

山茶油基甘油二酯的酶解制备工艺优化

章 敏, 祝洪刚, 俞春莲

(浙江常发粮油食品有限公司, 浙江 衢州 324299)

摘要:旨在为山茶油的利用奠定基础,以精炼山茶油和甘油为底物,在无溶剂体系中通过酶法催化甘油解反应制备 DAG。考察了固定化脂肪酶种类、反应温度、加酶量、反应时间、底物物质的量比及初始加水量对产物中 DAG 含量的影响,在此基础上,通过响应面实验优化山茶油基 DAG 的酶解制备工艺,并考察了固定化脂肪酶的重复使用性。结果表明:山茶油基 DAG 的最佳酶解制备工艺条件为采用固定化脂肪酶 Lipozyme 435 为催化剂、山茶油与甘油物质的量比 1:3、初始加水量 1.5% (以底物总质量计)、加酶量 6.5% (以底物总质量计)、反应温度 69℃、反应时间 11 h,在此条件下产物中 DAG 含量达到 52.83% (1,3-DAG 含量 42.38%, 1,2-DAG 含量 10.45%)。固定化脂肪酶循环使用 5 次后,产物中 DAG 含量无明显降低,其相对酶活力依然维持在 90% 左右。综上,采用固定化脂肪酶催化山茶油甘油解制备的山茶油基 DAG 中 DAG 含量高,该工艺适合用于山茶油的深度加工。

关键词:甘油二酯;山茶油;固定化脂肪酶;甘油解

中图分类号:TS225.1;TS224.8 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2025)09-0107-07

Optimization of enzymatic hydrolysis preparation process for camellia seed oil based diacylglycerol

ZHANG Min, ZHU Honggang, YU Chunlian

(Zhejiang Changfa Grain, Oil and Food Co., Ltd., Quzhou 324299, Zhejiang, China)

Abstract: To lay the foundation for the utilization of camellia seed oil based diacylglycerol (DAG), DAG was prepared by enzymatic catalysis of glycerol hydrolysis reaction in a solvent-free system using refined camellia seed oil and glycerol as substrates. The effects of immobilized lipase type, reaction temperature, enzyme dosage, reaction time, substrate molar ratio, and initial water dosage on the DAG content in the product were investigated. On this basis, the enzymatic hydrolysis preparation process of camellia seed oil based DAG was optimized by response surface methodology. The reusability of immobilized lipase was also examined. The results showed that the optimal enzymatic hydrolysis conditions for preparing camellia seed oil based DAG were obtained as follows: using immobilized lipase Lipozyme 435 as the catalyst, molar ratio of camellia seed oil to glycerol 1:3, initial water dosage 1.5% (based on total mass of substrate), enzyme dosage 6.5% (based on total mass of substrate), reaction temperature 69℃, and reaction time 11 h. Under these conditions, the DAG content in the product reached 52.83% (1,3-DAG content of 42.38%, 1,2-DAG content of 10.45%). The DAG content of the immobilized lipase did not decrease significantly after 5 cycles, and its relative enzyme activity was still maintained at about 90%. In summary, the camellia seed oil based DAG prepared by immobilized lipase catalyzed glycerol hydrolysis of camellia seed oil has a high content of DAG and the process is suitable for deep processing of camellia seed oil.

Key words: diacylglycerol; camellia seed oil; immobilized lipase; glycerol hydrolysis

收稿日期:2024-07-04;修回日期:2025-05-08

基金项目:浙江省重点——科技强农专项(2023K099)

作者简介:章 敏(1979),男,副高级工程师,研究方向为食品营养(E-mail)1169559327@qq.com。

山茶树是山茶科山茶属多年生常绿小乔木,是我国南方地区及东南亚部分国家重要的木本油料植物^[1],其主要产品山茶油具有较高的食用价值和药用价值^[2]。山茶油油酸含量高,还含有角鲨烯等活性成分,具有抗氧化、提高机体免疫力等功效^[3]。食用植物油的主要成分为甘油三酯(TAG),过量摄入可引起肥胖,进而导致各种相关疾病。与TAG相比,甘油二酯(DAG)能更好地抑制腹部和内脏脂肪的积累,可以预防和改善因肥胖引起的相关并发症,同时可以降低血脂含量,进而达到预防和治疗高脂血症以及与其相关的心脑血管疾病的目的^[4]。目前,关于山茶油基DAG的研究较少,开发富含DAG的山茶油产品在未来具有广阔的应用前景。

DAG的制备方法可分为化学法和酶法^[5-6]。化学法因高温、有机溶剂的使用等缺点限制了其在食品领域的应用。酶法反应条件温和,可极大地降低反应能耗,酶的高选择性也可以减少副反应的发生,但酶的分离和回收限制了其在工业上的大规模使用^[7],而固定化酶可以实现酶的循环利用^[8-9]。采用固定化酶促甘油解制备DAG具有广阔的工业应用前景。

本文以山茶油为原料,采用酶促甘油解制备DAG,利用单因素实验和响应面实验对酶解制备工艺条件进行优化,并考察了固定化酶的重复使用性,以期山茶油的开发利用奠定一定的研究基础,提高油茶树的经济价值。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

精炼山茶油,浙江常发粮油食品有限公司;甘油,1,2-DAG、1,3-DAG,上海默克公司;固定化脂肪酶 Lipozyme TL IM(来源于 *Thermomyces lanuginosus*,吸附于硅胶,酶活 0.25 U/mg)、Lipozyme RM IM(来源于 *Rhizomucor miehei*,吸附于大孔阴离子交换树脂,酶活 0.275 U/mg)、Lipozyme NS40086(来源于 *Aspergillus oryzae*,吸附于大孔丙烯酸树脂,酶活 0.275 U/mg)、Lipozyme 435(来源于 *Candida antarctica*,吸附于大孔丙烯酸树脂,酶活 9 U/mg),诺维信生物技术有限公司。

1.1.2 仪器与设备

H2 型恒温水浴锅,天津泰斯特仪器有限公司;NTS-4000B 型恒温振荡槽,日本东京理化公司;LD4-2A型离心机,北京京立离心机有限公司;DHG-9240A 型电热恒温鼓风干燥箱,上海精宏实验设备有限公司;2695 高效液相色谱仪,美国 Waters 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 山茶油基 DAG 的制备

称取 1 mol 山茶油于锥形瓶中,按一定比例加入甘油和固定化脂肪酶,并加入一定量的纯水。待体系温度达到预定温度后,将锥形瓶放入恒温水浴振荡器中,300 r/min 振荡反应一定时间,通过离心(3 000 r/min)得到山茶油基 DAG 和固定化脂肪酶。

1.2.2 山茶油甘油解反应产物组成的测定

采用高效液相色谱法(HPLC)测定反应产物的组成及含量^[1]。将反应产物经 0.22 μm 微孔过滤器过滤后,用正己烷稀释至质量浓度为 2.0 mg/mL,待 HPLC 检测。色谱条件:蒸发光(ELSD)检测器;Kromat Universil CN 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm);柱温 30 ℃;流速 1.0 mL/min;进样量 10 μL;梯度洗脱程序见表 1。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进行定量。

表 1 二元梯度洗脱程序

Table 1 Sequence of binary gradient elution

时间/min	正己烷 (含 0.4% 乙酸)/%	叔丁基甲基醚 (含 0.4% 乙酸)/%
0 ~ 5	100	0
5 ~ 15	100 ~ 20	0 ~ 80
15 ~ 17	20	80
17 ~ 17.1	20 ~ 100	80 ~ 0
17.1 ~ 20	100	0

1.2.3 固定化脂肪酶的回收

将催化反应后分离的固定化脂肪酶,先用石油醚清洗残留油脂,再用蒸馏水清洗,最后进行抽滤、干燥,进行回收。

1.2.4 固定化脂肪酶活力的测定

固定化脂肪酶活力参照诺维信标准分析方法进行测定^[10]。将月桂酸与丙醇按物质的量比 1:1 置于恒温摇床中振荡溶解,加入固定化脂肪酶,恒温振荡反应,取样,进行气相色谱检测,计算月桂酸酯化率。固定化脂肪酶的酯化活力按公式(1)进行计算。

$$X = NC \times \frac{10^6}{tm} \quad (1)$$

式中: X 为固定化脂肪酶酯化活力, U/mg; N 为初始加入的月桂酸物质的量, mol; C 为月桂酸酯化率; t 为反应时间, min; m 为加入固定化脂肪酶的质量, mg。

相对酶活力为固定化脂肪酶催化反应回收后的酶活力与初始酶活力的比值。

1.2.5 数据处理

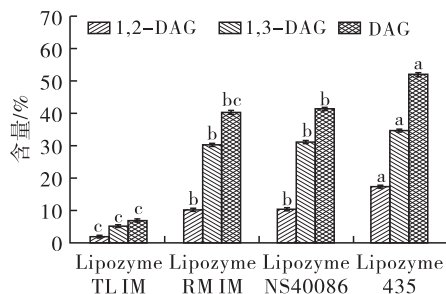
所有的数据测定均重复进行 3 次,以“平均值 $\pm$ 标准差”表示。使用 Origin 软件进行数据绘制、统计分析和显著性分析。选择单样本和双样本的 t 检验来确定组间的统计学差异。 $p < 0.05$ 表示结果存在显著性差异。

2 结果与分析

2.1 固定化脂肪酶催化山茶油甘油解的单因素实验

2.1.1 固定化脂肪酶种类对 DAG 含量的影响

在反应温度 65 $^{\circ}\text{C}$ 、山茶油与甘油物质的量比 1:3、初始加水量 0(以底物总质量计)、加酶量 7%(以底物总质量计)、反应时间 12 h 的条件下,考察固定化脂肪酶种类对山茶油酶促甘油解反应制备 DAG 的影响,结果如图 1 所示。



注:同一指标不同字母代表差异显著($p < 0.05$)。下同

Note: Different letters for the same indicator represent significant differences ($p < 0.05$). The same below

图 1 固定化脂肪酶种类对 DAG、1,2-DAG、1,3-DAG 含量的影响

Fig. 1 Effect of immobilized lipase types on the contents of DAG, 1,2-DAG, and 1,3-DAG

由图 1 可知,固定化脂肪酶种类对山茶油甘油解效果影响存在显著差异。固定化脂肪酶催化山茶油生产 DAG 能力的强弱顺序为 Lipozyme 435 > Lipozyme NS40086 > Lipozyme RM IM > Lipozyme TL IM。固定化脂肪酶 Lipozyme NS40086 和 Lipozyme RM IM 对体系中 1,3-DAG 和 1,2-DAG 含量的影响无显著差异。山茶油酶促甘油解反应更容易生成 1,3-DAG。

固定化酶作为催化剂影响山茶油制备 DAG 的因素主要有两个:一是固定化酶的活力,二是固定化酶载体的极性^[11]。4 种固定化脂肪酶中,Lipozyme TL IM 的载体硅胶极性较强,对甘油的吸附能力较强,但不适合应用于非极性的反应环境;此外,Lipozyme TL IM 的酶活只有 0.25 U/mg,且其是一种区域特异性脂肪酶,倾向于酯化不饱和脂肪酸,这影响了甘油解反应的速率。Lipozyme RM IM 与

Lipozyme NS40086 酶促山茶油甘油解的能力相近,这是因为两者酶活相同(均为 0.275 U/mg),且两者的载体均为弱极性材料。但是,Lipozyme RM IM 是一种区域特异性脂肪酶^[12],且其热稳定性较低,在 60 $^{\circ}\text{C}$ 以上进行反应对其催化活性有不利影响,故 Lipozyme NS40086 的催化性能略强于 Lipozyme RM IM^[13]。Lipozyme 435 的载体为弱极性材料,对底物油的吸附有限,且酶活为 9 U/mg,甘油解反应速率较快。另外,Lipozyme 435 是一种非区域特异性脂肪酶,可以酯化多数的脂肪酸,故催化性能最好。因此,选择 Lipozyme 435 作为催化剂进行后续实验。

2.1.2 反应温度对 DAG 含量的影响

采用固定化脂肪酶 Lipozyme 435 为催化剂,在山茶油与甘油物质的量比 1:3、初始加水量 0、加酶量 7%、反应时间 12 h 的条件下,考察反应温度对山茶油酶促甘油解反应制备 DAG 的影响,结果见图 2。

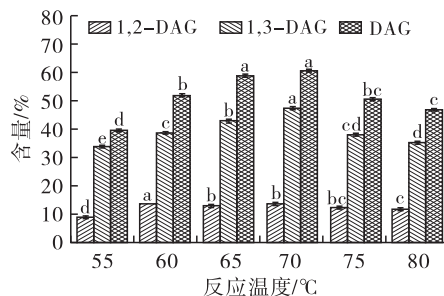


图 2 反应温度对 DAG、1,2-DAG、1,3-DAG 含量的影响

Fig. 2 Effect of reaction temperature on the contents of DAG, 1,2-DAG, and 1,3-DAG

由图 2 可知,反应温度对 DAG、1,3-DAG 和 1,2-DAG 含量影响显著。反应温度在 55~65 $^{\circ}\text{C}$ 时,体系中 DAG 的含量随着反应温度的升高而增加。这是因为当反应温度升高时,混合体系的黏度降低,加剧了催化剂、山茶油、甘油分子之间的碰撞,分子间的传质速率增加,促使反应向有利于 DAG 生成的方向进行^[14];反应温度为 65~70 $^{\circ}\text{C}$ 时,温度升高对 DAG 含量的影响不显著;当反应温度超过 70 $^{\circ}\text{C}$ 后,尽管体系的黏度进一步降低,但此时的固定化脂肪酶 Lipozyme 435 被钝化,酶活下降,催化性能下降,不利于山茶油甘油解反应的进行,体系中 DAG 的含量减少^[15]。为了减少能耗,选择 65 $^{\circ}\text{C}$ 为山茶油甘油解的反应温度。

2.1.3 加酶量对 DAG 含量的影响

采用固定化脂肪酶 Lipozyme 435 为催化剂,在山茶油与甘油物质的量比 1:3、反应温度 65 $^{\circ}\text{C}$ 、初始加水量 0、反应时间 12 h 的条件下,考察加酶量对酶促山茶油甘油解反应制备 DAG 的影响,结果见图 3。

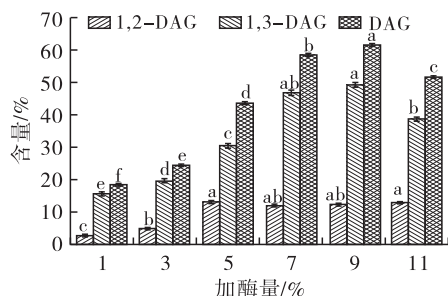


图3 加酶量对 DAG、1,2-DAG、1,3-DAG 含量的影响

Fig. 3 Effect of lipase dosage on the contents of DAG, 1,2-DAG, and 1,3-DAG

山茶油的酶促甘油解反应为可逆反应。由图3可知,当加酶量从1%提高到7%时,酶的添加促进了山茶油进行甘油解反应生成 DAG,体系中 DAG 含量增大。这是因为在酶浓度较低时,对于固定的底物浓度,加酶量还不能使反应达到平衡^[16]。酶添加量由7%增加至9%时,体系中 DAG 含量增加趋势减缓,表明体系的甘油解反应即将达到平衡。而当加酶量为9%时,DAG 含量达到最大,此时体系的反应达到平衡。当加酶量从9%增加到11%时,由于氢键、共价键等作用力的存在,过量的酶分子之间会产生较强的相互作用,参与底物甘油解的酶含量减少,导致体系中 DAG 的含量略有降低^[17]。而在加酶量为5%时,体系中 1,2-DAG 的含量达到最大,之后加酶量对 1,2-DAG 的含量基本没有影响;加酶量对体系中 1,3-DAG 含量的影响显著。从经济角度考虑,选择加酶量为7%来进行后续实验。

2.1.4 反应时间对 DAG 含量的影响

采用固定化脂肪酶 Lipozyme 435 为催化剂,在山茶油与甘油物质的量比 1:3、反应温度 65℃、初始加水量 0、加酶量 7% 的条件下,考察反应时间对酶促山茶油甘油解反应制备 DAG 的影响,结果见图4。

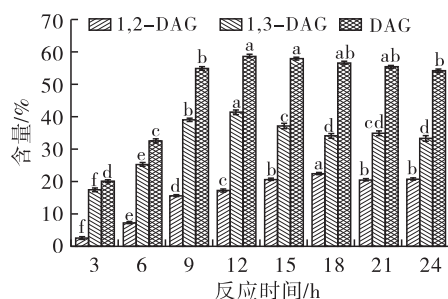


图4 反应时间对 DAG、1,2-DAG、1,3-DAG 含量的影响

Fig. 4 Effect of reaction time on the contents of DAG, 1,2-DAG, and 1,3-DAG

由图4可知,在12h之前,反应时间对体系 DAG 含量的影响显著,而在12h之后反应时间对

DAG 含量的影响总体不显著。随着反应时间的延长,DAG 含量呈现先增加后减少的趋势。在12h内,甘油解反应向有利于 DAG 生成的方向进行;反应时间为12h时,体系中 DAG 含量达到最大,之后随着反应时间的继续延长,DAG 含量略有下降。这说明,在反应初始阶段山茶油中的脂肪酸与甘油相结合,从而生成 DAG。当反应时间延长至12h后,体系中 DAG 的生成速率低于其分解速率,DAG 含量降低^[18],同时随着反应时间的延长,固定化脂肪酶 Lipozyme 435 蛋白质结构的改变导致其酶活降低,催化性能减弱^[19]。因此,后续研究的反应时间设定为12h。

2.1.5 底物物质的量比对 DAG 含量的影响

采用固定化脂肪酶 Lipozyme 435 为催化剂,在反应温度 65℃、初始加水量 0、加酶量 7%、反应时间 12h 的条件下,考察山茶油与甘油物质的量比对山茶油甘油解反应制备 DAG 的影响,结果见图5。

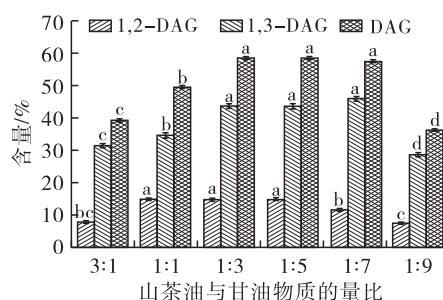


图5 底物物质的量比对 DAG、1,2-DAG、1,3-DAG 含量的影响

Fig. 5 Effect of molar ratio of substrate on the contents of DAG, 1,2-DAG, and 1,3-DAG

由图5可知,当山茶油与甘油物质的量比为1:1时,体系中 1,2-DAG 的含量达到最大,而当山茶油与甘油物质的量比为 1:3 时,体系中 1,3-DAG 的含量达到最大。山茶油与甘油物质的量比对 1,3-DAG 含量的影响大于其对 1,2-DAG 含量的影响。随着初始底物中甘油占比的增加,山茶油甘油解产物中 DAG 的含量呈先增加后减少的趋势。在甘油添加量较低时,甘油含量的增加可以使底物浓度增加,促使甘油解反应向 DAG 生成的方向进行^[20]。当山茶油与甘油物质的量比在一定范围(1:3~1:7)时,其对体系中 DAG、1,3-DAG 和 1,2-DAG 的含量基本没有影响。随着甘油添加量的继续增加,体系黏度增大,影响反应物分子之间的传质作用,各反应物之间接触不够充分,反应速率降低^[21]。因此,选择山茶油与甘油物质的量比为 1:3。

2.1.6 初始加水量对 DAG 含量的影响

研究表明,在酶促甘油解反应的初始阶段加入一定量的水能够帮助酶分子维持其有效构象,发挥催化活性^[22]。采用固定化脂肪酶 Lipozyme 435 为催化剂,在山茶油与甘油物质的量比 1:3、加酶量 7%、反应温度 65 ℃、反应时间 12 h 的条件下,考察初始加水量对山茶油甘油解反应制备 DAG 的影响,结果见图 6。

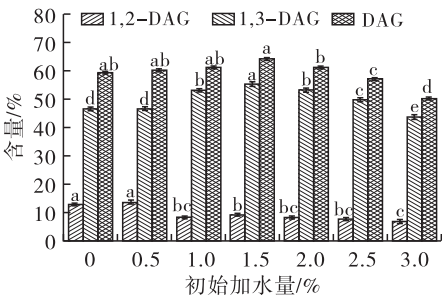


图 6 初始加水量对 DAG、1,2-DAG、1,3-DAG 含量的影响

Fig. 6 Effect of initial water dosage on the contents of DAG, 1,2-DAG, and 1,3-DAG

由图 6 可知,初始加水量低于 1.5% 时,水的存在有利于体系中 DAG 的生成,但影响较小。当初始加水量为 1.5% 时,体系中 DAG 的含量最高。随着体系中初始水含量的继续增加,体系中 DAG 的含量明显降低,推测其原因可能是水含量增加导致山茶油的水解副反应加强,参与甘油解反应的底物减少,最终导致体系中 DAG 的平衡浓度降低^[23]。因此,选择初始加水量为 1.5%。

2.2 固定化脂肪酶催化山茶油甘油解的响应面优化实验

单因素实验结果表明底物物质的量比、初始加水量在一定范围内对酶促山茶油甘油解制备 DAG 的影响较小,所以固定山茶油与甘油物质的量比 1:3、初始加水量 1.5%,以反应温度、反应时间、加酶量为考察因素,以 DAG 含量为响应值,采用 Design-Expert 10.0 软件,通过 Box-Behnken 实验设计原理,进行响应面优化实验,以确定最佳山茶油酶促甘油解工艺条件。响应面实验因素与水平见表 2,响应面实验设计及结果见表 3,回归模型方差分析见表 4。

表 2 响应面实验因素与水平

水平	A 反应温度/℃	B 反应时间/h	C 加酶量/%
-1	60	6	3
0	65	9	5
1	70	12	7

表 3 响应面实验设计及结果

Table 3 Design and results of response surface experiment

实验号	A	B	C	DAG 含量(Y)/%
1	0	1	-1	28.03 ± 0.38
2	1	-1	0	25.04 ± 0.33
3	-1	1	0	37.15 ± 0.28
4	0	-1	1	35.06 ± 0.32
5	0	0	0	35.88 ± 0.41
6	1	0	1	51.32 ± 0.28
7	0	0	0	35.51 ± 0.33
8	-1	0	1	39.63 ± 0.36
9	-1	0	-1	16.64 ± 0.41
10	0	1	1	58.52 ± 0.42
11	0	0	0	36.34 ± 0.38
12	0	-1	-1	13.01 ± 0.34
13	-1	-1	0	19.42 ± 0.42
14	0	0	0	35.35 ± 0.43
15	0	0	0	36.06 ± 0.39
16	1	0	-1	21.81 ± 0.28
17	1	1	0	44.53 ± 0.43

表 4 回归模型方差分析

Table 4 Analysis of variance of regression model

来源	平方和	自由度	均方	F	p	显著性
模型	2 274.73	9	252.75	745.16	<0.000 1	**
A	110.48	1	110.48	325.73	<0.000 1	**
B	715.37	1	715.37	2 109.06	<0.000 1	**
C	1 370.78	1	1 370.78	4 041.39	<0.000 1	**
AB	0.93	1	0.93	2.75	0.141 5	
AC	9.61	1	9.61	28.33	0.001 1	**
BC	18.15	1	18.15	53.50	0.000 2	**
A ²	34.39	1	34.39	101.38	<0.000 1	**
B ²	9.19	1	9.19	27.11	0.001 2	**
C ²	2.12	1	2.12	6.26	0.040 8	*
残差	2.37	7	0.34			
失拟项	1.76	3	0.59	3.82	0.114 3	
纯误差	0.61	4	0.15			
总误差	2 277.11	16				

注: * 表示差异显著($p < 0.05$); ** 表示差异极显著($p < 0.01$)

Note: *. $p < 0.05$; **. $p < 0.01$

使用 Design-Expert 10.0 软件对表 3 中的数据进行模拟得到回归模型: $Y = 35.82 + 3.72A + 9.46B + 13.09C + 0.48AB + 1.55AC + 2.13BC - 2.86A^2 - 1.48B^2 - 0.71C^2$ 。由表 4 可知,模型的 p 值小于 0.000 1,差异极显著,失拟项 p 值(0.114 3)大于 0.05,差异不显著,说明该模型成立,能够预测山茶油酶促甘油解过程中反应温度、反应时间和加酶量对 DAG 含量的影响。一次项 A 、 B 、 C ,二次项 A^2 、 B^2

和交互项 AC 、 BC 对 DAG 含量的影响极显著,二次项 C^2 影响显著,说明这几个因素都是山茶油基 DAG 制备过程中的重要影响因素。

通过响应面法优化得到山茶油酶促甘油解制备 DAG 的最佳工艺条件为反应温度 68.54°C 、反应时间 10.62 h 、加酶量 6.34% ,在此条件下 DAG 含量预测值为 51.99% 。为了便于实际操作将该工艺条件调整为反应温度 69°C 、反应时间 11 h 、加酶量 6.5% ,在此条件下进行 3 次重复实验,DAG、1,3-DAG、1,2-DAG 含量分别为 52.83% 、 42.38% 和 10.45% 。本研究中 DAG 含量实测值与预测值接近,表明通过响应面法优化得到的回归模型能较好地模拟各个因素对 DAG 含量的影响。响应面法优化后最佳条件下 DAG 含量与单因素考察时其最高含量有一定差距,考虑可能为酶的批次不同其酶活不同,后续会进行更深入的探讨。

2.3 固定化脂肪酶的回收利用

考虑到后续工艺的放大,在山茶油与甘油物质的量比 $1:3$ 、反应温度 69°C 、加酶量 6.5% 、反应时间 11 h 、初始加水量 1.5% 条件下,研究了固定化脂肪酶 Lipozyme 435 重复使用次数对其催化山茶油甘油解反应性能的影响,结果见图 7。

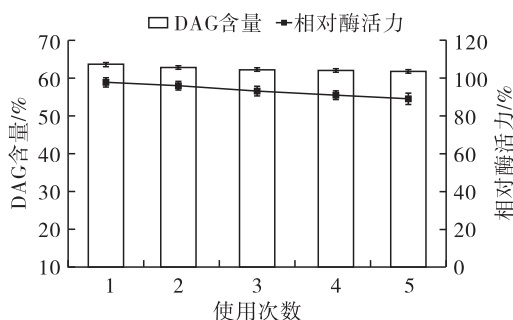


图 7 固定化脂肪酶的循环利用

Fig. 7 Recycling of immobilized lipase

由图 7 可知,固定化脂肪酶 Lipozyme 435 具有良好的操作稳定性。连续循环使用 5 次后,山茶油甘油解产物中 DAG 的含量没有明显降低,酶的相对活力依然保持在 90% 左右,表明酶促山茶油甘油解制备 DAG 工艺具有工业应用的前景。

3 结 论

本研究以山茶油和甘油为底物制备山茶油基 DAG,考察了底物物质的量比、加酶量、反应温度、反应时间、固定化脂肪酶种类及初始加水量对产物中 DAG 含量的影响,并采用响应面法对工艺条件进行优化。结果发现,固定化酶促甘油解制备山茶油基 DAG 的最佳条件为采用固定化脂肪酶 Lipozyme 435 为催化剂、山茶油与甘油物质的量比 $1:3$ 、加酶量

6.5% 、反应温度 69°C 、初始加水量 1.5% 、反应时间 11 h ,在此条件下产物中 DAG 含量达到 52.83% (1,3-DAG 含量 42.38% ,1,2-DAG 含量 10.45%)。固定化脂肪酶循环使用 5 次后产物中 DAG 含量没有明显降低,其相对酶活力依然维持在 90% 左右。该工艺符合山茶油深度加工的要求,对于推广山茶油的深度加工具有实际指导意义。

参考文献:

- [1] ZHANG H H, GAO P, MAO Y N, et al. Physicochemical study of *Camellia oleifera* Abel. seed oils produced using different pretreatment and processing methods [J/OL]. LWT - Food Sci Technol, 2023, 173: 114396 [2024 - 07 - 04]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114396>.
- [2] SHI T, WU G, JIN Q, et al. Camellia oil authentication: A comparative analysis and recent analytical techniques developed for its assessment. A review [J]. Trends Food Sci Technol, 2020, 97: 88 - 99.
- [3] WANG X, ZENG Q, VERARDO V, et al. Fatty acid and sterol composition of tea seed oils: Their comparison by the "FancyTiles" approach [J]. Food Chem, 2017, 233: 302 - 310.
- [4] MAC G, MA J X, LI L J, et al. Evaluation of 3 - monochloropropanol esters and glycidyl esters during the production and concentration of diacylglycerol by two - stage short - path molecular distillation [J/OL]. LWT - Food Sci Technol, 2021, 144: 111145 [2024 - 07 - 04]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111145>.
- [5] ZHONG N, GUI Z, XU L, et al. Solvent - free enzymatic synthesis of 1, 3 - diacylglycerols by direct esterification of glycerol with saturated fatty acids [J/OL]. Lipids Health Dis, 2013, 12: 65 [2024 - 07 - 04]. <https://doi.org/10.1186/1476-511x-12-65>.
- [6] 郭志超, 谢毅鹏, 石剑, 等. 溶剂对酶促大豆油甘油解反应制备单甘酯的影响 [J]. 中国油脂, 2021, 46(11): 68 - 72.
- [7] LI D, ZHONG X, FAIZA M, et al. Simultaneous preparation of edible quality medium and high purity diacylglycerol by a novel combined approach [J/OL]. LWT - Food Sci Technol, 2021, 150: 111949 [2024 - 07 - 04]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111949>.
- [8] WANG Z T, DAI L, LIU D, et al. Kinetics and mechanism of solvent influence on the lipase - catalyzed 1, 3 - diolein synthesis [J]. ACS Omega, 2020, 5(38): 24708 - 24716.
- [9] ZHENG J, LIANG Y, LI J, et al. Enzymatic preparation of mono - and diacylglycerols: A review [J]. Grain Oil Sci Technol, 2023, 6(4): 185 - 205.
- [10] 王卫飞. 酶法甘油解合成甘油二酯工艺的研究 [D].

- 广州: 华南理工大学, 2012.
- [11] WANG X, CHEN Y, ZHENG L, et al. Synthesis of 1, 3 - distearoyl - 2 - oleoylglycerol by enzymatic acidolysis in a solvent - free system[J]. Food Chem, 2017, 228: 420 - 426.
- [12] RIVERO - PINO F, PADIAL - DOMINGUEZ M, GUADIX E M, et al. Novozyme 435 and Lipozyme RM IM preferably esterify polyunsaturated fatty acids at the Sn - 2 position[J/OL]. Eur J Lipid Sci Technol, 2020, 122(10): 2000115[2024 - 07 - 04]. <https://doi.org/10.1002/ejlt.202000115>.
- [13] HUANG C, LIU Z, HUANG W, et al. Fabrication, characterization, and purification of nutraceutical diacylglycerol components from camellia oil[J]. J Food Sci, 2022, 87(9): 3856 - 3871.
- [14] DIAO X, SUN W, JIA R, et al. Preparation and characterization of diacylglycerol via ultrasound - assisted enzyme - catalyzed transesterification of lard with glycerol monolaurate[J/OL]. Ultrason Sonochem, 2023, 95: 106354[2024 - 07 - 04]. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasonch.2023.106354>.
- [15] LI Y, LI C, FENG F, et al. Synthesis of medium and long - chain triacylglycerols by enzymatic acidolysis of algal oil and lauric acid[J/OL]. LWT - Food Sci Technol, 2021, 136: 110309[2024 - 07 - 04]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110309>.
- [16] CORDOVA A, HENRÍQUEZ P, NUÑEZ H, et al. Recent advances in the application of enzyme processing assisted by ultrasound in agri - foods: A review[J/OL]. Catalysts, 2022, 12(1): 107[2024 - 07 - 04]. <https://doi.org/10.3390/catal12010107>.
- [17] MENG Z, GENG W X, LI J W, et al. Enzymatically catalyzed synthesis of anti - blooming agent 1, 3 - dibehenoyl - 2 - oleoyl glycerol in a solvent - free system: Optimization by response surface methodology[J]. J Agric Food Chem, 2013, 61(45): 10798 - 10806.
- [18] 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 Technol, 2011, 113(8): 973 - 979.
- [19] GHARAT N, RATHOD V K. Ultrasound assisted enzyme catalyzed transesterification of waste cooking oil with dimethyl carbonate[J]. Ultrason Sonochem, 2013, 20(3): 900 - 905.
- [20] HAN L, XU Z, HUANG J, et al. Enzymatically catalyzed synthesis of low - calorie structured lipid in a solvent - free system: Optimization by response surface methodology[J]. J Agric Food Chem, 2011, 59(23): 12635 - 12642.
- [21] CHANG X, HOU Y, LIU Q, et al. Physicochemical and antimicrobial properties of chitosan composite films incorporated with glycerol monolaurate and nano - TiO₂[J/OL]. Food Hydrocolloid, 2021, 119: 106846[2024 - 07 - 04]. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106846>.
- [22] CHURCHWARD C P, ALANY R G, SNYDER L A S. Alternative antimicrobials: The properties of fatty acids and monoglycerides[J]. Crit Rev Microbiol, 2018, 44(5): 561 - 570.
- [23] WANG L, WANG Y, HU C, et al. Preparation of diacylglycerol - enriched oil from free fatty acids using Lecitase Ultra - catalyzed esterification[J]. J Am Oil Chem Soc, 2011, 88(10): 1557 - 1565.
-
- (上接第 94 页)
- [20] 陈振超, 倪张林, 莫润宏, 等. 7 种木本油料油脂品质综合评价[J]. 中国油脂, 2018, 43(11): 80 - 85.
- [21] 王灵芝, 徐宝成, 陈树兴, 等. 不同产地及品种牡丹籽油脂脂肪酸和角鲨烯含量的分析[J]. 中国油脂, 2023, 49(5): 120 - 125.
- [22] 黄霄, 姚丹, 陆爱华, 等. 江苏不同产地“白玉”枇杷果实品质与果实和土壤中矿质元素含量的相关性分析[J]. 植物资源与环境学报, 2018, 27(2): 85 - 92.
- [23] 葛宇飞, 朱冰瑶, 方晶晶, 等. 龙眼核油脂成分及其抗氧化活性分析[J]. 中国粮油学报, 2020, 35(10): 91 - 95.
- [24] 肖新生, 唐琳芝, 杨舒曼, 等. 不同产地山苍子油主要活性成分及风味特征差异分析[J]. 中国粮油学报, 2024, 39(8): 165 - 174.
- [25] COFÁN M, ROS E. Use of plant sterol and stanol fortified foods in clinical practice[J]. Curr Med Chem, 2019, 26(37): 6691 - 6703.
- [26] ZHAO J Q, HAO Y Y, GONG T T, et al. Phytosterol intake and overall survival in newly diagnosed ovarian cancer patients: An ambispective cohort study[J/OL]. Front Nutr, 2022, 9: 974367[2024 - 05 - 28]. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.974367>.