

# 酶法制备人乳替代脂的研究进展

陈行飞<sup>1,2</sup>, 张羽飞<sup>2,3</sup>, 李雅丽<sup>2</sup>, 郑明明<sup>1,2,3</sup>, 王 俊<sup>1</sup>

(1. 江苏科技大学 生物技术学院, 江苏 镇江 212000; 2. 中国农业科学院油料作物研究所/油料脂质化学与营养湖北省重点实验室, 武汉 430062; 3. 湖州市菱湖新望化学有限公司, 浙江 湖州 313018)

**摘要:**人乳替代脂是一类模拟母乳脂组成的结构脂质,为促进人乳替代脂的绿色高效生产,介绍了母乳脂的甘油三酯组成,对人乳替代脂的酶法制备工艺以及实际应用的研究现状进行了分析、总结和探讨,并展望了未来的研究方向。我国母乳脂中1-油酸-2-棕榈酸-3-亚油酸甘油三酯(OPL)含量最高,其次为1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯(OPO)。人乳替代脂的酶法制备工艺包括酯-酯交换法、一步酸解法、醇解-酯化两步法、两步酸解法、酯交换-酸解两步法等。提高酶的催化活性与位置选择性、抑制酰基迁移等是未来酶法制备人乳替代脂的研究方向。

**关键词:**1-油酸-2-棕榈酸-3-亚油酸甘油三酯;1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯;人乳替代脂;酶法制备

中图分类号:TS224.8;TQ925+.6 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2024)06-0069-07

## Research progress on enzymatic preparation of human milk fat substitutes

CHEN Hangfei<sup>1,2</sup>, ZHANG Yufei<sup>2,3</sup>, LI Yali<sup>2</sup>, ZHENG Mingming<sup>1,2,3</sup>, WANG Jun<sup>1</sup>

(1. School of Biotechnology, Jiangsu University of Science and Technology, Zhenjiang 212000, Jiangsu, China; 2. Oil Crops Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences/Hubei Key Laboratory of Lipid Chemistry and Nutrition, Wuhan 430062, China; 3. Huzhou Linghu Xinwang Chemical Co., Ltd., Huzhou 313018, Zhejiang, China)

**Abstract:** Human milk fat substitutes are a kind of structural lipids that simulate the composition of breast milk fat. In order to promote green and efficient production of human milk fat substitutes, the triglyceride composition of breast milk fat was introduced, and the enzymatic preparation technology and practical application of human milk fat substitutes were analyzed, summarized and discussed, and the future research direction was prospected. The content of 1-oleoyl-2-palmitoyl-3-linoleoyl glycerol (OPL) was the highest in Chinese breast milk fat, followed by 1,3-dioleoyl-2-palmitoyl glycerol (OPO). The enzymatic preparation of human milk fat substitutes includes ester-esterification, one-step acid hydrolysis, alcohololysis-esterification two-step, two-step acid hydrolysis, transesterification-acid hydrolysis two-step, etc. Improving the catalytic activity and location selectivity of enzymes and inhibiting acyl transfer are the future research directions of enzymatic preparation of human milk fat substitutes.

收稿日期:2023-08-31;修回日期:2024-02-19

基金项目:国家自然科学基金项目(32272271,31972038);国家重点研发计划项目(2021YFD2100303);湖北省自然科学基金(2021CFB209);湖州市南太湖精英计划领军型创新团队项目

作者简介:陈行飞(1999),女,在读硕士,研究方向为生物学(E-mail)chenhangfei16@163.com。

通信作者:郑明明,研究员,博士(E-mail)zhengmingming@caas.cn;王 俊,教授,博士生导师,博士(E-mail)wangjun@just.edu.cn。

**Key words:** OPL; OPO; human milk fat substitutes; enzymatic preparation

母乳是婴幼儿最佳的天然食物,可以满足其正常生长和发育所需的能量和蛋白质。母乳组成复杂,包括3%~5%的脂肪、0.8%~0.9%的蛋白质、6.9%~7.2%的碳水化合物(乳糖)、0.2%的矿物质以及其他生理活性物质<sup>[1]</sup>。其中,母乳脂不仅提供了50%~60%婴幼儿所需的能量,而且对婴幼儿

神经系统调节机体发挥生理功能起到了重要作用<sup>[2]</sup>。母乳脂具有独特的脂肪酸组成和分布,是自然界最复杂的天然脂质之一。母乳脂含有肉豆蔻酸(C14:0)、月桂酸(C12:0)、棕榈酸(PA, C16:0, 占总脂肪酸的20%~30%)、硬脂酸(C18:0)、油酸(OA, C18:1, 占总脂肪酸的25%~35%)、亚油酸(LA, C18:2, 占总脂肪酸的10%~20%)、亚麻酸(LNA)、二十碳四烯酸(ARA)、二十二碳六烯酸(DHA)等200多种脂肪酸<sup>[3-5]</sup>。其中OA、LA、LNA等不饱和脂肪酸主要分布在甘油骨架的sn-1,3位,而硬脂酸、月桂酸、PA等饱和脂肪酸主要分布在sn-2位,且sn-2位PA含量超过70%。母乳脂中1-油酸-2-棕榈酸-3-亚油酸甘油三酯(OPL)和1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯(OPO)含量最高。母乳脂首先在胃脂酶的催化下初步水解,将10%~30%的甘油三酯(TAG)消化成甘油二酯(DAG)和游离脂肪酸(FFA);未消化的油脂进入十二指肠,在胰脂酶的催化下继续水解成sn-2位单甘酯和FFA后被转运到小肠,并被小肠上皮细胞吸收<sup>[6-8]</sup>。研究发现,当PA分布在油脂的sn-1,3位时,水解产生的大量游离PA与钙离子等形成高熔点的不溶性钙皂,使婴儿粪便变硬,导致便秘和肠道疾病,同时造成钙的流失,不利于婴儿的生长发育<sup>[9]</sup>。因此,母乳脂的结构更有利于婴儿对脂肪酸的吸收与利用。

我国母乳脂中OPL含量高于OPO,然而目前OPO是我国婴幼儿配方奶粉中主要的人乳替代脂(HMFS)添加成分,与实际母乳脂组成差距较大。因此,合理调整婴幼儿配方奶粉中OPL、OPO的比例,使其贴近我国母乳脂的组成,将更适宜我国婴幼儿的营养需求。猪油是重要的陆地动物油脂,具有与母乳脂相似的脂质组成,OPL含量高达16.01%<sup>[10]</sup>,然而由于宗教信仰,以猪油为原料的食品应用受限。巴沙鲶鱼油为水生动物油脂,sn-2位的PA含量较高,但OPL的含量仅为4.7%左右。羊奶、骆驼奶、水牛奶、牛奶等哺乳动物乳脂中普遍缺乏OPL<sup>[11-12]</sup>。因此,人工合成OPL成为获取富含OPL的HMFS的主要手段。制备HMFS的方法主要包括物理调配、化学合成、酶法合成等。物理调配法制备的HMFS与母乳脂在脂肪酸组成上相似,但在TAG的组成上有一定差异,饱和脂肪酸多位于sn-1,3位,不饱和脂肪酸多位于sn-2位,这种分布不适合婴幼儿的生长发育<sup>[13]</sup>。化学合成法是采用强酸、固体酸碱、碱金属等作为催化剂合成HMFS,该方法反应迅速,但反应剧烈,对设备要求

高,污染严重<sup>[14]</sup>。酶法因酶具有较高的催化活性和特异性,反应条件温和且固定化脂肪酶可以重复使用等优点得到广泛应用。目前,绝大多数HMFS的制备采用酸解法、醇解-酯化两步法、酯-酯交换法等酶法合成工艺<sup>[15]</sup>。本文综述了近年来关于酶法制备OPO/OPL的研究进展,旨在为HMFS的绿色高效生产提供新思路。

## 1 母乳脂的甘油三酯组成

国内外学者对不同国家和地区的母乳脂TAG组成进行了分析,发现与西方国家不同,我国母乳脂中OPL含量高于OPO。Kallio等<sup>[16]</sup>通过UPLC-MS/MS技术对来自芬兰和中国北京的多个母乳样本进行检测,发现芬兰母乳脂中OPO含量最高(9.4%),而中国北京母乳脂中OPL含量最高(10.30%),其次是OPO(7.10%)。Tu<sup>[17]</sup>、张星河<sup>[18]</sup>等对我国(北京、四川、无锡)的母乳样本进行检测,发现其母乳脂中OPL含量分别为(9.27±0.37)%、(7.63±0.74)%、(25.44±3.86)%,OPO含量分别为(6.12±0.23)%、(5.13±0.41)%、(15.84±4.60)%。Chen等<sup>[19]</sup>对我国不同地区的母乳样本进行检测,也发现我国母乳脂中OPL含量高于OPO。据推测,国内外母乳脂中TAG组成不同主要归因于饮食习惯和生活方式上的差异<sup>[20]</sup>。国内外母乳脂中OPL/OPO组成见表1。

表1 国内外母乳脂中OPL/OPO组成

国家/地区	OPL/%	OPO/%	参考文献
中国无锡	13.73±4.81	10.13±2.52	[21]
中国北京	12.28±1.97	9.60±2.31	[22]
中国郑州	16.55±1.42	10.08±0.67	[19]
中国武汉	19.20±1.24	10.22±1.04	[19]
中国哈尔滨	18.67±1.02	12.03±0.60	[19]
中国北京	11.0	10.4	[23]
中国无锡	18.08±0.63	14.42±1.09	[24]
中国无锡	19.15±0.20	16.59±0.47	[24]
中国无锡	13.11±0.51	8.86±0.88	[24]
中国无锡	24.98±3.31	13.91±4.04	[25]
中国北京	14.57±1.96	11.13±1.45	[26]
中国北京	9.27±0.37	6.12±0.23	[17]
中国四川	7.63±0.74	5.13±0.41	[17]
中国湖北	5.84±0.38	3.18±0.41	[17]
中国北京	10.30	7.10	[16]
芬兰图尔库	6.70	12.20	[23]
新加坡	6.00±1.50	13.90±2.10	[27]
芬兰图尔库	5.40	9.40	[16]
美国密苏里州	10.14±0.62	9.87±0.64	[28]

续表 1

国家/地区	OPL/%	OPO/%	参考文献
西班牙瓦伦西亚	9.88 ± 0.21	20.30 ± 0.60	[29]
丹麦奥尔胡斯	16.93 ± 3.27	21.52 ± 5.39	[12]
意大利马尔凯	3.04 ± 1.00	13.58 ± 4.26	[30]
西班牙巴塞罗那	16.65 ± 5.45	27.24 ± 6.67	[31]
西班牙格拉纳达	18.84 ± 1.01	23.73 ± 1.37	[32]

## 2 OPO/OPL的酶法制备技术

### 2.1 酯-酯交换法

酯-酯交换法是在 sn-1,3 位专一性脂肪酶的催化作用下,以两种 TAG 或 TAG 与脂肪酸乙酯之间发生反应,得到新的 TAG 的方法。Lee 等<sup>[33]</sup>将棕榈硬脂与油酸乙酯以底物物质的量比 1:5.5 混合,在 Lipozyme RM IM 脂肪酶的催化作用下于 50℃ 反应 3 h,OPO 得率为 31.43%,此时酰基迁移率最低(6.07%)。Tecelão 等<sup>[34]</sup>以固定化脂肪酶 CpLIP2@Mp1000 为催化剂,在无溶剂体系中催化棕榈硬脂与油酸乙酯进行酯交换反应制备 OPO,结果表明,在棕榈硬脂与油酸乙酯物质的量比 1:8、温度 60℃ 条件下反应 24 h,OPO 得率为 51%。宗蕾等<sup>[35]</sup>探究了底物物质的量比、反应温度、反应时间、酶添加量对脂肪酶 Novozym 40086 催化油酸乙酯与棕榈硬脂酯交换反应制备 OPO 的影响,结果表明,在最佳条件(底物物质的量比 6:1、反应时间 1 h、反应温度 60℃、酶添加量 8%)下产物中 OPO 含量、sn-2 位 PA 含量占有所有 PA 含量的比值以及三棕榈酸甘油酯(PPP)含量分别为(46.30 ± 0.03)%、(60.70 ± 0.23)%、(5.67 ± 0.30)%。酯-酯交换法制备 HMFS 所用原料来源广泛、价廉易得,操作简单,但存在产物组成复杂、组成比例难以控制,分离困难,得率偏低,反应温度高,时间较长等缺点,产物中 sn-2 位 PA 的含量明显低于酸解法和醇解-酯化两步法。

### 2.2 一步酸解法

酸解法是制备 OPO/OPL 最常用的一种方法。在 sn-1,3 位专一性脂肪酶,如 Lipozyme RM IM(来源于米黑根毛霉)、Lipozyme TL IM(来源于米曲霉)、Novozyme 435(来源于南极假丝酵母)的催化作用下,将 sn-2 位富含 PA 的油脂与 OA 或 OA 和 LA 的混合物发生酰基交换反应,生成 OPO/OPL。

一步酸解法制备 HMFS 工艺简单,可一步获得富含 OPO/OPL 的产品。Wang 等<sup>[36]</sup>在无溶剂条件下采用酸解法制备 OPO 和 OPL,最佳反应条件为棕榈硬脂、OA、LA 物质的量比 1:8:4,脂肪酶 NS 40086 添加量 8%,反应温度 60℃,反应时间 4 h,

在此条件下 OPO 和 OPL 的总得率为 69.26%,sn-2 位 PA 含量达到 87.75%。无溶剂体系可以减少酰基迁移的现象,提高 OPO 和 OPL 的得率。Wei 等<sup>[37]</sup>以棕榈硬脂为原料,与山茶籽油水解得到的混合 FFA 在 Lipozyme TL IM 的催化作用下进行酸解反应制备 OPO,在无溶剂体系中,棕榈硬脂与混合 FFA 物质的量比 1:6、酶添加量 12%、反应温度 60℃、反应时间 4 h 条件下,产物中 sn-2 位 PA 含量为 86.62%,OPO 含量为 40.23%。曹江等<sup>[38]</sup>首先将巴沙鲶鱼油在 30℃ 下分提,富集其中富含 sn-2 位 PA 的部分,然后以高油酸葵花籽油水解得到的 FFA 和巴沙鲶鱼油分提物作为反应底物(物质的量比 6:1),以 Lipozyme RM IM 为催化剂,于填充床反应器中 50℃ 下反应 1 h,产物中 sn-2 位 PA 含量为 57.8%,sn-1,3 位 OA 含量为 78.7%。

高纯度的 PPP 是制备 OPO/OPL 的良好原料,可以解决 sn-2 位 PA 含量低的问题。高亮等<sup>[39]</sup>采用酸解法制备 OPL。首先将棕榈硬脂经丙酮分提获得高 PPP 含量的棕榈硬脂,然后与 OA 和 LA 在脂肪酶 Lipozyme RM IM 的催化下进行酸解反应制备富含 OPL 的结构脂,筛选所得的最优反应条件为酶添加量 8%、底物物质的量比 1:7:7、反应温度 60℃、反应时间 6 h,在此条件下产物中 OPL 含量为 48.37%。孙聪等<sup>[40]</sup>采用高纯度 PPP 与水解米糠油得到的 FFA 进行酸解反应制备 OPL,在 Lipozyme RM IM 添加量 10%、底物物质的量比 1:10、反应温度 60℃ 条件下反应 4 h 时,产物中 sn-2 位 PA 含量为 52.02%,推测产物中主要为 OPL。Chen 等<sup>[41]</sup>第一步采用分提 PA 与乙醇进行酯化反应生成棕榈酸乙酯,第二步进行甘油解反应,将棕榈酸乙酯和甘油按照一定比例合成 PPP,第三步用正己烷分提得到的高纯度 PPP(99%)和 OA 在 Lipozyme RM IM 催化作用下合成 OPO,产物中 OPO 含量为 74%。但该方法步骤烦琐,大大增加了生产成本和时间,因此在工业上应用的可行性较低。

自制固定化酶用于制备 OPO/OPL 也是一个研究热点。Zheng 等<sup>[42]</sup>以磁性多壁碳纳米管(MMWCNTs)为载体固定脂质假丝酵母脂肪酶(CLL),采用酸解法探究 OA 与棕榈硬脂高效生成 OPO 的条件,得到最佳反应条件为水添加量 2%、固定化脂肪酶添加量 20 mg/mL、PPP 与 OA 物质的量比 1:6、反应温度 50℃、反应时间 2 h,在此条件下产物中 OPO 含量可达 46.5%。He 等<sup>[43]</sup>利用 12 种固定化脂肪酶(3 种载体和 5 种脂肪酶)通过酸解法高效制备 OPO,其载体为有机基团修饰的 SBA-15

(R-SBA-15)、金属鸟苷单磷酸(GMP)的配位聚合物和商业大孔树脂,脂肪酶为TLL(羊毛热菌脂肪酶)、RML(米黑根霉脂肪酶)、AOL(米曲霉脂肪酶)、PPL(猪胰腺脂肪酶)和CRL(念珠菌脂肪酶),结果发现,采用固定化脂肪酶TLL@R-SBA-15进行催化时,在最优条件下PPP转化率达99.07%,OPO含量为73.15%。Ghide等<sup>[44]</sup>用MMWCNTs作为载体固定脂肪酶RML,采用酸解法合成富含OPO的结构脂,结果发现,固定化脂肪酶比商业脂肪酶Lipozyme RM IM具有更好的催化活性和重复使用性,在底物(棕榈硬脂与OA)物质的量比1:8、酶添加量10%、反应温度50℃条件下反应5h,产物中sn-2位PA含量为93.46%。李阳<sup>[45]</sup>通过吸附法将sn-1,3位专一性脂肪酶L03固定在大孔树脂D3520上,制备固定化脂肪酶AO IM,并催化棕榈硬脂与OA反应合成OPO,在65℃、底物物质的量比1:8、体系不含水、酶添加量为底物总质量8%的条件下反应1h,产物中OPO含量为45.65%。酸解法制备HMFS工艺简单,成本较低,产物中的副产物(DAG、FFA)可以通过分子蒸馏技术除去,是目前最常用于合成OPO的工业化生产方法。但与酯-酯交换法和醇解-酯化两步法相比,酸解过程中会出现sn-2位脂肪酸酰基迁移的情况,会影响目标产物得率和纯度。

### 2.3 醇解-酯化两步法

醇解-酯化两步法中第一步将PPP或sn-2位富含PA的油脂在sn-1,3位专一性脂肪酶的催化下醇解,生成sn-2位棕榈酸单甘酯(sn-2 MP),第二步采用sn-1,3位专一性脂肪酶催化sn-2 MP与FFA发生酯化反应生成富含OPO/OPL的HMFS。

Schmid等<sup>[46]</sup>先用固定化脂肪酶RDL@ Celite催化棕榈硬脂与乙醇发生醇解反应,所得产物通过结晶分离得到纯度为95%的sn-2 MP,再用sn-1,3位专一性脂肪酶催化sn-2 MP与OA发生酯化反应合成OPO,产物中sn-2位PA含量为94%,OPO得率为72%。Pfeffer等<sup>[47]</sup>使用同一种酶(CalB)采用醇解-酯化两步法制备富含OPO的HMFS。首先,在CalB的催化作用下将PPP醇解得到纯度为77%的sn-2 MP,之后再与OA酯化,产物OPO纯度为95%,得率为90%。张艳<sup>[48]</sup>利用自制脂肪酶Candida sp. 99-125催化PPP醇解得到含量为30.08%、得率为91.15%的sn-2 MP,PPP几乎完全醇解。然后用正己烷-甲基叔丁基醚(MTBE)溶液低温结晶分离纯化sn-2 MP,得到纯度为86.37%的sn-2 MP,再在无溶剂体系下,以sn-2

MP和OA为底物进行酯化反应,在最佳条件下OPO得率为65.03%。Li等<sup>[49]</sup>改良了醇解-酯化两步法合成工艺,以固定化脂肪酶CSL@OMS-C8为催化剂,对棕榈硬脂进行醇解,得到纯度为91%的sn-2 MP,再与不同比例的酰基供体OA和LA(sn-2 MP与酰基供体物质的量比1:8)反应30 min,得到的产物中OPO、OPL、LPL总含量高达81.5%,sn-2位PA含量为91.3%。该方法可制备出OPO、OPL、LPL比例可控,适合全球不同地区婴幼儿使用的HMFS。醇解-酯化两步法制备HMFS的工艺降低了酰基迁移程度,产物纯度和产量高,虽然经历两步反应,但具有制备高品质HMFS配方用油的实际应用潜力。

### 2.4 两步酸解法

两步酸解法主要是以棕榈硬脂为初始原料,经过两次酶法酸解反应,获得目标产物。Gao等<sup>[50]</sup>采用两步酸解法合成OPL,在脂肪酶NS 40086的催化作用下将脂肪酸酰基供体分两次加入,先加入50%的酰基供体,反应结束后,离心收集脂肪酶,采用碱炼脱酸的方法将富含TAG和FFA的一级酸解产物纯化,再向体系内加入50%的酰基供体反应相同时间,得到富含TAG和FFA的二级酸解产物,将产物纯化后获得OPL。通过实验探究发现,在PPP、OA、LA物质的量比1:7:7,酶添加量10%,反应温度60℃下反应4h,产物中OPL和sn-2位PA的含量分别为57.79%和82.93%。张浩<sup>[51]</sup>采用两步酸解法合成OPL结构脂。第一步在脂肪酶NS 40086的催化作用下将棕榈硬脂与OA以物质的量比1:8进行反应制备OPO,在酶添加量10%、60℃下反应6h,产物中OPO含量为72.54%。第二步再将OPO与LA进行反应,生成OPL,OPL最佳合成条件为反应时间3h、反应温度60℃、底物物质的量比1:2、酶添加量6%,产物中sn-2位PA含量为62.35%,并推测产物中除OPL外还有其他TAG。两步酸解法的技术特点是可以及时分离反应体系中的饱和脂肪酸,用一步酸解产物作为底物进行二次酸解,得率和纯度都有较大幅度提高,缺点是脂肪酸用量大,两步分离纯化成本高。

### 2.5 酯交换-酸解两步法

酯交换-酸解两步法中第一步将两种TAG或TAG与脂肪酸乙酯在sn-1,3位专一性脂肪酶的催化下获得sn-2位富含PA的TAG,第二步将第一步所获得的TAG与酰基供体(OA/LA)进行酸解反应获得OPO/OPL。

吕晓雅等<sup>[52]</sup>用酯交换-酸解两步法合成 OPO。第一步将棕榈硬脂和高油酸葵花籽油通过化学酯交换法得到熔点为 49.4℃、sn-2 位富含 PA 的 TAG。第二步在脂肪酶 Lipozyme RM IM 的催化下将所获得的 TAG 与 OA 发生酸解反应生成 OPO。最佳反应条件为酯交换反应中棕榈硬脂与高油酸葵花籽油质量比 2:1, 酸解反应中化学酯交换油脂与 OA 质量比 1:1.45、酶添加量 4%、反应温度 50.40℃、反应时间 5.29 h, 在此条件下产物中 OPO 含量为 27.26%。Sun 等<sup>[53]</sup>采用相同方法合成 OPO 和 OPL。第一步以大豆油、棕榈仁硬脂和棕榈硬脂为原料进行随机酯交换, 在底物物质的量比 2:3:15 的条件下获得了 sn-2 位富含 PA 的 TAG。第二步将获得的 TAG 与 OA 和 LA 进行酸解反应, 通过对实验条件进行优化发现, 在反应温度 56℃、酶添加量 10%、TAG 与总脂肪酸物质的量比 1:8、OA 与 LA 物质的量比 1:6 条件下, 产物中 OPO 含量为 23.1%, OPL 含量为 26.2%。酯交换-酸解两步法步骤较为复杂, 在第一步过程中产物与副产物不易分离, 得率较低, 第二步过程中酰基迁移比较严重, 产物得率较低。

酶法制备 HMFS 的各种技术各有利弊, 在实际的生产过程中, 要根据目标产品的特性, 选择合适的原料和合理的工艺获取较高得率和纯度的产品, 降低生产成本。

### 3 总结与展望

HMFS 是婴幼儿配方奶粉中重要的功能性配料, 其关键制备技术的突破将有效推动我国婴幼儿配方奶粉向高端行列发展, 促进配方奶粉的产业升级。目前, 酯-酯交换法和一步酸解法因工艺简单, 成本较低, 是主流的酶法制备 OPO 生产工艺。醇解-酯化两步法、两步酸解法、酯交换-酸解两步法等工艺虽然得到的产品品质好, 但受制于分离纯化的成本高, 还未能实现工业化。近年来, 我国 HMFS 酶法制备取得了很大进展, 但仍存在诸多问题。HMFS 依赖进口, 用于生产的高选择性关键脂肪酶制剂被国外企业垄断。国内婴幼儿配方奶粉中主要添加 OPO 结构脂, TAG 组成与我国母乳脂相差较大。酶法制备 OPL 结构脂的报道集中在实验室规模的小试阶段, 工业化生产还有待突破等。因此, 寻找高活性脂肪酶, 通过强化技术提高酶的催化活性与位置选择性以提高 OPL 得率, 抑制反应过程中的酰基迁移, 突破高精度模拟母乳脂组成的 HMFS 的工业化生产等难题将是未来我国科研工作者的主要研究和攻克方向。

### 参考文献:

- [1] DEMMELMAIR H, KOLETZKO B. Lipids in human milk [J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2018, 32(1): 57-68.
- [2] LÓPEZ-LÓPEZ A, LÓPEZ-SABATER M C, CAMPOY-FOLGOSO C, et al. Fatty acid and sn-2 fatty acid composition in human milk from *Granada* (Spain) and in infant formulas [J]. *Eur J Clin Nutr*, 2002, 56(12): 1242-1254.
- [3] DELA PRESA-OWENS S, LÓPEZ-SABATER M C, RIVERO-URGELL M. Fatty acid composition of human milk in Spain [J]. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1996, 22(2): 180-185.
- [4] KOLETZKO B, THIEL I, ABIODUN P O. The fatty acid composition of human milk in Europe and Africa [J]. *J Pediatr*, 1992, 120: S62-S70.
- [5] NI M, WANG Y, WU R, et al. Total and sn-2 fatty acid profile in human colostrum and mature breast milk of women living in inland and coastal areas of China [J]. *Ann Nutr Metab*, 2021, 77(1): 29-37.
- [6] JENSEN R G. *The lipids of human milk* [M]. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2018.
- [7] 杨洁, 齐策, 韦伟, 等. 人乳脂肪球的研究进展 [J]. *中国油脂*, 2018, 43(5): 33-38.
- [8] LIEN E L. The role of fatty acid composition and positional distribution in fat absorption in infants [J]. *J Pediatr*, 1994, 125: S62-S68.
- [9] BERNARD A, CARLIER H. Absorption and intestinal catabolism of fatty acids in the rat: Effect of chain length and unsaturation [J]. *Exp Physiol*, 1991, 76(3): 445-455.
- [10] ZOU X, JIN Q, GUO Z, et al. Preparation and characterization of human milk fat substitutes based on triacylglycerol profiles [J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2016, 93(6): 781-792.
- [11] YAO Y, ZHAO G, XIANG J, et al. Lipid composition and structural characteristics of bovine, caprine and human milk fat globules [J]. *Int Dairy J*, 2016, 56: 64-73.
- [12] ZOU X, HUANG J, JIN Q, 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.
- [13] WEI W, SUN C, WANG X, et al. Lipase-catalyzed synthesis of sn-2 palmitate: A review [J]. *Engineering*, 2020, 6(4): 406-414.
- [14] 李强, 曹维金, 柯小侨. 化学酯交换新工艺研究 [J]. *农业机械*, 2013(20): 45-48.
- [15] 万建春, 徐振波. 酶法合成食品营养强化剂 1, 3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯研究进展 [J]. *粮食与油*

- 脂, 2019, 32(7): 1-4.
- [16] KALLIO H, NYLUND M, BOSTRÖM P, et al. Triacylglycerol regioisomers in human milk resolved with an algorithmic novel electrospray ionization tandem mass spectrometry method[J]. Food Chem, 2017, 233: 351-360.
- [17] 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, 221: 555-567.
- [18] 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.
- [19] CHEN Y J, ZHOU X H, HAN B, et al. Regioisomeric and enantiomeric analysis of primary triglycerides in human milk by silver ion and chiral HPLC atmospheric pressure chemical ionization-MS[J]. J Dairy Sci, 2020, 103(9): 7761-7774.
- [20] 高亮. 1-油酸-2-棕榈酸-3-亚油酸甘油三酯的酶法合成及高相似性人乳替代脂的制备[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2020.
- [21] ZHANG X, WEI W, TAO G, et al. Identification and quantification of triacylglycerols using ultraperformance supercritical fluid chromatography and quadrupole time-of-flight mass spectrometry: Comparison of human milk, infant formula, other mammalian milk, and plant oil[J]. J Agric Food Chem, 2021, 69(32): 8991-9003.
- [22] WU W, BALTER A, VODSKY V, et al. Chinese breast milk fat composition and its associated dietary factors: A pilot study on lactating mothers in Beijing[J/OL]. Front Nutr, 2021, 8: 606950[2023-08-31]. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.606950>.
- [23] FABRITIUS M, LINDERBORG K M, TARVAINEN M, et al. Direct inlet negative ion chemical ionization tandem mass spectrometric analysis of triacylglycerol regioisomers in human milk and infant formulas[J/OL]. Food Chem, 2020, 328: 126991[2023-08-31]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126991>.
- [24] ZHANG X, QI C, ZHANG Y, et al. Identification and quantification of triacylglycerols in human milk fat using ultra-performance convergence chromatography and quadrupole time-of-flight mass spectrometry with supercritical carbon dioxide as a mobile phase[J]. Food Chem, 2019, 275: 712-720.
- [25] YUAN T, QI C, DAI X, et al. Triacylglycerol composition of breast milk during different lactation stages[J]. J Agric Food Chem, 2019, 67(8): 2272-2278.
- [26] ZHAO P, ZHANG S, LIU L, et al. Differences in the triacylglycerol and fatty acid compositions of human colostrum and mature milk[J]. J Agric Food Chem, 2018, 66(17): 4571-4579.
- [27] GIUFFRIDA F, MARMET C, TAVAZZI I, et al. Quantification of 1, 3-olein-2-palmitin (OPO) and palmitic acid in sn-2 position of triacylglycerols in human milk by liquid chromatography coupled with mass spectrometry[J/OL]. Molecules, 2018, 24(1): 22[2023-08-31]. <https://doi.org/10.3390/molecules24010022>.
- [28] KIM K M, PARK T S, SHIM S M. Optimization and validation of HRLC-MS method to identify and quantify triacylglycerol molecular species in human milk[J]. Anal Methods, 2015, 7(10): 4362-4370.
- [29] TEN-DOMÉNECH I, BELTRÁN-ITURAT E, HERRERO-MARTÍNEZ J M, et al. Triacylglycerol analysis in human milk and other mammalian species: Small-scale sample preparation, characterization, and statistical classification using HPLC-ELSD profiles[J]. J Agric Food Chem, 2015, 63(24): 5761-5770.
- [30] HADDAD I, MOZZON M, STRABBIOLI R, et al. A comparative study of the composition of triacylglycerol molecular species in equine and human milks[J]. Dairy Sci Technol, 2012, 92(1): 37-56.
- [31] MORERA S, CASTELLOTE A I, JAUREGUI O, et al. Triacylglycerol markers of mature human milk[J]. Eur J Clin Nutr, 2003, 57(12): 1621-1626.
- [32] MORERA PONS S, CASTELLOTE BARGALLÓ A, CAMPOY FOLGOSO C, et al. Triacylglycerol composition in colostrum, transitional and mature human milk[J]. Eur J Clin Nutr, 2020, 54(12): 878-882.
- [33] LEE J H, SON J M, AKOH C C, et al. Optimized synthesis of 1, 3-dioleoyl-2-palmitoylglycerol-rich triacylglycerol via interesterification catalyzed by a lipase from *Thermomyces lanuginosus*[J]. N Biotechnol, 2010, 27(1): 38-45.
- [34] TECELÃO C, PERRIER V, DUBREUCQ E, et al. Production of human milk fat substitutes by interesterification of tripalmitin with ethyl oleate catalyzed by *Candida parapsilosis* lipase/acyltransferase[J]. J Am Oil Chem Soc, 2019, 96(7): 777-787.
- [35] 宗蕾, 毕艳兰, 程亚鹏. 酶促油酸乙酯与棕榈硬脂酯交换合成 OPO 工艺研究[J]. 中国油脂, 2020, 45(6): 82-87.
- [36] WANG X, JIANG C, XU W, et al. Enzymatic synthesis of structured triacylglycerols rich in 1, 3-dioleoyl-2-palmitoylglycerol and 1-oleoyl-2-palmitoyl-3-linoleoylglycerol in a solvent-free system[J/OL]. LWT-Food Sci Technol, 2020, 118: 108798[2023-08-31]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108798>.

- [37] WEI W, FENG Y, ZHANG X, et al. Synthesis of structured lipid 1, 3 - dioleoyl - 2 - palmitoylglycerol in both solvent and solvent - free system[J]. LWT - Food Sci Technol, 2015, 60(2): 1187 - 1194.
- [38] 曹江, 邹孝强, 金青哲, 等. 改性巴沙鲶鱼油制备 1, 3 - 二油酸 - 2 - 棕榈酸甘油三酯的研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(22): 216 - 220, 324.
- [39] 高亮, 余旭伟, 邹凤, 等. 酶法合成 1 - 油酸 - 2 - 棕榈酸 - 3 - 亚油酸甘油三酯结构脂的研究[J]. 中国油脂, 2020, 45(8): 66 - 70.
- [40] 孙聪, 张浩, 敖小惠, 等. 酶促酸解制备 1 - 油酸 - 2 - 棕榈酸 - 3 - 亚油酸甘油三酯[J]. 中国油脂, 2021, 46(4): 92 - 98.
- [41] CHEN M L, VALI S R, LIN J Y, et al. Synthesis of the structured lipid 1, 3 - dioleoyl - 2 - palmitoylglycerol from palm oil[J]. J Am Oil Chem Soc, 2004, 81(6): 525 - 532.
- [42] ZHENG M, WANG S, XIANG X, et al. Facile preparation of magnetic carbon nanotubes - immobilized lipase for highly efficient synthesis of 1, 3 - dioleoyl - 2 - palmitoylglycerol - rich human milk fat substitutes [J]. Food Chem, 2017, 228: 476 - 483.
- [43] HE L, ZENG C, WEI L, et al. Fabrication of immobilized lipases for efficient preparation of 1, 3 - dioleoyl - 2 - palmitoylglycerol [J/OL]. Food Chem, 2023, 408: 135236[2023 - 08 - 31]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.135236>.
- [44] GHIDE M K, LI K, WANG J, et al. Effective production of human milk fat substitutes rich in 1, 3 - dioleoyl - 2 - palmitoyl glycerol (OPO) via a new strategy [J]. Food Biophys, 2022, 17(4): 495 - 507.
- [45] 李阳. Sn - 1, 3 专一性脂肪酶的固定化及其在结构油脂 OPO 合成中的应用[D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
- [46] SCHMID U, BORNSCHEUER U T, SOUMANOU M M, et al. Optimization of the reaction conditions in the lipase - catalyzed synthesis of structured triglycerides [J]. J Am Oil Chem Soc, 1998, 75(11): 1527 - 1531.
- [47] PFEFFER J, FREUND A, BEL - RHLID R, et al. Highly efficient enzymatic synthesis of 2 - monoacylglycerides and structured lipids and their production on a technical scale [J]. Lipids, 2007, 42(10): 947 - 953.
- [48] 张艳. *Candida* sp. 99 - 125 脂肪酶催化合成高纯人乳脂替代品的研究[D]. 北京: 北京化工大学, 2016.
- [49] LI Y, ZHANG Y, ZHOU Y, et al. A novel and controllable method for simultaneous preparation of human milk fat substitutes (OPL, OPO and LPL): Two - step enzymatic ethanolsis - esterification strategy [J/OL]. Food Res Int, 2023, 163: 112168 [2023 - 08 - 31]. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112168>.
- [50] GAO L, CHENG X, YU X, et al. Lipase - mediated production of 1 - oleoyl - 2 - palmitoyl - 3 - linoleoylglycerol by a two - step method [J/OL]. Food Biosci, 2020, 36: 100678 [2023 - 08 - 31]. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100678>.
- [51] 张浩. 富含 OPL 结构酯的人乳替代脂的制备及其体外消化研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2021.
- [52] 吕晓雅, 齐玉堂, 张维农, 等. 1, 3 - 二油酸 - 2 - 棕榈酸甘油三酯的合成[J]. 中国油脂, 2023, 48(2): 117 - 122, 152.
- [53] SUN D, LI S, SHANG J, et al. Process optimization of simultaneous enzymatic production of 1, 3 - dioleoyl - 2 - palmitoylglycerol and 1 - oleoyl - 2 - palmitoyl - 3 - linoleoylglycerol [J]. J Am Oil Chem Soc, 2021, 98(12): 1167 - 1176.

(上接第 46 页)

- [11] 张春红, 张鹏, 陈丹, 等. 大豆蛋白醒酒肽的研制[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(5): 71 - 72.
- [12] 王微星. 菜籽蛋白的制备及其酶解产物的醒酒功效[D]. 浙江金华: 浙江师范大学, 2012.
- [13] VÁSQUEZ - VILLANUEVA R, MARINA M L, GARCÍA M C. Revalorization of a peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) byproduct: Extraction and characterization of ACE - inhibitory peptides from peach stones [J]. J Funct Foods, 2015, 18: 137 - 146.
- [14] 雷海容, 刘雷, 梁洪祥. 超声辅助提取豆粕水溶性蛋白质工艺优化[J]. 粮食与油脂, 2023, 36(4): 36 - 39.
- [15] 宁庆鹏. 花生粕功能多肽的研究[D]. 太原: 山西大学, 2016.
- [16] 郭刚军, 邹建云, 胡小静, 等. 液压榨澳洲坚果粕酶解制备多肽工艺优化[J]. 食品科学, 2016, 37(17): 173 - 178.
- [17] 于栋, 高洋, 何新蕾. 酶法制备黑豆粕粉多肽的工艺研究[J]. 中国酿造, 2021(4): 143 - 147.
- [18] 吕小京, 操德群, 徐年军. 响应面法优化酶解法制备海洋微藻微拟球藻抗氧化肽工艺[J]. 食品科学, 2018, 39(6): 183 - 188.
- [19] 汤海霞, 张艳, 葛武鹏, 等. 酶解法制备绵羊乳酪蛋白 ACE 抑制肽的工艺优化及其抑制机制[J]. 中国食品学报, 2022, 22(6): 220 - 231.
- [20] 张海, 冯成利, 屈春利, 等. 多菌种速酿发酵辣椒的研制[J]. 中国调味品, 1992, 17(7): 18 - 20.
- [21] 郝晓华, 郑凯南, 刘可心. 碱性蛋白酶酶解藜麦芽制备多肽工艺的研究. 中国饲料, 2022(9): 104 - 107, 112.