

国产毕赤酵母菌脂肪酶催化酯交换制备零反式、低饱和人造奶油基料油

张 静, 贾 佳, 董帅豪, 陈小威, 孙尚德

(河南工业大学 粮油食品学院, 郑州 450001)

摘要:旨在低成本制备零反式、低饱和人造奶油基料油,以高油酸葵花籽油和棕榈硬脂为原料油,采用国内外9种脂肪酶为催化剂催化酯交换制备人造奶油基料油,以固体脂肪含量(SFC)和滑动熔点为考察指标,筛选出一种经济且高效的脂肪酶,采用单因素实验和响应面法优化其酶促酯交换的反应条件,并对比酶促酯交换反应前后油脂的脂肪酸组成、甘油三酯(TAG)组成以及热力学性质。结果表明:国产毕赤酵母菌脂肪酶价格低廉且催化活性高;酶促酯交换最优工艺条件为酶添加量17%、反应时间28 min、反应温度48℃;在最优条件下进行10倍放大实验,其5、25℃时的SFC分别为22.35%、11.67%;与酯交换前相比,酯交换产物的脂肪酸组成无显著变化,TAG由U₃和S₃型向S₂U和SU₂型转化,酯交换率为76.40%,中间熔点的TAG含量增加,高熔点和低熔点TAG含量降低,熔化所需热量减少,利口爽滑感更强。因此,国产毕赤酵母菌脂肪酶价格低廉,适宜作为酶促酯交换制备零反式、低饱和人造奶油基料油的催化剂。

关键词:国产脂肪酶;低饱和人造奶油基料油;酶促酯交换;高油酸葵花籽油

中图分类号:TS201.4;TS225.6 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2024)08-0120-07

Preparation of zero *trans* and low saturated margarine base oil by domestic *Pichia pastoris* lipase catalyzed transesterification

ZHANG Jing, JIA Jia, DONG Shuaihao, CHEN Xiaowei, SUN Shangde

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

Abstract: Aiming to prepare zero *trans* and low saturated margarine base oil at low cost, using high oleic acid sunflower seed oil and palm stearin as raw materials, 9 lipases from domestic and foreign as catalysts, margarine base oil was prepared by transesterification, and an economical and efficient lipase based on solid fat content (SFC) and sliding melting point as inspection indicators was selected. Then single factor experiment and response surface methodology were used to optimize the reaction conditions of enzymatic transesterification with the selected lipase as catalyst, and the fatty acid composition, triglyceride (TAG) composition, and thermodynamic properties of the base oil before and after enzymatic transesterification were compared. The results showed that the domestic *Pichia pastoris* lipase was inexpensive and had high catalytic activity. The optimal conditions for enzymatic transesterification were enzyme addition amount 17%, reaction time 28 min and reaction temperature 48℃. The base oil was

prepared by 10 × magnification experiment under the optimal conditions, and its SFC at 5℃ and 25℃ were 22.35% and 11.67%, respectively. Compared with the oil before transesterification, the fatty acid composition of transesterification products had no significant change, TAG transformed from U₃ and S₃ to S₂U and SU₂, the transesterification rate was 76.40%, the content

收稿日期:2023-03-08;修回日期:2024-04-29

基金项目:广东省重点领域研发计划项目(2022B0202010003);小麦和玉米深加工国家工程研究中心开放课题(NL2022007)

作者简介:张 静(1996),女,硕士研究生,研究方向为油脂加工理论与技术(E-mail)1121405536@qq.com。

通信作者:孙尚德,教授(E-mail)shangdesun@haut.edu.cn。

of TAG at middle melting point increased, the content of TAG at high melting point and low melting point decreased, the heat for melting decreased, and the taste was smoother. Therefore, domestic *Pichia pastoris* lipase is inexpensive and suitable as a catalyst for the preparation of margarine base oil by enzymatic transesterification.

Key words: domestic lipase; low saturated margarine base oil; enzymatic transesterification; high oleic acid sunflower seed oil

食品专用油脂基料油通常由精炼的动植物油脂、改性油脂(酯交换油脂、氢化油脂)或上述油脂的混合物制得^[1]。传统的人造奶油基料油多以牛油、大豆油和分提棕榈油为原料油采用氢化或酯交换反应制得,其反式脂肪酸(TFA)和饱和脂肪酸(SFA)含量均较高,其中SFA含量一般高于65%。SFA摄入过多会影响人体血脂水平,尤其是对血清胆固醇的影响更加明显,增加患动脉粥样硬化等心血管疾病风险^[2];也有研究表明TFA的摄入量每增加2%,患心脏疾病的风险会上升25%^[3]。因此,控制人造奶油中的TFA和SFA含量刻不容缓。

在油脂改性技术中,由于酯交换反应不产生TFA^[4],因此其逐渐被广泛应用于食品专用油脂的工业生产。酯交换分为化学酯交换和酶促酯交换。化学酯交换在工业中一般使用金属醇化物(如甲醇钠)作为催化剂,该方法具有催化剂用量少、生产成本低、工艺技术成熟等优点。De Martini Soares等^[5]以甲醇钠为催化剂,采用不同质量比的棕榈仁液油与棕榈硬脂进行酯交换,得到了具有不同塑性的改性油脂。但该方法所需反应温度较高,油脂中的有益活性成分容易被破坏,而且对原料要求苛刻,副产物较多且不易分离,后续处理烦琐,还会污染环境。为了解决这些问题,酶促酯交换技术逐渐被用于食品专用油脂基料油的开发。

酶促酯交换具有反应条件温和、原料选择性低、不排放污染物、后续处理简单等优点。酶促酯交换可实现两种油脂原料中脂肪酸在甘油骨架上的重新分布,改善固体脂肪含量(SFC),降低产品熔点,从而获得适于人造奶油基料油的油脂特性。目前常用于酶促酯交换制备人造奶油基料油的脂肪酶多为进口的固定化脂肪酶Lipozyme TL IM。如Cui等^[6]利用Lipozyme TL IM催化牛油和椰子油酯交换制备人造奶油基料油。但进口脂肪酶的高成本很大程度上限制了我国食品专用油脂基料油生物酶催化制备的发展,严重制约了我国食品专用油脂的加工技术水平。SFC是衡量食品专用油脂基料油品质的重要指

标,与可塑性等性质密切相关^[7]。用途不同的基料油对SFC要求也不同,如:SFC₂₀(20℃时的SFC)大于10%时油脂的相容性更好,能防止渗油^[8];SFC₂₅[25℃(接近室温)时的SFC]为15%~35%时,塑性较好^[9];SFC₃₅(35℃时的SFC)与口感有关,其值越低越好。另外,市售产品熔点范围一般在33~50℃。

本研究选用52℃分提棕榈硬脂和高油酸葵花籽油为原料油,采用国内外9种不同的脂肪酶进行酶促酯交换制备人造奶油基料油,以SFC和滑动熔点(SMP)为考察指标,优选出适宜的脂肪酶,在此基础上,通过单因素实验和响应面法优化酶促酯交换反应条件,对比酯交换反应前后油脂的脂肪酸和甘油三酯(TAG)组成,以期高效国产脂肪酶用于催化制备零反式、低SFA人造奶油基料油提供参考,以满足更加多样化的市场需求。

1 材料与方法

1.1 实验材料

分提棕榈硬脂(52℃),益海(广州)粮油有限公司;高油酸葵花籽油,日清奥利友集团;毕赤酵母菌脂肪酶(10万U/mL),为国产游离脂肪酶,武汉远城科技发展有限公司;假丝酵母菌脂肪酶(2万U/g),为国产游离脂肪酶,上海源叶科技生物有限公司;Novozym 435(简称“435”,来自于南极假丝酵母,1万U/g)、*Candida Antarctica* Lipase A(简称“CALA”,来自于南极假丝酵母,1万U/g)、*Candida Antarctica* Lipase B(简称“CALB”,来自于南极假丝酵母,1万U/g),均为进口液体脂肪酶,Lipozyme TL IM(简称“TL IM”,来自于疏棉状嗜热丝孢菌,3万U/g)、Lipozyme 40086(简称“40086”,来自于米赫根毛霉,3万U/g)、Lipozyme TL 100L(简称“TL 100L”,来自于疏棉状嗜热丝孢菌,3万U/g),均为进口固定化脂肪酶,西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;猪胰脂酶(来自于猪胰腺,3万U/g),为固定化脂肪酶,实验室自制;其他试剂为分析纯或色谱纯。

脉冲式核磁共振仪(NMR),布鲁克(北京)科技

有限公司; Agilent 7890B 气相色谱仪, 美国 Agilent 公司; TA Q2000 差示扫描量热仪, 美国 TA 仪器公司; 恒温磁力搅拌器, 广州 IKA 仪器设备有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 酶促酯交换反应

将高油酸葵花籽油和棕榈硬脂按质量比 1:1 混合, 称取 10 g 混合物于 25 mL 圆底烧瓶中, 置于恒温磁力搅拌器中预热使底物充分混合, 在真空 (0.09 MPa) 和固定转速 (800 r/min) 条件下脱水、脱气后, 向其中添加一定量的脂肪酶, 在一定的温度下催化反应一定时间, 反应结束后, 将反应产物转移至 50 mL 离心管中, 10 000 r/min 离心 15 min, 使用 95% 乙醇将上层油相清洗 5 次, 旋蒸脱溶, 得到酯交换产物。同时设对照组 (按上述条件配制的经脱水、脱气的原料物理混合物)。

1.2.2 SFC 及 SMP 的测定

参照 AOCS Official Method Cd 16b-93 方法使用脉冲核磁共振仪测定 SFC。将熔融的油样放入专用玻璃核磁管中, 样品高度 3~5 cm, 80 °C 下加热 30 min 使样品全部熔化, 以消除历史结晶记忆, 随后在 0 °C 低温恒温槽孵化 90 min, 测其 SFC。然后将样品管依次放入 5、10、15、20、25、30、35、40、45、50 °C 环境中, 分别静置 30 min 后测定对应温度下样品的 SFC, 每个样品平行测定 3 次, 结果取平均值, 相对偏差不大于 5%。

SMP 的测定参考 GB/T 24892—2010。

1.2.3 脂肪酸组成的测定

采用气相色谱法分析样品的脂肪酸组成。样品甲酯化参照 GB/T 5009.168—2016 采用三氟化硼甲酯化法。

气相色谱条件: SGE BPX-70 色谱柱 (30 m × 25 μm × 0.25 μm); 进样口温度 250 °C; FID 检测器温度 300 °C; 载气为高纯氮气, 流速 1 mL/min; 空气流速 400 mL/min; 氢气流速 30 mL/min; 进样量 1 μL; 分流比 20:1; 升温程序为初始温度 170 °C, 以 2 °C/min 升至 210 °C, 保持 10 min。

1.2.4 TAG 组成的测定

采用高效液相色谱法分析样品的 TAG 组成。

液相色谱条件: Symmetry C18 色谱柱 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm), 柱温 40 °C, 流速 0.8 mL/min, 空气发生器压力 70 MPa, 进样量 1.0 μL; e2424 蒸发光检测器漂移管温度 55 °C, 增益 5; 流动相为乙腈和异丙醇, 洗脱梯度为乙腈 0~45 min 58%, 45~55 min 58%→53%, 55~60 min 53%→58%。

通过将样品的保留时间与参考文献的保留时间

比较定性, 采用峰面积归一化法定量。

1.2.5 酯交换率的计算

酯交换率 (DI) 是基于反应前后样品的 TAG 组成以及该样品发生完全随机酯交换时的 TAG 组成理论值 (RAND) 来计算, DI 的计算见式 (1)^[10]。

$$D = (A_{PB}/B_{PB} - A_{EIE}/B_{EIE}) / (A_{PB}/B_{PB} - A_{RAND}/B_{RAND}) \times 100\% \quad (1)$$

式中: D 为 DI 值; A 为酯交换过程中减少最多的 TAG 的变化率; B 为酯交换过程中增加最多的 TAG 的变化率; RAND 为完全随机酯交换时的理论值 (根据全随机分布学说计算); PB 为对照组; EIE 为酯交换产物。

1.2.6 热力学性质变化分析

采用差示扫描量热 (DSC) 仪分析样品的结晶熔化性质。样品预处理: 称取约 12 mg 样品放入专用液体铝坩埚内并加盖密封, 同时以空铝盒作为对照。测试条件: 在氮气气氛下, 起始平衡温度 80 °C, 以 10 °C/min 的速率降温至 -60 °C, 然后在 -60 °C 下保温 10 min, 最后以 5 °C/min 的速率升温至 80 °C, 整个过程中氮气流速 20 mL/min。

1.2.7 数据处理

所有实验重复 2~3 次, 采用 SPSS 20.0 进行数据分析, 结果以“平均值 ± 标准差”表示, $p < 0.05$ 表示存在显著差异。

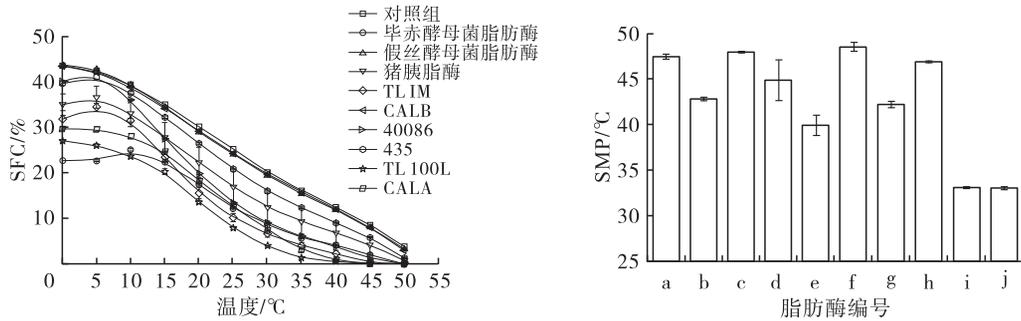
2 结果与分析

2.1 脂肪酶的筛选

按 1.2.1 方法, 在酶添加量 8%、反应温度 55 °C、反应时间 60 min 条件下进行酶促酯交换反应, 以 SFC 和 SMP 为指标, 考察 9 种脂肪酶催化酯交换反应的效果, 结果如图 1 所示。

由图 1 可知: 不同脂肪酶催化酯交换产物的 SFC 有显著差异; 酯交换前后样品的 SFC 总体上均随温度升高而下降, 且酯交换后样品的 SFC 均低于酯交换前的 (对照组)。6 种进口脂肪酶中, TL 100L 和 CALA 催化酯交换产物的 SFC 和 SMP 最低, 其后依次是 TL IM、40086、435 和 CALB, 其中 CALB 催化酯交换产物的 SFC 和 SMP 与对照组接近。3 种国产脂肪酶中, 毕赤酵母菌脂肪酶催化酯交换产物的 SFC 和 SMP 降低最多, 20 °C 后 SFC 与进口酶 40086 相近, 猪胰脂酶催化酯交换产物的 SFC 和 SMP 也明显降低, 而假丝酵母菌脂肪酶催化酯交换产物的 SFC 和 SMP 几乎没有降低。毕赤酵母菌脂肪酶催化酯交换产物的 SFC₂₅ 为 12.24%, SFC₃₅ 为 5.70%, SMP 为 42.85 °C。与其他脂肪酶如 435 (18 000 元/kg) 相比, 毕赤酵母菌脂肪酶价格低廉 (500 元/kg), 有利于

降低人造奶油基料油的生产成本。因此,以下实验使用毕赤酵母菌脂肪酶制备人造奶油基料油。



注:SMP图中 a. 对照组;b. 毕赤酵母菌脂肪酶;c. 假丝酵母菌脂肪酶;d. 猪胰脂肪酶;e. TL IM; f. CALB; g. 40086; h. 435; i. TL 100L;j. CALA

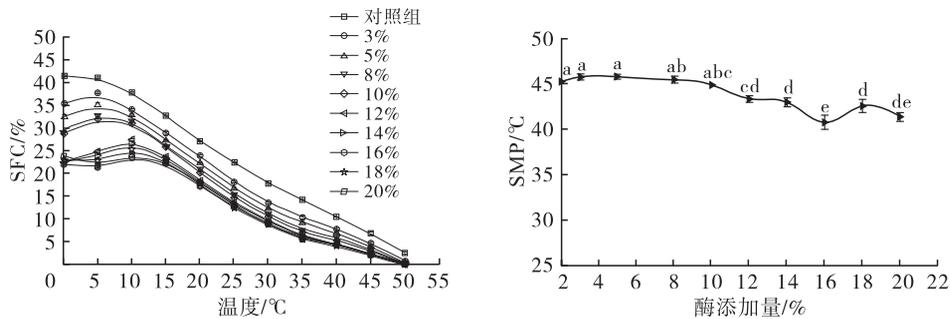
图1 不同脂肪酶催化酯交换产物的SFC和SMP

2.2 酶促酯交换制备人造奶油基料油单因素实验

2.2.1 酶添加量对酶促酯交换效果的影响

在反应温度 50 °C、反应时间 60 min 条件下,考

察酶添加量(3% ~ 20%)对酯交换产物 SFC 和 SMP 的影响,结果如图 2 所示。



注:不同字母表示具有显著差异($p < 0.05$)。下同

图2 不同酶添加量下酯交换产物的SFC和SMP

由图 2 可知,随着酶添加量从 3% 增加到 10%, 酯交换产物的 SFC 不断降低,酶添加量为 10% 时, SFC_5 [5 °C (接近冷藏温度) 时的 SFC] 为 31.88%, SFC_{25} 为 14.70%, SFC_{35} 为 7.10%。继续增大酶添加量至 12% 时, SFC 迅速下降, SFC_5 、 SFC_{25} 、 SFC_{35} 分别为 24.77%、13.56%、6.26%。之后,随酶添加量继续增大,酯交换产物的 SFC 变化不大。

由图 2 还可知,随着酶添加量的增加,酯交换产物的 SMP 整体呈逐渐降低趋势,其中酶添加量为 12% 时酯交换产物的 SMP 显著低于酶添加量为 3% ~ 10% 时的。这是因为随着酶分子增多,活性位

点与底物接触的概率增大,反应效率提高。当酶添加量达到 16% 时, SMP 达到最低点,但与酶添加量为 12% 时的无显著差异,此时 SFC_5 、 SFC_{25} 、 SFC_{35} 分别为 21.26%、12.68%、5.60%。继续增大酶添加量, SMP 不再降低,表明酶浓度达到饱和。由于增加酶添加量会增加生产成本和酰基转移的可能性^[11], 因此选择最佳的酶添加量为 12%。

2.2.2 反应温度对酶促酯交换效果的影响

在酶添加量 12%、反应时间 60 min 条件下,考察反应温度(45 ~ 70 °C)对酯交换产物 SFC 和 SMP 的影响,结果如图 3 所示。

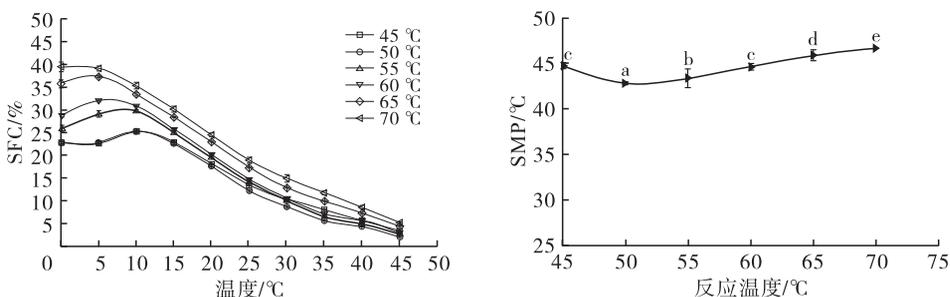


图3 不同反应温度下酯交换产物的SFC和SMP

由图 3 可知,当反应温度较低时(45 ~ 50 °C),随着反应温度的升高酯交换产物的 SFC 无明显变化,而 SMP 降低,反应温度为 50 °C 时,SFC₅、SFC₂₅、SFC₃₅ 分别为 22.81%、12.24%、5.70%,SMP 为 42.85 °C。随着反应温度继续升高,酯交换产物的 SFC 和 SMP 开始出现上升趋势,反应温度为 70 °C 时,SFC₅、SFC₂₅、SFC₃₅ 分别为 39.03%、18.93%、11.79%,熔点为 46.69 °C。考虑到在反应进程中持

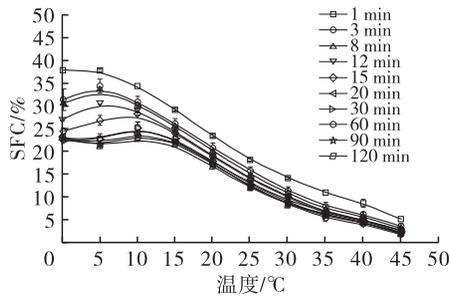


图 4 不同反应时间下酯交换产物的 SFC 和 SMP

由图 4 可知,在反应时间 30 min 内,酯交换产物的 SFC 和 SMP 随反应时间的延长而快速下降,反应时间为 30 min 时,SFC₅、SFC₂₅、SFC₃₅ 分别为 22.62%、12.77%、5.71%,SMP 为 42.43 °C。继续延长反应时间,SFC 基本不再变化,SMP 先缓慢下降,在反应时间大于 60 min 后基本不再变化,这表明反应已经趋于动态平衡。考虑延长反应时间有增加酰基转移等副反应发生的概率^[13],也会增大生产成本。因此,选择反应时间为 30 min。

2.3 酶促酯交换制备人造奶油基料油响应面优化实验

在单因素实验基础上,采用响应面模型 Design Expert 8.0 评估反应时间(A)、反应温度(B)和酶添加量(C)对酯交换产物 SFC₅(Y₁)和 SFC₂₅(Y₂)的影响,并通过建立模型得到最优的工艺条件。响应面实验设计和结果如表 1 所示。

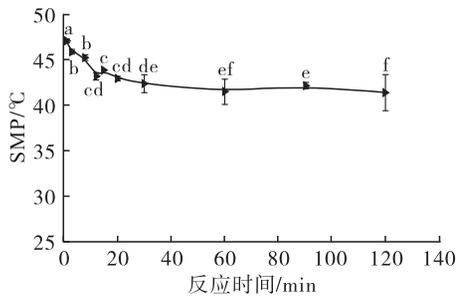
表 1 响应面实验设计和结果

实验号	A 反应时间/min	B 反应温度/°C	C 酶添加量/%	Y ₁ (SFC ₅)/%	Y ₂ (SFC ₂₅)/%
1	25	45	12	25.14 ± 0.45	12.23 ± 0.26
2	15	55	6	34.90 ± 0.02	15.31 ± 0.06
3	15	45	18	24.15 ± 0.45	13.33 ± 0.34
4	5	55	12	35.00 ± 0.35	15.88 ± 0.28
5	15	45	6	33.39 ± 0.39	15.86 ± 0.64
6	5	50	6	37.27 ± 0.25	16.92 ± 0.28
7	25	50	18	23.34 ± 0.58	11.70 ± 0.53
8	5	45	12	35.64 ± 0.85	16.00 ± 0.78
9	15	50	12	26.48 ± 0.35	13.08 ± 0.72
10	5	50	18	33.05 ± 0.98	14.64 ± 0.41

续高温不仅会增加能耗还可能导致副反应的发生,如甘油酯水解、酰基转移等,以及酶的失活^[12]。因此,选取 50 °C 为最佳酶促反应温度。

2.2.3 反应时间对酶促酯交换效果的影响

在酶添加量 12%、反应温度 50 °C 条件下,考察反应时间(1 ~ 120 min)对酯交换产物 SFC 和 SMP 的影响,结果如图 4 所示。



续表 1

实验号	A 反应时间/min	B 反应温度/°C	C 酶添加量/%	Y ₁ (SFC ₅)/%	Y ₂ (SFC ₂₅)/%
11	15	50	12	26.61 ± 0.12	13.08 ± 0.72
12	15	50	12	26.21 ± 0.25	13.25 ± 0.45
13	25	50	6	34.38 ± 0.45	14.79 ± 0.13
14	15	50	12	26.04 ± 0.41	12.58 ± 0.82
15	15	50	12	25.52 ± 0.35	13.17 ± 0.45
16	15	55	18	25.47 ± 0.83	13.01 ± 0.32
17	25	55	12	30.66 ± 0.82	13.65 ± 0.78

根据表 1 实验结果,采用多元回归拟合分析,建立反应时间、反应温度和酶添加量与酯交换产物 SFC₅ 和 SFC₂₅ 响应面回归模型: $Y_1 = 26.17 - 3.43A + 0.96B - 4.24C + 1.54AB - 1.71AC - 0.047BC + 3.99A^2 + 1.45B^2 + 1.85C^2$, $Y_2 = 13.03 - 1.36A + 0.053B - 1.27C + 0.38AB - 0.20AC - 0.059BC + 0.77A^2 + 0.64B^2 + 0.71C^2$ 。

SFC₅ 和 SFC₂₅ 响应面模型方差分析分别见表 2、表 3。

表 2 SFC₅ 响应面模型方差分析

方差来源	总方差	自由度	均方	F	p
模型	364.91	9	40.55	85.26	<0.000 1***
A	94.13	1	94.13	197.93	<0.000 1***
B	7.44	1	7.44	15.64	0.005 5**
C	144.08	1	144.08	302.97	<0.000 1***
AB	9.45	1	9.45	19.88	0.002 9**
AC	11.65	1	11.65	24.49	0.001 7**
BC	0.01	1	0.01	0.02	0.895 0
A ²	66.88	1	66.88	140.64	<0.000 1***

续表 2

方差来源	总方差	自由度	均方	F	p
B ²	8.87	1	8.87	18.65	0.003 5**
C ²	14.42	1	14.42	30.32	0.000 9***
残差	3.33	7	0.48		
失拟项	2.60	3	0.87	4.75	0.083 3
绝对偏差	0.73	4	0.18		
总和	368.24	16			

注:***表示极显著差异($p < 0.001$);**表示高度显著差异($p < 0.01$);*表示显著差异($p < 0.05$)。下同

表 3 SFC₂₅响应面模型方差分析

方差来源	总方差	自由度	均方	F	p
模型	36.23	9	4.03	27.73	0.000 1***
A	15.36	1	15.36	105.77	<0.000 1***
B	0.02	1	0.02	0.16	0.703 6
C	13.00	1	13.00	89.57	<0.000 1***
AB	0.59	1	0.59	4.07	0.083 6
AC	0.17	1	0.17	1.14	0.320 8
BC	0.01	1	0.01	0.10	0.765 3
A ²	2.50	1	2.50	17.20	0.004 3**
B ²	1.71	1	1.71	11.77	0.011 0*
C ²	2.13	1	2.13	14.67	0.006 5**
残差	1.02	7	0.15		
失拟项	0.74	3	0.25	3.64	0.121 9
绝对偏差	0.27	4	0.07		
总和	37.25	16			

由表 2、表 3 可知,2 个模型的 p 均小于 0.001,表明两个模型极显著,2 个模型的 R^2 分别为 0.991 0、0.972 7, R^2_{Adj} 分别为 0.979 3、0.937 6,表明模型都有很高的拟合度,模型可靠。3 个因素对酯交换反应影响的主次顺序为:SFC₅,酶添加量 > 反应时间 > 反应温度;SFC₂₅,反应时间 > 酶添加量 > 反应温度。

在响应面实验结果的基础上,综合考虑各因素对 SFC₅ 和 SFC₂₅ 的影响,得到酯交换最优条件为酶添加量 17%、反应温度 48 °C、反应时间 28 min,在此条件下 SFC₅ 和 SFC₂₅ 分别为 24% 和 13%,与预测值 22% 和 12% 接近,进一步表明所建立的模型准确可靠。在最优条件下进行 10 倍放大实验进行验证,结果显示,SFC₅ 和 SFC₂₅ 的实际值分别为 22.35%、11.67%,实际值与预测值十分接近,说明模型较好。

2.4 脂肪酸组成

原料油和酶促酯交换反应前后油脂的主要脂肪酸组成如表 4 所示。

由表 4 可知,酯交换反应前后油脂的棕榈酸(C16:0)和油酸(C18:1)含量丰富,脂肪酸种类和相对含量基本没有发生变化。这是由于酶促酯交换反

应条件温和,反应过程中既不会使脂肪酸上的双键异构化,也不会引起脂肪酸饱和程度的改变,并且产物中 SFA 含量约为 35%,低于本实验的目标值(40%),且低于传统的人造奶油基料油的 SFA 含量(>65%)。

表 4 原料油和酶促酯交换前后油脂的

脂肪酸	主要脂肪酸组成			%
	棕榈硬脂	高油酸葵花籽油	对照组	
酯交换产物				
C16:0	62.55 ± 0.67	3.93 ± 0.38	31.29 ± 0.67	30.31 ± 0.49
C18:0	6.33 ± 0.78	3.65 ± 0.76	4.44 ± 0.48	4.62 ± 0.68
C18:1	24.43 ± 0.59	84.39 ± 0.39	56.03 ± 0.79	57.46 ± 0.38
C18:2	4.98 ± 0.68	8.03 ± 0.57	7.08 ± 0.89	6.91 ± 0.59
SFA	68.80 ± 1.45	7.58 ± 1.14	35.73 ± 1.15	34.93 ± 1.17

2.5 TAG 组成

酶促酯交换反应前后油脂的 TAG 组成及酯交换率如表 5 所示。

表 5 酶促酯交换前后油脂的 TAG 组成

项目	及酯交换率		%
	对照组	酯交换产物	
TAG			
LOL	1.11 ± 0.23	1.89 ± 0.64	0.84
POL	0.71 ± 0.14	1.10 ± 0.03	7.45
OOO	55.88 ± 0.99	39.90 ± 1.37	17.59
POO	11.60 ± 0.45	25.05 ± 1.07	29.47
POP	12.66 ± 0.77	16.68 ± 1.81	16.46
PPP	15.18 ± 0.17	11.21 ± 0.12	3.06
SOO	1.19 ± 0.08	1.28 ± 0.14	4.18
POS		0.73 ± 0.18	4.67
PSP		0.39 ± 0.17	1.30
S ₃	15.18 ± 0.17	11.60 ± 0.27	4.36
S ₂ U	12.66 ± 0.77	17.41 ± 1.98	21.13
SU ₂	13.50 ± 0.67	27.43 ± 1.24	41.10
U ₃	56.99 ± 1.22	41.79 ± 1.94	18.43
DI		76.40	100

注:P. 棕榈酸;S. 硬脂酸;O. 油酸;L. 亚油酸;S₃. 三饱和脂肪酸酯;S₂U. 二饱和和一不饱和脂肪酸酯;SU₂. 一饱和和二饱和脂肪酸酯;U₃. 三不饱和脂肪酸酯。所检测的 TAG 含量包括位置异构体

由表 5 可知:与对照组相比,酶促酯交换产物的 S₃ 和 U₃ 含量下降,其中,U₃ 含量下降最多,下降了约 15 百分点;与对照组相比,S₂U 和 SU₂ 含量增加。该反应的酯交换率为 76.40%,说明两种原料油的 TAG 分子发生了充分的酯交换反应。

2.6 DSC 分析

对照组与酯交换产物的熔化曲线如图 5 所示。

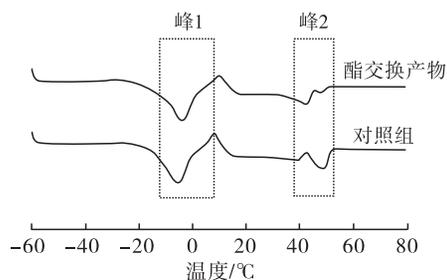


图5 样品熔融过程的DSC曲线

由图5可知,酯交换反应前后样品均有2个明显的吸热峰,相对照组,酯交换产物的峰1向右移动,峰2向左移动,即低温吸热峰向高温方向移动,高温吸热峰向低温方向移动,说明中间熔点的TAG含量增加,高熔点和低熔点TAG含量降低,这可能是由于酯交换导致TAG上的脂肪酸分子位置重排。有研究发现这一现象的发生有倾向于 β 向 β' 晶型转变^[14]。与对照组相比,酯交换产物的高温峰(峰2)的峰面积明显减少,说明熔化所需热量减少,利口爽滑感更强。

3 结论

毕赤酵母菌脂肪酶催化高油酸葵花籽油和棕榈硬脂酯交换制备人造奶油基料油的最优工艺条件为反应时间28 min、酶添加量17%、反应温度48℃,在此条件下进行10倍放大实验,SFC₅、SFC₂₅分别为22.35%、11.67%。最优条件下酯交换产物中U₃和S₃型TAG向S₂U和SU₂转化,酯交换率为76.40%。与对照组相比,酯交换产物的脂肪酸组成无显著变化,中间熔点的TAG含量增加,高熔点和低熔点TAG含量降低,熔化所需热量减少,利口爽滑感更强。综上,可通过调控不同的因素组合制备所需人造奶油基料油,毕赤酵母菌脂肪酶可替代昂贵的进口脂肪酶用于人造奶油基料油的开发制备。

参考文献:

[1] 刘元法. 食品专用油脂[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2017.
 [2] NICHOLSON R A, MARANGONI A G. Enzymatic glycerolysis converts vegetable oils into structural fats with the potential to replace palm oil in food products[J]. Nat Food, 2020, 1(11): 684–692.
 [3] 张嘉峻, 单淑晴, 许莎莎, 等. 反式脂肪酸(TFA)与慢性代谢性疾病关系的研究进展[J]. 卫生软科学, 2017,

31(2): 31–34.

- [4] 温小荣, 周二晓, 袁媛, 等. 工业酶法和化学法酯交换在油脂改性应用中的比较[J]. 中国油脂, 2020, 45(5): 78–81.
 [5] DE MARTINI SOARES F A S, DA SILVA R C, DA SILVA K C G, et al. Effects of chemical interesterification on physicochemical properties of blends of palm stearin and palm olein[J]. Food Res Int, 2009, 42(9): 1287–1294.
 [6] CUI H T, LI J, XU X Y, et al. Enzymatic interesterification of beef tallow/coconut oil blends to produce a superior margarine base stock[J]. Int J Food Sci Technol, 2022, 57(2): 908–919.
 [7] LUMOR S E, KIM B H, AKOH C C. Optimization of solid fat content and crystal properties of a *trans*-free structured lipid by blending with palm midfraction[J]. J Agric Food Chem, 2008, 56(19): 9294–9298.
 [8] LAIA O M, GHAZALIA H M, CHO F, et al. Physical and textural properties of an experimental table margarine prepared from lipase-catalysed transesterified palm stearin: Palm kernel olein mixture during storage[J]. Food Chem, 2000, 71(2): 173–179.
 [9] MENG Z, LIU Y F, JIN Q Z, et al. Characterization of graininess formed in all beef tallow-based shortening[J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(21): 11463–11470.
 [10] COSTALES-RODRÍGUEZ R, GIBON V, VERHÉ R, et al. Chemical and enzymatic interesterification of a blend of palm stearin: Soybean oil for low *trans*-margarine formulation[J]. J Am Oil Chem Soc, 2009, 86(7): 681–697.
 [11] 郑东磊, 葛远飞, 易剑锋, 等. 酶法酯交换制备食品专用油脂的研究[J]. 农产品加工, 2018(16): 14–17, 19.
 [12] 孙焜, 肖志刚, 杨庆余, 等. 以粟米糠油为原料制备营养型人造奶油基料油的研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(15): 111–117.
 [13] 张超然, 李杨, 孙晓洋, 等. 酶法酯交换制备塑性脂肪工艺优化及氧化稳定性研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(8): 114–118.
 [14] ZHANG X, LI L, XIE H, et al. Effect of temperature on the crystalline form and fat crystal network of two model palm oil-based shortenings during storage[J]. Food Bioprocess Technol, 2014, 7(3): 887–900.