

酶促酸解制备 1 - 油酸 - 2 - 棕榈酸 - 3 - 亚油酸 甘油三酯

孙 聪, 张 浩, 敖小惠, 邓朝玉, 梁少华

(河南工业大学 粮油食品学院, 郑州 450001)

摘要:以棕榈硬脂为原料富集高纯度三棕榈酸甘油三酯,以米糠油水解的游离脂肪酸为酰基供体,在脂肪酶的作用下采用一步酸解法制备 1 - 油酸 - 2 - 棕榈酸 - 3 - 亚油酸甘油三酯(OPL),在单因素试验的基础上采用正交试验对 OPL 制备工艺条件进行优化。结果表明,OPL 最佳制备工艺条件为:以 Lipozyme RM IM 为催化用酶,反应温度 60℃,加酶量为底物总质量的 10%,三棕榈酸甘油三酯与游离脂肪酸摩尔比 1:10,反应时间 4 h。在最佳条件下,产物中棕榈酸分布在 sn - 2 位的含量为 52.02%,油酸和亚油酸分布在 sn - 1,3 位的含量分别为 33.21% 和 26.60%,推测产物中主要为 OPL。

关键词:1 - 油酸 - 2 - 棕榈酸 - 3 - 亚油酸甘油三酯;人乳脂;酸解反应

中图分类号:TS225.6;TS201.1 文献标识码:A 文章编号:1003 - 7969(2021)04 - 0092 - 07

Preparation of 1 - oleoyl - 2 - palmitoyl - 3 - linoleoylglycerol by enzymatic acidolysis

SUN Cong, ZHANG Hao, AO Xiaohui, DENG Chaoyu, LIANG Shaohua

(College of Food Science and Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: Palm stearin was used as raw material to obtain the high purity of tripalmitin, and free fatty acid from rice bran oil was used as acyl donor, both of which were used as substrates for one - step acidolysis catalyzed by lipase to prepare 1 - oleoyl - 2 - palmitoyl - 3 - linoleoylglycerol (OPL). On the basis of single factor experiment, orthogonal experiment was carried out to optimize the preparation of OPL. The optimal preparation conditions of OPL were obtained as follows: reaction temperature 60℃, with Lipozyme RM IM as catalyst, enzyme dosage 10% (based on the total mass of substrates), molar ratio of tripalmitin to free fatty acid 1:10, reaction time 4 h. Under these conditions, palmitic acid located at sn - 2 position accounted for 52.02%, and the contents of oleic acid and linoleic acid located at sn - 1,3 positions were 33.21% and 26.60% respectively in the product. It could be inferred that OPL was the main product.

Key words:1 - oleoyl - 2 - palmitoyl - 3 - linoleoylglycerol; human milk fat; acidolysis reaction

母乳被公认为婴儿的最佳食物,富含多种营养物质,其脂肪成分又称人乳脂,主要由甘油三酯(TAG,

约 98%)、磷脂、胆固醇等组成^[1-2]。人乳脂对婴儿的健康成长具有重要作用,不仅为婴儿提供 50% 以上的能量,而且对婴儿的生长发育和神经系统也有重要影响^[3-5]。人乳脂的 TAG 具有特殊的结构特征,不饱和脂肪酸(U)主要分布在 sn - 1,3 位,而饱和脂肪酸(S,主要为棕榈酸)主要分布在 sn - 2 位^[6-7]。因此,人乳脂中的 TAG 以 USU 结构为主要类型,如 1,3 - 二油酸 - 2 - 棕榈酸甘油三酯(OPO)和 1 - 油酸 - 2 - 棕榈酸 - 3 - 亚油酸甘油三酯(OPL)^[8]。研究发现,人乳脂中棕榈酸位于 sn - 2 位的 TAG,不仅有利

收稿日期:2020 - 11 - 22;修回日期:2021 - 01 - 31

基金项目:河南省重点研发与推广(科技攻关)专项(202102110288);河南工业大学高层次人才科研启动基金项目(31401197)

作者简介:孙 聪(1991),女,讲师,博士,研究方向为脂质科学与技术(E-mail)suncong0511@haut.edu.cn。

通信作者:梁少华,教授,硕士生导师(E-mail)shaohualiange32@126.com。

于改善婴儿对钙的吸收,降低钙在粪便中的流失,减少婴儿便秘和排便困难,还能改善脂肪的吸收利用,促进婴儿骨骼生长发育^[9-10]。

近年来,国内外很多学者对人乳脂的 TAG 组成进行了研究。夏袁^[11]分析了我国无锡地区 309 个不同哺乳时期母乳的 TAG 组成,发现 OPL 含量最高,可达 23.24% ~ 28.34%,其次是 OPO,含量为 13.87% ~ 19.47%;Tu 等^[12]分析了湖北、四川和北京地区的过渡乳和成熟乳中 TAG 组成,结果表明 OPL 含量高于 OPO 含量;张星河^[13]采用超高效液相色谱串联四级杆-飞行时间质谱分离和鉴定出 95 种人乳脂 TAG,其中含量最高的是 OPL (13.11% ~ 18.08%),其次是 OPO (8.86% ~ 14.42%)。然而,国外的许多研究表明人乳脂中 OPO 含量高于 OPL。Morera 等^[14]分析了西班牙 47 个不同哺乳时期母乳的 TAG 组成,发现 OPL 含量为 9.24% ~ 38.15%,而 OPO 含量为 17.56% ~ 42.44%;Zou 等^[15]分析了 45 个丹麦母乳的 TAG 组成,发现 OPL 含量达到 16.93%,而 OPO 含量达到 21.52%。这些研究表明,与国外母乳不同,中国人的母乳中 OPL 含量高于 OPO。2008 年,我国卫生部将 OPO 作为营养强化剂用于婴儿配方奶粉中,并规定了其生产技术指标和强化量^[16]。但研究发现,尽管部分婴儿配方奶粉通过添加 OPO 减少了与人乳脂在 TAG 组成上的差异,但棕榈酸在 sn-2 位的含量仍远低于人乳脂,因此还需要补充其他棕榈酸分布在 sn-2 位的 TAG,如 OPL^[17]。因此,合成 OPL 结构脂,并将其应用于婴儿配方奶粉中,对婴儿配方奶粉母乳化发展具有重要意义。

本文以棕榈硬脂为原料富集高纯度三棕榈酸甘油三酯(PPP),以水解米糠油所得游离脂肪酸为酰基供体,在脂肪酶的作用下采用一步酸解法制备 OPL 结构脂,以产物中棕榈酸分布在 sn-2 位含量、油酸和亚油酸分布在 sn-1,3 位的含量作为评价指标,优化合成 OPL 的工艺条件。

1 材料与amp;方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

棕榈硬脂(熔点为 58℃),益海嘉里上海有限公司;米糠油,益海嘉里东莞有限公司;Lipozyme RM IM、Lipozyme TL IM、Novozym 435,诺维信生物技术北京有限公司;猪胰脂酶,实验室自制;正己烷、甲醇、乙腈、异丙醇,色谱纯;其他试剂均为分析纯。

1.1.2 仪器与设备

Agilent 7890A 气相色谱仪,美国安捷伦科技有

限公司;E2695 高效液相色谱仪,美国 Waters 公司;SD 制冷加热循环水浴,上海硅狄科学仪器有限公司;旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;IKA 恒温加热磁力搅拌器,艾卡(广州)仪器设备有限公司;TDL-80-2B 离心机,上海安亭科学仪器厂;BSA224S 分析天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 三棕榈酸甘油三酯(PPP)的富集

将棕榈硬脂完全溶解后,按料液比 1:5 将丙酮加入棕榈硬脂中,将其放置于 SD 制冷加热循环水浴中,在 35℃ 下密封静置保温 3.5 h。将结晶的沉淀物迅速真空过滤,然后将所得固态物在 70℃ 下旋转蒸发 1 h 脱除残留的丙酮^[17],得到 PPP。

1.2.2 游离脂肪酸的制备

在 25 g 米糠油中加入 5.75 g 氢氧化钾、11 mL 蒸馏水和 66 mL 95% 乙醇,在 80℃ 和 200 r/min 下冷凝回流 1 h。冷却后,向体系中加入 50 mL 蒸馏水和 100 mL 正己烷,充分振荡,除去有机相。采用 3 mol/L 的盐酸溶液调节无机相至 pH 为 1,释放脂肪酸,静置分离,取上层加入无水硫酸钠进行脱水得游离脂肪酸。

1.2.3 酶促酸解反应

将 PPP 与游离脂肪酸以一定比例混合,置于恒温水浴中,以 600 r/min 搅拌均匀,加入一定量的脂肪酶,在一定温度下反应一定时间,待反应结束时将产物取出,去除脂肪酶后密封保存。

1.2.4 酸解产物中甘油三酯的分离

将酸解反应产物点到薄层色谱板上分离 TAG,展开剂为正己烷-乙醚-乙酸(体积比 80:20:1),将 TAG 条带刮下后,用乙醚萃取两次,合并萃取液,采用氮吹将溶剂吹干,以待后续进行组成分析。

1.2.5 脂肪酸组成分析

游离脂肪酸甲酯化处理:取 3~4 滴游离脂肪酸于圆底烧瓶中,加入沸石,加入 7 mL 三氟化硼-甲醇溶液(体积比 2:5),加热冷凝回流 1 min,再加入 2.4 mL 正己烷,冷凝回流 1 min 后撤去热源。加入饱和 NaCl 溶液,静置 30 min,取上清液,并用无水硫酸钠干燥,0.22 μm 滤膜过滤,待气相色谱分析。

TAG 甲酯化处理:取 20 mg 油样于试管中,加入 3 mL 正己烷和 4 mL 甲醇钠溶液后,旋涡振荡 2 min,在 3 500 r/min 下离心 5 min,取上清液,用无水硫酸钠干燥,0.22 μm 滤膜过滤,待气相色谱分析。

气相色谱条件:SGE BXP-70 毛细管柱(30.0 m × 250 μm × 0.25 μm);进样口温度 250℃;氢火焰

离子化检测器温度 260 °C;载气为氮气,流速 1.0 mL/min;分流比 50:1;初始柱温 170 °C,以 2 °C/min 的速率升至 210 °C。

1.2.6 sn-2 位脂肪酸组成分析

向油样中加入 1 mL Tris 缓冲液 (pH 8)、0.25 mL 0.05% 胆酸钠溶液、0.1 mL 2.20% 氯化钙溶液及 20 mg 猪胰脂酶,在 40 °C 水浴振荡 4 min 后,立即加入 1 mL 6 mol/L 盐酸灭酶,再加入 2 mL 乙醚,振荡离心后取上清液,经氮吹浓缩后上样至薄层色谱板进行分离,展开剂为正己烷-乙醚-乙酸(体积比 50:50:1),将 2-单甘酯所对应的条带刮下后,用乙醚萃取两次后进行甲酯化处理,方法与 1.2.5 中 TAG 的甲酯化相同。气相色谱检测条件同 1.2.5,但分流比改为 10:1。棕榈酸分布在 sn-2 位的含量 (w_1) 和油酸、亚油酸分布在 sn-1,3 位的含量 (w_2) 分别按式(1)和式(2)计算^[18]。

$$w_1 = C / (3 \times C_0) \times 100\% \quad (1)$$

$$w_2 = (3 \times C_0 - C) / 2 \times 100\% \quad (2)$$

式中: C 为 sn-2 位脂肪酸含量; C_0 为总脂肪酸含量。

1.2.7 甘油三酯组成分析

取 1 滴样品于离心管中,加 2 mL 正己烷溶解。采用配备蒸发光检测器的反相高效液相色谱分析 TAG 组成。色谱条件: Lichrospher C18 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 检测器温度 55 °C; 空气流速 1.8 mL/min; 增益 1; 流动相为乙腈和异丙醇, 流速 0.8 mL/min; 洗脱程序为 0~40 min 40% 异丙醇, 40~45 min 45% 异丙醇, 45~105 min 45% 异丙醇, 105~110 min 40% 异丙醇; 进样量 10 μL。

同时参考 GB 30604—2015 分析所得产品 C52 甘油三酯的含量。

1.2.8 数据处理

采用 Origin 8.0 对试验数据进行处理。

2 结果与讨论

2.1 原料的组成

富集的 PPP 组分和米糠油游离脂肪酸的脂肪酸组成及 PPP 组分的甘油三酯组成分别如表 1 和表 2 所示。由表 1、表 2 可知, PPP 组分中棕榈酸含量最高, 为 87.87%, 且甘油三酯组成中 PPP 含量高达 93.86%, 因此通过溶剂分提法富集的 PPP 组分是合成 OPL 的良好酰基受体。米糠油水解后生成的游离脂肪酸主要由 5 种脂肪酸组成, 其中油酸和亚油酸的含量最高, 分别为 40.26% 和 35.92%, 其次为棕榈酸, 含量为 19.72%, 其他脂肪酸含量较少,

且油酸和亚油酸比例相近, 故可作为合成 OPL 的良好酰基供体。另外, 相较于纯度较高的油酸和亚油酸, 由米糠油水解产生的游离脂肪酸价格低廉, 可较好地应用于工业生产。因此, 以 PPP 组分和米糠油游离脂肪酸为反应底物, 在脂肪酶的催化作用下进行酸解反应, 是一条简单且节约成本的 OPL 制备路线。

表 1 PPP 组分和米糠油游离脂肪酸的脂肪酸

脂肪酸	PPP 组分	游离脂肪酸
C14:0	0.85 ± 0.07	0.29 ± 0.06
C16:0	87.87 ± 0.17	19.72 ± 2.35
C18:0	5.53 ± 0.01	1.64 ± 0.20
C18:1	5.07 ± 0.19	40.26 ± 0.03
C18:2	0.68 ± 0.04	35.92 ± 0.50

表 2 PPP 组分的甘油三酯组成

甘油三酯	含量/%
PPO	2.24 ± 0.50
PPP	93.86 ± 0.51
PPS	3.91 ± 0.01

注: P. 棕榈酸; S. 硬脂酸; O. 油酸。

2.2 OPL 合成单因素试验

2.2.1 脂肪酶种类对 OPL 合成的影响

在底物 (PPP 与游离脂肪酸) 摩尔比为 1:10、反应温度为 60 °C、加酶量为底物总质量的 8%、反应时间为 6 h 条件下, 研究 Lipozyme RM IM、Lipozyme TL IM 和 Novozym 435 3 种常用的脂肪酶对 OPL 合成的影响, 结果如图 1 所示。

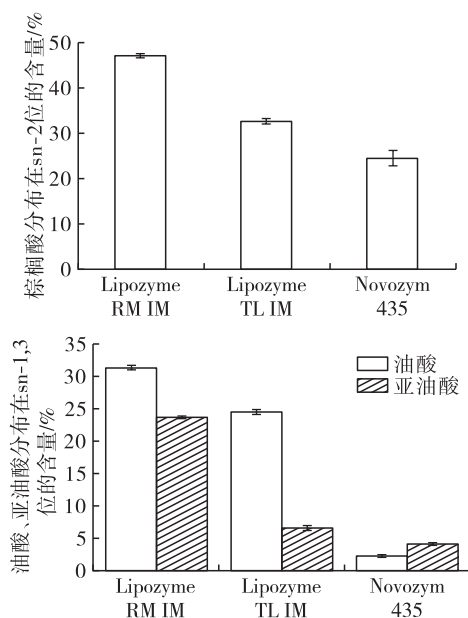


图 1 脂肪酶种类对产物中棕榈酸分布在 sn-2 位和油酸、亚油酸分布在 sn-1,3 位含量的影响

由图 1 可知, 采用不同脂肪酶催化酸解反应时,

Lipozyme RM IM 催化反应的产物中棕榈酸分布在 sn-2 位的含量和油酸、亚油酸分布在 sn-1,3 位的含量均最高,而 Novozym 435 催化反应的产物中油酸和亚油酸分布在 sn-1,3 位的含量最低。这是由于 Novozym 435 是非位置特异性脂肪酶,而 Lipozyme RM IM、Lipozyme TL IM 均为 sn-1,3 位特异性脂肪酶,理论上油酸和亚油酸只会与 PPP 的 sn-1,3 位上棕榈酸发生反应并将其取代,同时棕榈酸在 sn-2 位上保持较高的含量。综合考虑,选择 Lipozyme RM IM 为最适脂肪酶进行后续试验。

2.2.2 加酶量对 OPL 合成的影响

在底物摩尔比为 1:10、反应温度为 60℃、反应时间为 6 h 条件下,考察加酶量对酸解反应的影响,结果如图 2 所示。

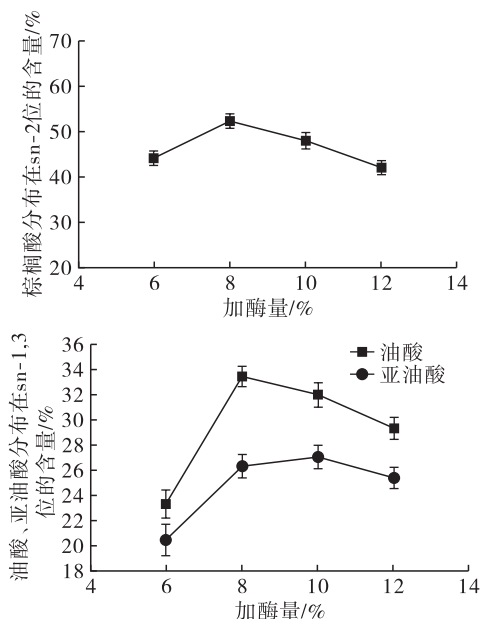


图 2 加酶量对产物中棕榈酸分布在 sn-2 位和油酸、亚油酸分布在 sn-1,3 位含量的影响

由图 2 可知,加酶量对 OPL 合成有着显著影响。当加酶量从 6% 增加到 8% 时,棕榈酸分布在 sn-2 位和油酸、亚油酸分布在 sn-1,3 位的含量均大幅上升,说明此时 OPL 含量随加酶量的增加而增加。当加酶量从 8% 增加到 12% 时,棕榈酸分布在 sn-2 位的含量降低了 10.29 个百分点,油酸分布在 sn-1,3 位的含量降低了 4.10 个百分点,亚油酸分布在 sn-1,3 位的含量先略微升高后降低,表明加酶量过高时,反应速率过快会导致酰基迁移,从而引起 OPL 含量降低^[19]。因此,综合考虑,选择 8% 为最佳加酶量。

2.2.3 底物摩尔比对 OPL 合成的影响

在反应温度为 60℃、反应时间为 6 h、加酶量为底物总质量的 8% 条件下,考察底物摩尔比对酸解

反应的影响,结果如图 3 所示。

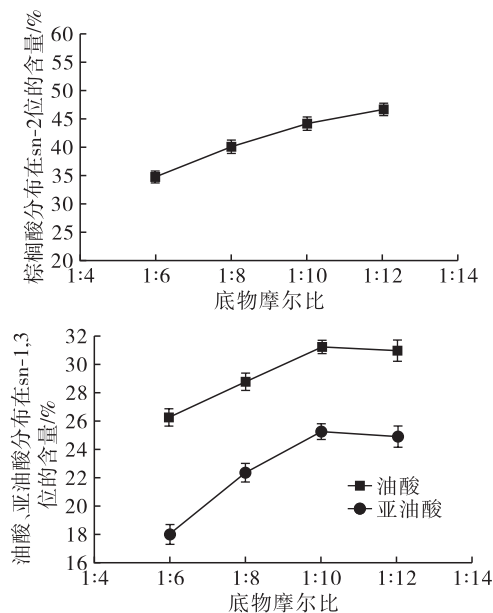


图 3 底物摩尔比对产物中棕榈酸分布在 sn-2 位和油酸、亚油酸分布在 sn-1,3 位含量的影响

由图 3 可知,棕榈酸分布在 sn-2 位的含量随着底物摩尔比的增加而增加,底物摩尔比从 1:6 增加到 1:10 时,棕榈酸分布在 sn-2 位含量增加了 9.97 个百分点,底物摩尔比从 1:10 增加到 1:12 时,棕榈酸分布在 sn-2 位的含量仅增加了 2.45 个百分点,增幅降低。当底物摩尔比低于 1:10 时,油酸、亚油酸分布在 sn-1,3 位的含量随着底物摩尔比的增加而增加,且在 1:10 时达到了最大值,分别为 31.23%、25.24%,之后略微下降。当底物摩尔比较小时,酰基供体的缺乏限制了 OPL 的合成;随着底物摩尔比的增加,有较多的酰基供体与 PPP 反应,促使 OPL 的合成,但过高的游离脂肪酸比例会增加后续脱酸难度。综合考虑,底物摩尔比选 1:10 较为适宜。

2.2.4 反应温度对 OPL 合成的影响

在底物摩尔比为 1:10、加酶量为底物总质量的 8%、反应时间为 6 h 条件下,考察反应温度对酸解反应的影响,结果如图 4 所示。

由图 4 可知,当反应温度从 50℃ 升至 60℃ 时,棕榈酸分布在 sn-2 位和油酸、亚油酸分布在 sn-1,3 位的含量均呈上升趋势,且达到了最大值。因为随着反应温度的升高,酶的活性增加,底物之间的有效碰撞增加,反应越充分,sn-1,3 位的油酸和亚油酸酯化程度越高^[20]。当反应温度从 60℃ 上升到 80℃ 时,棕榈酸分布在 sn-2 位和油酸、亚油酸分布在 sn-1,3 位的含量均呈下降趋势,分别下降了 7.3、4.14、0.68 个百分点。这是由于当反应温度过

高时,酶的稳定性以及酶与底物的亲和力降低了,且导致了副反应酰基迁移的发生^[21]。因此,最适反应温度为 60℃。

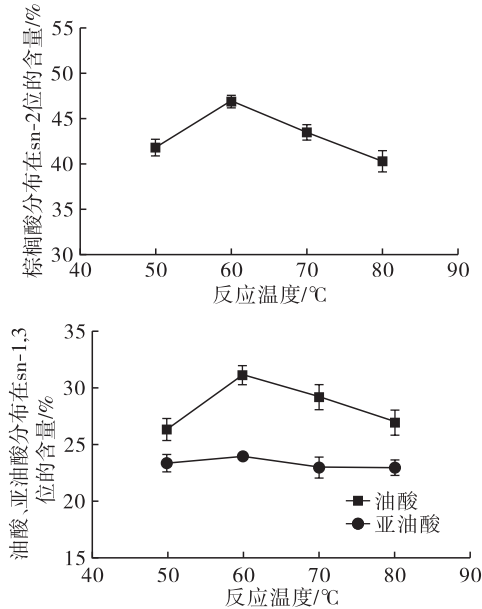


图4 反应温度对产物中棕榈酸分布在 sn-2 位和油酸、亚油酸分布在 sn-1,3 位含量的影响

2.2.5 反应时间对 OPL 合成的影响

在底物摩尔比为 1:10、加酶量为底物总质量的 8%、反应温度为 60℃ 条件下,考察反应时间对酸解反应的影响,结果如图 5 所示。

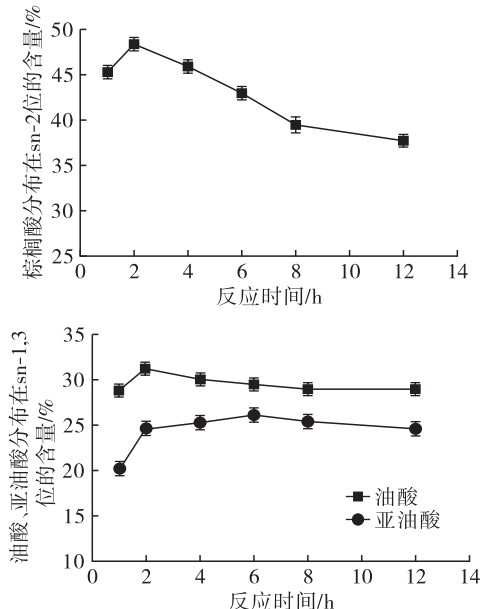


图5 反应时间对产物中棕榈酸分布在 sn-2 位和油酸、亚油酸分布在 sn-1,3 位含量的影响

由图 5 可知,棕榈酸分布在 sn-2 位、油酸分布在 sn-1,3 位的含量在反应 2 h 时均达到最大值,随后开始逐渐降低,亚油酸分布在 sn-1,3 位含量在 1~6 h 内随着反应时间的延长而增加,但其在

2~6 h 内仅增加了 1.53 个百分点,增幅较小。综合来看,反应时间对酰基迁移的影响十分显著,导致 2 h 后棕榈酸分布在 sn-2 位、油酸分布在 sn-1,3 位含量开始呈下降趋势,降低了 OPL 的合成率。因此,选取反应时间为 2 h 较适合。

2.3 OPL 合成正交试验

在单因素试验的基础上,以棕榈酸分布在 sn-2 位和油酸、亚油酸分布在 sn-1,3 位的含量为指标,以反应温度(A)、加酶量(B)、底物摩尔比(C)及反应时间(D)为因素,采用 $L_9(3^4)$ 正交试验优化 OPL 的制备工艺,正交试验因素水平见表 3,正交试验设计及结果见表 4。

表3 正交试验因素水平

水平	A/℃	B/%	C	D/h
1	50	6	1:8	1
2	60	8	1:10	2
3	70	10	1:12	4

由表 4 可知,棕榈酸分布在 sn-2 位的含量的极差分析可得 $R_D > R_B > R_C > R_A$,即合成 OPL 时影响棕榈酸分布在 sn-2 位的含量的因素主次顺序为反应时间 > 加酶量 > 底物摩尔比 > 反应温度,得出最佳因素水平组合是 $A_3B_3C_2D_3$ 。同理可得,油酸分布在 sn-1,3 位的含量和亚油酸分布在 sn-1,3 位的含量的最佳因素水平组合均为 $A_2B_3C_2D_3$ 。采用多重衡量指标分析时,需单独考虑每个因素对各个指标的影响。

温度:对 3 个指标而言,反应温度是较次要的影响因素,取 A_2 水平最优,即 60℃。

加酶量:对亚油酸分布在 sn-1,3 位的含量而言,加酶量是最大的影响因素,取 B_3 水平最好;对棕榈酸分布在 sn-2 位的含量和油酸分布在 sn-1,3 位的含量而言,加酶量是较次要的因素,取 B_3 水平最优。即加酶量的最优水平选 B_3 ,即 10%。

底物摩尔比:对 3 个指标而言,底物摩尔比均不是最大影响因素,且 3 个指标均以取 C_2 水平最好,因此底物摩尔比选 1:10。

反应时间:就棕榈酸分布在 sn-2 位的含量、油酸分布在 sn-1,3 位的含量而言,反应时间是最大的影响因素,均取 D_3 水平最优;对亚油酸分布在 sn-1,3 位的含量而言,反应时间的影响程度次之,取 D_3 最优。因此,反应时间最优水平选 D_3 ,即 4 h。

综上所述,得出 OPL 最佳制备工艺条件为反应温度 60℃、加酶量 10%、底物摩尔比 1:10、反应时间 4 h。在最佳条件下进行验证试验,所得产物的脂肪酸组成及分布如表 5 所示。

表4 正交试验设计及结果

试验号	A	B	C	D	棕榈酸分布在 sn-2位的含量/%	油酸分布在 sn-1,3位的含量/%	亚油酸分布在 sn-1,3位的含量/%
1	1	1	1	1	40.69	19.25	17.56
2	1	2	2	2	44.98	26.72	24.43
3	1	3	3	3	55.11	32.99	27.94
4	2	1	2	3	52.93	31.82	26.19
5	2	2	3	1	41.10	24.96	23.39
6	2	3	1	2	48.52	31.07	26.79
7	3	1	3	2	45.30	25.16	21.38
8	3	2	1	3	48.45	28.42	24.34
9	3	3	2	1	48.89	28.95	24.59
棕榈酸分布在 sn-2 位的含量							
k_1	46.93	46.31	45.89	43.56			
k_2	47.52	44.84	48.93	46.27			
k_3	47.55	50.84	47.17	52.16			
R	0.62	6.00	3.05	8.60			
油酸分布在 sn-1,3 位的含量							
k_1	26.32	25.41	26.25	24.39			
k_2	29.28	26.70	29.16	27.65			
k_3	27.51	31.00	27.70	31.08			
R	2.96	5.59	2.92	6.69			
亚油酸分布在 sn-1,3 位的含量							
k_1	23.31	21.71	22.90	21.85			
k_2	25.46	24.05	25.07	24.20			
k_3	23.44	26.44	24.24	26.16			
R	2.15	4.73	2.17	4.31			

表5 OPL 结构脂的脂肪酸组成及分布 %

脂肪酸	总脂肪酸 中含量	sn-2位 含量	分布在 sn-2 位的含量	分布在 sn-1, 3 位的含量
C14:0	0.47 ± 0.00	0.65 ± 0.03	45.86 ± 2.17	0.38 ± 0.01
C16:0	52.75 ± 0.21	82.32 ± 0.44	52.02 ± 0.49	37.96 ± 0.54
C18:0	3.09 ± 0.01	5.59 ± 0.95	60.34 ± 10.40	1.84 ± 0.49
C18:1	25.19 ± 0.23	9.15 ± 0.55	12.11 ± 0.62	33.21 ± 0.06
C18:2	18.50 ± 0.02	2.29 ± 0.01	4.12 ± 0.01	26.60 ± 0.02

由表5可知,在最佳制备工艺条件下,OPL结构脂中棕榈酸分布在 sn-2 位的含量为 52.02%,符合 GB 30604—2015 中对 OPO 结构脂产品中分布在 sn-2 位棕榈酸含量的要求($\geq 52\%$),且 C52 甘油三酯含量为 36.55%,接近 GB 30604—2015 相应的要求。另外,油酸、亚油酸分布在 sn-1,3 位的含量分别为 33.21% 和 26.60%,推测产物中主要为 OPL,同时含有一定量的 OPO。

目前国内外对合成 OPL 结构脂的相关研究较少,作者前期以高纯度油酸和亚油酸为酰基供体,与 PPP 进行酸解反应,所制的 OPL 产物中棕榈酸分布在 sn-2 位的含量高达 61.81%,油酸、亚油酸分布在 sn-1,3 位的含量分别为 34.85% 和 41.98%^[17]。与之相比,本文选用的米糠油游离脂肪酸中油酸含

量和亚油酸含量较低,因此产物的相应指标含量较低,但基本接近国标要求,且价格相对较低,反应时间较短,是一个简单且节约成本的 OPL 制备路线。

3 结论

本研究以高纯度 PPP 和米糠油游离脂肪酸为原料,在脂肪酶的作用下采用一步酸解法制备 OPL 结构脂,在单因素试验的基础上采用正交试验优化制备工艺,得到最佳工艺条件为:反应温度 60℃,Lipozyme RM IM 为催化用酶,加酶量为底物总质量的 10%,PPP 与游离脂肪酸摩尔比 1:10,反应时间 4 h。在最佳工艺条件下,产物中棕榈酸分布在 sn-2 位的含量为 52.02%,油酸、亚油酸分布在 sn-1,3 位的含量分别为 33.21% 和 26.60%,推测产物中主要为 OPL。

参考文献:

- [1] 韦伟,张星河,金青哲,等.人乳脂中甘油三酯分析方法及组成的研究进展[J].中国油脂,2017,42(12):35-39.
- [2] JENSEN R G. Lipids in human milk[J]. Lipids,1999,34(12):1243-1271.
- [3] 夏袁,项静英,曹晓辉,等.无锡地区人乳脂肪脂肪酸组成及 sn-2 位脂肪酸分布[J].中国油脂,2015,40(11):44-47.
- [4] JENSEN R G, FERRIS A M, LAMMI - KEEFE C J, et al.

- Lipids of bovine and human milks: a comparison [J]. *J Dairy Sci*, 1990, 73(2): 223 - 240.
- [5] GUNSTONE F D. Structured and modified lipids [M]. New York: Marcel Dekker Inc., 2001.
- [6] 蒋与燕,金子,林影,等. 酶法催化生产 1,3 - 二油酸 - 2 - 棕榈酸甘油三酯[J]. 现代食品科技, 2013, 29(5): 1048 - 1051, 1056.
- [7] 万建春,李维瑶,贾才华,等. 酶法合成 1,3 - 二油酸 - 2 - 棕榈酸甘油三酯研究进展[J]. 中国乳品工业, 2011, 39(7): 35 - 39.
- [8] 韩露露,李晓东. 酶法生产人乳脂替代品技术研究进展[J]. 中国乳品工业, 2009, 37(8): 41 - 44.
- [9] 胡永员. 功能性油脂的生物合成[D]. 北京:北京化工大学, 2015.
- [10] HUILING M U, CARL - ERIK H H. The digestion of dietary triacylglycerols[J]. *Prog Lipid Res*, 2004, 43(2): 105 - 133.
- [11] 夏袁. 人乳脂化学组成及其影响因素的研究[D]. 江苏无锡:江南大学, 2015.
- [12] TU A, MA Q, BAI H, et al. A comparative study of triacylglycerol composition in Chinese human milk within different lactation stages and imported infant formula by SFC coupled with Q - TOF - MS[J]. *Food Chem*, 2017, 22: 555 - 567.
- [13] 张星河. UPC² - Q - TOF - MS 检测甘油三酯技术的建立及在人乳脂研究中的应用[D]. 江苏无锡:江南大学, 2018.
- [14] MORERA S, CASTELLOTE A O, CASALS I, et al. Triacylglycerol markets of mature human milk[J]. *Eur J Clin Nutr*, 2003, 57(12): 1621 - 1626.
- [15] ZOU X Q, HUANG J H, JIN Q Z, et al. Lipid composition analysis of milk fats from different mammalian species: potential for use as human milk fat substitutes [J]. *J Agric Food Chem*, 2013, 61(29): 7070 - 7080.
- [16] 钟金锋,覃小丽,王永华. 人乳脂替代品的酶法合成及其评价的研究进展[J]. 食品工业科技, 2014, 35(16): 377 - 384.
- [17] 孙聪. 人乳替代脂的组成、相似性评价及制备研究[D]. 江苏无锡:江南大学, 2018.
- [18] WANG J, WANG X D, ZHAO X Y, et al. From microalgae oil to produce novel structured triacylglycerols enriched with unsaturated fatty acids[J]. *Bioresour Technol*, 2015, 184: 405 - 414.
- [19] DU W, XU Y Y, LIU D H, et al. Study on acyl migration in immobilized lipozyme TL - catalyzed transesterification of soybean oil for biodiesel production[J]. *J Mol Catal B Enzym*, 2007, 37(1/2/3/4/5/6): 68 - 71.
- [20] ESTEBAN L, JIMÉNEZ M J, HITA E, et al. Production of structured triacylglycerols rich in palmitic acid at sn - 2 position and oleic acid at sn - 1, 3 positions as human milk fat substitutes by enzymatic acidolysis[J]. *Biochem Eng J*, 2011, 54(1): 62 - 69.
- [21] KIM B H, AKOH C C. Modeling of lipase - catalyzed acidolysis of sesame oil and caprylic acid by response surface methodology: optimization of reaction conditions by considering both acyl incorporation and migration[J]. *J Agric Food Chem*, 2005, 53(20): 8033 - 8037.

(上接第 83 页)

效果有所影响。但总体来说,建立的预测模型具有较强的检测分析能力。因此,GRNN 算法预测模型可实现花生油的掺伪检测,检出限分别为掺伪大豆油 0.2%、掺伪菜籽油 1.5%、掺伪玉米油 1.0%、掺伪葵花籽油 0.5%。

3 结论

以掺伪的花生油为研究对象,无需预处理,通过 Zernike 图像矩提取样品的三维荧光光谱数据的特征信息,并结合 Xgboost 算法和 GRNN 算法对样品进行定性和定量分析,实现对花生油掺伪的鉴别,并准确解析其掺伪成分及含量,检出限分别为掺伪大豆油 0.2%、掺伪菜籽油 1.5%、掺伪玉米油 1.0% 和掺伪葵花籽油 0.5%。该掺伪油定性定量分析模型可为花生油掺伪体系的快速鉴别提供依据,也为花生油品质的监控提供参考。

参考文献:

- [1] 姚云游. 花生油与橄榄油营养价值的比较[J]. 中国油脂, 2005, 30(4): 66 - 68.
- [2] 孙淑敏,谢岩黎,张严. 基于可见 - 近红外光谱的花生油二元掺伪体系鉴别研究[J]. 粮油食品科技, 2015, 23(6): 84 - 88.
- [3] 徐同成,王文亮,程安玮,等. 花生油的营养价值及掺伪检测技术[J]. 粮油加工, 2010(8): 29 - 32.
- [4] 左倩倩,孙金梦,王倩玉,等. 基于近红外光谱的掺伪花生油鉴别模型优化[J]. 食品工业, 2019, 40(4): 318 - 320.
- [5] 朱文冉. 基于低场核磁共振技术的花生油掺伪鉴别研究[D]. 上海:上海理工大学, 2016.
- [6] 刘福莉,王志岚,郑驰原,等. 食用调和油中花生油含量的近红外光谱分析[J]. 激光生物学报, 2007, 16(6): 759 - 762.
- [7] CASALE M, CASOLINO C, FERRARI G, et al. Near infrared spectroscopy and class modelling techniques for the geographical authentication of Ligurian extra virgin olive oil [J]. *J Near Infrared Spec*, 2008, 16(1): 39 - 47.
- [8] TOMAZZONI G, MEIRA M, QUINTELLA C M, et al. Identification of vegetable oil or biodiesel added to diesel using fluorescence spectroscopy and principal component analysis[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2014, 91(2): 215 - 218.
- [9] 陈明惠,李昊,陈荣. 三维荧光光谱检测地沟油[J]. 光学仪器, 2014, 36(1): 6 - 10.