结构脂质

DOI：10.19902/j.cnki.zgyz.1003－7969.230589

月桂酸甘油二酯和豆蔻酸甘油二酯的固定化脂肪酶 R IM－03 催化合成及纯化

方明暄[1]，陈　洋[2]，金　俊[1,3]，金青哲[1]，王兴国[1,3]

（1.江南大学 食品学院，江苏 无锡 214122；2.无锡蔚蓝生物科技有限公司，江苏 无锡 214122；
3.中原食品实验室，河南 漯河 462300）

摘要：为促进固定化脂肪酶 R IM－03 在合成甘油二酯（DAG）中的应用，采用固定化脂肪酶 R IM－03 催化月桂酸/豆蔻酸和甘油酯化合成甘油二酯，并采用分子蒸馏对其进行纯化。对酯化反应和分子蒸馏的工艺条件进行了优化，并考察了纯化产物的理化性质。结果表明：固定化脂肪酶 R IM－03 催化甘油和月桂酸/豆蔻酸合成甘油二酯的最优条件为底物（脂肪酸与甘油）物质的量比 2∶1、反应温度 60 ℃、反应时间 6 h、酶添加量 6%（以底物质量计），在此条件下月桂酸甘油二酯和豆蔻酸甘油二酯粗产物中甘油二酯含量分别为 43.87% 和 30.00%，甘油三酯（TAG）含量分别为 8.71% 和 6.87%，催化剂可重复利用至少 10 次；月桂酸甘油二酯粗产物纯化的最优条件为一级分子蒸馏温度 170 ℃、二级分子蒸馏温度 180 ℃，豆蔻酸甘油二酯粗产物纯化的最优条件为一级分子蒸馏温度 170 ℃、二级分子蒸馏温度 190 ℃，在最优条件下纯化月桂酸甘油二酯和豆蔻酸甘油二酯中甘油二酯含量分别达 81.29% 和 80.08%，1,3－甘油二酯含量分别为 53.16% 和 54.27%，DAG/（DAG＋TAG）约为 80%；纯化月桂酸甘油二酯和豆蔻酸甘油二酯的滑动熔点分别为 48.9 ℃和 57.0 ℃，在 30～40 ℃区间的固体脂肪含量呈陡然下降趋势，在两者复配的体系中，当豆蔻酸甘油二酯占 60% 以上时，相容性理想。综上，固定化脂肪酶 R IM－03 具有在甘油二酯合成中应用的潜力，DAG/（DAG＋TAG）可作为关键控制指标，异酸甘油二酯复配可改变产物的熔化性质。

关键词：甘油二酯；固定化脂肪酶 R IM－03；酶法合成；DAG/（DAG＋TAG）；熔化性质

中图分类号：TQ928.93；O643.72　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1003－7969（2024）10－0097－07

Synthesis of laurate－diglyceride and myristate－diglyceride catalyzed by immobilized lipase R IM－03 and their purification

FANG Mingxuan[1], CHEN Yang[2], JIN Jun[1,3], JIN Qingzhe[1], WANG Xingguo[1,3]

(1. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China; 2. Wuxi Vland Biotech Co., Ltd., Wuxi 214122, Jiangsu, China; 3. Food Laboratory of Zhongyuan, Luohe 462300, Henan, China)

Abstract: In order to promote application of immobilized lipase R IM－03 in synthesis of diacylglycerols (DAG), laurate－diglyceride and myristate－diglyceride were synthesized by immobilized lipase R IM－03 catalysis, and purified with molecular distillation. The processing conditions of esterification and molecular distillation were optimized, and the physicochemical properties of the purified diacylglycerols were evaluated. The results showed that the optimal conditions for the synthesis of diacylglycerols from glycerol and lauric acid or myristic acid catalyzed by immobilized lipase R IM－03 were as follows: molar ratio of substrate (fatty acid to glycerol) 2∶1, reaction temperature 60 ℃, reaction time 6 h, and enzyme addition amount 6% (based on the mass of substrate). Under these conditions, the content of laurate－diglyceride and myristate－

收稿日期：2023－11－08；**修回日期**：2024－05－09

作者简介：方明暄（1999），女，硕士研究生，研究方向为油脂及制品加工（E-mail）fangmingxuan6@163.com。

通信作者：金　俊，副研究员，博士（E-mail）junjin@jiangnan.edu.cn。

diglyceride in the crude products were 43.87% and 30.00%, respectively, and the contents of triacylglycerol (TAG) were 8.71% and 6.87%, respectively. The catalyst could be reused at least 10 times. The optimal conditions for purification of laurate - diglyceride were as follows: the primary molecular distillation temperature 170 ℃, and the secondary molecular distillation temperature 180 ℃. The optimal conditions for purification of myristate - diglyceride were as follows: the primary molecular distillation temperature 170 ℃, and the secondary molecular distillation temperature 190 ℃. Under these conditions, the contents of diacylglycerols in purified laurate - diglyceride and myristate - diglyceride reached 81.29% and 80.08%, respectively. The contents of 1,3 - diacylglycerols were 53.16% and 54.27% respectively, and the DAG/(DAG + TAG) was about 80%. Slip melting points of the purified laurate - diglyceride and myristate - diglyceride were 48.9 ℃ and 57.0 ℃, respectively, and the solid fat content showed a steep decline at 30 - 40 ℃. In the mixing system of the two diacylglycerols, when the myristate - diglyceride content was more than 60%, the compatibility was desirable. In conclusion, immobilized lipase R IM - 03 exhibits potential application in synthesis of diacylglycerol. DAG/(DAG + TAG) can be used as a key control index, and the melting property of the product can be changed by combination of different fatty acid - diglyceride.

Key words: diacylglycerol; immobilized lipase R IM - 03; enzymatic synthesis; DAG/(DAG + TAG); melting property

甘油二酯(Diacylglycerol, DAG)是一种兼具操作功能性和营养功能性的脂质[1-2],其熔点和极性均高于同酸甘油三酯(TAG),在专用油脂领域具有较大的应用潜力。Li 等[3]研究发现不同链长(C12、C14、C16、C18)和不同异构体比例(1,3 - 甘油二酯/1,2 - 甘油二酯)的甘油二酯制备的油凝胶和油泡沫具有不同的性能。Liu 等[4]研究了高纯度甘油二酯对搅打奶油乳液性质、质构和感官特性的影响,发现甘油二酯可作为 10% ~30% 的氢化棕榈仁油替代物应用于奶油中。相比于含棕榈酸(C16:0)和硬脂酸(C18:0)的甘油二酯,含月桂酸(C12:0)和豆蔻酸(C14:0)的甘油二酯熔点相对较低,在食品加工中具有一定优势[5]。

天然油脂中甘油二酯的含量通常不足 5%,高含量甘油二酯通常需通过水解或酯化获得。采用脂肪酶进行部分水解和酯化具有特异性强、反应条件温和、能耗较低等优势,备受食品工业、生物医药工业的关注[6]。其中,酯化法是在脂肪酶的催化作用下,以甘油和脂肪酸(通常来源于植物油加工的蒸馏副产物)为原料生成甘油二酯的方法,通常不需添加有机溶剂,更加绿色、无污染,对于制备高纯度位置特异性甘油二酯具有重要意义[6-7]。

本研究以月桂酸和豆蔻酸为原料,以固定化脂肪酶 R IM - 03 为催化剂,合成月桂酸/豆蔻酸甘油二酯,通过单因素试验优化合成的工艺条件,并采用分子蒸馏对粗产物进行纯化,以期为月桂酸/豆蔻酸甘油二酯的合成提供技术参数。

1 材料与方法

1.1 试验材料

月桂酸(纯度 >99%)、豆蔻酸(纯度 >99%),丰益油脂科技(连云港)有限公司;固定化脂肪酶 R IM - 03(7 000 PLU/g),潍坊康地恩生物科技有限公司;甘油酯、脂肪酸标品,上海贤鼎生物科技有限公司;其他试剂均为分析纯。

配备示差折光检测器的 Waters 1525 型高效液相色谱仪,美国 Waters 公司;脉冲核磁共振仪,英国 OxFord 公司;VKL70 - 5 分子蒸馏装置,德国 VTA 公司;超级恒温水浴锅,上海梓桂仪器有限公司;循环水式真空泵,上海力辰邦西仪器科技有限公司;1 L双层夹套反应釜,上海垒固仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 月桂酸/豆蔻酸甘油二酯的合成

按一定物质的量比将月桂酸/豆蔻酸和甘油置于双层夹套反应釜中,加热至 70 ℃使原料完全熔化,加入一定量的脂肪酶 R IM - 03,在一定温度和减压(2.7 kPa)条件下搅拌(速度 250 r/min)反应一定时间。反应过程中,每隔 1 h 取样,测定反应产物的脂质组成。

1.2.2 甘油二酯的纯化

甘油二酯粗产物采用两级分子蒸馏脱除游离脂肪酸(FFA)和甘油一酯(MAG)。分子蒸馏固定条件:进料温度 65 ℃,冷凝面温度 40 ℃,出料口温度

70 ℃,进料速度 3 mL/min,刮膜转速 320 r/min,绝对压力 0.1 Pa。

1.2.3　脂质组成的测定及脱酸率的计算

用实验室建立的高效液相色谱法检测产物的脂质组成[8]。

液相色谱条件:示差折光检测器;Sepax HP - Silica 硅胶色谱柱(4.6 mm × 250 mm,5 μm);流动相为正己烷 - 异丙醇 - 甲酸(体积比 15∶1∶0.03);柱温 30 ℃;进样量 20 μL;样品质量浓度 20 mg/mL;流速 1 mL/min。

通过标准品定性和峰面积归一化法定量。

脱酸率(y)按公式(1)计算[9]。

$$y = (m_1 - m_2)/m_1 \times 100\% \quad (1)$$

式中:m_1 为酯化粗产物游离脂肪酸含量,g;m_2 为纯化产物游离脂肪酸含量,g。

1.2.4　酸值与滑动熔点的测定

根据 GB 5009.229—2016 测定酸值;根据 GB/T 24892—2010 测定滑动熔点。

1.2.5　固体脂肪含量(SFC)的测定

参照 Liu 等[10] 的方法测定 SFC。称取 2 ~ 3 g 样品于核磁管中,在 90 ℃加热 15 min 以完全消除结晶记忆;在 0 ℃下放置 90 min 后测定样品 SFC;然后以 5 ℃为增量测定其 SFC,每个温度下保持 30 min。

2　结果与讨论

2.1　酯化合成甘油二酯反应条件优化

2.1.1　底物物质的量比对甘油二酯粗产物脂质组成的影响

在反应温度 60 ℃、酶添加量 6%(以底物质量计)、反应时间 6 h 的条件下,考察底物(脂肪酸与甘油)物质的量比对甘油二酯粗产物脂质组成的影响,结果如图 1 所示。

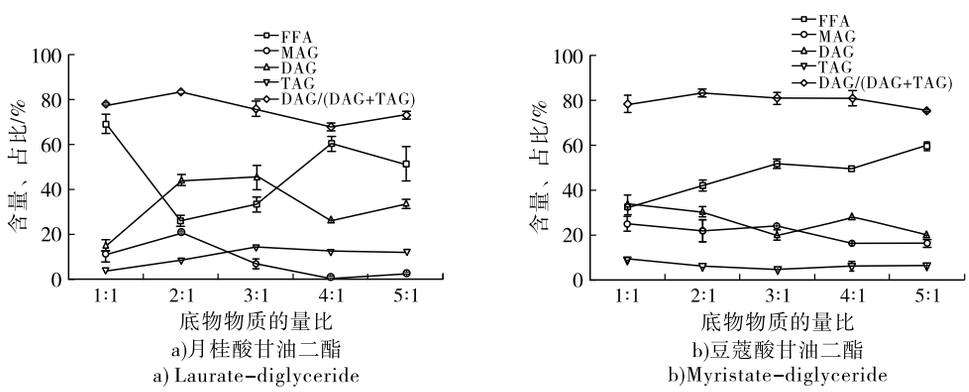


图 1　底物物质的量比对甘油二酯粗产物脂质组成的影响

Fig. 1　Effect of substrate molar ratio on lipid composition of crude diacylglycerol products

由于甘油二酯和甘油三酯分离较为困难,DAG/(DAG + TAG)越高越有利于纯化后 DAG 含量的提高,故以 DAG/(DAG + TAG)为该酯化过程控制的关键指标[11]。由图 1a 可知,粗产物中月桂酸甘油二酯含量在底物物质的量比为 2∶1 和 3∶1 时较高,分别为 43.9% 和 45.8%。其中游离脂肪酸含量在底物物质的量比为 2∶1 时最低,此时 DAG/(DAG + TAG)最高,达 80% 以上。酯化反应时,若甘油浓度过大则体系黏度增大,酶和甘油容易沉积在底部,不利于物料分散;若脂肪酸含量过高则底物利用率降低,纯化难度加大[12]。由图 1b 可知:粗产物中豆蔻酸甘油二酯含量在底物物质的量比为 1∶1 时最高,为 33.08%;而随底物物质的量比的增加,DAG/(DAG + TAG)呈先升后降的趋势,在底物物质的量比为 2∶1 时,DAG/(DAG + TAG)最高,此时甘油二酯含量为 30.29%。因此,在月桂酸/豆蔻酸甘油二酯的合成反应中,底物物质的量比均采用 2∶1。

2.1.2　反应时间对甘油二酯粗产物脂质组成的影响

在底物物质的量比 2∶1、反应温度 60 ℃、酶添加量 6% 的条件下,考察反应时间对甘油二酯粗产物脂质组成的影响,结果如图 2 所示。

由图 2a 可知,随着反应时间的延长,月桂酸甘油二酯粗产物中,酯化产物的含量增加,游离脂肪酸含量减少,说明反应持续向正反应方向进行。在反应 9 h 时甘油二酯含量达到 53.44%。但 DAG/(DAG + TAG)随反应时间的延长呈现下降趋势。其中,在反应 6 ~9 h 时,DAG/(DAG + TAG)从 83.67% 下降至 75.51%。甘油三酯含量增加的原因可能是已生成的甘油二酯中脂肪酸发生了酰基转移,继而在酯化反应中进一步生成甘油三酯[13-14]。由图 2b 可知,在豆蔻酸甘油二酯的合成中,随反应时间延长,粗产物中各组分含量变化较为平缓,说明酯化反应逐渐达到平衡。当反应 6 ~9 h 时,甘油二酯含量

稳定在 30% 附近,且在反应 6 h 时 DAG/(DAG + TAG)最高。由于游离脂肪酸含量过高会影响甘油二酯最终得率,而 DAG/(DAG + TAG)过低不利于 DAG 纯度的提高,综合考虑,在月桂酸/豆蔻酸甘油二酯的合成反应中,反应时间均采用 6 h。

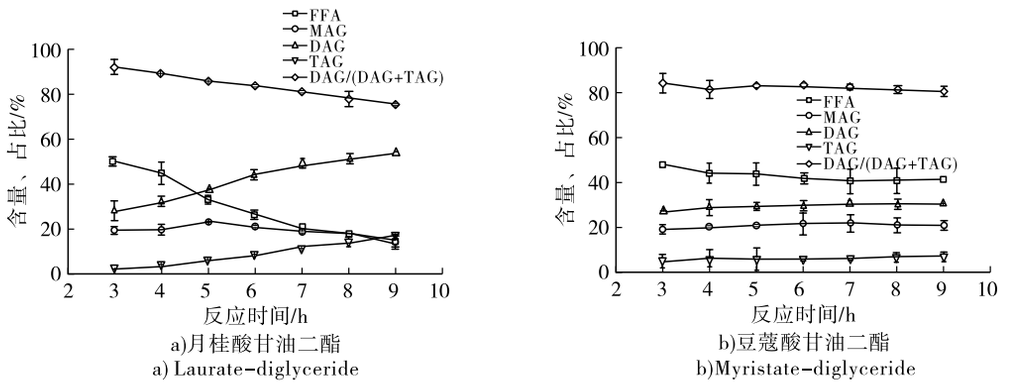


图 2 反应时间对甘油二酯粗产物脂质组成的影响

Fig. 2 Effect of reaction time on lipid composition of crude diacylglycerol products

2.1.3 反应温度对甘油二酯粗产物脂质组成的影响

本文考察反应温度范围为 45 ~ 65 ℃,考虑到豆蔻酸低于 60 ℃不易熔化,因此仅考察反应温度对月桂酸甘油二酯的影响,并以此作为两种脂肪酸甘油二酯合成的适宜反应温度。

在底物物质的量比 2∶1、反应时间 6 h、酶添加量 6% 的条件下,考察反应温度对月桂酸甘油二酯粗产物脂质组成的影响,结果如图 3 所示。

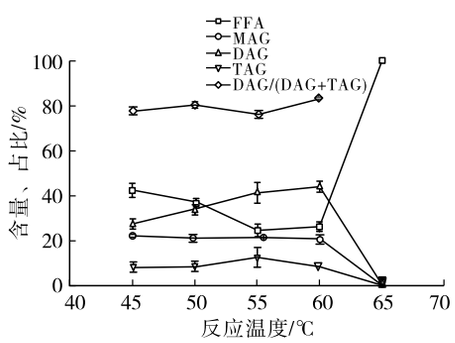


图 3 反应温度对月桂酸甘油二酯粗产物脂质组成的影响

Fig. 3 Effect of reaction temperature on lipid composition of crude laurate - diglyceride product

升高反应温度有助于反应朝正反应方向推进[15]。温度显著影响酶催化活性和反应热力学平衡[16]。由图 3 可知,在反应温度 45 ~ 60 ℃范围内,粗产物中甘油二酯含量随反应温度升高而提高,甘油一酯含量变化不显著,而甘油三酯含量呈先升后降趋势。当反应温度升高至 65 ℃时,酯化反应无产物生成,此时酶可能已失活。当反应温度为 60 ℃时甘油二酯含量和 DAG/(DAG + TAG)达到最大,同时结合豆蔻酸的熔化温度和酶作用温度两种因素,综合考虑,在月桂酸/豆蔻酸甘油二酯的合成反应中,反应温度均采用 60 ℃。另外,本文探明了固定化脂肪酶 R IM - 03 在甘油酯和脂肪酸体系中的反应温度上限。

2.1.4 酶添加量对甘油二酯粗产物脂质组成的影响

在底物物质的量比 2∶1、反应时间 6 h、反应温度 60 ℃的条件下,考察酶添加量对甘油二酯粗产物脂质组成的影响,结果如图 4 所示。

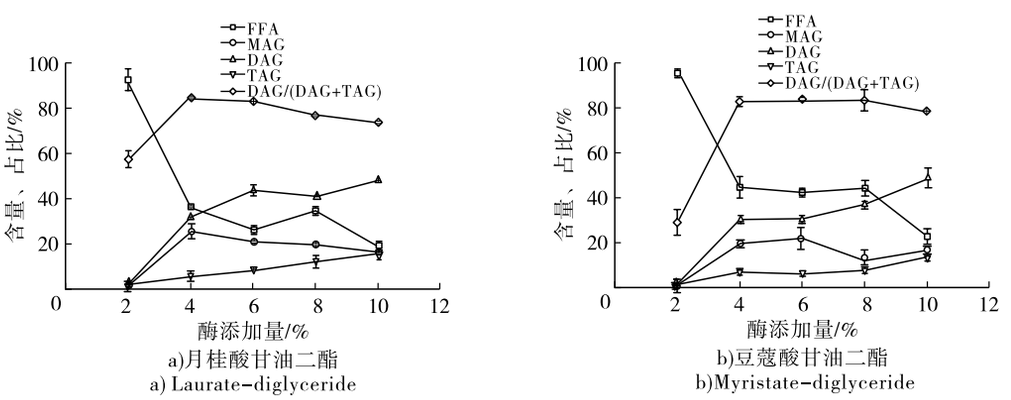


图 4 酶添加量对甘油二酯粗产物脂质组成的影响

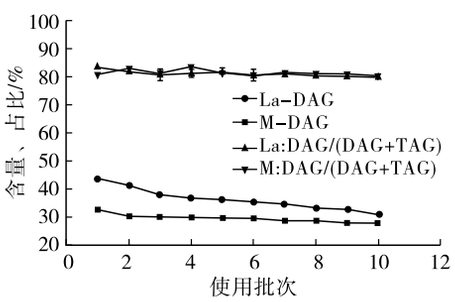
Fig. 4 Effect of enzyme addition amount on lipid composition of crude diacylglycerol products

由图 4a 可知,随着酶添加量增加,月桂酸甘油二酯和甘油三酯含量均呈上升趋势,在酶添加量为 10% 时甘油二酯含量达到最大。其原因主要是随着酶添加量的增加,底物与酶活性中心接触概率增加,从而推动酯化反应的进行[17]。随着酶添加量从 2% 提高到 10%,DAG/(DAG + TAG)先增加后逐渐减小,在酶添加量 4% 时 DAG/(DAG + TAG)最大,为 84.58%,此时甘油二酯含量为 32.02%;当酶添加量为 6% 时,DAG/(DAG + TAG)相对略低,为 83.54%,但此时甘油二酯含量可达 44.02%。随着酶添加量的增加,豆蔻酸甘油二酯酯化反应脂质组成呈现出同样的变化趋势(见图 4b)。因此,在月桂酸/豆蔻酸甘油二酯的合成反应中,酶添加量均采用 6%。

综上,固定化脂肪酶 R IM - 03 催化甘油和月桂酸/豆蔻酸合成甘油二酯的最优条件为底物物质的量比 2∶1、反应温度 60 ℃、反应时间 6 h、酶添加量 6%。

2.2　固定化脂肪酶的重复利用性

在 2.1 最优反应条件下按 1.2.1 方法进行酯化反应,在酯化反应结束后真空抽滤回收脂肪酶,进行下一批次的液化酯化反应,同时测定产物的脂质组成,研究固定化脂肪酶 R IM - 03 的重复利用性,结果如图 5 所示。



注:La 为月桂酸;M 为豆蔻酸。下同

Note: La. laurate acid; M. myristate acid. The same below

图 5　固定化脂肪酶 R IM - 03 的重复利用性

Fig. 5　Reusability of immobilized lipase R IM - 03

由图 5 可知,随反应次数增加,酯化反应粗产物中甘油二酯含量呈下降趋势。重复反应 10 批次后,DAG/(DAG + TAG)保持在 80% 以上,说明在该反应条件下,酶的重复利用次数至少为 10 次。

2.3　甘油二酯粗产物的组成

在 2.1 最优酯化条件下合成月桂酸甘油二酯(La - DAG)、豆蔻酸甘油二酯(M - DAG),测定其脂质组成,结果见表 1。

表 1　甘油二酯粗产物的脂质组成

Table 1　Lipid composition of crude diacylglycerol products　　%

粗产物	FFA	MAG	DAG	TAG
La - DAG	26.13 ± 0.11	21.29 ± 0.54	43.87 ± 0.65	8.71 ± 0.01
M - DAG	43.73 ± 1.27	19.41 ± 0.97	30.00 ± 0.25	6.87 ± 0.06

由表 1 可知,月桂酸甘油二酯粗产物中甘油二酯的含量较豆蔻酸甘油二酯高。这是由于在同一反应温度下,相较于含豆蔻酸的反应体系,含月桂酸的反应体系黏度更低,反应程度更高[18]。

2.4　分子蒸馏纯化工艺条件优化

甘油二酯粗产物通常通过蒸馏去除副产物和未反应原料,该反应中游离脂肪酸和甘油一酯可以进行循环利用[19]。一般而言,蒸馏温度越高,副产物和未反应原料的脱除效率越高;但蒸馏温度过高可能导致目标成分损失率加大,且还会影响产品品质。本试验采用分子蒸馏对甘油二酯粗产物进行分级纯化。首先,考察一级分子蒸馏温度对重相酸值和产物甘油二酯含量的影响,结果见图 6。

由图 6 可知,在 140 ~ 170 ℃的范围内,随一级分子蒸馏温度升高,游离脂肪酸脱除效果显著,月桂酸甘油二酯含量从 55.82% 提高到 73.44%,酸值(KOH)从 40.12 mg/g降至 4.15 mg/g,而豆蔻酸甘油二酯含量从 46.18% 提高至 64.81%,酸值(KOH)从 42.13 mg/g 降至 9.22 mg/g。一级分子蒸馏温度为 170 ℃时,月桂酸甘油二酯和豆蔻酸甘油二酯的脱酸率分别为 90.9% 和 92.6%。Ştefan 等[9]通过优化的分子蒸馏工艺模型也发现在较高温度(173.5 ℃)时脱酸效率最高可达 92.2%。

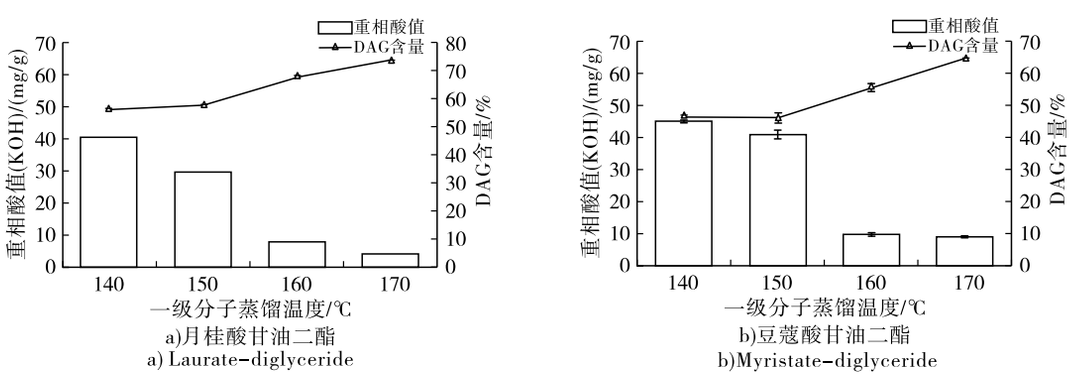


图 6　一级分子蒸馏温度对甘油二酯产物纯度的影响

Fig. 6　Effect of primary molecular distillation temperature on the purity of diacylglycerol products

固定一级分子蒸馏温度为 170 ℃，对一级分子蒸馏纯化产物进行二级分子蒸馏以脱除甘油一酯和剩余的游离脂肪酸，考察二级分子蒸馏温度对重相酸值和产物甘油二酯含量的影响，结果如图 7 所示。

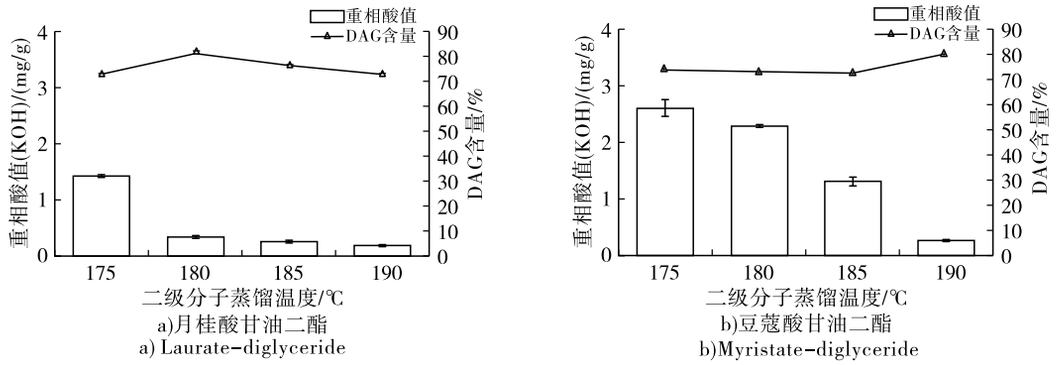


图 7　二级分子蒸馏温度对甘油二酯产物纯度的影响

Fig. 7　Effect of secondary distillation temperature on the purity of diacylglycerol products

由图 7a 可知，当二级分子蒸馏温度为 180 ℃时，月桂酸甘油二酯含量最高，而高于 180 ℃时，游离脂肪酸脱除效果不显著，因此月桂酸甘油二酯的二级分子蒸馏温度确定为 180 ℃。由图 7b 可知，游离脂肪酸脱除程度和豆蔻酸甘油二酯含量随二级蒸馏温度升高而提升，在 190 ℃时达到最佳效果。

总体而言，经二级分子蒸馏处理，目标产物中游离脂肪酸脱除率可达 99% 以上。

2.5　纯化月桂酸/豆蔻酸甘油二酯的理化性质

将纯化月桂酸甘油二酯和豆蔻酸甘油二酯按质量比 8∶2、6∶4、4∶6 和 2∶8 复配，分别记为复配 1、复配 2、复配 3 和复配 4，纯化月桂酸甘油二酯、豆蔻酸甘油二酯及其复配物的脂质组成、酸值与滑动熔点见表 2。纯化甘油二酯及其复配物的固体脂肪含量曲线见图 8。

表 2　纯化甘油二酯及其复配物的脂质组成、酸值与滑动熔点

Table 2　Lipid composition, acid value and sliding melting point of purified diacylglycerol products and its complex

样品	脂质组成/%				酸值(KOH)/(mg/g)	滑动熔点/℃
	TAG	MAG	1,3 - DAG	1,2 - DAG		
La - DAG	18.72 ± 0.34	-	53.16 ± 0.40	28.13 ± 0.06	0.33 ± 0.01	48.9 ± 1.1
M - DAG	18.21 ± 0.10	1.70 ± 0.15	54.27 ± 0.01	25.81 ± 0.07	0.26 ± 0.01	57.0 ± 0.2
复配 1	18.60 ± 0.08	0.35 ± 0.10	53.73 ± 0.06	27.31 ± 0.07	0.32 ± 0.02	43.4 ± 0.1
复配 2	18.54 ± 0.18	0.66 ± 0.28	53.57 ± 0.22	27.22 ± 0.11	0.26 ± 0.06	43.5 ± 0.3
复配 3	18.49 ± 0.06	1.05 ± 0.10	53.87 ± 0.19	26.59 ± 0.04	0.28 ± 0.00	49.9 ± 0.3
复配 4	18.36 ± 0.04	1.39 ± 0.30	54.10 ± 0.07	26.15 ± 0.01	0.30 ± 0.01	53.9 ± 0.9

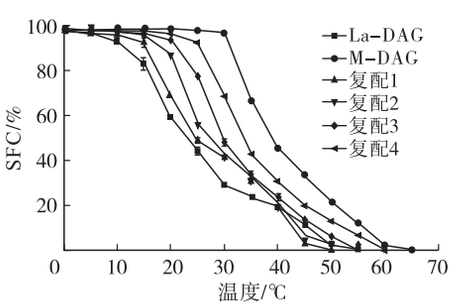


图 8　纯化甘油二酯及其复配物的固体脂肪含量曲线

Fig. 8　Solid fat content curve of purified diacylglycerol products and its complex

由表 2 可知，纯化月桂酸甘油二酯和豆蔻酸甘油二酯中甘油二酯含量分别为 81.29% 和 80.08%，其中 1,3 - DAG 含量分别为 53.16% 和 54.27%，DAG/(DAG + TAG)约为 80%。纯化月桂酸甘油二酯和豆蔻酸甘油二酯质量比为 8∶2 和 6∶4 时，复配物滑动熔点低于原料油脂，表明此时出现共晶(图 8)，相容性不佳，可能会影响相应含油制品的品质[20]。当豆蔻酸甘油二酯的复配比例进一步增加时，复配体系的相容性提高。总体而言，甘油二酯产物的滑动熔点达 43.4 ~ 57.0 ℃，在 30 ~ 40 ℃区间的 SFC 呈现陡然下降趋势(图 8)，在食品加工中具备理想的操作性能，可用于可可脂替代品、起酥油等[21 - 22]。

3　结　论

本文以固定化脂肪酶 R IM - 03 为催化剂，定向合成月桂酸甘油二酯和豆蔻酸甘油二酯，并采用分子蒸馏对粗产物进行纯化，确定其最优酶法酯化工艺条件为底物(脂肪酸与甘油)物质的量比 2∶1、反应温度 60 ℃、反应时间 6 h、酶添加量 6%；月桂酸甘油二酯粗产物分子蒸馏纯化的最优条件为一级分子蒸馏温度 170 ℃、二级分子蒸馏温度 180 ℃，豆蔻酸甘油二酯粗产物纯化的最优条件为一级分子蒸馏温

度 170 ℃、二级分子蒸馏温度 190 ℃。在最优工艺条件下,纯化月桂酸甘油二酯和豆蔻酸甘油二酯中甘油二酯含量分别为 81.29% 和 80.08%,其中 1,3 - 甘油二酯含量分别为 53.16% 和 54.27%,DAG/(DAG + TAG)约为 80%。探明了固定化脂肪酶 R IM - 03可重复利用至少 10 次,提出 DAG/(DAG + TAG)可作为过程控制的关键指标,高效指导甘油二酯的生物合成。确定月桂酸甘油二酯和豆蔻酸甘油二酯的相容区域,说明异酸甘油二酯复配可显著改变产物的熔化性质,为食品加工油脂提供更多选择。

参考文献:

[1] KARGAR M, HEKMATSHOAR R, GHANDI M, et al. Use of glycerol carbonate in an efficient, one - pot and solvent free synthesis of 1, 3 - sn - diglycerides[J]. J Am Oil Chem Soc, 2013, 90(2): 259 - 264.

[2] YANAI H, TOMONO Y, ITO K, et al. Diacylglycerol oil for the metabolic syndrome[J/OL]. Nutr J, 2007, 6: 43 [2023 - 11 - 08]. https://doi.org/10.1186/1475 - 2891 - 6 - 43.

[3] LI Z, LEE Y Y, WANG Y, et al. Interfacial behavior, gelation and foaming properties of diacylglycerols with different acyl chain lengths and isomer ratios[J/OL]. Food Chem, 2023, 427: 136696 [2023 - 11 - 08]. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136696.

[4] LIU N, CUI J, LI G, et al. The application of high purity diacylglycerol oil in whipped cream: Effect on the emulsion properties and whipping characteristics[J]. Cyta J Food, 2019,17(1): 60 - 68.

[5] ZHOU J, MAO Y L, LEE Y Y, et al. Physical, textural and crystallization characteristics of different chain length diacylglycerol - based solid fats[J/OL]. J Am Oil Chem Soc, 2023(10): 12750 [2023 - 11 - 08]. https://doi.org/10.1002/aocs.12750.

[6] 梅岚, 李祎铭. 甘油二酯的酶法合成及纯化工艺研究进展[J]. 现代食品, 2022, 28(15): 48 - 52.

[7] 高正松, 王保成, 徐松泉, 等. 甘油二酯的合成及纯化研究进展[J]. 广州化工, 2020, 48(17): 4 - 8.

[8] 高亮. 1 - 油酸 - 2 - 棕榈酸 - 3 - 亚油酸甘油三酯的酶法合成及高相似性人乳替代脂的制备[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2020.

[9] ŞTEFAN N G, IANCU P, PLEŞU V, et al. Highly efficient deacidification process for *Camelina sativa* crude oil by molecular distillation[J/OL]. Sustainability, 2021, 13(5): 2818 [2023 - 11 - 08]. https://doi.org/10.3390/su13052818.

[10] LIU C, MENG Z, CAO P, et al. Visualized phase behavior of binary blends of coconut oil and palm stearin [J]. Food Chem, 2018, 266: 66 - 72.

[11] 陈佳子. 甘油二酯的制备、性质表征及其在油包水型乳状液中的应用研究[D]. 广州: 暨南大学, 2018.

[12] 钟南京, 董玲燕, 李琳, 等. 酶法酯化脂肪酸与甘油合成 1, 3 - 甘油二酯[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2010, 31(2): 59 - 61.

[13] 刘四磊, 刘伟, 董绪燕, 等. 酶法合成富含花生四烯酸的 1, 3 - 甘油二酯工艺研究[J]. 中国油料作物学报, 2015, 37(1): 106 - 112.

[14] HU D J, CHEN J M, XIA Y M. A comparative study on production of middle chain diacylglycerol through enzymatic esterification and glycerolysis[J]. J Ind Eng Chem, 2013, 19(5): 1457 - 1463.

[15] 鲁珊, 黄健花, 王兴国. 无溶剂体系酶催化酯化反应合成 1, 3 - 甘油二酯的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2013, 32(4): 358 - 361.

[16] LIU N, WANG Y, ZHAO Q, et al. Fast synthesis of 1, 3 - DAG by Lecitase® Ultra - catalyzed esterification in solvent - free system[J]. Eur J Lipid Sci Tech, 2011, 113(8): 973 - 979.

[17] ZENG C X, QI S J, XIN R P, et al. Enzymatic selective synthesis of 1, 3 - DAG based on deep eutectic solvent acting as substrate and solvent[J]. Bioprocess Biosyst Eng, 2015, 38(11): 2053 - 2061.

[18] ABDRAZAK N N, GEW L T, PÉRÈS Y, et al. Statistical optimization and kinetic modeling of lipase - catalyzed synthesis of diacylglycerol in the mixed solvent system of acetone/*tert* - butanol[J]. Ind Eng Chem Res, 2021, 60(39): 14026 - 14037.

[19] MAHROUS E A, FARAG M A. Trends and applications of molecular distillation in pharmaceutical and food industries[J]. Sep Purif Rev, 2022, 51(3): 300 - 317.

[20] LIU C, MENG Z, CHAI X, et al. Comparative analysis of graded blends of palm kernel oil, palm kernel stearin and palm stearin[J]. Food Chem, 2019, 286: 636 - 643.

[21] IOHN C R, ROBERT L. Novel 1,3 - diacylglycerol(1,3 - DAG) for hard fat applications: WOCA 2012/000732[P]. 2013 - 02 - 07.

[22] 金俊, 金青哲, 王兴国. 起酥油的类型与特征指标研究[J]. 中国油脂, 2021, 46(5): 53 - 57.