

温度对单甘酯的合成起关键作用

高修功 章克昌

(无锡轻工大学生物工程学院, 无锡 214036)

曹淑桂

(吉林大学酶工程国家重点实验室, 长春 130023)

摘要 在无溶剂体系中以脂肪酶催化棕榈油的甘油解反应合成单甘酯时, 发现温度对单甘酯的产率起关键作用。反应存在一临界温度, 低于临界温度时单甘酯的平衡浓度高于 60%, 而高于临界温度时单甘酯含量只有 30% 左右。临界温度与油脂的种类有关; 通过测定各种油脂的临界温度并与其熔点相比较, 结合反应现象学及反应进程中反应混合物各组分含量的变化, 提出了临界温度的存在机理。

关键词 温度; 脂肪酶; 单甘酯; 甘油解反应; 无溶剂体系

中图分类号 Q556.1

0 前言

单甘酯是一类重要的非离子型表面活性剂, 在食品、医药和化妆品中有广泛的应用^[1]。目前单甘酯的工业生产主要采用化学法, 即牛油或其它天然油脂在高温下由无机催化剂催化进行甘油解反应。这一工艺具有单甘酯产率低、能耗高、产品色泽深且有异味等缺点^[2]。

为了获得较高质量和产量的单甘酯, 近年来人们开始探索以脂肪酶为催化剂在较低温度下合成单甘酯的新途径^[3]。作者在无溶剂体系中用脂肪酶催化油脂的甘油解反应进行单甘酯合成的研究时, 发现温度对单甘酯产率起着关键作用。反应存在一临界温度, 在临界温度之上或下反应时, 单甘酯的平衡含量有很大差异。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂 脂肪酶 PSL, 由 *Pseudomonas* sp. H18 经液体发酵及部分纯化后获得^[4]; 各种油脂由本校油脂教研室提供; 其它试剂均为国产分析纯。

1.1.2 主要仪器 TLC/FID 分析仪: Iatroscan TH-10, Iatron Laboratories, Inc., Tokyo. 配有 Chromarod S- 石英棒(Iatron Laboratories, Inc.) 及 3390A 型记录积分仪(Hewlett Packard Co., Ltd.).

1.2 实验方法

1.2.1 TLC/FID 分析仪检测产物组成^[5] 仪器参数: 氢气压力 68.646 55 kPa, 空气流速 2 000 ml/min, 扫描速度 30 s/scan. 结果以峰面积的百分比表示。计算方法: 1, 3-DG, 1, 2-DG, MG 及 FFA 的形成初始速率以每小时各组分含量分数的变化表示, TG 的转化初始速率以每小时[1- TG 含量分数]的变化表示。含量分数以质量分数计。

1.2.2 化学滴定法测定单甘酯的总含量 见文献[6]

1.2.3 油脂甘油解反应 将少量水或缓冲液加入 1.8 g 甘油中配制成一定含水量的甘油。在反应器内加入 8.2 g 油脂(甘油/油脂的摩尔比为 2:1)和所需量的脂肪酶, 在一定温度下电磁搅拌至酶分散均匀, 然后将上述配制的甘油逐滴加入反应器内, 保持高速搅拌, 5 min 内加完。保温搅拌反应。采用恒温夹套调节反应温度, 电磁或电动搅拌(800 r/min)。

2 结果与讨论

2.1 不同反应温度下单甘酯的平衡含量

如图 1 所示, 由脂肪酶 PSL 催化棕榈油甘油解反应合成单甘酯(MG)时, 温度对 MG 平衡浓度的影响十分明显。温度高于 40 ℃ 时只有 30% 左右; 而当温度等于或低于 40 ℃ 时则可达 60% 左右(38 ℃ 时最高, 达 63%)。在 40 ℃ 或更低温度下, 3 h 以后反应混合物变为固态, 无法继续搅拌, 放置让反应继续进行。

为了检验脂肪酶在高于 40 ℃ 时失活(导致 MG 产量较低)的可能性, 做了如下的实验: 首先在 44 ℃ 下进行反应直至达到平衡, 然后将温度快速降至 38 ℃。结果发现反应又达到了新的平衡(见图 2), 且 MG 平衡浓度较原来明显提高。这说明较高温度下 MG 含量较低并非酶失活所致。因此推测可能存在一临界温度(T_c), 当反应温度等于或低于临界温度时, MG 的平衡浓度较高, 而高于临界温度时, MG 的平衡浓度明显降低; 即在两种平衡状态之间存在一个快速跃迁, 发生跃迁时的温度即为临界温度。对于棕榈油, T_c 为 40 ℃。

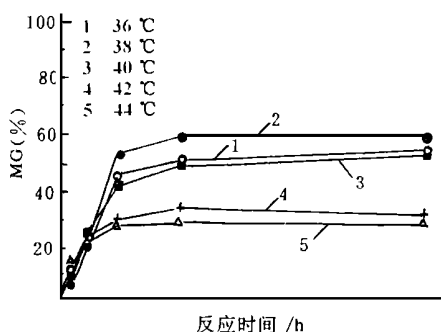


图 1 不同温度下棕榈油甘油解反应时间进程

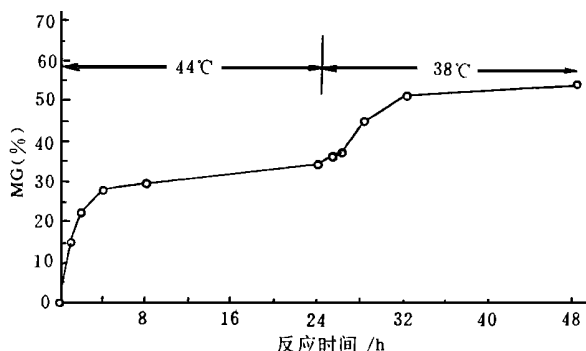


图 2 改变反应温度对单甘酯平衡含量的影响

2.2 各种油脂的临界温度与最适温度

为了验证上述假设的正确性并了解临界温度的本质, 作者试验了多种油脂的甘油解反应, 研究温度对 MG 平衡含量的影响。结果(表 1)表明, 所有被研究的油脂均存在相应的临界温度。将各种油脂的临界温度与熔点进行比较可以发现以下规律: 高熔点的油脂其临界温度也较高, 而低熔点的油脂其临界温度也较低; 同时, 大部分油脂的临界温度与其熔点接近。

值得注意的是, 所有的油脂在临界温度或更低温度下反应时, 一定时间(MG 含量约为 40%) 后反应混合物变为固态; 而在临界温度之上反应时, 反应混合物始终处于液(乳化液) 态。另外从表 1 中还可看出, 在临界温度(或以下) 反应时 MG 的平衡含量与油脂的种类也有关, 但差别不明显; 在所试验的几种油脂中, 以橄榄油的 MG 平衡含量最高(73%), 而以菜油的最低(57%)。原因可能是不同的油脂其甘油三酯及脂肪酸的组成各不相同, 这尚需进一步研究。

表 1 各种油脂的最适温度与临界温度及单甘酯最高含量

油 脂	熔点 ()	最适温度* ()	临界温度 ()	单甘酯最高含量 (%)	达到平衡时间 (h)
牛 油	46	42	46	65	8 ~ 12
猪 油	33	30	32	62	8 ~ 12
棕榈油	38	38	40	63	8 ~ 12
棕榈硬脂精	52	40	44	67	8 ~ 12
橄 榄 油	< 5	10	10	73	96
菜 油	< 5	5	10	57	120

* 最适温度是指 MG 平衡含量最高时的反应温度。

2.3 反应的时间进程

图 3 显示了 40 °C 下棕榈油甘油解过程中反应混合物的组成变化。开始时, TG 的百分含量随反应的进行呈线性下降, 而 1, 3-DG 和 1, 2-DG 以及 MG 含量呈直线上升; 2 ~ 3 h 以后, 1, 3-DG 与 1, 2-DG 的含量开始下降, 但 MG 的浓度却继续线性递增。反应 3 h 后体系变为固态, 与 1, 3-DG 含量开始下降的时间相当。

值得注意的是, 反应开始时 1, 3-DG 与 1, 2-DG 的生成量接近相同, 说明尽管 PSL 在水解油脂时表现出 1, 3 位置专一性^[4], 但在酯基转移反应中并不表现或表现得不严格。这可能是反应体系改变所致, 介质的改变使脂肪酶的位置专一性也发生了变化。

另外, 反应 2 h 以后, 1, 3-DG 成为二甘酯的主要形式, 1, 2-DG 的含量此后一直较低, 可能是由于脂肪酶催化的 2 位到 3 位的酰基转移使一部分 1, 2-DG 转化为 1, 3-DG。由无机催化剂催化的 2 位到 3 位的酰基转移以前曾有报道^[7]。

反应 4 h 以后, 只有 MG 和 1, 3-DG 变化较为明显, 但变化速率已明显降低; 其它各组分变化较小, 可能此时体系的变化只是部分的 1, 3-DG 缓慢地转变为 MG。但到反应结束仍有相当一部分 1, 3-DG 残留, 可能是因为 1, 3-DG 并非该酶合适底物。

2.4 临界温度存在机理

单甘酯较其对应的三甘酯(油脂) 具有较高的熔点^[8], 2.2 节所述现象和规律可以用如下机理加以解释: 随着反应的进行, MG 逐渐大量形成, 当反应温度等于或低于临界温度时, MG 的含量会超出其溶解度而从反应体系中结晶析出, 从而降低了溶液中 MG 的浓度, 使

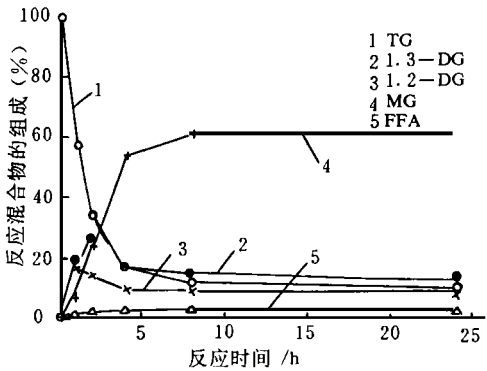


图 3 棕榈油甘油解过程中各组分含量的变化

得甘油解反应平衡向着单甘酯合成的方向进一步偏移,直到建立起新的平衡,因而体系中 MG 的总含量得以提高;而当反应温度高于临界温度时, MG 无法从体系中析出,因而其最终含量只能维持在原来的平衡水平上。根据这一机理,可以认为临界温度就是保证反应所形成的单甘酯能够从反应体系中结晶析出的最高温度极限。对于高熔点的油脂,由于由其合成的单甘酯中高熔点的组分所占比例较高,能够在较高的温度下结晶析出,因而其临界温度也相应较高。对于橄榄油和菜油,由于它们含有较高比例的油酸,故合成的 MG 中以单油酸甘油酯为主,单油酸甘油酯的熔点较低,因此这两种油脂的临界温度也相应较低。

致 谢

本文部分研究工作是在吉林大学酶工程国家重点实验室完成的,谨致谢意。

参 考 文 献

- 1 Sonntag N O V. In: Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Swern D ed, Wiley International, 1982, 2: 134
- 2 Lauridsen J B. J. Am. Oil Chem. Soc. 1976, 53: 400
- 3 Yamane T, Hoq M M, Itoh S, et al. J. Jpn. Oil Chem. Soc. 1986, 35: 625
- 4 高修功. 无锡轻工大学博士学位论文. 1995
- 5 McNeill G P, Shimizu S, Yamane T. J. Am. Oil Chem. Soc. 1990, 67: 779
- 6 日本卫生技术会. 食品用乳化剂と 乳化技术, 东京: 1980
- 7 Mattson F H, Volpenheim R A. J. Lipid Res. 1962, 3: 281
- 8 Dawson R M C, et al. ed. Data for Biochemical Research, Oxford: Clarendon Press, 1986. 107

Effect of Temperature on Monoglyceride Synthesis

Gao Xiugong Zhang Kechang

(School of Biotechnology, Wuxi University of Light Industry, Wuxi, 214036)

Cao Shugui

(National Laboratory of Enzyme Engineering, Jilin University, Changchun, 130023)

Abstract Lipase was used to catalyze the glycerolysis of olive oil in a non-solvent system to produce monoglyceride (MG). It was found that the reaction temperature played a key role in the MG equilibrium yield. There existed a critical temperature (T_c) at or below which a MG yield of higher than 60% was obtained, and above which only about 30% MG was produced. The value of T_c depended on the type of the fat/oil substrate. The mechanism of T_c was elucidated based on the comparison between T_c and melting point of various fats/oils, in combination with the reaction phenomenology and the compositional changes of the reaction mixture during the reaction process.

Key-words temperature; monoglyceride; glycerolysis; lipase; non-solvent system

(责任编辑: 秦和平)