

酶法催化甘油解制备亚麻籽油甘油二酯及其氧化稳定性分析

孙晓雪¹, 汪勇¹, 崔立明², 张震^{*1}

(1. 暨南大学 理工学院, 广东 广州 510632; 2. 脂代科技(北京)有限公司, 北京 100083)

摘要: 甘油二酯(diacylglycerol, DAG)具有防止动脉硬化,抑制脂肪堆积的作用,是一种重要的功能性油脂。为提高亚麻籽油 DAG 产量,探究亚麻籽油 DAG 氧化稳定性,以甘油和亚麻籽油为原料,Lipozyme CALB 脂肪酶为催化剂,在无溶剂体系中通过酶法催化甘油解反应制备 DAG。通过单因素实验探究了底物物质的量比、反应温度、反应时间、初始水分添加量和酶添加量对产物中 DAG 质量分数的影响。并对分子蒸馏精制亚麻籽油 DAG 的氧化稳定性进行研究。结果表明,在甘油与亚麻籽油物质的量比为 20:1,反应时间 10 h,反应温度 80 °C,初始加水量(质量分数)为 0,加酶量 2.0%(质量分数,以底物质量计)的条件下,DAG 质量分数可达到 47.13%,分子蒸馏后质量分数达到 57.18%。通过添加 TBHQ(0.20 g/L)作为抗氧化剂,亚麻籽油 DAG 氧化稳定性得到显著提升,理论货架期由 37 d 延长至 109 d。

关键词: 亚麻籽油;甘油二酯;甘油解;分子蒸馏;氧化稳定性

中图分类号:TS 225.1 文章编号:1673-1689(2022)06-0076-08 DOI:10.3969/j.issn. 1673-1689.2022.06.009

Preparation of Diglyceride from Flaxseed Oil by Enzymatically Catalyzed Glycerolysis and Analysis of its Oxidative Stability

SUN Xiaoxue¹, WANG Yong¹, CUI Liming², ZHANG Zhen^{*1}

(1. Institute of Technology, Jinan University, Guangzhou 510632, China; 2. F.A.S.T. (Beijing) Co., Ltd., Beijing 100083, China)

Abstract: Diacylglycerol (DAG) is an important functional lipid with functions of preventing arteriosclerosis and inhibiting fat accumulation. DAG was prepared by enzymatically catalyzed glycerolysis in a solvent-free system using glycerol and linseed oil as the raw materials and Lipozyme CALB lipase as the catalyst to improve the yield of DAG prepared from flaxseed oil and to investigate the oxidative stability of DAG. The effects of substrates molar ratio, reaction temperature, reaction time, initial water content and enzyme loading amount on DAG mass fraction were investigated by single factor experiment. The oxidation stability of DAG prepared by molecular distillation refining from flaxseed oil was studied. The results showed that the yield of DAG reached 47.13% with a purity of mass fraction up to 57.18% after molecular distillation under the molar ratio of glycerol to flaxseed oil of 20:1 for 10 h reaction at 80 °C with the initial water content (mass

收稿日期: 2022-01-26

基金项目: 国家自然科学基金(青年)项目(32001734)。

* 通信作者: 张震(1988—),男,博士,副研究员,硕士研究生导师,主要从事油脂生物炼制与功能脂质研究。E-mail: zhangzhen@jnu.edu.cn

fraction) of 0 and the enzyme loading (mass fraction) of 2.0% (calculated by mass of substrate). The oxidation stability of DAG prepared from flaxseed oil was significantly improved with the addition of TBHQ (0.20 g/L) as the antioxidant, and its theoretical shelf life was extended from 37 d to 109 d.

Keywords: flaxseed oil, diacylglycerol, glycerolysis, molecular distillation, oxidation stability

亚麻,是世界上十大油料作物之一,在全世界均有分布,主要包括美国、加拿大、阿根廷和中国。在我国,亚麻属于传统的油料作物,主要分布于西北、华北等地区^[1]。亚麻籽是亚麻的种子,根据地区和品种的不同,亚麻籽含油率为20%~40%。亚麻籽油含有丰富的 $n-3$ 不饱和脂肪酸,占总氨基酸质量的50%左右^[2]。大量科学研究表明亚麻籽油对人体营养健康具有重要的作用,在抗炎、降血压、降血脂与降胆固醇、抑制癌症的产生和转移、改善糖尿病、提高记忆力、改善视力等方面具有积极作用^[3]。当前我国居民 $n-3$ 不饱和脂肪酸摄入较少,长期摄入不足会导致身体处于亚健康状态,因此开发富含 $n-3$ 不饱和脂肪酸的亚麻籽油产品在未来具有广阔的应用前景。

甘油二酯是天然油脂中存在的微量成分,是油脂代谢的中间产物,由两分子脂肪酸与甘油骨架组合而成,包括1,3-DAG和1,2(2,3)-DAG两种异构体。其中1,3-DAG具有较高的营养价值,在体内的代谢途径不同于传统甘油三酯,摄入后难以再合成中性脂肪,最终以 CO_2 和 H_2O 的形式释放。对于控制体内脂肪积累、降低血脂和餐后血糖效果显著^[4]。1,2(2,3)-DAG是体内合成磷脂和甘油三酯(triacylglycerol, TAG)的前体物质,还可以通过合成心肌蛋白质改善心肌功能紊乱。1992年,日本花王公司推出DAG油,被日本政府许可为保健食品。2000年,美国食品药品监督管理局将DAG批准为公认安全性食品,可用作食用油。2021年DAG被中华人民共和国国家卫生健康委员会列入“新食品原料终止审查目录”中,意味着中国对DAG安全性和功能性的认可。关于DAG早期的研究主要围绕其作为表面活性剂的特性,近年来随着研究深入,关于DAG营养价值的研究也越来越多,研究发现DAG在人体内可以增加脂肪酸的 β 氧化,影响脂代谢相关基因的表达,具有减肥、降血脂、抑制脂肪堆积、调节胰岛素水平等功能^[5]。1,3-DAG和TAG在人体内的生物利用度和吸收率相似,在进入人体后都会被水解产生脂肪酸,从而被人体消化吸收,因

此亚麻籽油DAG在进入人体后,其中的 $n-3$ 不饱和脂肪酸仍能被人体吸收,发挥其功效。若能将其与亚麻籽油的优点相结合,生产出既具有DAG功能特性又具有亚麻籽油营养特性的功能性油脂,对中国未来健康油脂的发展具有重要意义。

目前,DAG的制备主要包括化学法和酶法,其中酶法制备DAG因为反应条件温和,不需要使用大量有机试剂,安全性高而受到广泛关注。酶法制备方法主要包括:直接酯化法、甘油解法、水解法和酯交换法^[6-7]。其中甘油解反应过程简单、原料来源丰富。作者以亚麻籽油和甘油为原料,Lipozyme CALB酶为催化剂,采用甘油解反应制备DAG,探究适宜的制备工艺条件,通过分子蒸馏脱除游离脂肪酸(free fatty acids, FFA)和单甘酯(monoacylglycerol, MAG),得到精制DAG产品。同时,因为亚麻籽油DAG不饱和脂肪酸含量较多,容易发生氧化反应,导致油脂变质,利用差示扫描量热仪(differential scanning calorimetry, DSC)对添加抗氧化剂前后的亚麻籽油DAG的氧化稳定性进行研究,为产品货架期的预测提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

一级亚麻籽油:益海嘉里金龙鱼粮油食品股份有限公司产品;Lipozyme CALB:诺维信(中国)生物科技有限公司产品;甘油、正己烷(分析纯):天津市大茂化学试剂厂产品;TBHQ:广东广业清怡食品科技有限公司产品。

1.2 仪器与设备

GC-7820A气相色谱仪(gas chromatography, GC):美国Agilent公司产品;MD-80分子蒸馏:广州市汉维仪器设备有限公司产品;OS20-S数显型顶置式强力电子搅拌器:美国SCIOLOGEX公司产品;DSC-1型差示扫描量热仪:梅特勒-托利多公司产品;SHZ-D(III)循环水式真空泵:巩义市予华仪器有限责任公司产品;KDC-220HR高速冷冻离心机:高教研(北京)科技有限公司产品;IKA HS-10磁力

加热搅拌器:德国 IKA 设备有限公司产品。

1.3 研究方法

1.3.1 亚麻籽油 DAG 的制备 称取亚麻籽油、甘油、Lipozyme CALB 酶于 250 mL 锥形瓶中,在 80 °C、300 r/min 条件下搅拌反应一段时间。反应结束后,将产物移入离心管,以 10 000 r/min 离心 10 min。收集上清液加热 10 min 使残留的酶失活,得到亚麻籽油 DAG。

1.3.2 单因素实验设计 以亚麻籽油为原料,DAG 质量分数为指标,分别对酶添加量、反应温度、反应时间、底物物质的量比、初始加水量 5 个单因素进行甘油解制备亚麻籽油 DAG 工艺探究,单因素实验设计见表 1。

表 1 单因素实验设计表

Table 1 Single factor test design

水平	底物物质的量比	反应温度/°C	初始加水量/%	酶添加量/%	反应时间/h
1	25:1	70	0	1.0	3
2	20:1	75	2	1.5	6
3	15:1	80	4	2.0	8
4	7.5:1	85	6	2.5	10
5	5:1	90	8	3.0	12

1.3.3 反应产物中甘油酯组成分析 参考文献[8]的方法对甘油解制备样品的甘油酯组成进行分析。取 50 mg 甘油酯样品,用 5.0 mL 正己烷将其完全溶

表 2 分子蒸馏仪器参数表

Table 2 Molecular distillation parameters

蒸馏温度/°C	真空度/Pa	刮膜转速/(r/min)	冷凝器温度/°C	高位槽温度/°C	阀温度/°C	给料流量/(mL/min)
180	0.5~1.0	200	40	70	80	0.5

1.3.5 脂肪酸组成分析 参考 Zhou 等方法采用 GC 对样品的脂肪酸组成进行分析^[11]。使用氢氧化钾-甲醇溶液和正己烷溶液对油样进行甲酯化,使脂肪酸转化为脂肪酸甲酯,进行 GC 分析确定脂肪酸组成。GC 条件:CP-sil88 毛细管柱(100 m×0.25 mm×0.2 μm),进样量 1 μL,分流比 40:1;柱箱温度 80 °C,离子火焰检测器温度 240 °C;载气为 N₂,流量 4.17 mL/min。阶段性程序升温检测:初始温度 120 °C,保持 3 min,以 8 °C/min 升至 175 °C,保持 18 min。通过标准样品法和面积归一化法分别对脂肪酸进行定性和定量分析。

1.3.6 氧化稳定性测定 通过控制 DSC 的程序温度和空气流量,可以测定油脂样品在特定条件下氧

化,将溶液通过滤膜过滤于样品瓶中。样品制备完毕后置于 GC 检测。GC 条件:DB-1ht 毛细管柱(15 m×0.25 mm×0.1 μm),进样量 1 μL,分流比 40:1;柱箱温度 50 °C,离子火焰检测器温度 380 °C;载气为 N₂,流量 4.17 mL/min。阶段性程序升温检测:初始温度 50 °C,保持 1 min,然后以 50 °C/min 升至 100 °C,80 °C/min 升至 220 °C,30 °C/min 升至 290 °C,50 °C/min 升至 330 °C,保持 2 min,最后以 50 °C/min 升至 380 °C 并保持 3 min。采用面积归一化法分别对 FFA、MAG、DAG 和 TAG 进行定量分析。

1.3.4 分子蒸馏技术应用 分子蒸馏是一种有效的分离纯化技术,与大多数纯化方法相比,分子蒸馏温度低、真空度高、物料受热时间短,可以保持原有物质的功能特性,可在不显著改变油脂品质的情况下,提高甘油酯混合物中 DAG 含量^[9]。在该实验中,经离心后的上层反应液含有未反应的 TAG 以及生成的 FFA、MAG、DAG。通过分子蒸馏从制备的甘油酯混合物中纯化 DAG。利用分子蒸馏能够通过轻相去除绝大部分 FFA 和 MAG,但因为自由程相近,较难分离 DAG 和 TAG,因此重相组分中 DAG 占比更为重要。所以,重相组分中 DAG 与 TAG 的比值越大,分子蒸馏后,DAG 的纯度越高。参考 Zhang 等的方法采用分子蒸馏对甘油酯进行纯化^[10],参数设定见表 2。

化时的放热趋势,从而得到样品热功率与时间和时间的关系,根据放热峰初始处的最大斜率切线与外推基线的交点,能够获得样品的起始氧化温度和诱导时间^[12]。

起始氧化温度测定:参考 Rudnik 等的方法^[13]。设定升温速率为 10 °C/min,温度从 120 °C 升至 300 °C,空气流量 30 mL/min。起始氧化温度在 DSC 曲线图上表现为氧化反应前外推基线与反应时放热峰初始最大斜率切线相交点对应的温度。

氧化诱导时间测定:称取(10±2) mg 样品置于铝坩埚内密封,为便于空气进入,盖顶扎孔,设置空铝坩埚为对照。设置等温氧化温度为 90、100、110、120 °C,先将样品在 30 mL/min 的 N₂ 环境下升温到

设定温度,保持 5 min,然后通入相同流量的空气。氧化诱导时间为氧化反应前外推基线与氧化反应过程最大斜率的切线相交时的对应时间。

动力学数据分析采用 Kaseke 等的方法^[14]。温度与油脂氧化反应速率的关系由 Arrhenius 方程表示。

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT}$$

式中: k 为氧化反应速率常数(氧化诱导时间倒数); A 为指前因子; E_a 为活化能,kJ/mol; R 为摩尔气体常数,8.314 J/(mol·K)。对 $\ln k$ 和 $1/T$ 拟合生成线性方程,活化能和频率因子可通过方程的斜率和截距计算得到。

1.3.7 实验数据处理与统计分析 各组实验重复 3 次,采用均值±标准差表示实验结果。使用 SPSS 26.0 软件对结果进行差异性分析($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 底物物质的量比对 DAG 得率影响 在反应温度 80 °C、初始加水量(质量分数)8%、反应时间 3 h、加酶量(质量分数)1.0%条件下,考察甘油与亚麻籽油物质的量比(25:1、20:1、15:1、7.5:1、5:1)对甘油解反应生成 DAG 的影响,结果见图 1。随着甘油添加量的减少,DAG 呈先增加后降低的趋势,TAG 先减少再增加。当底物物质的量比为 20:1 时,DAG 质量分数达到最大,为 24.61%,TAG 质量分数最少,为 73.74%,DAG 与 TAG 比值为 0.33。再减少甘油添加量,DAG 反而减少。这可能是因为甘油解反应为可逆反应,在甘油添加量较低时,甘油含量的增加可以使底物增加,促进反应向正方向进行^[15]。但是甘油含量过高时,体系黏度过大,影响搅拌效果,导致各物质接触不够充分,反而降低了反应速率。因此,选择甘油和亚麻籽油的物质的量比为 20:1。

2.1.2 反应温度对 DAG 得率影响 在底物物质的量比 20:1、初始加水量(质量分数)8%、反应时间 3 h、加酶量(质量分数)1.0%条件下,考察反应温度(70、75、80、85、90 °C)对甘油解反应生成 DAG 的影响,结果见图 2。反应温度在 70~80 °C 时,DAG 随反应温度升高而增加,TAG 不断减少,这是因为当反应温度升高时,混合体系黏度降低,酶与底物分子之间的碰撞加剧,反应速率增加,反应向正方向进行^[16];在 80 °C 时,DAG 质量分数达到最大 24.61%,

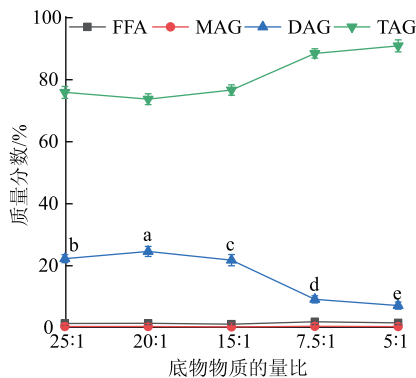


图 1 甘油与亚麻籽油物质的量比对反应产物中各组分的影响
Fig. 1 Effect of molar ratio of glycerol to flaxseed oil on the components of reaction products

即为 Lipozyme CALB 的最适催化温度;超过 80 °C 后,DAG 随反应温度升高而减少,TAG 增加,酶的催化效果降低。因为当反应温度高于最适温度时,酶被钝化,导致酶催化活力下降,不利于甘油解反应进行^[17]。因此,选择反应温度为 80 °C。

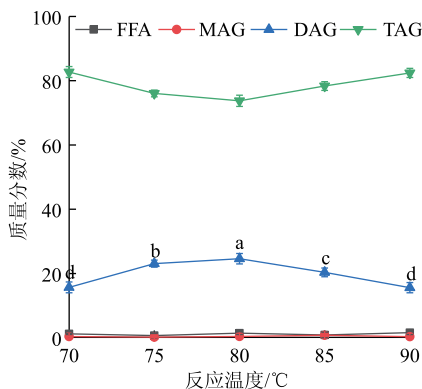


图 2 反应温度对反应产物中各组分的影响
Fig. 2 Effect of reaction temperature on the components of reaction products

2.1.3 初始加水量对 DAG 得率影响 在底物物质的量比 20:1、反应温度 80 °C、反应时间 3 h、加酶量(质量分数)1.0%条件下,考察初始加水量(质量分数为 0、2%、4%、6%、8%、10%)对甘油解反应生成 DAG 的影响,结果见图 3。随着初始加水量的增加,DAG 生成量逐渐降低,并在加水量达到 6%后趋于平缓。初始加水量对酶解反应有一定影响,反应初始阶段加入一定量的水分,能够帮助酶分子维持其构象,发挥催化活性^[18]。但是在实验中,初始加水量从 0 增加至 10%,产物 DAG 质量分数从 29.06%降至 20.43%,而 TAG 含量依旧保持较高水平。这可能

是因为微量的游离水分即可满足催化甘油解反应的条件,对于Lipozyme CALB 酶来说,其本身含水量较高,不需要额外添加水分即可达到较好的催化效果,过多的水分反而影响酶的活性^[19]。因此,选择初始加水量为 0。

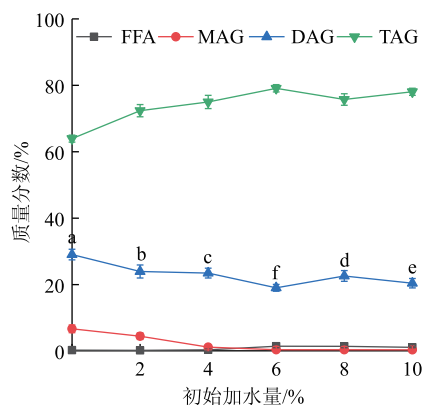


图 3 初始加水对反应产物中各组分的影响

Fig. 3 Effect of initial water content on the components of reaction products

2.1.4 酶添加量对 DAG 得率影响 在底物物质的量比 20:1、反应温度 80 ℃、反应时间 3 h、初始加水量为 0 的条件下,考察酶添加量(质量分数为 1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0%)对甘油解反应生成 DAG 的影响,结果见图 4。当加酶量从 1.0% 提高到 2.0% 时, TAG 降低,促进了 TAG 进行甘油解反应,生成 DAG。由此可见,在酶质量浓度比较低时,随着酶添加量的增加,甘油解速率也在不断增加。当加酶量为 2.0% 时, DAG 质量分数达到最大,为 36.29%,此时 DAG 与 TAG 比值为 0.70。当加酶量从 2.0% 增加到 3.0% 时, DAG 质量分数处于稳定状态,并略有降低,这可能是因为在反应中酶质量浓度较高时会发生酶分子聚结^[20],进而导致反应速率降低。因此,选择酶添加量为 2.0%。

2.1.5 反应时间对 DAG 得率影响 在底物物质的量比 20:1、反应温度 80 ℃、初始加水量为 0、加酶量(质量分数)2.0% 条件下,考察反应时间(3、6、8、10、12 h)对甘油解反应生成 DAG 的影响,结果见图 5。随着反应时间的延长, DAG 呈现先增加后减少的趋势, TAG 先减少后增加, MAG 逐渐上升。在反应前 10 h 内,反应向有利于 DAG 生成的方向进行;反应时间为 10 h 时, DAG 质量分数达到最大 47.13%,此时 TAG 质量分数为 33.98%, DAG 与 TAG 比值为

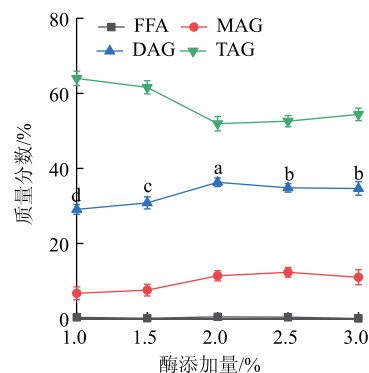


图 4 酶添加量对反应产物中各组分的影响

Fig. 4 Effect of enzyme dosage on the components of reaction products

1.39;之后随着反应时间的延长, DAG 开始下降,生成越来越多的 TAG。但是在整个过程中, MAG 质量分数呈上升趋势,从 11.37% 上升至 18.63%, FFA 质量分数始终较低。这说明,在反应初始阶段脂肪酸不断从 TAG 上被分解下来,并与甘油相结合,从而生成 MAG 和 DAG。继续延长反应时间至 12 h, DAG 开始下降。这可能是因为反应时间超过 10 h 后, DAG 的形成速率低于分解速率,导致质量分数降低^[21],同时随着反应时间的延长,酶蛋白质结构也会发生改变,导致酶活力降低^[22]。因此,选择反应时间为 10 h。

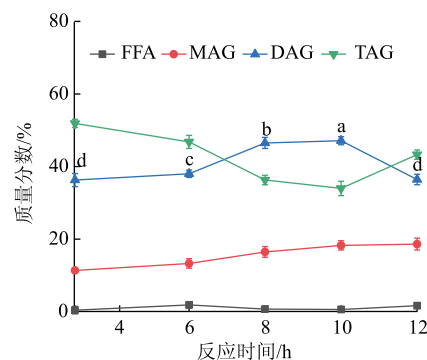


图 5 反应时间对反应产物中各组分的影响

Fig. 5 Effect of reaction time on the components of reaction products

2.2 氧化稳定性测定

2.2.1 DAG 的纯化 采用 GC 对分子蒸馏前后样品的甘油酯组成与质量分数变化进行分析,结果见表 3。经分子蒸馏纯化后,样品中的甘油酯组分发生了明显变化。分子蒸馏前样品中 FFA 质量分数为 0.61%, MAG 质量分数为 18.28%, DAG 质量分数为

表 3 分子蒸馏前后甘油酯组成及质量分数

Table 3 Composition and mass fraction of acylglycerols before and after molecular distillation

样品状态	FFA	MAG	DAG	TAG
分子蒸馏前	0.61±0.09	18.28±0.39	47.13±0.72	33.98±0.42
分子蒸馏后	Nd	Nd	57.18±0.54	42.63±0.47

47.13%,TAG 质量分数为33.98%。经过分子蒸馏后,产物中只剩 DAG 和 TAG,DAG 质量分数上升为57.18%。说明经分子蒸馏后,可除去 FFA 和 MAG,达到纯化 DAG 的目的。

2.2.2 脂肪酸组成分析 油脂的氧化稳定性与脂肪酸组成有关,不饱和脂肪酸含量越高,油脂越容易氧化。采用 GC 对样品脂肪酸组成进行分析,结果

见表 4。对比原料亚麻籽油和分子蒸馏前后亚麻籽油 DAG 脂肪酸组成可知,脂肪酸种类没有发生变化,质量分数略有变化。其中亚麻酸(*n*-3 脂肪酸)在经过甘油解反应得到的 DAG 中略有降低,由 54.58%降低至 53.27%。经过分子蒸馏纯化后脂肪酸组成没有明显变化,亚麻籽油 DAG 的脂肪酸仍以亚麻酸为主。

表 4 不同样品脂肪酸组成

Table 4 Fatty acids compositions of different samples

样品	质量分数/%				
	棕榈酸	硬脂酸	油酸	亚油酸	亚麻酸
亚麻籽油	5.72±0.02 ^b	3.96±0.02 ^c	19.19±0.01 ^c	16.71±0.04 ^a	54.58±0.06 ^a
亚麻籽油 DAG	6.00±0.10 ^a	4.41±0.04 ^b	19.60±0.29 ^b	16.71±0.03 ^a	53.27±0.39 ^b
亚麻籽油 DAG (分子蒸馏后)	5.68±0.01 ^b	4.87±0.01 ^a	19.84±0.16 ^a	16.87±0.13 ^a	52.75±0.19 ^b

注:同一行中不同字母表示显著差异($P < 0.05$)。

2.2.3 油脂样品起始氧化温度和氧化诱导时间 由 DSC 曲线(见图 6)得到样品的起始氧化温度为 139.8 °C。因此,选择低于起始氧化温度 20~50 °C 的温度,即 90~120 °C 作为测定氧化诱导时间的等温温度^[12],进行氧化稳定性分析。

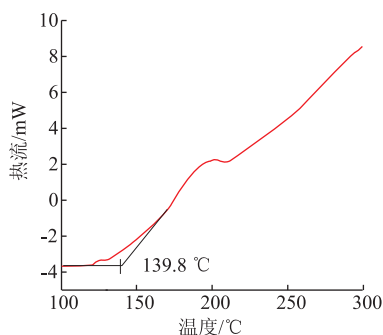


图 6 产品亚麻籽油 DAG 的氧化曲线

Fig. 6 Oxidation curve of DAG prepared from flaxseed oil

通过测定油脂样品氧化诱导时间的长短,可以了解油脂的氧化稳定性,诱导时间越长表明油脂的氧化稳定性越好,诱导时间越短,油脂氧化稳定性越差。以 TBHQ(0.20 g/L)作为抗氧化剂,通过 DSC 法测定添加前后的亚麻籽油 DAG 氧化诱导时间结

果见表 5。根据氧化诱导时间的倒数确定样品的氧化反应速率常数 k ,见表 6。

从表 5 和表 6 可以看出,随着氧化温度的升高,样品的氧化诱导时间减少,反应速率常数 k 增加,说明氧化反应随着温度的升高而加剧。

表 5 不同等温温度下氧化诱导时间

Table 5 Oxidation induction time at different isothermal temperatures

样品	时间/min			
	120 °C	110 °C	100 °C	90 °C
无抗氧化剂	4.17±0.21	10.97±1.46	26.67±2.40	66.63±4.24
添加 TBHQ	4.45±0.38	12.57±0.67	33.87±1.21	100.08±5.32

表 6 不同等温温度下的氧化反应速率常数 k

Table 6 Reaction rate constants k at different isothermal temperatures

样品	k/min^{-1}			
	120 °C	110 °C	100 °C	90 °C
无抗氧化剂	2.40×10^{-1}	9.12×10^{-2}	3.75×10^{-2}	1.50×10^{-2}
添加 TBHQ	2.25×10^{-1}	7.96×10^{-2}	2.95×10^{-2}	9.99×10^{-3}

2.2.4 货架期的预测 将 $\lg k$ 与反应温度 T 最小二乘法回归可得到回归方程,对 $\ln k$ 和 $1/T$ 拟合生

成线性方程,根据斜率计算得到 E_a ,见表 7。

由表可知,lg k 与反应温度 T 呈线性相关,根据回归方程可以预测特定温度下的反应速率常数 k 或氧化诱导时间。因此,将 25 °C 代入回归方程,通过计算可以得到在室温条件下,不添加抗氧化剂的亚麻籽油 DAG 理论货架期仅为 2.63×10^4 min,约

37 d,添加抗氧化剂 TBHQ 的亚麻籽油 DAG 理论货架期可延长至 7.81×10^4 min,约 109 d,说明 TBHQ 对 DAG 的氧化稳定性具有显著提升效果。因为温度等外部因素对氧化的影响能够量化,所以通过加速氧化实验可以预测室温下油脂的氧化稳定时间^[23],获得理论货架期。

表 7 lg k 与 T 回归方程、25 °C 下理论货架期及 E_a

Table 7 Regression equation of lg k and T , the theoretical shelf life and E_a at 25 °C

样品	回归方程	R^2	货架期/min	E_a /(kJ/mol)
无抗氧化剂	lg $k=0.039 9T-5.417$	0.999 7	2.63×10^4	23.11
添加 TBHQ	lg $k=0.044 7T-6.011$	0.999 4	7.81×10^4	25.90

由此可知,DSC 可以快速准确地测定油脂的理论货架期,其样品用量少、测试时间短、不需要消耗化学试剂、自动化程度高、操作简便,有利于油脂产品的质量监控和预测油脂样品的氧化稳定时间^[24]。

3 结 语

作者对亚麻籽油 DAG 的甘油解制备条件和制得 DAG 的氧化稳定性进行了研究。通过单因素实验得到了制备较高纯度 DAG 的适宜条件,在反应

时间 10 h,反应温度 80 °C,甘油与亚麻籽油物质的量比 20:1,加酶量(质量分数)2.0%的条件下反应,利用分子蒸馏精制得到了质量分数为 57.18%的亚麻籽油 DAG,产物中亚麻酸质量分数为 52.75%。利用 DSC 法对亚麻籽油 DAG 的氧化稳定性进行了研究,通过添加 TBHQ 作为抗氧化剂,显著增强了亚麻籽油 DAG 的氧化稳定性,理论货架期能够延长至 109 d。

参考文献:

- [1] 金鑫燕. 亚麻籽(油) $n-3$ 型脂肪酸功能及在畜禽饲料中的应用[J]. 青海畜牧兽医杂志, 2021, 51(5): 64-70.
- [2] ZHANG Z S, WANG L J, LI D, et al. Characteristics of flaxseed oil from two different flax plants[J]. **International Journal of Food Properties**, 2011, 14(6): 1286-1296.
- [3] 邓乾春, 禹晓, 黄庆德, 等. 亚麻籽油的营养特性研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2010, 22(4): 715-721.
- [4] LEE Y Y, TANG T K, PHUAH E T, et al. Production, safety, health effects and applications of diacylglycerol functional oil in food systems: a review[J]. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2020, 60(15): 2509-2525.
- [5] 钟碧莹, 丁懿宁, 吴炳鑫, 等. 甘油二酯油对代谢综合征影响的研究进展[EB/OL]. (2021-11-08)[2022-05-07]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1099.TS.202111106.0924.002.html>.
- [6] SINGH A K, MUKHOPADHYAY M. Optimization of lipase-catalyzed glycerolysis for mono and diacylglycerol production using response surface methodology[J]. **Arabian Journal for Science and Engineering**, 2014, 39(4): 2463-2474.
- [7] HU D J, CHEN J M, XIA Y M. A comparative study on production of middle chain diacylglycerol through enzymatic esterification and glycerolysis[J]. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, 2013, 19(5): 1457-1463.
- [8] LI G, CHEN J, MA X, et al. Enzymatic preparation and facile purification of medium-chain, and medium-and long-chain fatty acid diacylglycerols[J]. **LWT-Food Science and Technology**, 2018, 92: 227-233.
- [9] MA C 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]. **LWT-Food Science and Technology**, 2021, 144: 1-7.
- [10] ZHANG Z, HUANG H, MA X, et al. Production of diacylglycerols by esterification of oleic acid with glycerol catalyzed by diatomite loaded SO_4^{2-}/TiO_2 [J]. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, 2017, 53: 307-316.
- [11] ZHOU H, ZHANG Z, LEE W J, et al. Acyl migration occurrence of palm olein during interesterification catalyzed by $sn-1,3$ specific lipase[J]. **LWT-Food Science and Technology**, 2021, 142: 1-9.

- [12] 杨国燕. DSC 和 Rancimat 法测定亚麻籽油氧化稳定性研究[J]. 粮食与油脂, 2014, 27(8): 29-32.
- [13] RUDNIK E, SZCZUCINSKA A, GWARDIAK H, et al. Comparative studies of oxidative stability of linseed oil[J]. *Thermochimica Acta*, 2001, 370(1): 135-140.
- [14] KASEKE T, OPARA U L, FAWOLE O A. Oxidative stability of pomegranate seed oil from blanched and microwave pretreated seeds: kinetic and thermodynamic studies under accelerated conditions [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2021, 45(10): 1-12.
- [15] 陈佳子, 李光辉, 张震, 等. 酶法催化制备含有中链及中长链脂肪酸的甘油二酯及性质表征[J]. 中国油脂, 2018, 43(7): 61-66.
- [16] ZHAO X, ZHAO F, ZHONG N. Production of diacylglycerols through glycerolysis with SBA-15 supported *Thermomyces lanuginosus* lipase as catalyst[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2020, 100(4): 1426-1435.
- [17] DUAN Z Q, DU W, LIU D H. Novozym 435-catalyzed 1,3-diacylglycerol preparation via esterification in *t*-butanol system[J]. *Process Biochemistry*, 2010, 45(12): 1923-1927.
- [18] 刘宁. 无溶剂体系固定化磷脂酶 Lecitase® Ultra 催化合成甘油二酯研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2013.
- [19] 张弢, 王芳, 邓利, 等. 脂肪酶催化大豆色拉油甘油解制备二甘酯[J]. 北京化工大学学报: 自然科学版, 2004, 31(5): 26-29.
- [20] 马靖轩, 马传国, 李利君, 等. 酶法催化酯交换制备甘油二酯工艺优化研究[J]. 中国油脂, 2020, 45(1): 51-55.
- [21] LYU Y, SUN S, CHEN X. Enhanced environment friendly surfactant production by the glycerolysis of castor oil using amino acid ionic liquid as a catalyst[J]. *Industrial Crops and Products*, 2021, 170: 1-11.
- [22] 王致禹, 陈晓倩, 孟庆凤, 等. 有机溶剂和混合油脂对脂肪酶活性恢复的影响[J]. 中国食品学报, 2021, 21(2): 55-62.
- [23] 金清馨, 许光治, 倪勤学, 等. 精炼栀子果油氧化稳定性研究及货架期预测[J]. 中国油脂, 2019(3): 86-89.
- [24] 张春华, 惠菊, 王翔宇, 等. 差示扫描量热法和热重法评估植物油氧化稳定性的研究进展[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(10): 8-11.

科 技 信 息

覃小丽副教授在油脂中胆固醇脱除和油脂稳态化过程中组分相互作用方面取得重要进展

牛油作为川渝味红汤锅底料的主要组成部分,对火锅的感官品质起着至关重要的作用。由于火锅底料制作与食用的特殊性,在加工及涮煮过程中需要使用大量牛油,但牛油中胆固醇含量较高,长期过多摄入会增加动脉粥样硬化、肥胖、冠心病和高血压等心血管疾病的发病风险。随着人民消费水平逐渐提高,消费者对健康饮食的需求越来越高。研究牛油胆固醇的脱除及机理尤为重要。西南大学食品科学学院覃小丽副教授在 β -环糊精(脱除剂)与胆固醇的包合相互作用方面进行了系统研究,相关成果发表在 *Food Hydrocolloids* 上。这项研究采用实验手段和理论计算相结合的方法定量研究胆固醇- β -环糊精包合物的形成及其相互作用机制。结果表明, β -环糊精与胆固醇以物质的量比 1:1 形成包合物,通过红外光谱和理论光谱证实了包合物的形成。热重分析结果表明该包合物的热稳定性有所提高。其次, β -环糊精与胆固醇之间形成了 2 个氢键,这意味着范德华力和氢键是驱动包合物自发形成和保持包合物稳定性所必需的。该研究通过计算和实验方法深入揭示了胆固醇- β -环糊精包合物的形成机制,为从食品体系中去去除胆固醇提供了理论依据。

[信息来源] 覃小丽. 覃小丽副教授在油脂中胆固醇脱除和油脂稳态化过程中组分相互作用方面取得重要进展 [EB/OL]. (2022-6-22). <http://spxy.swu.edu.cn/s/spxy/xsdt/20220522/4852105.html>.