

程序降温法固相酶催化棕榈油甘油解的研究

夏咏梅 章克昌

(无锡轻工大学再生资源研究室 无锡 214036)

关键词 脂肪酶, 反应温度程序, 棕榈油, 甘油解, 单甘酯

中图分类号 Q939.97 文献标识码 A 文章编号 1000-3061(2000)02-0235-03

单脂肪酸甘油酯(单甘酯)的酶法合成工艺中最具有工业化前景的当属固体相油脂甘油解。彭立风、谭天伟^[1~2]以猪胰脂肪酶固相催化牛油、棕榈油甘油解合成单甘酯,甘油与油脂摩尔比为 2~4:1,最佳反应温度下反应 24h 后单甘酯含量最高分别达 19.51% 和 24.17%,将反应物于更低温度下反应 4~6d 后达到平衡,单甘酯含量分别提高到 28.72%、30.93%。其它研究也报道了高甘油比(4.8:1)时两步温程法反应 5d 可以将橄榄油单甘酯含量提高约 10%^[3~6]。本实验室前期研究结果表明,荧光假单胞菌脂肪酶催化合成单甘酯时甘油相中水含量宜为 2%~4%,脂肪酶加入量宜为每克油脂 500u。本文以此酶固相催化合成单甘酯,考察了反应物摩尔比、反应温度以及反应温度程序对最终产物中单甘酯含量的影响,试图在较短的反应时间内,以等化学计量比反应,通过调节反应温度程序来提高单甘酯的平衡含量。

1 材料和方法

1.1 实验原料

荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)脂肪酶由天野制药株式会社提供,棕榈油(食用级)由青岛红星化工集团提供;甘油及分析试剂均为 AR 级。

1.2 合成方法

0.015mol 的棕榈油和一定量的甘油以及适量水(为甘油重量的 2%~4%)置于带水浴加热、机械搅拌和温度控制的反应器中。升温至起始反应温度后搅拌 0.5h,加入脂肪酶,搅拌至反应物固化后停止搅拌,继续放置至下一个反应温度。再按相应的反应温度程序放置反应物至规定时间或达平衡为止。文中所有反应温度均为所注值 ± 0.5℃。除特别说明外,加酶量为 500u/g 油脂。

1.3 分析方法

1.3.1 脂肪酶水解酶活:用橄榄油乳化法测定^[4]。在 37℃、pH9.0 的条件下,脂肪酶水解脂肪每分钟产生 1μmol 游离脂肪酸所需要的酶量定义为一个单位(u)。

1.3.2 单甘酯含量的分析^[6~7]:用本研究室改良的高碘酸

氧化法。取 0.1~0.2g 的反应物,用 15~20mL 氯仿将其溶解后放置 1h 以上使酶失活。用 3×5mL 的 5% 硫酸钠水溶液洗涤氯仿层,合并水相,再用 3×5mL 的氯仿洗涤水相。所有氯仿层置于 500mL 碘量瓶中,移入 25mL 高碘酸-醋酸溶液和 0.5mL 的 60% 高氯酸水溶液,摇匀,25℃ 下放置 90min 后加入 10mL 的 20% 碘化钾溶液,再用 0.1mol/L 的硫代硫酸钠溶液滴定,同时以 30mL 氯仿作空白。按下式计算单甘酯含量:

$$MG\% = (V_0 - V_1) \times N \times 17.3 / W$$

其中 V_0 为空白所耗硫代硫酸钠溶液毫升数; V_1 为样品所耗硫代硫酸钠溶液毫升数; N 为硫代硫酸钠的摩尔浓度; W 为样品克数; 17.3 为以棕榈油平均碳数为 17(GC 分析数据)之基准计算的单甘酯分子量除以 20 所得值。

2 结果与讨论

2.1 反应物摩尔比对单甘酯含量的影响

图 1 表明了 40℃ 时棕榈油与甘油在不同摩尔比下反应 24h 后产物中单甘酯的浓度。由此可见,反应物摩尔比在 2.0~5.0:1 之间时,单甘酯的平衡浓度大致相当,而产率随甘油浓度增大而提高。虽然高甘油比对传质和化学平衡有利,但终产物中高残留量的甘油会影响其使用性能,因此以下实验中棕榈油/甘油的摩尔比均设定为 1:2.0,该体系最低共熔点为 40℃。

2.2 反应温度及程序降温对单甘酯含量的影响

图 2 是棕榈油在不同温度下甘油解 12h 的结果。由图 2

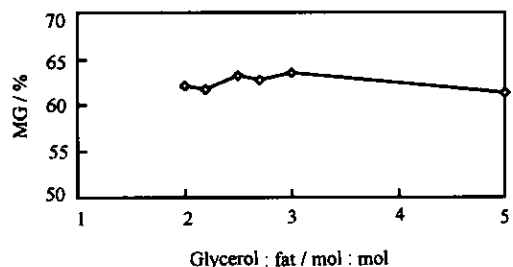


图 1 反应物摩尔比的影响

收稿日期:1999-05-31,修回日期:1999-11-20。

基金项目:江苏省“九五”高新技术计划 BE96403 项目资助。

可知,反应初期反应温度越高单甘酯生成速度越快,单甘酯产率在反应温度为体系最低共熔点 40°C 时达到最大值,反应温度高于 40°C 时,其产率显著降低,即该反应的临界温度(使反应物产率突变的温度)和最佳反应温度均为其体系最低共熔点。反应温度高于 48°C 时单甘酯浓度均在30%左右。

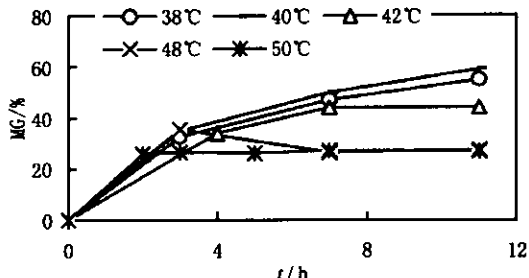


图2 温度对棕榈油甘油解的影响

图3为棕榈油在最佳反应温度 40°C 时的甘油解反应结果。反应24h时已达到该温度下的平衡转化率,产物中单甘酯的重量浓度为63.4%。反应进行2~5h后体系成为固态,单甘酯的生成速度在反应11h后显著减慢,此时单甘酯的含量已达58.5%,综合以往的研究结果,此时油脂中大部分饱和碳成分已形成高熔点的单甘酯,而不饱和成分在此温度下即使形成单甘酯也较少析出(数据未示出),因此油酸单甘酯的形成在此高单甘酯平衡浓度以及相对的高反应温度下受到抑制。

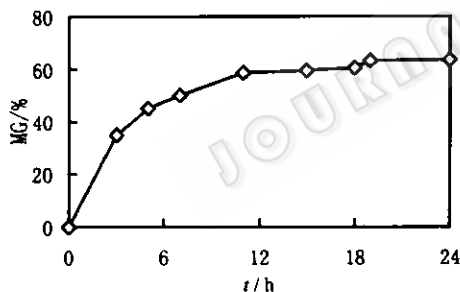


图3 棕榈油在 40°C 时的甘油解

所以当此反应在此条件下反应7~18h后,如果降低反应温度,使生成的低熔点的油酸单甘酯逐步析出,可以提高单甘酯在产物中的浓度。因此,本文以 40°C 为初始反应温

度,对应于图3的反应进程,考察了不同后续反应温度进程对棕榈油单甘酯产率的影响。

图4为棕榈油在不同温度进程下的甘油解结果,单甘酯最终含量在60.3%~78.0%之间。反应48h后产物中单甘酯最高含量可达76.7%(脱甘油产物中其含量则为85.2%),产物中单甘酯平衡含量比单一反应温度下的提高了13%。

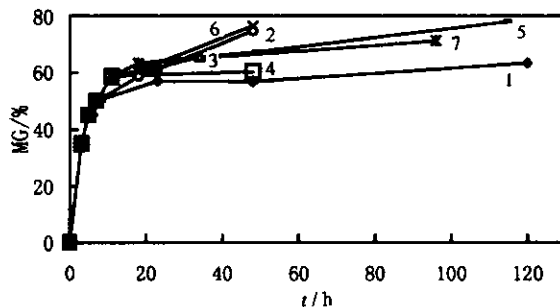


图4 反应温度进程的影响

图中各反应进程具体如下所示:

Reaction temperature course	t/h
1 40°C 7h + 30°C 17h + 15°C 96h	120
2 40°C 7h + 38°C 11h + 15°C 30h	48
3 40°C 11h + 15°C 37h	48
4 40°C 11h + 30°C 37h	48
5 40°C 18h + 15°C 96h	114
6 40°C 18h + 25°C 8h + 15°C 22h	48
7 40°C 18h + 20°C 78h	96

如图所示,进程1,2表明:较高的第二反应温度(38°C)可以有效地缩短反应所需时间;进程3,4表明:长时间的低温反应更有利于提高单甘酯浓度;进程5,6,7表明:当第一温程的终点选在图中单甘酯趋于平衡浓度点时,三步温度进程进行油脂甘油解比两步温程法更有利于缩短反应时间。我们以6kg的规模在自制的15L酶反应器中校核了进程6,产品中单甘酯含量为75.9%,与以上克规模反应结果非常接近。

致谢 感谢天野制药株式会社的 Mr. T Mase 赠送酶样。

参 考 文 献

- [1] 彭立风,谭天伟. 河北师范大学学报(自然科学版),1998,2:25~29
- [2] 彭立风,谭天伟. 北京化工大学学报,1998,25(2):6~10
- [3] McNeil G P, Yamane T, JAOCS, 1991, 68(1):6~10
- [4] McNeil G P, Yamane T, JAOCS, 1991, 68(1):1~5
- [5] 高修功. 无锡轻工大学博士论文,1995
- [6] 凌关庭,王亦芸,唐述潮. 食品添加剂手册下册,北京:化学工业出版社,1989, p. 594
- [7] 丁含谢. 无锡轻工大学硕士论文,1993

Studies on Enzymatic Glycerolysis of Palm Oil by Lowering Temperature Proceedingly in Solid State

XIA Yong-Mei ZHANG Ke-Chang

(Wuxi University of Light Industry, Wuxi 214036)

Abstract Enzymatic glycerolysis of palm oil was studied in solid state with a lipase from *Pseudomonas fluorescens* as catalyst. The influences of molar ratio of glycerol to oil, reaction temperatures and temperature control on the accumulation of monoglycerides in reaction mixtures were investigated. The suitable initial reaction temperature should be the minimum co-melting point of reactants. The monoglycerides contents in equilibrium state were approximately 30% at 48°C or higher. An increment of 13% of monoglycerides content was obtained under the optimum temperature programming comparing with the normal equilibrium state.

Key words Lipase, temperature programming, palm oil, glycerolysis, monoglycerides