

三聚甘油脂肪酸酯对甘油二酯结晶特性的影响

张宁, 杨雪, 滕英来, 万分龙, 符钧甯, 汪勇

(广东油脂生物炼制工程技术研究中心, 暨南大学食品科学与工程系, 暨南大学-萨斯喀切温大学“油料生物炼制与营养”联合实验室, 广东广州 510632)

摘要: 甘油二酯(Diacylglycerol, DAG)是一种功能性油脂,可作为潜在的食品专用油脂,故对其结晶特性的研究具有重要的理论意义。在鼓泡式反应器无溶剂体系中,利用脂肪酶Lipozyme 435催化硬脂酸、油酸与甘油酯化反应制备甘油二酯。酯化产物经分子蒸馏纯化得到含量为78.39 wt%的甘油二酯。利用差示扫描量热仪、脉冲核磁共振仪、X射线衍射仪和偏光显微镜考察两种三聚甘油脂肪酸酯(Polyglycerol fatty acid ester, PGFE)对甘油二酯结晶特性的影响。结果表明,硬脂酸三聚甘油酯(PGFE1)对甘油二酯具有促进结晶作用;亚油酸三聚甘油酯(PGFE2)对甘油二酯具有抑制结晶作用,当PGFE2的含量由2%增加为10%时,其抑制作用变大。X射线衍射结果显示PGFE1对甘油二酯 β 型晶型有稳定作用。偏光显微镜观察到PGFE1的添加使甘油二酯的晶体变得更为细腻。

关键词: 甘油二酯; 三聚甘油脂肪酸酯; 结晶特性

文章编号: 1673-9078(2016)3-48-55

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.3.009

Effect of Polyglycerol Fatty Acid Esters on Crystallization behaviors of Diacylglycerol

ZHANG Ning, YANG Xue, TENG Ying-lai, WAN Fen-long, FU Jun-ning, WANG Yong

(1.Guangdong Engineering Research Center for Fats and Oils Biorefinery, Department of Food Science and Engineering, Guangdong Saskatchewan Oilseed Joint Laboratory, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: Diacylglycerol (DAG) is a functional lipid that can potentially be used for food applications, and therefore, the study of its crystallization behaviors is of great theoretical significance. In this study, DAG was prepared through lipozyme 435-catalyzed esterification of stearic acid, oleic acid, and glycerol in a solvent-free system using a bubble column reactor. After the purification by molecular distillation, 78.39 % (wt.) DAG was obtained from the esterification product. The effects of two types of polyglycerol fatty acid esters (PGFEs) on the crystallization behaviors of DAG were investigated by differential scanning calorimetry, pulsed nuclear magnetic resonance, X-ray diffraction, and polarized light microscopy. The results showed that polyglycerol stearic acid ester (PGFE1) promoted the crystallization of DAG, while polyglycerol linoleic acid ester (PGFE2) inhibited the crystallization of DAG, and this inhibitory effect was enhanced when the PGFE2 content was increased from 2% to 10%. The results of X-ray diffraction indicated that the presence of PGFE1 stabilized the DAG in β -crystal form. Finally, the polarized light microscopy revealed that the addition of PGFE1 made the crystal of DAG more delicate.

Key words: diacylglycerol; polyglycerol fatty acid ester; crystallization behavior

近年来,甘油二酯(Diacylglycerol, DAG)被广泛视为可预防肥胖症及其他相关疾病的功能性油脂^[1]。甘油二酯是由两分子脂肪酸和一分子甘油组成的结构脂质,具有1, 2-DAG和1, 3-DAG两种异构体。其可通过化学法^[2]或生物酶法^[1,3~5]制备,相较化学法来

收稿日期: 2015-06-02

基金项目: 国家自然科学基金项目(31371785); 广东省战略新兴产业核心技术攻关项目(2012A080800013); 教育部“新世纪优秀人才”支持计划(NCET-12-0675)

作者简介: 张宁(1975-),女,博士,副教授,研究方向: 食品生物技术

通讯作者: 汪勇(1977-),男,博士,研究员,研究方向: 油脂生物炼制

说,酶法因具有条件温和、对环境友好、耗能低等优点而受到较多关注。研究表明,甘油二酯具有减肥、降低血脂含量及降低餐后血糖等功能,故其具有很好的营养价值和极大的市场潜力^[6~7]。不仅如此,1, 3-DAG的熔点比与其含有相同脂肪酸组成的甘油三酯(Triacylglycerol, TAG)高10℃左右^[8],这使得在得到相同固体脂肪含量的油脂加工产品时,甘油二酯的添加可减少产品中饱和脂肪酸的含量。

油脂的结晶特性在很大程度上会影响产品的品质,因此了解并改善油脂的结晶行为对油脂加工产品具有重要的意义。近年来,甘油二酯的结晶特性研究

日益成为研究热点。Cheong等^[9]研究了猪油甘油二酯对菜籽油和猪油混合物的结晶特性影响,结果显示低添加量的甘油二酯对油脂晶核形成和晶体生长有抑制作用,但高添加量时具有促进结晶作用。Saber^[10]研究发现当棕榈油甘油二酯添加到棕榈油的含量超过40%时,混合物的等固线温度、结晶热焓和硬度都随着添加量的增加而增加,且晶型由 β' 型向 β 型转换。

目前,关于乳化剂对甘油二酯结晶行为影响的研究较少。聚甘油脂肪酸酯(PGFE)作为乳化剂在乳制品、面制品、油脂等食品工业中具有广泛的应用。聚甘油脂肪酸酯是由聚甘油和脂肪酸酯化生成的一类性能优良的表面活性剂,具有乳化、调整结晶、调节粘度和防腐保鲜等功能^[11]。研究表明,聚甘油脂肪酸酯具有促进结晶和抑制结晶的双重作用。亲水性的聚甘油脂肪酸酯如六聚甘油五硬脂酸酯能够促进晶体形成;而亲油性的聚甘油脂肪酸酯如十聚甘油十硬脂酸酯,具有抑制结晶的作用^[11-12]。

本研究采用Lipozyme 435催化油酸、硬脂酸和甘油合成粗甘油二酯,利用分子蒸馏设备对酯化产物进行分离纯化,得到高纯度的甘油二酯。将三聚甘油脂肪酸酯添加到甘油二酯中,并利用差示扫描量热仪(Differential scanning calorimetry, DSC)、脉冲核磁共振(Pulsed nuclear magnetic resonance, pNMR)、X衍射(X-ray diffraction, XRD)和偏光显微镜(Polarized light microscope, PLM)考察其结晶特性与晶体形态。通过研究三聚甘油脂肪酸酯对甘油二酯结晶特性的影响,为甘油二酯作为功能性食品专用油脂基料的应用开发提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 原料

固定化脂肪酶Lipozyme 435: EC 3.1.1.3, 酶活力10 U/mg, 诺维信中国生物技术有限公司; 工业级硬脂酸, 硬脂酸三聚甘油酯(PGFE1, 含量91%, 成分以聚甘油单酯为主), 亚油酸三聚甘油酯(PGFE2, 含量85%, 成分以单酯和二酯为主): 广州美晨集团股份有限公司; 工业级油酸, 甘油($\geq 99\%$): 天津市大茂化学试剂厂。

1.2 主要仪器设备

鼓泡式反应器: 广州汉维机电有限公司; MD-80型分子蒸馏设备: 广州汉维机电有限公司; Agilent 7820A气相色谱仪: 美国安捷伦科技有限公司; DSC1型差示扫描量热仪, 梅特勒-托利多公司生产; NM-2

型核磁共振分析仪: 上海纽迈电子科技有限公司; MSAL-XD-II型X-射线衍射仪: 北京普析通用仪器有限公司; SMART-POL偏光显微镜: 重庆奥特光学仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 粗甘油二酯的酶法制备

采用鼓泡式反应器制备粗甘油二酯。图1为鼓泡式反应器的流程图。准确称取工业级油酸91.0 g、工业级硬脂酸39.0 g及甘油270.0 g于500 mL大烧杯中, 并加入4 wt%脂肪酶Lipozyme 435(以底物重为100 wt%), 倒入鼓泡式反应器的进样高位槽预热, 待反应器的恒温水浴装置达到65℃时, 将物料放入反应器中开始酯化反应。维持缓冲罐内氮气压力在0.7 MPa左右, 使氮气在反应体系内循环。反应结束后, 收集反应液, 静置30 min, 得到上层油层和下层甘油层。收集上层油层为粗甘油二酯, 进行气相色谱分析甘油酯组成。

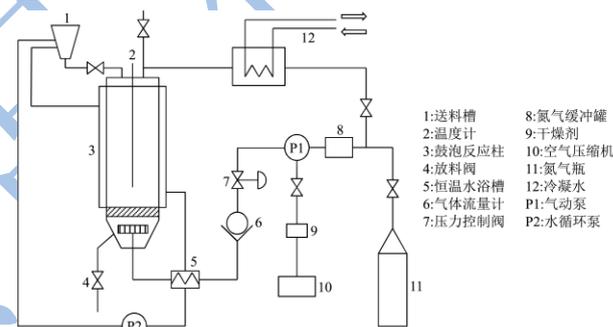


图1 鼓泡式反应器流程图

Fig.1 Flow diagram of the bubble column reactor

1.3.2 甘油二酯分子蒸馏纯化

利用分子蒸馏分离纯化酯化产物中的甘油二酯。通过分子蒸馏除去粗甘油二酯产品中的游离脂肪酸(FA), 甘油和单甘酯(MAG), 得到较高纯度甘油二酯。蒸馏条件: 蒸馏压力1.0 Pa, 蒸馏柱温度190℃, 冷却水温度60℃, 进料温度80℃, 刮膜电机转速300 r/min。

1.3.3 气相色谱法分析甘油酯组成

取上层样品及纯化甘油二酯50.0 mg, 以正己烷为溶剂定容至5.0 mL, 气相色谱法分析甘油酯组成^[13]。色谱条件: DB-1ht型毛细管柱(15 m×0.25 mm×0.1 μm); 氢火焰离子检测器, 温度为380℃; 进样量0.5 μL, 分流比20:1; 进样口温度380℃, 压力108.3 kPa, 载气为氮气, 分析采用恒流模式, 流速为4.17 mL/min; 程序升温: 50℃保持1 min, 以50℃/min的速率升温至100℃, 80℃/min升至220℃, 30℃/min升至290℃, 再以50℃/min升至330℃保持2 min,

最后以 50 °C/min 的速率升至 380 °C 保持 3 min。

1.3.4 甘油酯脂肪酸组成分析

利用气相色谱测定原料及纯化产物的脂肪酸组成。样品经甲酯化(方法参照 GB/T17376-2008)后,进行气相色谱分析。采用 DB-wax 型毛细管柱(10 m × 0.1 mm × 0.1 μm),进样量 0.5 μL,分流比为 40:1,载气为氮气;进样口、检测器温度均为 240 °C;柱箱升温程序:初始温度为 100 °C,以 10 °C/min 的速率升温至 220 °C 并保持 2 min,再以 40 °C/min 的速率升温至 240 °C,保持 4 min。

1.3.5 核磁共振测定纯化甘油二酯异构体比例

采用核磁共振氢谱测定纯化甘油二酯中 1, 3-DAG 与 1, 2-DAG 的比例^[14]。

称取 10~20 mg 甘油二酯,加入 0.5 mL 氘代氯仿(CDCl₃)溶解,将样品转移至核磁管中。分析条件:测定温度 25 °C,检测频率 500 MHz,谱宽 10330.6 Hz,脉宽 12.76 μs,采集时间 3.1720 s,延迟时间 1 s,扫描次数 64。

1.3.6 三聚甘油脂肪酸酯的 HLB 值测定

三聚甘油脂肪酸酯的亲水亲油平衡值(Hydrophile-Lipophile Balance, HLB)的测定参照文献^[15]的方法。

1.3.7 结晶熔化性质分析

添加 2 wt% PGFE1(以甘油二酯重为 100 wt%), 2 wt% 与 10 wt% PGFE2 于甘油二酯中,加热混合。

利用差示扫描量热仪分析甘油二酯及其混合物的结晶熔化性质。精确称取样品 6.0~10.0 mg, N₂ 流量为 50 mL/min。设定程序控温如下:在密封的铝盒中加热样品至 80 °C 并保持 10 min,消除历史结晶后,以 5 °C/min 的速率降温至 -50 °C,记录结晶过程中的 DSC 放热曲线;在 -50 °C 保持 10 min 后,以 5 °C/min 升温至 80 °C,得到熔化过程中的热变化曲线。根据动态吸热结束时的温度得到熔点。

1.3.8 固体脂肪含量的测定

表 1 工业级硬脂酸和油酸及三聚甘油脂肪酸酯的脂肪酸组成/wt%

Table 1 Fatty acid compositions of industrial stearic acid, oleic acid, and PGFE

脂肪酸	工业级硬脂酸	工业级油酸	PGFE1	PGFE2
肉豆蔻酸(C14:0)	-	-	1.30±0.21	-
棕榈酸(C16:0)	56.87±0.54	9.91±0.10	61.60±0.12	-
硬脂酸(C18:0)	43.13±0.54	4.91±0.03	37.10±0.22	-
油酸(C18:1)	-	56.10±0.17	-	4.95±0.15
亚油酸(C18:2)	-	29.08±0.24	-	95.05±0.15
饱和脂肪酸(SFA)	100±0.00	14.82±0.13	100±0.00	-
不饱和脂肪酸(USFA)	-	85.18±0.40	-	100±0.00

由表 1 可知,工业级硬脂酸中全部为饱和脂肪酸,

采用脉冲核磁共振仪测定甘油二酯及其混合物的固体脂肪含量(Solid fat content, SFC)。

称取 1.5 g 左右的样品于专用玻璃样品管中,在 80 °C 水浴中加热 30 min 消除历史结晶记忆后,转移至低温恒温器中,在 0 °C 下保留 90 min 后测其 SFC 值。然后将样品依次在 5 °C~45 °C 温度范围内,每隔 5 °C 恒温保留 30 min 后,测定其 SFC 值。

1.3.9 晶型分析

采用 X-射线衍射仪测定甘油二酯及其混合物的晶型。

将 1.0 g 左右样品置于 80 °C 恒温水浴 30 min,以消除历史结晶,室温下放置 24 h 后测定。实验条件:工作电压 36 kV,电流 20 mA,Cu 靶,温度为室温,扫描角度为 5°~30°,扫描速度为 2°/min。

1.3.10 晶体形态分析

采用偏光显微镜观察分析甘油二酯及其混合物的晶体微观结构。

取适量在 80 °C 熔化后的样品于预热的载玻片上,盖上已预热的盖玻片。用连接 Canon 数码相机的偏光显微镜观察样品在 15、30、50 °C 温度下的结晶形态,显微镜放大倍数为 400 倍。获得的图片利用 Image J2x 软件分析处理,得到图像的不规则碎片维度 D_b。

1.3.11 数据统计分析

采用 Microsoft Excel 2013 软件对数据进行分析,结果数据为平均值±标准偏差(n=2)。

2 结果与讨论

2.1 原料脂肪酸组成及三聚甘油脂肪酸酯性质分析

对原料硬脂酸、油酸及两种三聚甘油脂肪酸酯的脂肪酸组成进行分析,结果如表 1 所示。

含 56.87 wt% 的棕榈酸和 43.13 wt% 的硬脂酸。而工业

级油酸中除了 56.10 wt% 的油酸外, 还含有 29.08 wt% 的亚油酸及 14.82 wt% 的饱和脂肪酸。对于两种三聚甘油脂肪酸酯, PGFE1 中全部为饱和脂肪酸, 以棕榈酸和硬脂酸为主, 还含有少量的肉豆蔻酸; 而 PGFE2 中全部为不饱和脂肪酸, 其中亚油酸含量达到 95.05 wt%。

表 2 三聚甘油脂肪酸酯的 HLB 值及熔点

Table 2 HLB values and melting points of PGFE

	HLB 值	熔点/°C
PGFE1	8.60	57.70
PGFE2	7.50	-40.52

对两种三聚甘油脂肪酸酯的 HLB 值及熔点进行分析, 结果如表 2 所示。其中, PGFE1 和 PGFE2 的 HLB 值均大于 7, 故其可用于水包油型乳化剂。PGFE1 中脂肪酸全部为饱和脂肪酸, 故具有很高的熔点 (57.70 °C), 而 PGFE2 中脂肪酸全部为不饱和脂肪酸, 故其在很低的温度下就能完全熔化。

2.2 纯化产物的甘油酯及脂肪酸组成分析

对纯化产物的甘油酯及脂肪酸组成进行分析, 结果如表 3 所示。

表 3 纯化甘油二酯的甘油酯及脂肪酸组成/wt%

Table 3 Acylglycerol and fatty acid compositions of the purified

DAG (as % of wt.)	
	DAG
甘油酯组成	
TAG	21.62±0.09
DAG	78.39±0.09
1, 3-DAG/1, 2-DAG	2:1
MAG	-
脂肪酸组成	
C16:0	26.59±0.07
C18:0	19.17±0.03
C18:1	36.51±0.24
C18:2	17.73±0.34
SFA	45.76±0.10
USFA	54.24±0.11

由表 3 可知, 通过酯化反应和一步分子蒸馏法得到的终产物中甘油二酯的含量为 78.39 wt%, 甘油三酯的含量为 21.62 wt%。研究表明, 食用油脂中甘油二酯含量超过 40% 时会有良好的功能特性^[16], 而通过一步分子蒸馏得到 78.39 wt% 甘油二酯。

利用核磁共振氢谱分析得到 1,3-DAG 与 1,2-DAG 的比例为 2:1, 这个结果与 Joseph 等^[14]的研究结果一致, 即长链 DAG 达到平衡时 1,3-DAG 与 1, 2-DAG 的

比例约为 2:1。这是因为 1,3-DAG 与 1,2-DAG 互为异构体, 彼此通过酰基转移, 最终达到平衡值。

通过气相色谱分析纯化甘油二酯中脂肪酸组成可得, 甘油二酯中不饱和脂肪酸含量为 54.24 wt%, 其中油酸含量最大, 为 36.51 wt%; 而饱和脂肪酸中棕榈酸含量最多, 为 26.59 wt%。

2.3 结晶熔化特性

添加两种不同的三聚甘油脂肪酸酯 (PGFE1, PGFE2) 于甘油二酯中, 研究其对甘油二酯的结晶特性影响。混合物的结晶和熔化曲线如图 2 所示。

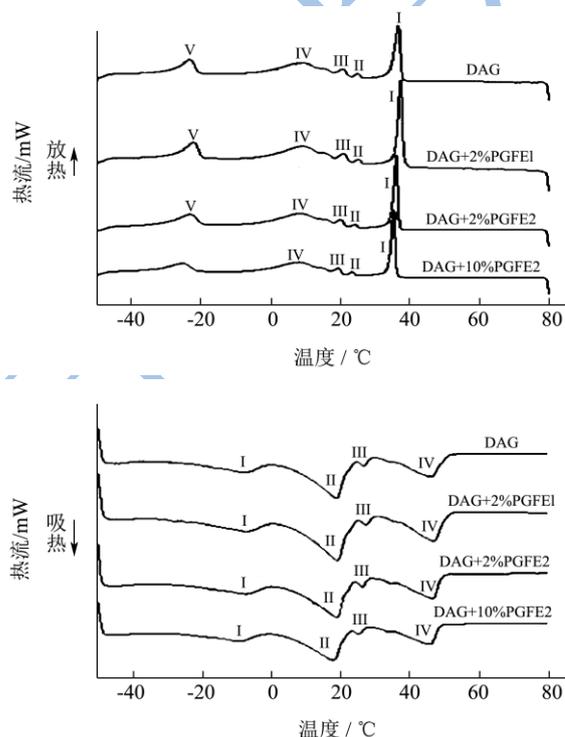


图 2 甘油二酯及添加不同比例三聚甘油脂肪酸酯混合物的结晶 (a) 和熔化曲线 (b)

Fig.2 Crystallization (a) and melting (b) curves of DAG and DAG blended with different ratios of PGFEs

由图 2 可知, 甘油二酯及添加不同比例三聚甘油酯混合物的结晶及熔化曲线都比较复杂。一般来说, 油脂的结晶和熔化曲线并不仅仅展现特定的结晶点或熔点, 而是一个包含多个峰的温度范围, 意味着其各个组分在不同的温度结晶或熔化^[17]。从图 2 (a) 可以看出, 甘油二酯及其混合物在高熔融部分 (20~50 °C) 有两个结晶峰 (I, II), 中熔融部分 (0~20 °C) 也有两个峰 (III, IV), 而低熔融部分 (-40~0 °C) 只有一个放热峰 (V)。高熔融和中熔融部分的多个峰可能是由于不同种类的甘油二酯具有不同的结晶速率, 而低熔融部分的峰则可能是由于高纯度甘油二酯中混有的甘油三酯成分造成的^[18]。曲线中明显的尖峰 (I) 表明

了混合物中高熔点组分的所有晶体几乎同时成核^[19],且放热峰尖细,说明结晶更加完全。添加 2% PGFE1 后,甘油二酯的初始结晶温度由 37.20 °C 上升到 38.31 °C (表 4),且峰 I 明显变高(结晶焓增大了 1 J/g 左右,表 4),说明 PGFE1 的添加可以促进甘油二酯的结晶。而添加 2% PGFE2 后,甘油二酯的结晶起始点降低,且随着其含量的增大而变低(添加 2% 及 10% PGFE2 的甘油二酯初始结晶温度分别为 36.96 °C 和 36.24 °C),说明 PGFE2 的添加对甘油二酯的结晶有微弱的抑制作用,且当其含量由 2% 增加到 10% 时,抑制作用变大。

迟娟娟^[20]研究了乳化剂对棕榈油基人造奶油结晶行为的影响,添加聚甘油脂肪酸酯后,油脂混合物的结晶起始温度增加了 2 °C 左右;而 Saitou 等^[21]的研究表明聚甘油脂肪酸酯对菜籽油基甘油二酯的结晶具有延缓效应。本实验结果亦证明了聚甘油脂肪酸酯具

表 4 甘油二酯及添加不同比例三聚甘油脂肪酸酯混合物的熔点、初始结晶温度及相关焓值

Table 4 Melting points, crystallization onset temperature, and related enthalpies of DAG and DAG blended with different ratios of

	PGFEs			
	DAG	DAG+2%PGFE1	DAG+2%PGFE2	DAG+10%PGFE2
初始结晶温度/°C	37.20	38.31	36.96	36.24
峰 I 结晶焓/(J/g)	17.88	18.82	17.74	16.18
熔点/°C	49.18	49.61	48.65	48.04
峰 IV 熔融焓/(J/g)	-10.46	-11.62	-6.55	-6.32

2.4 固体脂肪含量

固体脂肪含量反映了油脂随温度的升高,其内部固体成分由固态向液态转变的过程,其直接反映油脂的融化速率及融化温度范围,并从侧面反映了物质的硬度,塑性范围,晶型等性质^[23]。本研究利用脉冲核磁共振仪,测定了甘油二酯及其混合物的 SFC 值,其 SFC-T 曲线如图 3 所示。

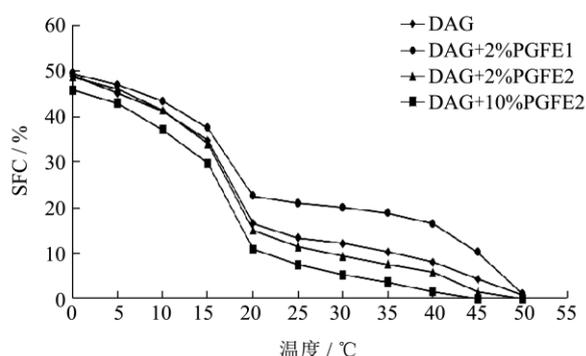


图 3 甘油二酯及添加不同比例三聚甘油脂肪酸酯混合物的 SFC-T 曲线

Fig. 3 SFC-T curves of DAG and DAG blended with different ratios of PGFEs

有促进结晶和抑制结晶的双重作用。这是因为 PGFE1 中脂肪酸全部为饱和脂肪酸,其熔点(57.70 °C,表 2)高于甘油二酯(49.18 °C,表 4),在降温过程中前者会先于后者产生结晶,前者结晶时会形成一个“模板”而引导后者晶体的形成,故而有促进结晶的作用;而 PGFE2 中脂肪酸全部为不饱和脂肪酸,其熔点远低于甘油二酯,由于其不能先于甘油二酯结晶而抑制后者晶核的进一步形成^[22]。

从图 2 (b) 可以看出,甘油二酯及其混合物在高熔融部分有两个熔化峰(III, IV),而中熔融部分和低熔融部分都只有一个吸热峰(II, I)。添加 2% PGFE1 后,甘油二酯的熔点由 49.18 °C 上升到 49.61 °C (表 4),且峰 V 明显变大(熔融焓增大了 1 J/g 左右,表 4);而添加 PGFE2 后,甘油二酯的熔点降低,熔融焓也明显降低。这与结晶曲线分析结果一致。

由图 3 可知,甘油二酯及其三聚甘油脂肪酸酯混合物的 SFC-T 曲线差异较大,特别是在 15~45 °C 的范围内,SFC 值的变化有着明显的差异。在 0 °C 时,甘油二酯、含 2% PGFE1 和 PGFE2 的甘油二酯混合物的固脂含量差别不大,分别为 48.99%、49.51% 及 48.70%,而添加 10% PGFE2 的混合物含 45.84% 的固脂含量,这是因为 10% PGFE2 的添加降低了甘油二酯的含量。在 0~15 °C,甘油二酯及其三聚甘油脂肪酸酯混合物的 SFC 值变化较小,而在 15~20 °C 时,SFC 值大幅下降(下降 15%~19%),此区间即为甘油二酯的最大融化速度区间。在 20~50 °C 的区间内,甘油二酯及其混合物的 SFC 值变化量有所不同。含 2% PGFE1 的甘油二酯混合物的 SFC 值减少量最大,由 22.54% 降低为 1%;含 10% PGFE2 的甘油二酯混合物的 SFC 值减少量最小,由 10.85% 降低为 0%;甘油二酯及含 2% PGFE2 的混合物的 SFC 值分别由 16.54%、15.09% 变为 0.78%、0%。

甘油二酯的固体脂肪含量在各个温度下都低于含 2% PGFE1 的混合物,而高于含 10% PGFE2 的混合物,且在 15 °C 及以上温度都高于含 2% PGFE2 的混合物,而固体脂肪含量反映了一定温度下油脂中晶体含

量的多少^[23], 说明甘油二酯在相同温度下所含晶体数量少于含 2%PGFE1 的混合物而高于含 2% 及 10%PGFE2 的混合物, 表明 PGFE1 促进甘油二酯的结晶, 而 PGFE2 抑制甘油二酯的结晶。这与上述 DSC 的结晶与熔化曲线分析结果一致。

2.5 XRD 测晶型

油脂结晶中往往同时存在多种晶体, 主要是 α , β' 和 β 型。其中, α 型晶体是最不稳定的, 在热处理时易转变为 β' 和 β 型; β 型晶体是最稳定的。本文采用 XRD 测定甘油二酯及其混合物的晶型, 通过测定短间距 d 值可得到样品的晶体类型。 d 值代表两个衍射晶面间的间距, 而不同的晶型具有不同的 d 值参数, 故各个特定的 d 值表示对应的晶体类型^[23]。短间距 $d=4.15 \text{ \AA}$ 出现吸收峰则说明存在 α 晶型; 当短间距 $d=3.8 \text{ \AA}$ 或 4.2 \AA 出现吸收峰时, 表明存在 β' 晶型; 而当短间距 $d=4.6 \text{ \AA}$ 出现吸收峰时, 表示有 β 晶型存在^[24]。甘油二酯及其混合物的 XRD 分析结果, 如图 4 所示。

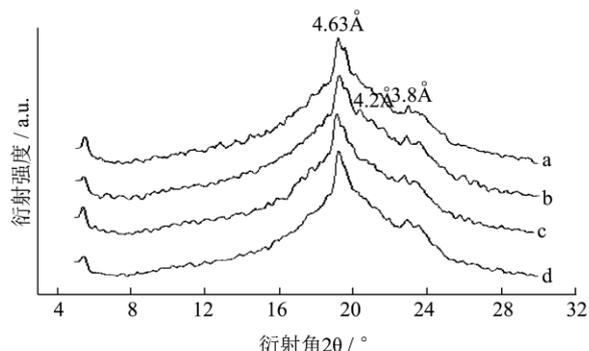


图 4 甘油二酯及添加不同比例三聚甘油脂肪酸酯混合物的 X-衍射谱图

Fig4 X-ray diffractograms of DAG and DAG blended with different ratios of PGFEs

注: (a) DAG, (b) DAG+2%PGFE1, (c) DAG+2%PGFE2, (d) DAG+10%PGFE2。

由图 4 可知, 甘油二酯及其混合物在短间距 $d=3.8 \text{ \AA}$ 处有一个小的吸收峰, 在 $d=4.6 \text{ \AA}$ 处有一个大的吸收峰, 即甘油二酯及其混合物主要呈 β 晶型并含有部分 β' 型晶体。这是因为 1,3-DAG 与 1,2-DAG 的比例为 2:1, 而 1,3-DAG 呈两种 β 晶型 (β_1 和 β_2), 1,2-DAG 呈 α 和 β' 型^[25]。添加 PGFE 的混合物在短间距 $d=3.8 \text{ \AA}$ 处的吸收峰均大于甘油二酯, 这说明了 PGFE 的添加增加了甘油二酯的 β 型晶体; 与甘油二酯及其他混合物相比, 含 PGFE1 的混合物在短间距 $d=4.2 \text{ \AA}$ 处有一个吸收峰, 这说明了 PGFE1 对甘油二酯具有 β' 型稳定作用, 而这对于人造奶油等油脂产品而言具有重要的

意义, 因为 β' 晶型具有较小的晶体颗粒而形成精细的网络结构, 相比 β 晶型可包裹更多的液油, 从而使产品表明光滑、质构柔软^[20]。

2.6 PLM 观察晶体形态

甘油二酯及其混合物在温度分别为 $20 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $40 \text{ }^\circ\text{C}$, 放大倍数为 400 倍条件下观测所得结晶形态如图 5 所示。

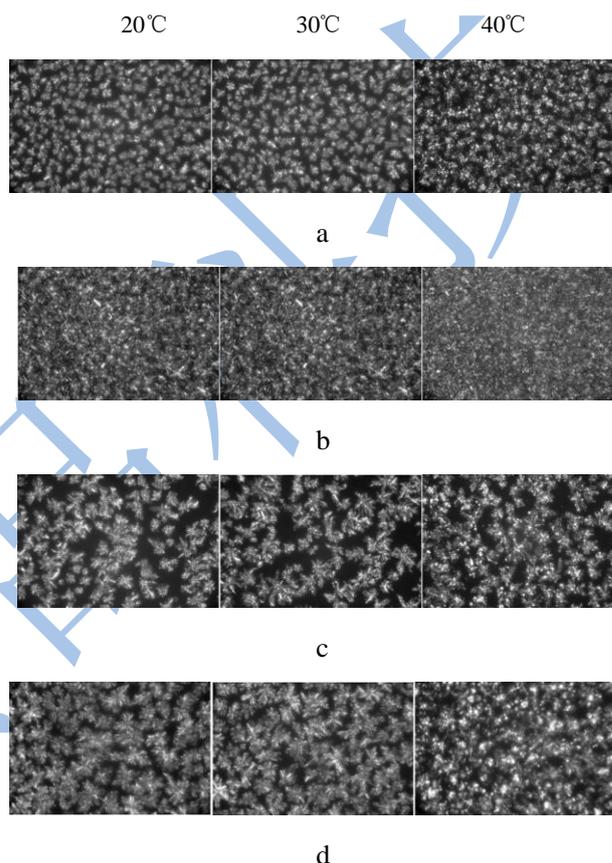


图 5 甘油二酯及添加不同比例三聚甘油脂肪酸酯混合物在 $20 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 的 PLM 图像 (40×10 倍)

Fig5 PLM images of DAG and DAG blended with different ratios of PGFEs at $20 \text{ }^\circ\text{C}$, $30 \text{ }^\circ\text{C}$, and $40 \text{ }^\circ\text{C}$

注: (a) DAG, (b) DAG+2%PGFE1, (c) DAG+2%PGFE2, (d) DAG+10%PGFE2。

图 5 中浅色部分为晶体, 深色部分为液态成分。由图 5 可知, 在 $20 \text{ }^\circ\text{C}$, 甘油二酯的晶体主要呈雪花状。添加 2% PGFE1 时, 混合物的晶体呈枝状, 数量大幅增加, 说明 PGFE1 的添加促进了晶体生成; 与甘油二酯相比, 混合物的晶体更加细腻。添加 2% PGFE2 时, 混合物的晶体变少, 但晶体变大; 而添加 10% PGFE2 时, 混合物的晶体变的更少, 而晶体更大, 说明 PGFE2 的添加抑制晶体生成。Saitou 等^[21]亦观察到添加聚甘油脂肪酸酯后, 甘油二酯的晶体变少但变大, 他们认为这是因为聚甘油脂肪酸酯的添加使得甘油二酯晶体

成核率变低, 故而延缓了甘油二酯结晶。在 30 °C 时, 甘油二酯及混合物的晶体形态与 20 °C 时相差不大, 这说明升高 10 °C 并没有使晶体融化。当温度升至 40 °C 时, 甘油二酯及其混合物的晶体部分融化。甘油二酯及添加 PGFE2 的混合物的晶体由之前的雪花状变成无规则絮状, 而添加 PGFE1 的混合物的晶体由枝状变成细小的粒状, 且均匀分布在晶体网络中。

为了更深入地了解油脂的结晶网络结构, 可以通过分析晶体网络的不规则碎片维度 D_b 来对其进行量化, D_b 值反映了结晶网络中晶体的空间分布情况^[26]。采用盒维数法利用 Image J2x 软件分析甘油二酯及其混合物的 D_b 值, 结果如表 5 所示。

表 5 甘油二酯及添加不同比例三聚甘油脂肪酸酯混合物在 20 °C 下的不规则维度 D_b

Table 5 Fractal dimension D_b of DAG and DAG blended with different ratios of PGFEs at 20°C

样品	DAG	DAG+ 2%PGFE1	DAG+ 2%PGFE2	DAG+ 10%PGFE2
D_b	1.95	1.96	1.93	1.95

影响 D_b 值的微观结构因素主要有晶体的形态、尺寸及结晶面积等, 一般来说 D_b 值越高代表了网络被填充地越多^[20]。表中的结果符合这一规律, 如添加 PGFE1 的混合物含有最大的 D_b 值, 而添加 10%PGFE2 的混合物的 D_b 值较大是因为其具有较低的 SFC 值, 而在低 SFC 值时 D_b 值随着晶体尺寸的增大而变大^[27]。

3 结论

在鼓泡式反应器无溶剂体系中, 利用脂肪酶 Lipozyme 435 催化硬脂酸、油酸与甘油酯化反应制备甘油二酯。酯化产物经分子蒸馏纯化得到含量为 78.39 wt% 的甘油二酯。在纯化甘油二酯中, 不饱和脂肪酸含量为 54.24 wt%, 其中油酸含量为 36.51 wt%。通过差示扫描量热仪和脉冲核磁共振仪研究了二聚甘油脂肪酸酯对甘油二酯结晶特性的影响, 结果表明, PGFE1 对甘油二酯具有促进结晶作用; PGFE2 对甘油二酯具有抑制结晶作用, 当 PGFE2 的含量由 2% 增加为 10% 时, 其抑制作用变大。而 X 衍射结果显示 PGFE1 对甘油二酯 β 型晶型有稳定作用。偏光显微镜观察到 PGFE1 的添加使甘油二酯的晶体变得更为细腻。

参考文献

[1] Wang Wei-fei, Li Tie, Ning Zheng-xiang. Production of extremely pure diacylglycerol from soybean oil by lipase-catalyzed glycerolysis [J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2011, 49: 192-196

[2] Zhong Nan-jing, Li Lin, Xu Xue-bing, et al. Production of diacylglycerols through low-temperature chemical glycerolysis [J]. *Food Chemistry*, 2010, 122(1): 228-232

[3] 宋珂珂, 汪勇, 唐书泽. 磷脂酶 A1 催化水解大豆油研究 [J]. *现代食品科技*, 2009, 25(1): 55-57, 61

SONG Ke-ke, WANG Yong, TANG Shu-ze. Hydrolysis of soybean oil catalyzed by phospholipase A1 [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2009, 25(1): 55-57, 61

[4] Wang Li-li, Wang Yong, Hu Chang-ying, et al. Preparation of diacylglycerol-enriched oil from free fatty acids using lecithase ultra-catalyzed esterification [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2011, 88(10): 1557-1565

[5] Liu Ning, Wang Yong, Zhao Qiang-zhong, et al. Fast synthesis of 1,3-DAG by lecithase ultra-catalyzed esterification in solvent-free system [J]. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2011, 113: 973-979

[6] Hibi M, Sugiura Y, Yokoyama R, et al. The short-term effect of diacylglycerol oil consumption on total and dietary fat utilization in overweight women [J]. *Obesity*, 2011, 19: 536-540

[7] Shoji K, Mizuno T, Shiiba D, et al. Effects of a meal rich in 1,3-diacylglycerol on postprandial cardiovascular risk factors and the glucose-dependent insulinotropic polypeptide in subjects with high fasting triacylglycerol concentrations [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60: 2490-2496

[8] Lo S K, Tan C P, Long K, et al. Diacylglycerol oil-properties, processes and products: a review [J]. *Food and Bioprocess Technology*, 2008, 1(3): 223-233

[9] Cheong L Z, Zhang H, Xu Y, et al. Physical characterization of lard partial acylglycerols and their effects on melting and crystallization properties of blends with rapeseed oil [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57: 5020-5027

[10] Saberi A H, Tan C P, Lai O M. Phase behavior of palm oil in blends with palm-based diacylglycerol [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2011, 88: 1857-1865

[11] 蔡云升, 卜永士. 聚甘油脂肪酸酯在食品中的应用 [J]. *食品工业科技*, 2003, 7: 54-56

CAI Yun-shen, BU Yong-shi. The application in food industry of polyglycerol fatty acid esters [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2003, 7: 54-56

[12] 张万福. 食品乳化剂 [M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1993

ZHANG Wan-fu. Food emulsifier [M]. Beijing: China Light Industry Press, 1993

- [13] 王丽丽,汪勇,胡长鹰,等.高温气相色谱分析甘油酯的研究[J].中国油脂,2011,36(7):75-79
WANG Li-li, WANG Yong, HU Chang-ying, et al. Analysis of acylglycerols by high temperature gas chromatography [J]. China Oils and Fats, 2011, 36(7): 75-79
- [14] Laszlo J A, Compton D L, Vermillion K E. Acyl Migration kinetics of vegetable oil 1, 2-diacylglycerols [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2008, 85: 307-312
- [15] Gupta R K, James K, Smith F J. Sucrose esters and sucrose esters/glyceride blends as emulsifiers [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1983, 60: 862-869
- [16] Masui K, Katsuragi Y, Toi T, et al. Fat or oil composition: United States, Patent No 6495536 B1 [P]. 2002
- [17] Jansen M, Birch J. Composition and stability of olive oil following partial crystallization [J]. Food Research International, 2009, 42: 826-831
- [18] Saitou K, Mitsui Y, Shimizu M, et al. Crystallization behavior of diacylglycerol-rich oils produced from rapeseed oil [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2012, 89(7): 1231-1239
- [19] Talbot G, Smith K, Cain F. Crystallization of 1, 3-dipalmitoyl-2-oleoylglycerol (POP) studied using non-isothermal DSC [J]. Lipid Technology, 2005, 17(11): 247-250
- [20] 池娟娟.乳化剂对棕榈油基人造奶油结晶行为的影响[D].无锡:江南大学,2012
CHI Juan-juan. Effect of emulsifiers on crystallization behavior in palm oil based margarine [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2012
- [21] Saitou K, Homma R, Kudo N, et al. Retardation of crystallization of diacylglycerol oils using polyglycerol fatty acid esters [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2014, 91: 711-719
- [22] Shimamura K, Ueno S, Miyamoto Y, et al. Effects of polyglycerine fatty acid esters having different fatty acid moieties on crystallization of palm stearin [J]. Crystal Growth and Design, 2003, 13: 4746-4754
- [23] 肖尧.棕榈油基硬质糖果专用油脂的研究[D].无锡:江南大学,2011
XIAO Yao. Research of palm oil-based oils for flinty candy [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2011
- [24] Miklos R, Zhang H, Lametsch R, et al. Physicochemical properties of lard-based diacylglycerols in blends with lard [J]. Food Chemistry, 2013, 138: 608-614
- [25] Katsuragi Y, Yasukawa T, Matsuo N, et al. Diacylglycerol oil [M]. USA: American Oil Chemists' Society, 2004
- [26] 孟宗,刘元法,胡鹏,等.牛油基起酥油起砂原因分析(II) - 结晶动力学、晶体形态[J].中国粮油学报,2009,24(3):62-65
MENG Zong, LIU Yuan-fa, HU Peng, et al. Cause analysis of sandiness in beef tallow-based shortening(II) - crystallization kinetics and morphology [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2009, 24(3): 62-65
- [27] Tang D M, Marangoni A G. Computer simulation of fractal dimensions of fat crystal networks [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2006, 83(4): 309-314