反应物质量比2:1、以甲醇钠为催化剂、甲醇钠用量0.6%、反应时间3 h条件下,探究反应温度对产物组分含量的影响(根据阿伦尼乌斯公式可知,一定范围内,温度升高化学反应速率增大,但由于丙酮的沸点较低,为56.5℃,因此在45~60℃的条件下进行反应),结果如图6所示。

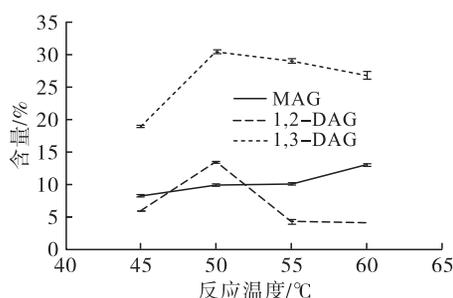


图6 反应温度的影响

由图6可知,在45~50℃范围内,随着反应温度升高,1,3-DAG和1,2-DAG的含量显著上升。当反应温度达到50℃时,1,3-DAG含量为30.44%,但随着反应温度的进一步升高,二者含量开始下降。当反应温度为60℃时,1,3-DAG含量下降为26.77%。在45~60℃范围内,MAG含量始终保持上升趋势。推测这种现象是因为当体系温度高于或靠近丙酮沸点时,溶液会发生沸腾,促进了DAG与甘油反应,产生更多的MAG,故MAG含量增加而DAG含量降低。因此,选择反应温度为50℃。

综上,通过单因素实验得到化学甘油解反应制备1,3-DAG的最优工艺条件为:反应温度50℃,反应时间3 h,以丙酮为溶剂,丙酮与反应物质量比2:1,以甲醇钠为催化剂,甲醇钠用量0.6%。

2.2 验证实验

在单因素实验确定的最优条件下进行验证实验,分析产物的脂质组成,结果如表1所示。

表1 验证实验产物的脂质组成

组分	含量/%
TAG	44.03
FFA	2.06
1,3-DAG	30.44
1,2-DAG	13.53
MAG	9.93

由表1可知,最优反应条件下产物中DAG总量达43.97%,其中1,3-DAG含量为30.44%。Zhong等^[14]同样使用磁力搅拌,在丙酮体系下以氢氧化钠为催化剂对大豆油进行化学甘油解反应,所得产物的DAG含量为36.2%,与之相比,本实验的DAG含量明显提高,得到了富含1,3-DAG的甘油二酯油。

2.3 放大实验

在单因素实验确定的最优条件下将甘油、大豆油用量放大10倍进行化学甘油解反应,测定产物的脂质组成,结果见表2。

表2 放大实验产物的脂质组成

组分	含量/%
TAG	46.35
FFA	2.85
1,3-DAG	29.13
1,2-DAG	11.62
MAG	10.05

由表2可知,放大实验结果与验证实验基本一致,证明低温化学甘油解法可应用于大规模制备1,3-DAG。

3 结论

通过单因素实验优化,得到低温化学甘油解法制备1,3-DAG的最优反应条件:以丙酮为溶剂,丙酮与反应物质量比2:1,以甲醇钠为催化剂,甲醇钠用量0.6%,反应时间3 h,反应温度50℃。在最优条件下甘油二酯油中TAG含量降为44.03%,1,3-DAG含量达30.44%。将反应物用量放大10倍,TAG含量为46.35%,1,3-DAG含量为29.13%。综上,以大豆油为原料,采用低温化学甘油解法得到了富含1,3-DAG的甘油二酯油,且该方法具有可以应用于大规模生产1,3-DAG的潜力。

参考文献:

- [1] YANAI H, TOMONO Y, ITO K, et al. Diacylglycerol oil for the metabolic syndrome [J]. *Nutr J*, 2007, 6(1): 494-500.
- [2] MAKI K C, DAVIDSON M H, TSUSHIMA R, et al. Consumption of diacylglycerol oil as part of a reduced-energy diet enhances loss of body weight and fat in comparison with consumption of a triacylglycerol control oil [J]. *Am J Clin Nutr*, 2002, 76(6): 1230-1236.
- [3] SAITO S, FUKUHARA I, OSAKI N, et al. Consumption of α -linolenic acid-enriched diacylglycerol reduces visceral fat area in overweight and obese subjects: a randomized, double-blind controlled, parallel-group designed trial [J]. *J Oleo Sci*, 2016, 65(7): 603-611.

(下转第89页)

- 科技,2019,40(15):298-303.
- [30] 沈纪中,柳航.高糖饮水诱导代谢综合征小鼠模型的实验研究[J].中国临床药理学与治疗学,2014,19(9):1011-1015.
- [31] FERNANDEZ M L, VERGARA - JIMENEZ M, CONDE K, et al. Dietary carbohydrate type and fat amount alter VLDL and LDL metabolism in guinea pigs[J]. J Nutr, 1996,126(10):2494-2504.
- [32] CALABRESE C, MYER S, MUNSON S, et al. A cross-over study of the effect of a single oral feeding of medium chain triglyceride oil vs. canola oil on post-ingestion plasma triglyceride levels in healthy men[J]. Altern Med Rev,1999,4(1):23-28.
- [33] 董继清,翁孝刚,钱莹.48例正常体重代谢性肥胖患者危险因素调查及其血脂水平与胰岛素抵抗关系分析[J].数理医药学杂志,2022,35(10):1528-1530.
- [34] TAKASE S, GODA T. Effects of medium-chain triglycerides on brush border membrane-bound enzyme activity in rat small intestine[J]. J Nutr,1990,120(9):969-976.
- [35] SCHMID K. 近视手册[M].西安:陕西科学技术出版社,2018:419.
- [36] LIM L S, GAZZARD G, LOW Y L, et al. Dietary factors, myopia, and axial dimensions in children[J]. Ophthalmology,2010,117(5):993-997.
- [37] PAN M, ZHAO F, XIE B, et al. Dietary ω -3 polyunsaturated fatty acids are protective for myopia [J/OL]. Proc Natl Acad Sci USA,2021,118(43):e2104689118[2022-12-02]. <https://doi.org/10.1073/pnas.2104689118>.
- [38] 邹悦,樊莹.IGF-1参与调控眼球生长的研究进展[J].国际眼科杂志,2012,12(7):1304-1307.
- [39] 史彩平,李毓敏,金姬,等.血清胰岛素样生长因子1及结合蛋白3在儿童近视眼中的表达及意义[J].眼科研究,2007(8):616-619.
- [40] BÖNI - SCHNETZLER M, SCHMID C, MEIER P J, et al. Insulin regulates insulin-like growth factor I mRNA in rat hepatocytes[J]. Am J Physiol,1991,260(6):E846-E851.
- [41] FRIEDRICH N, THUESEN B, JØRGENSEN T, et al. The association between IGF-I and insulin resistance: a general population study in Danish adults [J]. Diabetes Care,2012,35(4):768-773.
- [42] JEFFERY A N, METCALF B S, HOSKING J, et al. Age before stage: insulin resistance rises before the onset of puberty: a 9-year longitudinal study (EarlyBird 26) [J]. Diabetes Care,2012,35(3):536-541.
- [43] KINDLER J M, POLLOCK N K, LAING E M, et al. Insulin resistance negatively influences the muscle-dependent IGF-1-bone mass relationship in premenarcheal girls[J]. J Clin Endocrinol Metab,2016,101(1):199-205.
- [44] 徐青林,廖韵如,林丽霞,等.胰岛素对幼年豚鼠及远视性光学离焦幼年豚鼠眼球正视化发育的影响[J].中华眼视光学与视觉科学杂志,2014,16(6):345-349.
-
- (上接第44页)
- [4] KIM H, CHOE J H, CHOI J H, et al. Medium-chain enriched diacylglycerol (MCE-DAG) oil decreases body fat mass in mice by increasing lipolysis and thermogenesis in adipose tissue[J]. Lipids, 2017, 52(8):665-673.
- [5] 黄莉莉,苏宜香.甘油二酯的功能及安全性研究现状[J].国外医学:卫生学分册,2007(2):94-98.
- [6] TADA N, SHOJI K, TAKAKESHITA M, et al. Effects of diacylglycerol ingestion on postprandial hyperlipidemia in diabetes[J]. Clin Chim Acta, 2005, 353(1/2):87-94.
- [7] YAMAMOTO K, ASAKAWA H, TOKUNAGA K, et al. Long-term ingestion of dietary diacylglycerol lowers serum triacylglycerol in type II diabetic patients with hypertriglyceridemia[J]. J Nutr, 2001, 131(12):3204-3207.
- [8] ANIKSETTY M, KRISHNA A G G, PANNEERSELVAM V, et al. Diacylglycerol (DAG) rich rice bran and sunflower oils modulate lipid profile and cardiovascular risk factors in Wistar rats[J]. J Funct Foods, 2018(40):117-127.
- [9] TANG T K, BEH B K, ALITHEEN N B M, et al. Suppression of visceral adipose tissue by palm kernel and soy-canola diacylglycerol in C57BL/6N mice[J]. Eur J Lipid Sci Tech, 2013, 115(11):1266-1273.
- [10] ANASTASIOU C A, KAVOURAS S A, LENTZAS Y, et al. Diabetes mellitus is associated with increased intramyocellular triglyceride, but not diglyceride, content in obese humans[J]. Metabolism, 2009, 58(11):1636-1642.
- [11] YUTAKA M, HIDEAKI N, HIDEHIKO K, et al. Dietary diacylglycerol reduces postprandial hyperlipidemia and ameliorates glucose intolerance in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) rats [J]. Nutrition, 2005, 21(9):933-939.
- [12] 罗佳宪.大豆油基甘油二酯食用油的应用与生理功能研究[D].广州:华南理工大学,2020.
- [13] KRISTENSEN J B, XU X B, MU H L, et al. Diacylglycerol synthesis by enzymatic glycerolysis: screening of commercially available lipases[J]. J Am Oil Chem Soc, 2005, 82(5):329-334.
- [14] ZHONG N, LI L, XU X, et al. Production of diacylglycerols through low-temperature chemical glycerolysis[J]. Food Chem, 2010, 122(1):228-232.
- [15] 任运宏,孙博,刘晶,等.超临界体系酶法催化甘油解制备甘油二酯的研究[J].食品工业科技,2011,32(10):337-340.