

酶促油酸乙酯与棕榈硬脂酯交换合成 OPO 工艺研究

宗 蕾, 毕艳兰, 程亚鹏

(河南工业大学 粮油食品学院, 郑州 450001)

摘要:1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯(OPO)是人乳脂中重要组成部分,能促进婴儿对脂肪酸的吸收利用。以高油酸花生油脂肪酸乙酯(以下简称油酸乙酯)和棕榈硬脂为原料,在 Novozym 40086 脂肪酶的催化作用下酯交换合成 OPO。在单因素实验的基础上采用响应面法对酶法合成 OPO 的工艺条件进行优化。结果表明:酶法合成 OPO 的最佳反应条件为油酸乙酯与棕榈硬脂摩尔比 6:1、反应时间 1 h、反应温度 60 ℃、加酶量 8% (以底物总质量计),在该条件下合成的产物甘油三酯中 OPO 含量、2 位棕榈酸占有棕榈酸含量以及 PPP 含量分别为(46.30 ± 0.03)%、(60.70 ± 0.23)%、(5.67 ± 0.30)%。产品指标均满足 GB 30604—2015 的规定。

关键词:高油酸花生油脂肪酸乙酯;油酸乙酯;棕榈硬脂;酶法酯交换;1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯;Novozym 40086 脂肪酶

中图分类号:TS252.51;O621.3 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2020)06-0082-06

Synthesis of OPO by enzymatic transesterification of ethyl oleate with palm stearin

ZONG Lei, BI Yanlan, CHENG Yapeng

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

Abstract:1,3-dioleoyl-2-palmitoyl glycerol(OPO) is an important component of human milk fat, which can promote the absorption and utilization of fatty acids in infants. With high oleic acid peanut oil fatty acid ethyl ester(ethyl oleate) and palm stearin as raw materials, OPO was synthesized by transesterification under the catalysis of Novozym 40086 lipase. The process conditions for enzymatic synthesis of OPO were optimized by single factor experiment and response surface methodology. The results showed that the optimal reaction conditions were obtained as follows: molar ratio of ethyl oleate to palm stearin 6:1, reaction time 1 h, reaction temperature 60 ℃, and dosage of enzyme 8% (based on total substrate mass). Under these conditions, the OPO content, contents of 2-palmitic acid accounted for all palmitic acid and PPP in triglyceride of the product were(46.30 ± 0.03)%, (60.70 ± 0.23)% and (5.67 ± 0.30)%, respectively. All the product indexes met the national standard GB 30604—2015.

Key words:high oleic acid peanut oil fatty acid ethyl ester; ethyl oleate; palm stearin; enzymatic transesterification; 1,3-dioleoyl-2-palmitoyl glycerol; Novozym 40086 lipase

1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯(OPO)是人乳脂肪的重要组成部分,占其总量的 20%~40%^[1-2]。研究表明,将 OPO 添加到婴儿奶粉中能

促进婴儿对脂肪酸的吸收,有效减少钙皂产生的可能,减少婴幼儿排便困难,而且能提高婴幼儿对于能量和矿物质的吸收利用,减少体内钙、镁离子及其他营养成分的缺失,促进婴儿的体格和骨骼的自然成长^[3-7]。2008 年中华人民共和国卫生部第 13 号公告批准了 OPO 作为营养强化剂可用于婴幼儿配方奶粉的生产。根据 GB 14880—2012《食品安全国家标准 食品营养强化剂使用标准》,OPO 作为食品营

收稿日期:2019-10-10;修回日期:2019-11-07

基金项目:国家自然科学基金重点项目(31671818)

作者简介:宗蕾(1996),女,硕士研究生,研究方向为油脂化学(E-mail)2221802763@qq.com。

通信作者:毕艳兰,教授(E-mail)bylzy@126.com。

养强化剂时添加量为 24 ~ 96 g/kg。目前 OPO 型人乳脂替代品因组成和结构与母乳脂肪相似被越来越多人信赖^[8]。但国内 OPO 生产工艺尚不成熟,马来西亚 Lodgers Croklaan 公司的 BetapolTM 和瑞典 Advanced Lipid 公司的 InfatTM 婴儿奶粉用油脂几乎占据了我国 OPO 产品的全部市场^[9]。因此,提高自主知识产权,完善生产工艺,研发出高品质的 OPO 产品,打破国外产品的市场垄断迫在眉睫。

酶法制备 OPO 的方法可以分为酯化法、酸解法和转酯法。Pfeffe 等^[10] 先将棕榈酸甘油三酯转化为 2-棕榈酸甘油一酯,然后通过脂肪酶 CALB 催化 2-棕榈酸甘油一酯与油酸酯化反应合成 OPO,制得 OPO 的纯度为 95%,得率为 90%。该法虽然能合成较高纯度的 OPO,但增加了甘一酯的制备与纯化工序,增加了生产成本。Nagao 等^[11] 将棕榈酸甘油三酯与油酸按质量比 1:2 混合均匀,加入 8% 热稳定性脂肪酶 R275A,在 50 °C 下反应 24 h,得到 36% 的 OPO。Qin 等^[12] 发现在猪油和油酸摩尔比为 1:4,6% 的专一性固定化脂肪酶的催化作用下,45 °C 反应 6 h 可得到纯度为 43.7% 的 OPO 产品。考虑到宗教信仰问题,以猪油为原料生产的 OPO 产品市场受到一定限制。Silva 等^[13] 通过脂肪酶 Lipozyme TL IM 催化猪油和大豆油的混合物发生转酯反应,制备的产品物理特性与人乳脂相似,但脂肪酸组成和脂肪酸结构与人乳脂存在差异。研究发现,当脂肪酸甲酯或乙酯作为酰基供体时,相对于脂肪酸作为酰基供体有更高的插入率,同时具有较低的酰基转移^[14-16]。Lee 等^[17] 发现用脂肪酶 Lipozyme TL IM,在油酸乙酯与棕榈酸甘油三酯摩尔比 5.5:1、反应温度 50 °C、反应时间 3 h 条件下,获得的 OPO 含量为 31.43%。但作者只对 OPO 含量及酰基迁移率进行了研究,并未分析 sn-2 位脂肪酸的变化。

随着育种技术的发展,高油酸油料(花生、油菜籽、大豆)已成功上市^[18]。其中,高油酸花生油中油酸含量约 80%,可作为合成 OPO 的理想原料。本研究利用高油酸花生油为原料制备高油酸花生油脂肪酸乙酯,在 sn-1,3 专一性酶的催化作用下与棕榈硬脂酯交换合成 OPO,以期为提高高油酸花生油的附加值和研发 OPO 产品提供一定的数据支撑。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

棕榈硬脂,丰益(上海)生物技术研发有限公司提供;高油酸花生油,购自山东鲁花集团郑州分

公司。Novozym 40086 酶(一种来源于米赫根毛霉,固定在树脂上的 1,3 特异性脂肪酶,活力 275 IUN/g),购自丹麦诺维信公司。

正己烷,色谱纯;薄层层析硅胶,化学纯;无水硫酸钠、冰醋酸、盐酸、乙醚、氯化钙、正己烷、2',7'-二氯荧光素,均为分析纯。

1.1.2 仪器与设备

DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器;6890N、7890B 气相色谱仪,安捷伦(美国)科技有限公司;BSA224S 分析天平;TDL-80-2B 离心机。

1.2 实验方法

1.2.1 高油酸花生油脂肪酸乙酯制备

参考程亚鹏等^[19]的方法。醇解高油酸花生油得到富含脂肪酸乙酯的混合物,通过减压旋蒸、分液、水洗、减压旋蒸脱水得到产物脂肪酸乙酯,充氮气后冷藏备用。

1.2.2 OPO 的制备

按一定摩尔比称取高油酸花生油脂肪酸乙酯和棕榈硬脂(总质量 20 g)于 100 mL 圆底烧瓶中,于一定温度下油浴磁力搅拌(400 r/min)至完全互溶,并保持 5 min,加入一定量的酶(以底物总质量计),反应一定时间后,冷却至室温。静置分层取出上清反应产物置于 25 mL 试管中,取样进行分析。

1.2.3 脂肪酸组成分析

(1)高油酸花生油脂肪酸乙酯和棕榈硬脂的脂肪酸组成分析:按照 GB 5009.168—2016 甲酯化方法处理后,进气相色谱分析脂肪酸组成。

(2)产物甘三酯总脂肪酸组成分析:参考 Zou 等^[20]的方法,采用薄层板分离技术分离甘三酯。将得到的甘三酯按照 GB 5009.168—2016 甲酯化方法处理后,进气相色谱分析脂肪酸组成。

(3)产物甘三酯 sn-2 脂肪酸组成分析:参考毕艳兰等^[21]的方法,通过猪胰脂酶水解 1.2.3(2)得到的甘三酯得到水解物,采用薄层板分离技术分离水解物中的甘一酯。将得到的甘一酯按照 GB 5009.168—2016 进行甲酯化处理后,进气相色谱分析 sn-2 脂肪酸组成。

气相色谱条件:Agilent 6890N 气相色谱仪;SGE BPX-70 色谱柱(30.0 m × 250 μm × 25.0 μm);载气为高纯氮气,流速 0.2 mL/min;进样口温度 250 °C;柱箱温度为初始 170 °C,2 °C/min 升至 210 °C 保持 5 min;氢火焰离子化检测器温度 300 °C;分流比 30:1;进样量 1 μL。使用面积归一化法分析各脂肪酸相对含量。

2 位棕榈酸占有所有棕榈酸含量按下式计算。

2 位棕榈酸占有棕榈酸含量 = $\text{sn} - 2$ 位棕榈酸含量 / ($3 \times$ 所有棕榈酸含量) $\times 100\%$

1.2.4 甘三酯组成分析

用 3 mL 色谱纯正己烷溶解棕榈硬脂或反应产物 20 mg, 经无水硫酸钠除水后过滤膜注入气相小瓶中, 用气相色谱仪分析甘三酯组成。

气相色谱条件: Agilent 7890B 气相色谱仪; DB-1ht 色谱柱 ($28.0 \text{ m} \times 250 \mu\text{m} \times 0.1 \mu\text{m}$); 载气为高纯氮气, 流速 3 mL/min ; 进样口温度 350°C ; 柱箱温度为初始 100°C , 50°C/min 升至 300°C 保持 5 min, 20°C/min 升至 360°C 保持 15 min; 氢火焰离子化检测器温度 350°C ; 分流比 20:1; 进样量 $1 \mu\text{L}$ 。使用面积归一化法分析各甘三酯相对含量。

1.2.5 理化指标的测定

酸价的测定参照 GB 5009.229—2016; 过氧化值的测定参照 GB 5009.227—2016; 水分及挥发物的测定参照 GB 5009.236—2016。

1.2.6 数据处理

使用线性拟合软件 Origin 8.5 软件分析数据之间的线性关系。实验数据均用“平均值 \pm 标准偏差”的形式表示, 每组实验至少有两个平行样, 并且进行方差分析。平行样品间的差异用 SPSS 16.0 Duncan 软件进行显著性分析确定, $P < 0.05$ 则认为差异显著。

2 结果与分析

2.1 反应底物分析

2.1.1 高油酸花生油脂肪酸乙酯组成

高油酸花生油脂肪酸乙酯理化指标分析结果见表 1, 脂肪酸组成及含量见表 2。

表 1 高油酸花生油脂肪酸乙酯的理化指标

酸价 (KOH)/ (mg/g)	过氧化值/ (mmol/kg)	水分及 挥发物/%
0.51 ± 0.08	0.015 ± 0.030	0.13 ± 0.02

表 2 高油酸花生油脂肪酸乙酯脂肪酸组成及含量 %

脂肪酸	含量	脂肪酸	含量
棕榈酸	5.67 ± 0.31	花生酸	1.05 ± 0.52
硬脂酸	1.99 ± 0.24	花生一烯酸	2.37 ± 0.07
油酸	78.08 ± 0.44	山萘酸	2.66 ± 0.43
亚油酸	6.38 ± 0.06	木焦油酸	1.08 ± 0.36

由表 1 和表 2 可知, 高油酸花生油脂肪酸乙酯理化指标良好, 脂肪酸乙酯中油酸含量高达 78.08% , 可作为良好的酰基供体。

2.1.2 棕榈硬脂组成

棕榈硬脂理化指标分析结果见表 3, 甘三酯组

成及含量见表 4, 脂肪酸组成见表 5。

表 3 棕榈硬脂的理化指标

酸价 (KOH)/ (mg/g)	过氧化值/ (mmol/kg)	水分及 挥发物/%
0.30 ± 0.02	0.05 ± 0.03	0.08 ± 0.01

表 4 棕榈硬脂甘三酯组成及含量 %

甘三酯	含量	甘三酯	含量
PPP	64.87 ± 0.51	OOO	1.12 ± 0.21
PPO	24.72 ± 0.03	其他	1.15 ± 0.42
OPO	7.73 ± 0.62		

注: PPP 为 sn-PPP; PPO 为 sn-PPO、sn-POP、sn-OPP 的混合物; OPO 为 sn-OPO、sn-OOP、sn-POO 的混合物; OOO 为 sn-OOO。

表 5 棕榈硬脂的脂肪酸组成及含量 %

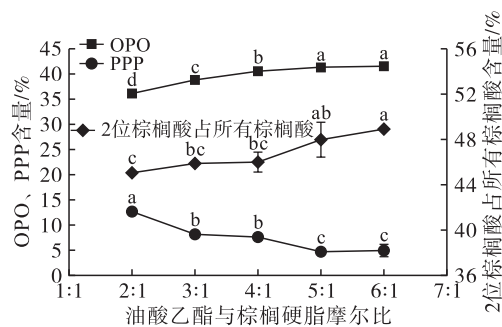
脂肪酸	总脂肪酸	sn-2 位脂肪酸
棕榈酸	78.67 ± 0.23	68.80 ± 0.23
硬脂酸	6.15 ± 0.23	4.51 ± 0.23
油酸	12.82 ± 0.23	21.28 ± 0.24
亚油酸	2.37 ± 0.23	5.47 ± 0.15

由表 3 ~ 表 5 可知, 底物棕榈硬脂的理化指标良好, 且棕榈硬脂中 PPP 含量为 64.87% , 棕榈酸含量达到 78.67% , sn-2 位棕榈酸含量为 68.80% , 是合成 OPO 的理想原料。

2.2 酶法合成 OPO 单因素实验

2.2.1 底物摩尔比的影响

将高油酸花生油脂肪酸乙酯 (以下简称油酸乙酯) 与棕榈硬脂分别按摩尔比 2:1、3:1、4:1、5:1、6:1 混合, 均加入 8% 的酶, 70°C 反应 4 h, 结果见图 1。



注: 每条线上的不同小写字母表示显著差异 ($P < 0.05$), 下同。

图 1 底物摩尔比对合成效果的影响

由图 1 可知, 底物摩尔比由 2:1 增至 6:1 的过程中, OPO 含量、2 位棕榈酸占有棕榈酸含量先增加而后稳定, PPP 含量先减少后稳定。底物摩尔比由 2:1 增至 5:1, OPO 含量从 (36.0 ± 0.1)% 增加到 ($41.1\% \pm 0.1$)% ($P < 0.05$), 这是因为油酸乙酯浓度增加, 促进反应向正反应方向进行; 继续增加底物

摩尔比至6:1时,OPO的含量无显著性变化,稳定在 $(41.2 \pm 0.1)\%$,此时2位棕榈酸占有所有棕榈酸含量稳定在 $(49.3 \pm 0.0)\%$,PPP含量稳定在 $(5.0 \pm 0.7)\%$ 。这一结果与叶玉兰^[22]酶法合成OPO的研究结果相似。过多的油酸乙酯不利于产物的分离,同时增加生产成本,故选择底物摩尔比为5:1。

2.2.2 反应时间的影响

将油酸乙酯与棕榈硬脂按摩尔比5:1混合,加入8%的酶,70℃分别反应0.5、1、2、4、6 h,结果见图2。

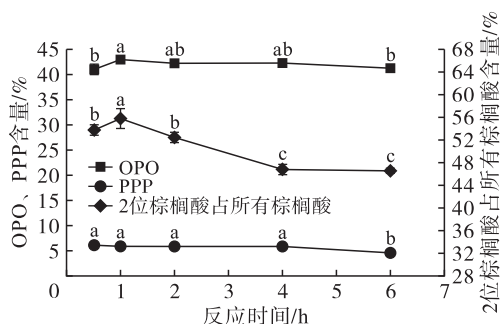


图2 反应时间对合成效果的影响

由图2可知,反应时间由0.5 h延长至6 h过程中,OPO含量、2位棕榈酸占有所有棕榈酸含量先增加后减少,PPP含量先稳定后减少。随着反应时间由0.5 h延长至1 h时,反应向正反应方向进行,目标产物OPO含量显著增加,且在1 h时反应达到平衡。此时,OPO含量为 $(44.1 \pm 0.1)\%$ 、2位棕榈酸占有所有棕榈酸含量为 $(56.3 \pm 0.9)\%$,两者含量均为最大值,此时PPP含量为 $(6.1 \pm 0.1)\%$;随着反应时间的继续延长,反应过程中酰基转移程度升高,在反应时间为1~4 h之间,反应过程中OPO发生酰基转移,sn-2位棕榈酸迁移到sn-1,3位,即2位棕榈酸占有所有棕榈酸含量显著降低。综合考虑,选择反应时间为1 h。

2.2.3 加酶量的影响

将油酸乙酯与棕榈硬脂按摩尔比5:1混合,分别加入2%、4%、6%、8%、10%的酶,70℃反应1 h,结果见图3。

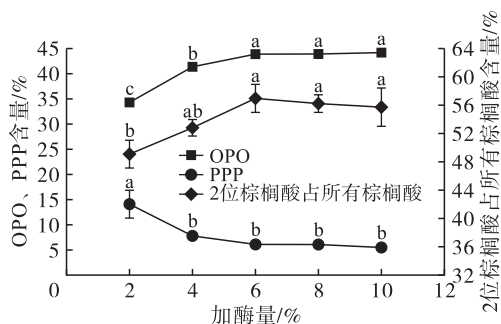


图3 加酶量对合成效果的影响

由图3可知,加酶量由2%增至10%的过程中,

OPO含量、2位棕榈酸占有所有棕榈酸含量先增加后稳定,PPP含量先减少后稳定。随着加酶量由2%增至6%,酶与底物接触面积增大,正反应进程加快,OPO含量从 $(34.3 \pm 0.2)\%$ 显著增加至 $(44.0 \pm 0.1)\%$,2位棕榈酸占有所有棕榈酸含量从 $(49.2 \pm 1.5)\%$ 显著提高到 $(57.1 \pm 1.5)\%$;加酶量从6%增加至10%,OPO含量稳定在 $(44.1 \pm 0.1)\%$,2位棕榈酸占有所有棕榈酸含量、PPP含量分别稳定在 $(56.4 \pm 0.5)\%$ 、 $(6.0 \pm 0.3)\%$ 。这是因为当加酶量增加到一定值,反应进入稳态,这与蒋与燕等^[23]酶法催化生产OPO的研究类似。适量的脂肪酶可在保证反应速率的前提下,减少副产物的生成,降低生产成本。综合考虑,选择加酶量为6%。

2.2.4 反应温度的影响

将油酸乙酯与棕榈硬脂按摩尔比5:1混合,加入6%的酶,分别在50、60、70、80、90℃反应1 h,结果见图4。

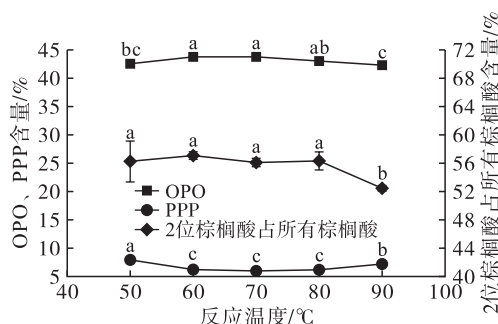


图4 反应温度对合成效果的影响

由图4可知,反应温度由50℃升高至90℃过程中,OPO含量先增加后减少,2位棕榈酸占有所有棕榈酸含量先趋于稳定后减少,PPP含量先降低后增加。随着反应温度由50℃升高至60℃时,棕榈硬脂完全溶解,与油酸乙酯的互溶性增大,酶与反应底物充分混合,正反应速率增加,OPO含量由 $(42.5 \pm 0.1)\%$ 显著增加至 $(43.9 \pm 0.0)\%$,PPP含量由 $(8.0 \pm 0.0)\%$ 显著降低至 $(6.2 \pm 0.0)\%$ 。脂肪酶的最适温度为70℃^[24],所以当反应温度由80℃升高至90℃,OPO含量由 $(43.2 \pm 0.3)\%$ 显著降低至 $(42.4 \pm 0.3)\%$ 、PPP含量由 $(6.4 \pm 0.1)\%$ 显著升高至 $(7.2 \pm 0.1)\%$;由于在较高温度下脂肪酶催化反应中酰基迁移增加^[25],2位棕榈酸占有所有棕榈酸含量由 $(56.3 \pm 0.9)\%$ 显著降低至 $(52.4 \pm 0.2)\%$ 。随着反应温度由60℃升高至80℃时,OPO含量、2位棕榈酸占有所有棕榈酸含量、PPP含量均无显著性变化($P > 0.05$)。根据Novozym 40086酶的使用要求,选择反应温度为60℃。

2.3 酶法合成 OPO 响应面实验

在单因素实验的基础上,固定反应温度为 60 ℃,以 OPO 含量(Y_1)、2 位棕榈酸占有棕榈酸含量(Y_2)为响应值,采用响应面实验对影响 OPO 合成效果的底物摩尔比(A)、加酶量(B)、反应时间(C)进行优化。响应面实验因素及水平如表 6 所示,响应面实验设计及结果如表 7 所示,方差分析如表 8、表 9 所示。

表 6 响应面实验因素及水平

水平	A	B/%	C/min
-1	4:1	4	30
0	5:1	6	60
1	6:1	8	90

表 7 响应面实验设计及结果

实验号	A	B	C	$Y_1/\%$	$Y_2/\%$
1	1	-1	0	44.3	52.3
2	-1	0	-1	37.7	50.7
3	0	0	0	44.9	58.0
4	-1	-1	0	39.4	52.5
5	-1	1	0	42.7	53.9
6	0	-1	-1	40.4	50.6
7	0	0	0	44.7	57.3
8	1	0	1	46.6	52.7
9	0	1	-1	44.0	52.9
10	0	1	1	45.2	50.4
11	0	-1	1	44.9	48.6
12	0	0	0	44.2	57.2
13	0	0	0	44.2	55.9
14	0	0	0	44.7	57.7
15	1	0	-1	42.4	52.3
16	-1	0	1	42.3	49.2
17	1	1	0	46.7	62.1

采用 Design Expert 8.0 软件对表 7 中 OPO 含量、2 位棕榈酸占有棕榈酸含量进行多元回归拟合,得到回归方程: $Y_1 = -20.32 + 16.52A + 1.86B + 0.29C - 0.12AB - 4 \times 10^{-3}AC - 0.01BC - 1.33A^2 + 0.01B^2 - 1.07 \times 10^{-3}C^2$, $Y_2 = 30.05 + 1.22A - 0.20B + 0.61C + 1.05AB + 0.02AC - 2.12 \times 10^{-3}BC - 0.68A^2 - 0.33B^2 - 5.86 \times 10^{-3}C^2$ 。

由表 8、表 9 可知,OPO 含量、2 位棕榈酸占有棕榈酸含量模型显著($P < 0.01$),失拟项均不显著($P > 0.05$),说明模型可以很好地预测 OPO 含量及 2 位棕榈酸占有棕榈酸含量。底物摩尔比、加酶量、反应时间对 OPO 含量影响均显著;影响 2 位棕榈酸占有棕榈酸含量的主次顺序为加酶量 > 底物摩尔比 > 反应时间,且反应时间的影响不显著。

表 8 OPO 含量的方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P
模型	93.47	9	10.39	35.24	<0.000 1
A	40.14	1	40.14	136.21	<0.000 1
B	11.66	1	11.66	39.58	0.000 4
C	26.72	1	26.72	90.67	<0.000 1
AB	0.24	1	0.24	0.81	0.396 7
AC	0.06	1	0.06	0.20	0.671 7
BC	2.69	1	2.69	9.13	0.019 4
A^2	7.45	1	7.45	25.29	0.001 5
B^2	0.02	1	0.02	0.05	0.828 5
C^2	3.88	1	3.88	13.18	0.008 4
残差	2.06	7	0.29		
失拟项	1.61	3	0.54	4.76	0.083 1
纯误差	0.45	4	0.11		
总和	95.53	16			

表 9 2 位棕榈酸占有棕榈酸含量的方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P
模型	206.19	9	22.91	14.12	0.001 0
A	21.35	1	21.35	13.16	0.008 4
B	29.53	1	29.53	18.19	0.003 7
C	3.95	1	3.95	2.43	0.162 8
AB	17.72	1	17.72	10.92	0.013 0
AC	0.87	1	0.87	0.54	0.486 9
BC	0.07	1	0.07	0.04	0.847 0
A^2	1.97	1	1.97	1.21	0.307 4
B^2	7.38	1	7.38	4.54	0.070 5
C^2	117.20	1	117.20	72.21	<0.000 1
残差	11.36	7	1.62		
失拟项	8.78	3	2.93	4.53	0.089 2
纯误差	2.58	4	0.65		
总和	217.56	16			

由拟合方程得到响应面实验优化的最佳条件为油酸乙酯与棕榈硬脂摩尔比 6:1、反应时间 1 h、加酶量 8%,在此条件下 OPO 含量预测值为 46.70%,2 位棕榈酸占有棕榈酸含量预测值为 60.82%。经过实验验证,产物甘三酯中 OPO 含量为(46.30 ± 0.03)%,2 位棕榈酸占有棕榈酸含量为(60.70 ± 0.23)%,PPP 含量为(5.67 ± 0.30%),均符合 GB 30604—2015 标准,合成效果良好,故用脂肪酶催化高油酸花生油脂肪酸乙酯和棕榈硬脂酯交换制备 OPO 的方法可行。另外,OPO 含量和 2 位棕榈酸占有棕榈酸含量实验值与预测值相近,表示响应面实验优化得到的方案可靠。

3 结论

本文以高油酸花生油脂肪酸乙酯和棕榈硬脂为原料,采用脂肪酶催化酯交换合成 OPO 产品。通过单因素实验和响应面实验优化得到最佳反应条件为高油酸花生油脂肪酸乙酯与棕榈硬脂摩尔比 6:1、反应温度 60 ℃、加酶量 8% (以底物总质量计)、反

应时间 1 h,在此条件下 OPO 含量为 $(46.30 \pm 0.03)\%$ 、2 位棕榈酸占有所有棕榈酸含量为 $(60.70 \pm 0.23)\%$ 、PPP 含量为 $(5.67 \pm 0.30)\%$ 。OPO 的各项指标符合 GB 30604—2015,且工艺简单,合成时间短,提高了生产效益,具有一定的工业应用前景。由于反应产物中含有未反应的高油酸花生油脂脂肪酸乙酯、棕榈硬脂以及产生的甘一酯、甘二酯,因此需要进一步纯化甘三酯。

参考文献:

- [1] MORERA P S, CASTELLOTE B A, CAMPOY F C, et al. Triacylglycerol composition in colostrum, transitional and mature human milk[J]. *Eur J Clin Nutr*, 2000, 54(12): 878 - 882.
- [2] MU H L, HOY C E. The digestion of dietary triacylglycerols[J]. *Prog Lipid Res*, 2004, 43(2): 105 - 133.
- [3] PETIT V, SANDOZ L, GARCIA C L. Importance of the regiospecific distribution of long - chain saturated fatty acids on gut comfort, fat and calcium absorption in infants [J]. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2017, 121: 40 - 51.
- [4] LUCAS A, QUINLAN P, ABRAMS S, et al. Randomized controlled trial of a synthetic triglyceride milk formula for preterm infants [J]. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 1997, 77(3): F178 - F184.
- [5] LAURE P, WOOSTER T J. Infant digestion physiology and the relevance of in vitro biochemical models to test infant formula lipid digestion[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2016, 60(8): 1876 - 1895.
- [6] LITMANOVITZ I, DAVIDSON K, ELIAKIM A, et al. High *beta* - palmitate formula and bone strength in term infants: a randomized, double - blind, controlled trial[J]. *Calcif Tissue Int*, 2013, 92(1): 35 - 41.
- [7] FEWTRELL M S, KENNEDY K, MURGATROYD P R, et al. Breast - feeding and formula feeding in healthy term infants and bone health at age 10 years [J]. *Br J Nutr*, 2013, 110(6): 1061 - 1067.
- [8] SUN C, WEI W, SU H, et al. Evaluation of sn - 2 fatty acid composition in commercial infant formulas on the Chinese market: a comparative study based on fat source and stage[J]. *Food Chem*, 2018, 242: 29 - 36.
- [9] 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.
- [10] PFEFFRE J, FREUND A, BELRHLID 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.
- [11] NAGAO T, SHIMADA Y, SUGIHARA A, et al. Use of thermostable *Fusarium heterosporum* lipase for production of structured lipid containing oleic and palmitic acids in organic solvent - free system [J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2001, 78(2): 167 - 172.
- [12] QIN X L, WANG Y M, WANG Y H, et al. Preparation and characterization of 1,3 - dioleoyl - 2 - palmitoyl glycerol [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(10): 5714 - 5719.
- [13] SILVA R C, COTTING L N, POLTRONIERI T P, et al. The effects of enzymatic interesterification on the physical - chemical properties of blends of lard and soybean oil [J]. *Food Sci Technol*, 2009, 42(7): 1275 - 1282.
- [14] 李人望. 溶剂和水活度对脂肪酶 1,3 - 位置选择性和酰基转移的影响研究[D]. 北京:清华大学, 2010.
- [15] 黄楚楚,熊辉煌,龚斌,等. 脂肪酶催化单油酸甘油酯制备功能性 1,3 - 甘油二酯[J]. *食品科学*, 2015, 36(22): 1 - 5.
- [16] SRIVASTAVA A, AKOH C C, CHANG S W, et al. *Candida rugosa* lipase LIP1 - catalyzed transesterification to produce human milk fat substitute [J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54(14): 5175 - 5781.
- [17] LEE J, SON J, AKOH C, et al. Optimized synthesis of 1,3 - dioleoyl - 2 - palmitoylglycerol - rich triacylglycerol via interesterification catalyzed by a lipase from *Thermomyces lanuginosus* [J]. *New Biotechnol*, 2010, 27(1): 38 - 45.
- [18] WANG M L, TONNIS B, AN Y Q C, et al. Newly identified natural high - oleate mutant from *Arachis hypogaea* L. subsp. *hypogaea* [J]. *Mol Breeding*, 2015, 35(9): 186.
- [19] 程亚鹏,毕艳兰,刘伟,等. 尿素包合法制备高纯度油酸乙酯的工艺条件优化[J]. *中国油脂*, 2018, 43(9): 1 - 7.
- [20] ZOU X Q, JIN Q Z, GUO Z, et al. Preparation of human milk fat substitutes from basa catfish oil: combination of enzymatic acidolysis and modeled blending [J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2016, 118(11): 1702 - 1711.
- [21] 毕艳兰,张根旺,杨天奎,等. 油脂酯交换过程中甘三酯 Sn - 2 位脂肪酸组成分析方法的改进研究 [J]. *中国粮油学报*, 2002, 17(4): 35 - 37.
- [22] 叶玉兰. 藏牦牛酥油基制备母乳脂肪替代脂的研究 [D]. 南昌:南昌大学, 2016.
- [23] 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(4): 1048 - 1051.
- [24] 覃小丽. 人乳脂替代品的制备及质量评价的研究 [D]. 广州:华南理工大学, 2013.
- [25] MU H, KURVINEN J P, KALLIO H, et al. Quantitation of acyl migration during lipase - catalyzed acidolysis, and of the regioisomers of structured triacylglycerols formed [J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2001, 78(9): 959 - 964.