

基于人乳脂肪组成的酶法人乳脂肪替代物的构建

曾桂炳^{1,2}, 万冬满^{2,3}, 罗 苗^{2,3}, 曾哲灵^{1,2}, 余 平^{1,2}

(1. 南昌大学 资源环境与化工学院, 南昌 330031; 2. 南昌大学 食品科学与技术国家重点实验室, 南昌 330047; 3. 南昌大学 食品学院, 南昌 330047)

摘要:为了开发新型高相似性人乳脂肪替代物,依据中国人乳脂肪的脂肪酸组成和甘油三酯结构,以巴沙鱼油、樟树籽仁油、亚麻籽油、微生物油(富含ARA)及DHA藻油(质量比为153.81:15.16:62.33:7.89:10.81)为原料油脂,以固定化脂肪酶Lipozyme RM为催化剂,在60℃下酯交换反应8 h制备人乳脂肪替代物,测定其脂肪酸、sn-2位脂肪酸及甘油三酯组成及含量,分析其红外光谱图、熔融性质、结晶性质及流变学性能。结果表明,构建的人乳脂肪替代物中链脂肪酸含量为12%、亚油酸和亚麻酸总含量为19.53%且比例约为1:1.5,ARA含量为1.17%,DHA含量为1.11%,其sn-2位富含棕榈酸(43.10%),结构甘油三酯含量高(58.75%),无反式脂肪酸生成,熔融温度低于人体温度且在20℃下仍能保持18.7%的固体脂肪含量,结晶形态细腻且流变性能优异。制备的人乳脂肪替代物具有应用于婴幼儿配方奶粉、婴幼儿米糊和婴幼儿饼干等各种婴幼儿食品潜力。

关键词:人乳脂肪替代物;构建;中国人乳脂肪;脂肪酸组成;结构甘油三酯

中图分类号:TS225.6;TS207.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1003-7969(2023)02-0108-09

Enzymatic construction of human milk fat substitutes based on human milk fat composition

ZENG Guibing^{1,2}, WAN Dongman^{2,3}, LUO Miao^{2,3},
ZENG Zheling^{1,2}, YU Ping^{1,2}

(1. School of Resource & Environmental and Chemical Engineering, Nanchang University, Nanchang 330031, China; 2. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China; 3. School of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

Abstract: For the development of new high-similarity human milk fat substitutes, based on the fatty acid composition and triglyceride structure of Chinese human milk fat, five kinds of oils, including basha fish oil, *Cinnamomum camphora* seed kernel oil, linseed oil, microbial oil (rich in ARA), DHA algae oil, with mass ratio of 153.81:15.16:62.33:7.89:10.81 were used to prepare the human milk fat substitutes (HMFS) catalyzed by immobilized lipase Lipozyme RM at 60℃ for 8 h, and its fatty acid, sn-2 fatty

acid and triglyceride compositions and contents were determined, as well as the infrared spectra, melting properties, crystalline properties, and rheological properties. The results showed that the HMFS contained 12% of medium-chain fatty acids, 19.53% of linoleic acid-linolenic acid with ratio 1:1.5, 1.17% of ARA and 1.11% of DHA, and its sn-2 position had high content of palmitic acid (43.10%), and it had high content of structured triglycerides (58.75%), and no *trans* fatty acid were formed. The melting

收稿日期:2022-01-08;修回日期:2022-10-20

基金项目:国家重点科技计划-国家国际科技合作专项项目(2011DFA32770);国家自然科学基金(31701651);国家自然科学基金(32060516);江西省科技计划项目(20143ACG70015);南昌大学食品科学与技术国家重点实验室目标导向项目(SKLF-ZZA-201910);南昌大学食品科学与技术国家重点实验室自由探索课题(SKLF-ZZB-201916,SKLF-ZZB-202135)

作者简介:曾桂炳(1996),男,在读硕士,研究方向为功能油脂研发(E-mail)1060215079@qq.com。

通信作者:余平,讲师,博士(E-mail)cpu_yuping@126.com。

temperature of HMFS was below body temperature and the solid fat content of HMFS at 20 °C was 18.7%. In addition, the crystals form of HMFS were fine and uniform, the rheological properties of HMFS were excellent. The HMFS obtained has potential application in various infant foods such as infant formula, infant rice cereal and infant biscuits.

Key words: human milk fat substitutes; construction; Chinese human milk fat; fatty acid composition; structured triglycerides

人乳是满足婴幼儿营养需求的最佳食品^[1],人乳中脂肪占比3%~5%,是人乳的主要能量和营养物质,其化学组成主要为甘油三酯(约98%)^[2]。但近年来由于个人、社会等因素导致没有足够的人乳喂养婴幼儿^[3]。大多数年轻母亲会在喂养婴幼儿3~6个月后断奶^[4],继而选择配方奶粉、米糊和饼干等婴幼儿食品^[5-6]。人乳脂肪替代物(HMFS)是婴幼儿配方奶粉以及各种婴幼儿食品中使用的专用油脂,是模拟人乳脂肪组成的功能油脂^[7]。目前市售的婴幼儿配方奶粉中的人乳脂肪替代物,主要分为物理混合型和酯交换型两种^[7-9]。物理混合型人乳脂肪替代物^[10]的sn-2位棕榈酸含量不足,会影响婴幼儿的消化^[11]。酯交换型人乳脂肪替代物容易忽视必需脂肪酸的添加^[9],导致婴幼儿摄入必需脂肪酸不足。目前国内市场上的人乳脂肪替代物基本是按欧美国家的标准来制备,其重点在1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯(OPO, ECN48)的含量上^[8-9,12]。但是,中国人乳脂肪中1-油酸-2-棕榈酸-3-亚油酸甘油三酯(OPL, ECN46)的比例高于OPO^[2],因此目前市面上的人乳脂肪替代物不能满足中国婴幼儿的营养需求。目前人乳脂肪替代物的应用聚焦在婴幼儿配方奶粉上^[13-14],还未见到其在其他婴幼儿食品中应用的报道^[15-17]。

巴沙鱼油是一种sn-2位富含棕榈酸,甘油三酯多为OPO的高熔点脂肪,适合作为生产人乳脂肪替代物的原料^[9],如邹孝强^[7]采用巴沙鱼油为原料合成了人乳脂肪替代物。樟树籽仁油含有95%以上的中链脂肪酸,主要为癸酸和月桂酸^[18],与人乳的中链脂肪酸种类一致,是制备人乳脂肪替代物的优质中链脂肪酸来源,如彭斌^[19]采用樟树籽仁油为中链脂肪酸来源,合成了人乳脂肪替代物。亚麻籽油富含亚麻酸和亚油酸^[20],是制备人乳脂肪替代物的优质亚麻酸和亚油酸来源。DHA藻油和ARA微生物油富含DHA和ARA^[21-22],DHA和ARA对婴幼儿的大脑、神经和视力发育至关重要,是人乳脂肪替

代物中必不可少的脂肪酸。因此,巴沙鱼油、樟树籽仁油、亚麻籽油、DHA藻油和ARA微生物油是构建人乳脂肪替代物的适宜原料。

为了弥补目前国内婴幼儿专用油脂市场产品的不足,为人乳脂肪替代物的开发提供理论依据,本文依据中国人乳脂肪的脂肪酸组成和甘油三酯结构,以巴沙鱼油、樟树籽仁油、亚麻籽油、ARA微生物油和DHA藻油为原料,采用固定化脂肪酶催化酯交换法构建一种新型的人乳脂肪替代物,并研究了其组成和性质。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

巴沙鱼油,禾瑞康食用油有限公司;樟树籽仁油,实验室自制(热榨法^[23]);亚麻籽油(红井源牌),购于南昌市天虹超市;DHA藻油和微生物油(富含ARA),嘉必优生物技术股份有限公司。

异丙醇、正己烷、乙腈,色谱纯,美国天地公司;Lipozyme RM(酶活275 IUN/g),丹麦诺维信公司;其他试剂均为分析纯。

1.1.2 仪器与设备

7890N气相色谱仪、1260-6120 ELSD高效液相色谱-质谱联用仪,美国安捷伦科技有限公司;BS223S电子天平,德国赛多利斯有限公司;HH恒温油浴锅,中大仪器厂;DSC250差示扫描量热仪(DSC),美国TA仪器;Discovery HR-20流变仪,沃特世科技(上海)有限公司;Nicolet IS10傅里叶红外光谱仪,美国尼高力仪器有限公司;TGL-16C台式离心机,武汉赛维尔生物有限公司;低场核磁共振分析仪,牛津仪器科技(上海)有限公司;Axio Imager 2偏振光显微镜,北京普瑞赛司仪器有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 人乳脂肪替代物的制备

中国不同地区和不同时期人乳脂肪的脂肪酸组成范围为中链脂肪酸4%~10%、棕榈酸20%~

30%、油酸 20%~30%、亚油酸和亚麻酸 20%、ARA 0.5%~1.0%、DHA 0.5%~1.0%，且 ARA 与 DHA 比例为 1:1^[24-25]。据此本研究按照脂肪酸组成为中链脂肪酸 10%，亚麻酸和亚油酸 20% 且比例为 1:1.5，ARA 与 DHA 比例为 1:1 且 ARA 与 DHA 各 1% 构建人乳脂肪替代物。根据原料油脂的脂肪酸组成，确定原料油脂配比。具体为：称取巴沙鱼油 153.81 g、樟树籽仁油 15.16 g、亚麻籽油 62.33 g、DHA 藻油 10.81 g 和微生物油 7.89 g(合计 250 g) 置于 500 mL 圆底烧瓶中，混合均匀，得到原料油脂物理混合物。向圆底烧瓶中加入 25 g Lipozyme RM，混合均匀，在氮气保护下、60℃ 恒温油浴锅中以 100 r/min 的转速搅拌反应 8 h，反应完成后过滤除去 Lipozyme RM，得到粗人乳脂肪替代物。将粗人乳脂肪替代物与 85% 乙醇溶液按体积比 1:20 混合搅拌 2 h 后静置分层，除去游离脂肪酸、甘油一酯和甘油二酯，得到人乳脂肪替代物，-20℃ 保存备用。

1.2.2 脂肪酸组成和分布测定

参照文献[26]使用气相色谱法测定原料油脂、原料油脂物理混合物及人乳脂肪替代物的脂肪酸组成和含量。sn-2 位脂肪酸组成及含量测定中样品前处理参照 Zou 等^[9]的方法，测定条件参照冯绍贵^[26]的方法。

1.2.3 甘油三酯结构分析

采用高效液相色谱-质谱联用仪对人乳脂肪替代物的甘油三酯进行定性和定量分析。高效液相色谱-ELSD 分析条件参照冯绍贵^[26]的方法，质谱分析条件参考冯绍贵等^[23]的方法，采用峰面积归一化法进行定量。

1.2.4 傅里叶红外光谱(FTIR)分析

使用 FTIR 分析人乳脂肪替代物的官能团变化。每个光谱扫描 64 次，仪器分辨率设置为 4 cm⁻¹，扫描范围设置为 4 000~400 cm⁻¹。

1.2.5 熔融性质分析

1.2.5.1 熔融温度测定

使用 DSC 分析原料油脂物理混合物和人乳脂肪替代物的熔融温度。参考 Korma 等^[27]的方法并作了适当修改。取 7 mg 样品于铝盘中，压盘后用 DSC 测定样品的熔融温度，以空白盘为对照。先将样品以 50℃/min 的升温速率加热到 80℃ 保持 10 min 消除结晶记忆，以 10℃/min 的降温速率冷却至 -40℃，之后温度程序为 -40℃ 保持 5 min，以 5℃/min 的升温速率升温至 80℃。通过系统自带的软件对数据进行分析。

1.2.5.2 固体脂肪含量(SFC)测定

使用低场核磁共振分析仪测定原料油脂物理混合物和人乳脂肪替代物的 SFC^[28]。首先用 3 支 SFC 分别为 0、30%、70% 的液体标准油样对仪器进行校准，校准完毕后，将 3 mL 熔融样品填充到样品管中，在 80℃ 下保持 40 min，消除结晶记忆后将样品管放置在 0℃ 下 1 h，以确保样品完全固化。之后将样品分批于 5、10、15、20、25、30、35、40、45、50℃ 下放置 30 min，测定每个温度下的 SFC。

1.2.6 结晶性质分析

1.2.6.1 结晶形态观察

使用偏振光显微镜(PLM)观察原料油脂物理混合物和人乳脂肪替代物的晶体微观结构和形态。首先，样品在 80℃ 下保持 1 h，彻底消除结晶记忆之后，在载玻片上进行点样，盖上盖玻片。将载玻片放置于 5、15℃ 和 25℃ 下保持 48 h 后进行观察。

1.2.6.2 晶型分析

使用 X-射线衍射(XRD)图谱分析原料油脂物理混合物和人乳脂肪替代物的晶型。在室温下，样品以 0.05(°)/min 的速率进行 1°~30° 的角度扫描，用系统软件进行数据分析。

1.2.7 流变学性能分析

使用流变仪分析原料油脂物理混合物和人乳脂肪替代物的流变学性能。将样品保持在 25℃ 下，使用直径为 40 mm 的平行板进行流变分析，测量样品的黏度、储存模量(G')和损耗模量(G'')。测定条件：剪切速率 0.1~100 s⁻¹，振荡应力 1~1 000 Pa，频率 1.5 Hz。

1.2.8 数据统计与分析

所有数据采用 SPSS v22.0 软件进行方差分析和 Tukey 检验($p < 0.05$)。实验重复 3 次，结果用“平均值 ± 标准差”表示。

2 结果与讨论

2.1 脂肪酸组成和分布

原料油脂、原料油脂物理混合物及人乳脂肪替代物的脂肪酸组成及其 sn-2 位脂肪酸组成及含量分别见表 1 和表 2。

由表 1 可知，巴沙鱼油的脂肪酸主要为棕榈酸和油酸，二者含量分别为 46.24%、27.35%。樟树籽仁油的中链脂肪酸含量在 95% 以上，其中癸酸含量为 54.40%，月桂酸含量为 41.07%。亚麻籽油的主要脂肪酸为油酸、亚油酸和 α -亚麻酸，含量分别为 19.55%、15.56%、50.11%。DHA 藻油的 DHA 含量达 37.49%。微生物油的 ARA 含量高达 47.17%。这 5 种原料油脂物理混合物的癸酸含量

为6.26%,月桂酸含量为4.54%,棕榈酸含量为32.49%,油酸含量为21.88%,亚油酸含量为7.54%, α -亚麻酸含量为10.86%,ARA含量为1.12%,DHA含量为1.01%。人乳脂肪替代物的癸酸含量为7.15%,月桂酸含量为4.52%,棕榈酸含

量为32.93%,油酸含量为20.49%,亚油酸含量为7.65%, α -亚麻酸含量为11.26%,ARA含量为1.17%,DHA含量为1.11%,其脂肪酸组成几乎与原料油脂物理混合物一致,说明酶法酯交换反应正常进行,没有发生甘油三酯的水解反应。

表1 原料油脂、原料油脂物理混合物及人乳脂肪替代物的脂肪酸组成及含量

%

脂肪酸	巴沙鱼油	樟树籽仁油	亚麻籽油	DHA 藻油	微生物油	原料油脂物理混合物	人乳脂肪替代物
C8:0	0.24 ± 0.10	0.62 ± 0.07	nd	nd	nd	0.22 ± 0.01	0.33 ± 0.09
C10:0	0.01 ± 0.02	54.40 ± 0.14	nd	nd	nd	6.26 ± 0.53	7.15 ± 0.46
C12:0	0.13 ± 0.04	41.07 ± 0.20	nd	nd	nd	4.54 ± 0.58	4.52 ± 0.15
C14:0	5.92 ± 0.03	1.14 ± 0.01	0.07 ± 0.00	1.82 ± 0.08	0.80 ± 0.01	4.08 ± 0.19	4.18 ± 0.05
C16:0	46.24 ± 0.21	0.41 ± 0.01	7.79 ± 0.02	56.22 ± 2.18	12.37 ± 0.25	32.49 ± 2.08	32.93 ± 0.09
C16:1	1.19 ± 0.01	nd	nd	nd	0.39 ± 0.01	0.76 ± 0.04	0.78 ± 0.01
C18:0	10.18 ± 0.05	0.21 ± 0.00	3.91 ± 0.04	3.30 ± 0.07	7.50 ± 0.12	7.60 ± 0.52	7.42 ± 0.02
C18:1	27.35 ± 0.11	1.82 ± 0.03	19.55 ± 0.12	nd	14.82 ± 0.05	21.88 ± 1.20	20.49 ± 0.34
C18:2	6.74 ± 0.08	0.32 ± 0.00	15.56 ± 0.02	nd	6.54 ± 0.03	7.54 ± 0.43	7.65 ± 0.10
C18:3 _{n6}	0.19 ± 0.02	nd	3.01 ± 0.02	nd	3.25 ± 0.03	0.76 ± 0.04	0.62 ± 0.01
C18:3 _{n3}	0.28 ± 0.03	nd	50.11 ± 0.21	nd	nd	10.86 ± 0.64	11.26 ± 0.14
C20:0	0.20 ± 0.01	nd	nd	nd	nd	0.18 ± 0.01	nd
C20:1 _{n9}	0.75 ± 0.18	nd	nd	nd	nd	0.42 ± 0.01	0.40 ± 0.01
C20:2	0.33 ± 0.01	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C20:3 _{n6}	0.25 ± 0.01	nd	nd	nd	4.87 ± 0.04	0.28 ± 0.01	nd
C20:4 _{n6}	nd	nd	nd	nd	47.17 ± 0.49	1.12 ± 0.06	1.17 ± 0.00
C22:0	nd	nd	nd	1.18 ± 0.04	2.29 ± 0.08	nd	nd
C22:6	nd	nd	nd	37.49 ± 1.04	nd	1.01 ± 0.04	1.11 ± 0.03

注:nd表示未检出。下同

表2 原料油脂、原料油脂物理混合物及人乳脂肪替代物的sn-2位脂肪酸组成及含量

%

脂肪酸	巴沙鱼油	樟树籽仁油	亚麻籽油	DHA 藻油	微生物油	原料油脂物理混合物	人乳脂肪替代物
C8:0	nd	0.46 ± 0.04	nd	nd	nd	0.55 ± 0.09	0.34 ± 0.16
C10:0	0.03 ± 0.00	60.34 ± 0.91	nd	nd	nd	6.44 ± 0.36A	4.91 ± 0.48B
C12:0	0.17 ± 0.00	35.21 ± 0.62	nd	nd	nd	6.96 ± 0.36A	2.71 ± 0.37B
C14:0	3.58 ± 0.03	0.82 ± 0.02	nd	nd	nd	3.34 ± 0.01A	2.50 ± 0.01B
C16:0	59.60 ± 0.18	0.16 ± 0.04	13.33 ± 0.22	27.86 ± 0.62	2.65 ± 0.51	39.85 ± 1.77	43.10 ± 1.03
C16:1	0.71 ± 0.01	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C18:0	6.15 ± 0.05	0.1 ± 0.01	8.35 ± 0.08	2.1 ± 0.06	4.66 ± 0.46	9.51 ± 0.14	9.10 ± 0.17
C18:1	21.01 ± 0.13	1.03 ± 0.33	28.08 ± 0.48	nd	21.81 ± 1.89	17.09 ± 1.50	19.01 ± 2.03
C18:2	7.85 ± 0.03	1.88 ± 0.07	15.84 ± 0.12	nd	3.45 ± 0.24	7.41 ± 0.56	8.81 ± 0.74
C18:3 _{n6}	nd	nd	nd	nd	2.16 ± 0.32	nd	nd
C18:3 _{n3}	0.56 ± 0.01	nd	34.41 ± 0.35	nd	nd	8.86 ± 0.45	9.52 ± 0.59
C20:1 _{n9}	0.35 ± 0.01	nd	nd	nd	nd	nd	nd
C20:3 _{n6}	nd	nd	nd	nd	10.75 ± 0.62	nd	nd
C20:4 _{n6}	nd	nd	nd	nd	54.52 ± 1.77	nd	nd
C22:0	nd	nd	nd	2.43 ± 0.42	nd	nd	nd
C22:6	nd	nd	nd	67.61 ± 1.87	nd	nd	nd

注:不同的大写字母表示 $p < 0.01$

sn-2 位棕榈酸含量是评判人乳脂肪替代物是否达到需求的重要标准^[29]。由表 2 可知,原料油脂物理混合物中 sn-2 位棕榈酸含量为 39.85%,人乳脂肪替代物中 sn-2 位棕榈酸含量为 43.10%,二者无显著差异,说明酯交换反应过程中没有发生明显的酰基迁移现象。制备的人乳脂肪替代物与中国人乳脂肪中的 sn-2 位棕榈酸含量(43%~59%)^[2]非常接近。

因此,从脂肪酸组成和分布可以看出,制备的人乳脂肪替代物的脂肪酸组成和分布与中国不同地区和不同时期人乳脂肪相似,其中的中链脂肪酸、亚油

酸、亚麻酸、ARA 及 DHA 的含量可满足中国婴幼儿的能量和营养需求。

2.2 甘油三酯结构

采用高效液相色谱-ELSD 分析原料油脂物理混合物和人乳脂肪替代物的甘油三酯组成。结果发现,与原料油脂物理混合物相比,人乳脂肪替代物高效液相色谱-ELSD 谱图中出现了大量新峰,经质谱鉴定这些新峰是酶法酯交换生成的结构脂质,这与冯绍贵^[26]得出的结论一致。计算可得,人乳脂肪替代物的结构甘油三酯含量为 58.75%。

表 3 为人乳脂肪替代物的甘油三酯组成。

表 3 人乳脂肪替代物的甘油三酯组成

ECN	甘油三酯	含量/%
34	Ca/Ln/Ln	1.16 ± 0.03
36	M/Ln/DHA	2.40 ± 0.09
38	L/L/DHA; P/ARA/DHA; O/Ln/DHA; Po/Ln/ARA; L/Ln/Ln; Cy/Eo/ARA; Ca/O/ARA; La/Po/ARA; Ca/O/Ln; Cy/Ln/Eo; Ca/O/Ln; La/Po/Ln; Ca/L/L; Ca/P/ARA; Cy/S/Ln; Ca/P/Ln; La/M/Ln; Ca/Po/L	6.69 ± 0.73
40	O/Ln/Ln; La/S/DHA; La/L/L; La/P/ARA; La/O/Ln; Ca/O/Et; M/M/ARA; Ca/S/ARA; Ca/O/L; La/P/Ln; La/Po/L; M/M/Ln; Ca/S/Ln; Po/L/ARA; P/Ln/ARA; L/L/Ln; P/Ln/Ln; Po/L/Ln; S/Ln/DHA; Ca/S/Ln	7.32 ± 0.45
42	O/O/DHA; Po/Eo/DHA; La/Eo/ARA; La/S/ARA; M/P/ARA; M/O/Ln; La/Ln/Eo; P/Po/Ln; M/P/Ln; La/S/Ln; M/P/Ln; La/O/L; M/M/L; Ca/S/L; La/P/L; La/Po/O; Ca/O/O; Ca/Po/Eo; S/Ln/Ln; O/L/Ln; Po/O/ARA; P/Po/ARA; Po/O/Ln; M/O/ARA; P/L/Ln	26.51 ± 0.46
44	P/O/ARA; Po/S/ARA; P/P/Ln; M/S/Ln; P/Po/L; S/L/Ln; O/L/L; Po/S/ARA; O/O/Ln; M/Eo/ARA; P/P/ARA; M/S/ARA; P/L/L; P/O/Ln; Po/O/L; M/Ln/Eo; Po/S/Ln	20.57 ± 0.52
46	P/S/ARA; La/O/Eo; M/O/O; P/Po/O; La/S/O; M/P/O; La/P/Eo; M/P/O; P/P/Po; S/O/Ln; O/O/L; M/L/Eo; P/O/L; Po/S/L; P/S/Ln; M/O/Ed; Po/O/O	10.34 ± 0.82
48	O/O/O; Po/O/Eo; S/O/L; M/O/Eo; P/O/O; Po/S/O; P/P/O; M/S/O; M/P/Eo; P/Po/S	16.66 ± 0.54
50	M/Eo/Eo; Po/S/Eo; M/O/E; P/P/Eo; La/E/Eo; M/P/E; P/P/S; P/O/Eo; Po/O/E; S/O/O; M/S/Eo; P/S/O; Po/S/S	7.75 ± 0.69
52	M/E/Eo; P/S/Eo; S/S/O; P/O/E	0.59 ± 0.04

注:ECN = CN - 2DB, CN 为甘油三酯中碳原子数(除甘油骨架上的 3 个), DB 为甘油三酯中总双键数。Cy. C8:0; Ca. C10:0; La. C12:0; M. C14:0; P. C16:0; Po. C16:1; S. C18:0; O. C18:1; L. 18:2; Ln. C18:3; E. C20:0; Eo. C20:1; Ed. C20:1; Et. C20:3; ARA. C20:4; DHA. C22:6。表中甘油三酯表示组成不代表位置

由表 3 可看出,人乳脂肪替代物中共鉴定出 126 种甘油三酯。制备的人乳脂肪替代物主要由当量碳量(ECN)为 34~52 的甘油三酯组成。其中 ECN 为 44 的甘油三酯含量为 20.57%, ECN 为 46 的甘油三酯含量为 10.34%, ECN 为 48 的甘油三酯含量为 16.66%, ECN 为 44、46 的甘油三酯总含量是 ECN 为 48 的 1.85 倍。中国人乳脂肪的甘油三酯是由 ECN 为 34~50 的甘油三酯组成,其中 ECN 为 44 的甘油三酯占 22% 左右, ECN 为 44、46 的甘油三酯总含量是 ECN 为 48 的 2.2 倍左右^[30]。因此,推测制备的人乳脂肪替代物的甘油三酯组成与

中国人乳脂肪的有极大的相似性。另外,从表 3 中可以发现产品中出现了大量的原料油脂中没有的新的中长链甘油三酯(MLCT),如 La/P/L、La/O/L、La/L/L,这些均为人乳脂肪中含量高于 1% 的 MLCT,也出现了一些母乳脂肪中含量比较低的 MLCT^[30],如 Ca/O/L、La/Po/L、La/Po/O、La/S/O。人乳脂肪富含 MLCT,而单纯的原料油脂物理混合物几乎不含 MLCT(考虑到篇幅未列出原料油脂物理混合物的甘油三酯组成),通过酶法酯交换可以增大人乳脂肪替代物与中国人乳脂肪的甘油三酯结构相似性。结合表 2 和表 3 可以看出,人乳脂肪替

代物中的 MLCT 多数是 sn - 2 位为饱和脂肪酸, sn - 1, 3 位为中链脂肪酸或不饱和和长链脂肪酸的 MLCT。这些特定的甘油三酯结构, 有益于婴幼儿对中链脂肪酸和多不饱和和长链脂肪酸的吸收利用^[31]。

2.3 傅里叶红外光谱 (FTIR) 分析

原料油脂物理混合物和人乳脂肪替代物的 FTIR 图谱如图 1 所示。

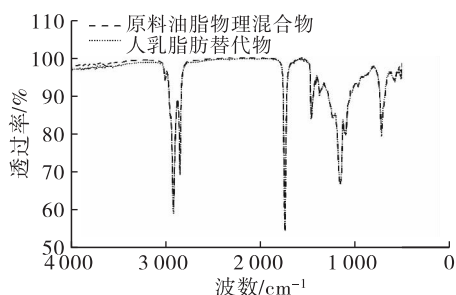


图 1 原料油脂物理混合物和人乳脂肪替代物的 FTIR 图谱

由图 1 可看出: 3 300 ~ 3 400 cm^{-1} 附近没有发现—OH 的特征峰, 说明酶法酯交换后的产品没有游离脂肪酸或水的存在; 3 010 cm^{-1} 附近的峰与=C—H 的伸缩振动有关; 2 920 cm^{-1} 和 2 850 cm^{-1} 附近的峰与 CH_2 的对称、不对称伸缩振动有关, 1 740 cm^{-1} 附近出现脂肪酸酯键相关的 C=O 伸缩振动吸收峰, 1 464 cm^{-1} 附近的峰与 C—H 的弯曲振动有关, 1 200 cm^{-1} 附近的峰可能对应脂肪酸酯基相关的 C—O—C 伸缩振动, 1 050 cm^{-1} 附近的峰对应— CH_2 弯曲和振动, 这些吸收峰均为甘油三酯官能团的特征吸收峰, 说明酶法酯交换反应后产品仍然是甘油三酯为主要成分; 在 966 cm^{-1} 没有出现吸收峰, 提示不存在反式碳碳双键 C—H 的面外伸缩振动^[32], 即制备的人乳脂肪替代物中无反式脂肪酸。

2.4 熔融性质

DSC 曲线可以反映甘油三酯吸热和放热过程的相变信息。图 2 为原料油脂物理混合物及人乳脂肪替代物的 DSC 熔融曲线。

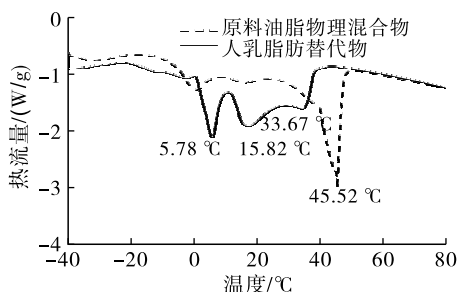


图 2 原料油脂物理混合物和人乳脂肪替代物的 DSC 熔融曲线

由图 2 可知, 原料油脂物理混合物的熔融主峰的峰温为 45.52 $^{\circ}\text{C}$ 。人乳脂肪替代物的熔融峰有 1

个主峰(5.78 $^{\circ}\text{C}$)和 2 个肩峰(33.67、15.82 $^{\circ}\text{C}$), 熔融梯度明显。人乳脂肪替代物的熔融温度低于人体温度(37 $^{\circ}\text{C}$), 与原料油脂物理混合物相比显著降低, 人乳脂肪替代物的平均熔点较低, 可以作为婴幼儿配方奶粉或其他婴幼儿辅食及营养补充品中的油脂基料。这可能与酯交换反应降低了饱和型甘油三酯的含量, 从而显著降低油脂的熔点^[27]有关。不同的甘油三酯表现出不同的熔点, 人乳脂肪替代物在 5.78 $^{\circ}\text{C}$ 较尖锐的峰可能是产品中多不饱和型甘油三酯的融化产生的, 15.82 $^{\circ}\text{C}$ 和 33.67 $^{\circ}\text{C}$ 可能是产品中饱和型甘油三酯的融化峰^[33]。

SFC 是评价油脂理化性质的重要指标, 不同温度(如冷藏温度、室温和口腔温度)下的 SFC 与脂肪的涂抹性、稳定性和感官特性有关^[34]。原料油脂物理混合物和人乳脂肪替代物的 SFC 见图 3。

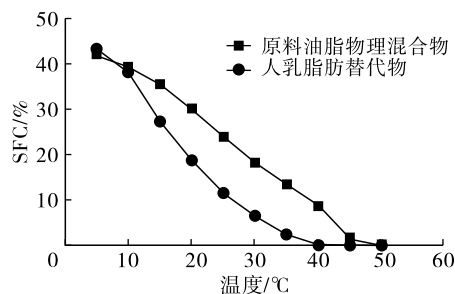


图 3 原料油脂物理混合物和人乳脂肪替代物的 SFC

由图 3 可知, 原料油脂物理混合物和人乳脂肪替代物的 SFC 差异明显。酶法酯交换反应可以改变甘油三酯的结构, 也会影响 10 ~ 40 $^{\circ}\text{C}$ 的 SFC 值^[35]。10 $^{\circ}\text{C}$ 时的 SFC 决定了油脂在冷藏条件下的铺展性, 10 $^{\circ}\text{C}$ 时人乳脂肪替代物的 SFC 为 38.06%, 略低于原料油脂物理混合物的 SFC (39.06%) (图 3), 说明人乳脂肪替代物的延展性好于原料油脂物理混合物。一般来说, 在 20 $^{\circ}\text{C}$ 时 SFC 超过 10% 是避免固态油脂转化为液态而渗出的必要条件^[36-37], 20 $^{\circ}\text{C}$ 时人乳脂肪替代物的 SFC 为 18.7% (图 3), 说明将其应用于婴幼儿配方奶粉或其他婴幼儿辅食及营养补充品中时, 在常温状态不会有油脂渗出。35 $^{\circ}\text{C}$ 时人乳脂肪替代物的 SFC 为 2.43% (图 3), 低于 3%, 说明其不会产生蜡质口感^[38], 入口即化, 与 DSC 测定的结果相符合。因此, 可以考虑将制备的人乳脂肪替代物应用于婴幼儿辅食及营养补充品, 如奶油、饼干等。

2.5 结晶性质

油脂的结晶特性, 特别是同质多晶现象, 决定了脂类产品加工和储藏特性。图 4 为原料油脂物理混合物和人乳脂肪替代物的微观结晶形态。

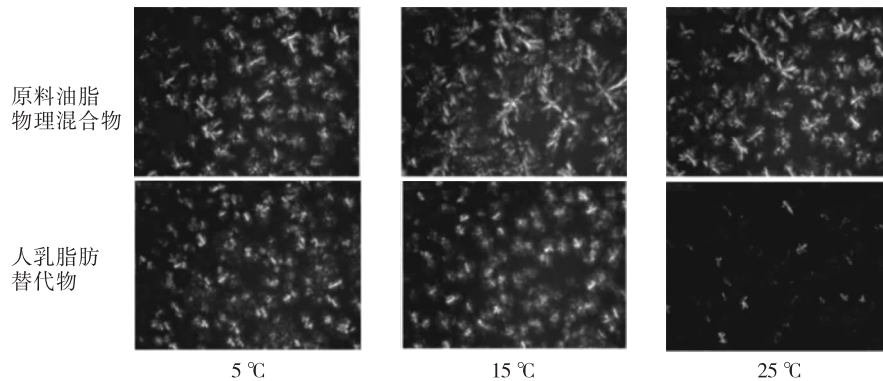


图4 原料油脂物理混合物和人乳脂肪替代物的微观结晶形态(标尺为 50 μm)

由图4可知:5 $^{\circ}\text{C}$ 时,原料油脂物理混合物和人乳脂肪替代物均为针状晶体,酯交换后油脂的晶体颗粒较酯交换前更小、更细腻;15 $^{\circ}\text{C}$ 时,与原料油脂物理混合物相比,人乳脂肪替代物的针状晶体变小且结晶网络稀疏,25 $^{\circ}\text{C}$ 时这种现象更加明显。这与人乳脂肪替代物的SFC较低的结果一致。有报道了酯交换后结晶量减少的现象,并归因于饱和型甘油三酯的减少^[39]。

甘油三酯的晶体主要有 α 、 β' 和 β 晶型,其中 α 晶型最不稳定,倾向于向更稳定的晶型转化。在X-射线图谱中, α 晶型出峰位置在 2θ 为21 $^{\circ}$ 处,相对应的 α 晶型短间距为4.15 \AA ; β 晶型出峰位置在 2θ 为19.1 $^{\circ}$ 处; β' 晶型出峰位置在 2θ 为20.8 $^{\circ}$ 或23.0 $^{\circ}$ 处^[40]。原料油脂物理混合物和人乳脂肪替代物的XRD图谱如图5所示。

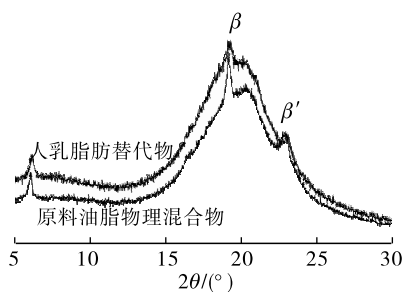
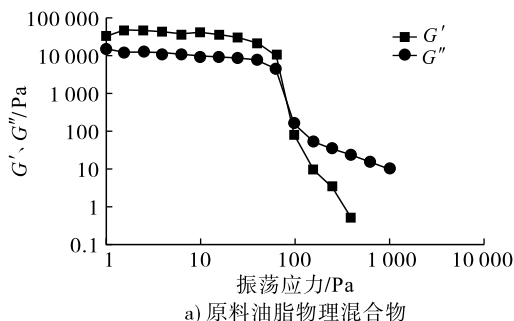


图5 原料油脂物理混合物和人乳脂肪替代物的XRD图谱



a) 原料油脂物理混合物

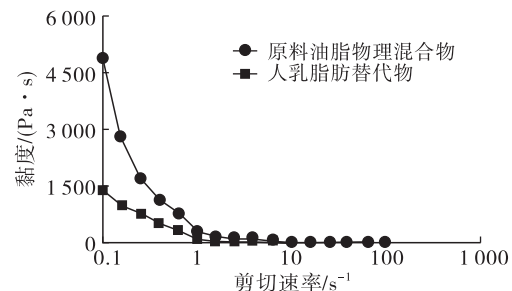
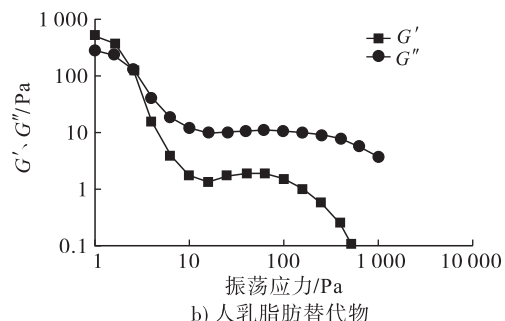


图6 原料油脂物理混合物和人乳脂肪替代物的黏度随剪切速率的变化



b) 人乳脂肪替代物

图7 原料油脂物理混合物与人乳脂肪替代物的应力扫描

由图6可看出,在剪切速率0.1~1 s^{-1} 时,原料油脂物理混合物的黏度大于人乳脂肪替代物,且都

由图5可看出,在同等的结晶条件下,原料油脂物理混合物和人乳脂肪替代物在 2θ 为19.1 $^{\circ}$ 、23.0 $^{\circ}$ 处有强衍射峰,主要为 β 和 β' 两种晶型。人乳脂肪替代物的 β 晶型峰显著小于原料油脂物理混合物的,可能是酯交换后晶型由 β 向细腻的 β' 转变有关,这与偏振光显微镜观察到的微观晶体结构一致,与Yu等^[41]的结论相似。

2.6 流变学性能

研究油脂的流变特性并建立流变特性与产品组成的关系将对产品质量控制、工艺选取、新产品研发、设备选取和工程设计等具有重要意义,流变特性与人造奶油等油脂产品口感和应用性能密切相关^[42]。原料油脂物理混合物和人乳脂肪替代物的黏度变化及应力扫描结果分别如图6、图7所示。

出现稀化现象,表现为非牛顿流体行为。当剪切速率为1~100 s^{-1} 时,二者的黏度几乎没有变化,表现

为牛顿流体行为^[36]。由图7可看出,原料油脂物理混合物的线性黏弹区长,形态稳定,而人乳脂肪替代物的线性黏弹区短,形态容易改变^[43],因此更适用于婴幼儿食品的生产,这一结果与SFC结果一致。

3 结论

本研究基于中国人乳脂肪组成,成功构建了一种人乳脂肪替代物。该人乳脂肪替代物的中链脂肪酸含量为12%,亚油酸与亚麻酸总含量为19.53%且比例约为1:1.5,ARA含量为1.17%,DHA含量为1.11%,其sn-2位棕榈酸含量高于40%,其甘油三酯种类为126种,且ECN为44、46的甘油三酯总含量是ECN为48的甘油三酯含量的1.85倍,其脂肪酸组成和甘油三酯结构与中国人乳脂肪具有相似性。制备的人乳脂肪替代物熔点低于人体温度,室温下可保持一定的SFC含量,晶体形态细腻且流变性能优异。该人乳脂肪替代物不仅适用于生产婴幼儿奶粉,还适用于生产对固体脂肪含量和口感有要求的婴幼儿食品,是一种可应用于生产各种婴幼儿食品的油脂原料。

参考文献:

- [1] WEI W, JIN Q, WANG X. Human milk fat substitutes: past achievements and current trends [J]. *Prog Lipid Res*, 2019, 74: 69–86.
- [2] WANG X, HUANG Z, HUA L, et al. Preparation of human milk fat substitutes similar to human milk fat by enzymatic acidolysis and physical blending [J/OL]. *LWT – Food Sci Technol*, 2021, 140: 110818 [2022-01-08]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110818>.
- [3] 小卓玛. 母乳喂养率及影响因素分析 [J]. *现代医药卫生*, 2010, 26(12): 1790–1791.
- [4] 李妞妞, 孙京, 苏笑, 等. 中国0~24月龄城市婴幼儿母乳喂养状况及相关因素分析 [J]. *中国食物与营养*, 2020, 26(10): 77–81.
- [5] 李梅芳. 婴幼儿断奶后的食品营养 [J]. *家庭医学*, 1997(12): 12.
- [6] 高松柏. 国际婴幼儿食品研究新动态 [J]. *中国乳品工业*, 2007(4): 36–39, 58.
- [7] 邹孝强. 人乳脂替代物的评价模型建立及其酶法制备 [D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2013.
- [8] 朱启思, 唐家毅, 周蓉, 等. 猪油酸解制备人乳脂替代物的研究 [J]. *中国油脂*, 2009, 34(2): 39–42.
- [9] ZOU X, JIN Q, GUO Z, et al. Preparation of 1, 3 – dioleoyl – 2 – palmitoylglycerol – rich structured lipids from basa catfish oil: combination of fractionation and enzymatic acidolysis [J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2016, 118(5): 708–715.
- [10] 李雪. 多不饱和脂肪酸型人乳脂质替代品研究 [D]. 海口: 海南大学, 2018.
- [11] BAR – YOSEPH F, LIFSHITZ Y, COHEN T. Review of sn – 2 palmitate oil implications for infant health [J]. *Prostag Leukotr Ess*, 2013, 89(4): 139–143.
- [12] 宋秋. OPO 结构脂肪的营养价值评定 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2012.
- [13] MARTIN C R, LING P R, BLACKBURN G L. Review of infant feeding: key features of breast milk and infant formula [J/OL]. *Nutrients*, 2016, 8(5): 279 [2022-01-08]. <https://doi.org/10.3390/nu8050279>.
- [14] QUIGLEY M, MCGUIRE W. Formula versus donor breast milk for feeding preterm or low birth weight infants [J/OL]. *Cochrane Db Syst Rev*, 2014 (4): CD002971 [2022-01-08]. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD002971.pub4>.
- [15] 金刚. 婴幼儿辅助食品研究进展 [J]. *粮食与油脂*, 2011(5): 5–8.
- [16] 台一鸿. 婴幼儿食品研究进展 [J]. *食品安全导刊*, 2019(6): 146–147, 168.
- [17] FEWTRELL M, BRONSKY J, CAMPOY C, et al. Complementary feeding: a position paper by the European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition (ESPGHAN) Committee on nutrition [J]. *J Pediatr Gastr Nutr*, 2017, 64(1): 119–132.
- [18] FU J, WANG B, GONG D, et al. Camphor tree seed kernel oil reduces body fat deposition and improves blood lipids in rats [J]. *J Food Sci*, 2015, 80(8): 1912–1917.
- [19] 彭斌. 新型类母乳 OMO 型结构酯的酶法合成、动力学模拟及对肝细胞脂质代谢的影响 [D]. 南昌: 南昌大学, 2021.
- [20] KHODADADI M, AZIZ S, ST – LOUIS R, et al. Lipase – catalyzed synthesis and characterization of flaxseed oil – based structured lipids [J]. *J Funct Foods*, 2013, 5(1): 424–433.
- [21] HE Y, LI J, GUO Z, et al. Synthesis of novel medium – long – medium type structured lipids from microalgae oil via two – step enzymatic reactions [J]. *Process Biochem*, 2018, 68: 108–116.
- [22] ABED S M, ZOU X, ALI A H, et al. Synthesis of 1,3 – dioleoyl – 2 – arachidonoylglycerol – rich structured lipids by lipase – catalyzed acidolysis of microbial oil from *Mortierella alpina* [J]. *Bioresour Technol*, 2017, 243: 448–456.
- [23] 冯绍贵, 李彦宸, 董春怡, 等. 樟树籽仁油的结构和特性分析 [J]. *中国油脂*, 2020, 45(1): 22–26.
- [24] 李慧, 郭倩颖, 柳鹏, 等. 不同时期母乳中脂肪酸水平的变化 [J]. *中国食物与营养*, 2017, 23(5): 54–58.

- [25] 吴珂剑. 中国三地区母乳脂肪、脂肪酸、杭州地区母乳雌激素类物质研究及与膳食相关性分析 [D]. 杭州: 浙江大学, 2015.
- [26] 冯绍贵. 脂肪酶催化樟树籽仁油与多不饱和长碳链油脂制备结构脂质 [D]. 南昌: 南昌大学, 2019.
- [27] KORMA S A, ZOU X, ALI A H, et al. Preparation of structured lipids enriched with medium - and long - chain triacylglycerols by enzymatic interesterification for infant formula [J]. *Food Bioprod Process*, 2018, 107: 121 - 130.
- [28] 李慧灵, 孟宗, 刘元法. 零反式脂肪酸酥皮油基料油的理化性质研究 [J]. *中国油脂*, 2017, 42(8): 17 - 21.
- [29] SUN C, WEI W, ZOU X, et al. Evaluation of triacylglycerol composition in commercial infant formulas on the Chinese market: a comparative study based on fat source and stage [J]. *Food Chem*, 2018, 252: 154 - 162.
- [30] 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.
- [31] YUAN T, WEI W, WANG X, et al. Biosynthesis of structured lipids enriched with medium and long - chain triacylglycerols for human milk fat substitute [J/OL]. *LWT - Food Sci Technol*, 2020, 128: 109255 [2022 - 01 - 08]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109255>.
- [32] DU R, LAI K, XIAO Z, et al. Evaluation of the quality of deep frying oils with Fourier transform near - infrared and mid - infrared spectroscopy [J]. *J Food Sci*, 2012, 77(2): C261 - C266.
- [33] ZHANG L S, CHU M Y, ZONG M H, et al. Facile and green production of human milk fat substitute through *Rhodococcus opacus* fermentation [J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(35): 9368 - 9376.
- [34] PANDE G, AKOH C C. Enzymatic synthesis of *trans* - free structured margarine fat analogs with high stearate soybean oil and palm stearin and their characterization [J]. *LWT - Food Sci Technol*, 2013, 50(1): 232 - 239.
- [35] SILVA R C, COTTING L N, POLTRONIERI T P, et al. Physical properties of structured lipids from lard and soybean oil produced by enzymatic interesterification [J]. *Food Sci Technol*, 2009, 29: 652 - 660.
- [36] ZHANG Z, YE J, LEE W J, et al. Modification of palm - based oil blend via interesterification: physicochemical properties, crystallization behaviors and oxidative stabilities [J/OL]. *Food Chem*, 2021, 347: 129070 [2022 - 01 - 08]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129070>.
- [37] ADHIKARI P, SHIN J A, LEE J H, et al. Production of *trans* - free margarine stock by enzymatic interesterification of rice bran oil, palm stearin and coconut oil [J]. *J Sci Food Agric*, 2010, 90(4): 703 - 711.
- [38] DOLLAH S, ABDULKARIM S M, AHMAD S H, et al. Physico - chemical properties of *Moringa oleifera* seed oil enzymatically interesterified with palm stearin and palm kernel oil and its potential application in food [J]. *J Sci Food Agric*, 2016, 96(10): 3321 - 3333.
- [39] AHMADI L, WRIGHT A J, MARANGONI A G. Chemical and enzymatic interesterification of tristearin/triolein - rich blends: microstructure and polymorphism [J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2008, 110(11): 1025 - 1034.
- [40] ZHANG Z, LEE W J, WANG Y. Evaluation of enzymatic interesterification in structured triacylglycerols preparation: a concise review and prospect [J]. *Crit Rev Food Sci* 2021, 61(19): 3145 - 3159.
- [41] YU D, QI X, JIANG Y, et al. Preparation of margarine stock rich in naturally bioactive components by enzymatic interesterification [J]. *J Oleo Sci*, 2018, 67(1): 29 - 37.
- [42] 张智明, 张虹, 毕艳兰, 等. 旋转流变仪在油脂研究中的应用 [J]. *中国油脂*, 2013, 38(9): 1 - 6.
- [43] SHI Y, LIU C, ZHENG Z, et al. Gelation behavior and crystal network of natural waxes and corresponding binary blends in high - oleic sunflower oil [J]. *J Food Sci*, 2021, 86(9): 3987 - 4000.