

doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2021.01.040

酶法催化紫苏油和 MCT 合成中长链甘油三酯研究

黄昭先^{1,2} 王满意^{1,2} 孙承国³ 王凤艳¹ 王翔宇¹ 江连洲^{4,5}

(1. 中粮营养健康研究院, 北京 102209; 2. 营养健康与食品安全北京市重点实验室, 北京 102209;

3. 中粮油脂专业化公司研发中心, 天津 300452; 4. 东北农业大学食品学院, 哈尔滨 150030;

5. 临邑禹王植物蛋白有限公司, 德州 253000)

摘要: 通过 Lipozyme RM IM 催化紫苏油与中链甘油三酯(MCT)进行酯交换合成富含 α -亚麻酸的中长链甘油三酯(MLCT),研究了酶添加量、底物中 MCT 浓度、反应温度和反应时间对 MLCT 得率的影响。40% MCT 和 60% 紫苏油在 6% 的 Lipozyme RM IM 催化作用下,于 60℃ 进行 4 h 的酯交换反应,结果表明,在反应平衡后,MLCT 得率超过 70%。采用两步法除臭工艺纯化酯交换产物,产品中的甘油三酯纯度达到 97%,游离脂肪酸含量显著降低,反式脂肪酸质量分数可以控制在 1% 以内。此外,在纯化产物中存在超过 40% 的 α -亚麻酸,超过 85% 的长链脂肪酸在甘油三酯中的 *sn*-2 位置。

关键词: 中长链甘油三酯; α -亚麻酸; 酶促酯交换; 两步法除臭

中图分类号: TS201.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2021)01-0360-07

OSID:



Enzymatic Synthesis of Medium- and Long-chain Triacylglycerols Based on Perilla Oil and MCTs

HUANG Zhaoxian^{1,2} WANG Manyi^{1,2} SUN Chengguo³ WANG Fengyan¹ WANG Xiangyu¹ JIANG Lianzhou^{4,5}

(1. COFCO Nutrition and Health Research Institute, Beijing 102209, China

2. Beijing Key Laboratory of Nutrition & Health and Food Safety, Beijing 102209, China

3. R&D Center, COFCO-Oils, Tianjin 300452, China

4. College of Food Science, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China

5. Linyi Yuwang Plant Protein Co., Ltd., Dezhou 253000, China)

Abstract: The medium- and long-chain triacylglycerols (MLCTs) rich in α -linolenic acid could be used as an anti-obesity, functional material in food industry. MLCTs could overcome the shortcomings of the LCTs and MCTs, and provide the human body with essential fatty acids and faster energy supply. Enzymatic interesterification of perilla oil and MCTs was performed to prepare the MLCTs rich in α -linolenic acid, the reaction were catalysed by Lipozyme RM IM. The effects of enzyme loading, ratio of MCTs to perilla oil, reaction time and reaction temperature on the yield of MLCT were studied. The results showed that the reaction achieved more than 70% yield of MLCTs in triacylglycerols under the conditions of 6% Lipozyme RM IM, 40% MCT and 60% perilla oil at 60℃ for 4 h. Deodorization was a traditional deacidification method, in consideration of processing costs and equipment reconstruction costs, the two-stages deodorization was used to update into a two-stages deodorization to better remove the undesired by-products after interesterification reaction, providing a method for the physical deacidification of polyunsaturated oils in practice. The free fatty acids of the interesterified products were removed significantly, the triacylglycerols were more than 97% in the refined products, and the *trans* fatty acids could be limited within 1%. In the purified products, more than 85% of the long-chain fatty acids were occupying the *sn*-2 position in triacylglycerols, and the total α -linolenic were more than 40%.

Key words: medium-and long-chain triacylglycerols; α -linolenic; enzymatic interesterification; two-stages deodorization

收稿日期: 2020-10-06 修回日期: 2020-10-30

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFD0401405)、山东省重点研发计划项目(2018YYSP026)、山东省德州市大禹英才项目和山东省泰山产业领军人才工程高校生态农业创新类项目(LJNY201607)

作者简介: 黄昭先(1987—),男,工程师,博士,主要从事油脂产品工艺研究,E-mail: brooksh@163.com

通信作者: 王翔宇(1984—),男,高级工程师,主要从事脂质科学与结构脂开发研究,E-mail: wang_xiangyu@cofco.com

0 引言

紫苏油是从紫苏中提取的一种植物油,富含 α -亚麻酸(ALA, C18:3)^[1]。紫苏油中 ALA 含量最高,约占其总脂肪酸的 60%^[2]。ALA 是 ω -3 多不饱和脂肪酸,是某些必需脂肪酸如二十二碳六烯酸(DHA)、二十碳五烯酸(EPA)的代谢前体^[3]。已证明,这些 ω -3 系列脂肪酸对人体健康具有生理益处,并且在预防和治疗心血管疾病和炎症性疾病中起到重要作用^[4]。但是,紫苏油是一种长链脂肪酸(LCFA,碳原子数超过 14 的脂肪酸),其对应的甘油三酯在血清中水解和清除速率相对较慢,不利于人体健康^[5]。

中长链甘油三酯(MLCT)是一种功能性结构脂质,在营养代谢方面优于传统的长链甘油三酯(LCT)和中链甘油三酯(MCT)。MLCT 可以降低人体的血清甘油三酯和胆固醇含量,并抑制体内脂肪的积累^[6]。此外,MLCT 还可以克服 MCT 的缺点,既可为人体提供必需的脂肪酸和能量供应^[7],也可避免因体内酮体过多而导致的中毒。MLCT 可以通过酸解、酯化和酯交换等酶促方法进行制备^[8-10]。酶促酯交换是生产结构化脂质(SLs)的一种优选方法,酯交换产物中副产物含量低,且合成的产物得率较高。因此,结合脂肪酶催化的优点和 ALA 的营养优势对 MLCT 进行合成具有重要意义。

近年来,均衡摄入脂肪酸受到广泛关注,专业人士建议,每日需摄入一定量的 ω -6 和 ω -3 脂肪酸^[11-12]。针对 MLCT 的研究主要使用富含 ω -6 或 ω -9 脂肪酸的植物油作为长链甘油三酯的来源^[13-15]。 ω -3 脂肪酸的食物来源有限,某些海洋鱼油富含 ω -3 脂肪酸,但其氧化稳定性较差,并且从长远来看,海洋资源的使用不可持续^[16]。紫苏油是 ω -3 脂肪酸含量最高的植物油,成为合成 MLCT 的优质来源。

本文通过 Lipozyme RM IM 催化紫苏油与 MCT 进行酯交换合成富含 α -亚麻酸的中长链甘油三酯(MLCT),研究酶添加量、底物中 MCT 浓度、反应温度和反应时间对 MLCT 得率的影响,采用两步法除臭去除游离脂肪酸(FFA)、甘油二酯(DAG)和甘油一酯(MAG)等副产物,以避免反式脂肪酸的大量形成,为多不饱和油的物理脱酸提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

紫苏油、活性白土,中粮东海粮油工业(张家港)有限公司;MCT,印度尼西亚 Musim Mas 公司;

Lipozyme RM IM(来自 *Rhizomucor miehei* 的脂肪酶, 275 IUN/g),诺维信(中国)生物技术有限公司;甘油一酯、甘油二酯和甘油三酯的标准混合物、猪胰脂酶(100~400 U/mg)、脂肪酸甲酯,西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;乙酸、正己烷和异丙醇均为色谱级,上海阿拉丁有限公司;硅胶 GF 预涂板(10 cm × 20 cm),上海国药控股化学试剂有限公司;其他试剂和溶剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

GC-2014C 型气相色谱仪,日本岛津有限公司;7890A 型气相色谱仪,美国安捷伦科技有限公司;1260 Infinity 型高效液相色谱仪,美国安捷伦科技有限公司;Ace-2L 型(定制)精炼小试装置,美国 ACE 公司;PL2002 型电子天平、AL204-IC 型分析天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司。

1.3 方法

1.3.1 酯交换反应

紫苏油和 MCT 的酯交换反应在无溶剂体系中进行。将 150 g 紫苏油和 MCT 置于 250 mL 烧瓶中,使用机械搅拌器以 200 r/min 搅拌混合。在一定温度下添加脂肪酶并开始计时,反应一段时间。反应结束后过滤除去酶,所有产物均存储在 -20℃ 等待分析。

1.3.2 薄层色谱(TLC)分离甘油三酯

将 10 μ L 油样品溶于 10 μ L 正己烷中,在距 TLC 板底部 2 cm 水平线上点样,将 TLC 板底部浸入由正己烷/叔丁基甲基甲醚/乙酸(体积比 40:10:1)组成的溶剂体系 120 min。随后取出 TLC 板并干燥,将 2,7-二氯荧光素乙醇溶液(2 g/L)喷雾到 TLC 板上,在紫外灯下观察分离情况。刮下对应的甘油三酯(TAG)区域,然后用正己烷萃取得到甘油三酯。

1.3.3 甘油三酯中 MLCT 的得率

通过气相色谱法测定甘油三酯中 MLCT 的得率。气相色谱条件如下:DB-1 型毛细管柱(15.0 m × 0.53 mm × 0.15 μ m,美国安捷伦公司),FID(氢离子火焰化)检测器,进样量 5 μ L,高纯氢气作为载气,入口温度 350℃,检测器温度 380℃,非分流模式,氢气流速 40 mL/min,空气流速 400 mL/min,补充气流速 25 mL/min。柱温箱程序如下:初始温度 200℃,以 10℃/min 的速度升至 300℃,保持 2 min;以 3℃/min 的速度升至 330℃。酯交换后的甘油三酯包含以下构型:MMM、MLM、LMM、LLM、LML 和 LLL。其中,MLM、LMM、LLM 和 LML 称为 MLCT。甘油三酯上脂肪酸的总碳数(TCN)由气相色谱确定,MMM 的 TCN 为 24~30,MLM 和 LMM(称为 2M1L)为 32~38,LLM 和 LML

(称为 1M2L)为 40~46, LLL 为 48~54。MLCT 得率计算公式为

$$R = \frac{A_{MLM} + A_{MML} + A_{LLM} + A_{LML}}{A_{MMM} + A_{MLM} + A_{MML} + A_{LLM} + A_{LML} + A_{LLL}} \times 100\%$$

式中 A_{MMM} ——MMM 质量分数, %

A_{MLM} ——MLM 质量分数, %

A_{MML} ——MML 质量分数, %

A_{LLM} ——LLM 质量分数, %

A_{LML} ——LML 质量分数, %

A_{LLL} ——LLL 质量分数, %

1.3.4 精炼

脱色:取一定量的酯交换油进行脱色处理,真空条件下(真空度小于 0.533 kPa),将酯交换油加热至 90℃,加入一定量的活性白土,加热至 100℃,200 r/min 搅拌 30 min,抽滤除去活性白土,得到脱色油。

脱臭:将一定量脱色油加入到定制脱臭装置中,抽真空,保持整套设备内部真空度小于 0.4 kPa,除臭温度和时间参数有 3 种:两步法,首先在 200℃下保持 40 min,然后加热到 240℃并保持 20 min;低温法:在 200℃保持 60 min;高温法,在 240℃保持 60 min。脱臭后,除臭系统迅速冷却至 100℃以下。脱臭过程中的水蒸气由储水管中的水在设备的真空条件气化形成,通入油样中翻滚沸腾,并在真空的条件下被带出,在 -40℃冷阱中迅速冷冻。

1.3.5 脂肪酸组成和 sn-2 脂肪酸分析

油样首先作甲酯化处理,将 1.5 mL 氢氧化钾甲醇溶液(0.5 mol/L)加到样品中,在 70℃下混合 5 min,加入 2 mL 三氟化硼甲醇溶液(体积分数 14%)并振摇 3 min,然后加入 1 mL 正己烷和 1 mL 饱和氯化钠溶液,以提取脂肪酸甲酯,取上层清液进样。气相色谱条件:Agilent HP-88 型毛细管柱(100 m × 250 μm × 0.25 μm),进样口温度 250℃;检测器温度 280℃;载气:高纯度氢气;分流比 50:1;进样 2.0 μL。柱温箱程序:初始温度 45℃,保持 4 min,以 13℃/min 升至 175℃,保持 27 min,以 4℃/min 升至 215℃,保持 35 min。

利用猪胰脂酶将酰基甘油催化生成 sn-2 甘油一酯。主要步骤如下:将 10 mg 样品、7 mL 的 Tris-HCl 缓冲液(1 mol/L, pH 值 8.0)、2 mL 胆酸钠溶液(0.5 g/L)、1 mL 的 CaCl₂(22 g/L)和 50 mg 胰脂酶在 40℃下涡旋混合 3 min,加入 1 mL 的 HCl 溶液(6 mol/L)和 2 mL 乙醚,涡旋混合 1 min,在 4000 r/min 下离心 10 min。收集上层液并将其均匀涂于 TLC 板底部上方 2 cm 的水平线上。分离 sn-2 甘油一酯的 TLC 方法与上述方法相同。刮下 sn-2 甘油一

酯条带,用正己烷萃取后进行脂肪酸组成分析。

1.3.6 甘油酯成分分析

通过 HPLC-ELSD(高效液相色谱-蒸发光检测器)对甘油酯成分进行定量分析。将样品溶解于正己烷中稀释至 10 mg/mL,进样。色谱条件:Zorbax RX-Sil 型色谱柱(5 μm × 4.6 mm × 250 mm);柱温 35℃;ELSD 漂移管温度 70℃;雾化气体:高纯氮气;载气压力 0.21 MPa;增益 1 倍;进样量 1.5 μL;流动相:A 为正己烷/异丙醇(体积比 99:1),B 为正己烷/异丙醇/乙酸(体积比 100:100:1);流动相洗脱梯度:100% A(0 min) - 80% A(10 min) - 70% A(14 min) - 100% A(20 min) - 100% A(25 min)。甘油三酯、游离脂肪酸、1,3-甘油二酯、1,2-甘油二酯、甘油一酯的保留时间分别为 3.9、5.3、6.2、7.6、14.9 min。根据浓度和峰面积制定标准曲线以供使用。

1.4 数据处理和分析

每个实验均进行 3 次重复平行实验,结果表示为平均值 ± 标准差。使用 SPSS 19.0 对数据进行 ANOVA 差异显著性分析,以 $p < 0.05$ 为显著性差异。采用 Origin 8.0 软件制图。

2 结果与讨论

2.1 酯交换条件对反应产物的影响

2.1.1 酶添加量

将不同添加量的脂肪酶(2%、4%、6%、8%、10%、12%)加入到 MCT 质量分数 40% 的反应底物中,在 50℃下反应 4 h。如图 1a 所示,MLCT 得率随着酶添加量的增加而逐渐增加,反应得率在 61%~76% 之间,当酶添加量超过 6% 时,MLCT 得率的增加变慢,这可能是由于过量的酶导致酶聚集和底物的扩散,从而抑制了酶的活性^[17]。MLCT 所含的 1M2L(1 中链,2 长链甘油三酯)和 2M1L(2 中链,1 长链甘油三酯)的趋势与 MLCT 相似。尽管较高的酶添加量有助于提高反应速率,但也使反应的成本增加^[18-19]。由图 1b 可知,随着酶添加量的增加,甘油一酯(MAG)、甘油二酯(DAG)和游离脂肪酸(FFA)等反应副产物也有所增加,它将影响产品的最终得率和后续加工。ALA 总含量随着脂肪酶含量的增加而降低,而 sn-2 中的 ALA 含量则升高。酶添加量增加会促进酯交换反应,将更多的中链脂肪酸(MCFA)引入 TAG^[20],导致 ALA 含量降低。这可能与在脂肪酶催化的酯化过程中发生的酰基迁移有关^[21]。ALA 酰基从 sn-1 或 sn-3 迁移至 sn-2,导致反应朝着 MLM 型或 MLL 型 MLCT 进行。有研究表明长链脂肪酸位于 sn-2 时 MLCT 被人体吸收的效率更高^[22]。

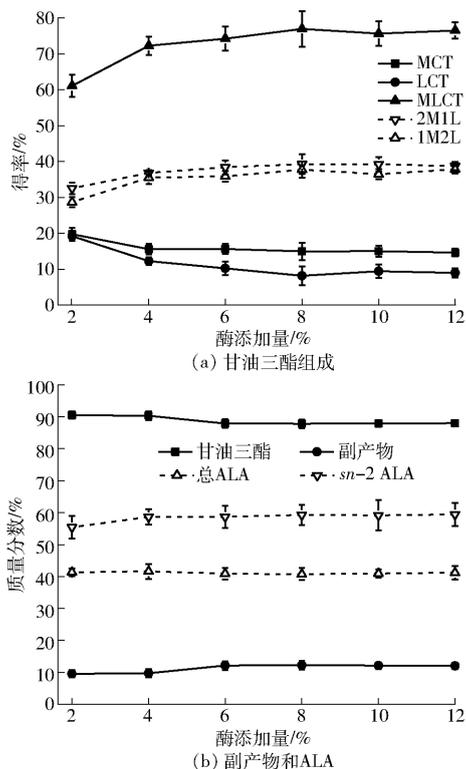


图 1 酶添加量对反应中甘油三酯组成、副产物和 ALA 的影响

Fig.1 Effect of lipase loading on content of triacylglycerols, by-products and ALA

2.1.2 底物中 MCT 质量分数

以 6% 脂肪酶催化底物在 50℃ 下反应 4 h, MCT 在底物中的质量分数分别为 20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65% 和 70%。结果如图 2a 所示, MCT 在底物中的质量分数小于 40%, MLCT 得率随 MCT 浓度的增加而增加, 当 MCT 质量分数超过 40% 时 MLCT 得率下降, 1M2L 和 2M1L 的产量也具有先升后降的趋势, 类似于 MLCT, 但是 1M2L 得率在 MCT 质量分数 25% 时达到最大, 2M1L 得率在 MCT 质量分数 60% 时达到最大。因此, MCT 的浓度不仅影响 MLCT 的得率, 而且还影响 MLCT 中 1M2L 和 2M1L 的不同比例, 过量的 MCT 更有可能形成 2M1L, 而过量的 LCT 更可能形成 1M2L。MCT 的浓度对副产物没有明显的影响, 随着 MCT 浓度的增加, 紫苏油在底物中的相对含量降低, ALA 含量降低 (图 2b)。

2.1.3 反应温度

以 6% 脂肪酶催化 MCT 质量分数为 40% 的底物, 在不同温度 (30、40、50、60、70、80、90℃) 下反应 4 h。结果如图 3a 所示, MLCT 的得率随着温度升高而提高, 在 60℃ 以后得率提升不明显, 但是由图 3b 可知, TAG 得率增加, 副产物减少。一般认为, 随着温度升高到一定程度, 脂肪酶的活性受到抑制^[23],

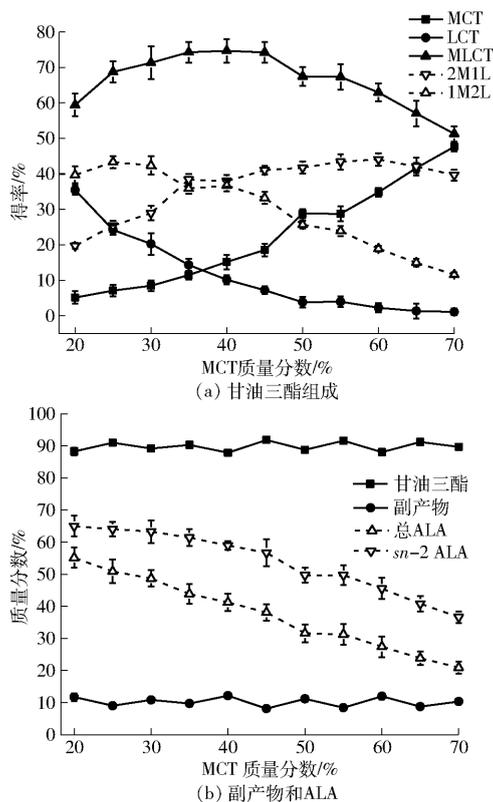


图 2 底物中 MCT 浓度对反应中甘油三酯组成、副产物和 ALA 的影响

Fig.2 Effect of concentration of MCTs on content of triacylglycerols, by-products and ALA

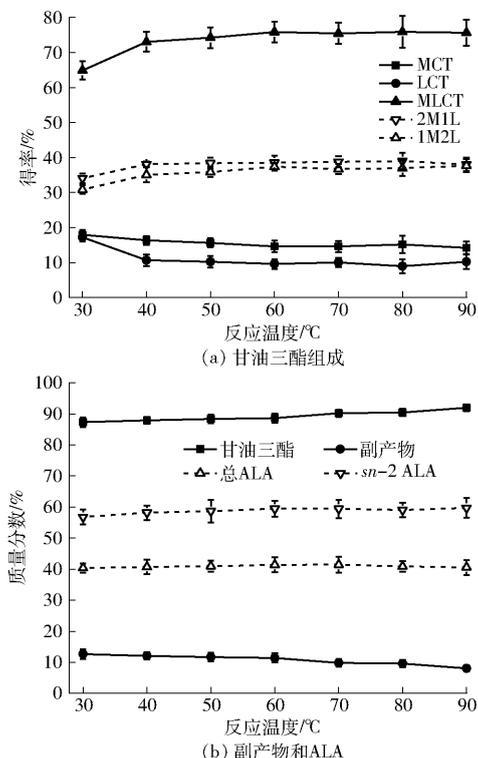


图 3 反应温度对反应中甘油三酯组成、副产物和 ALA 的影响

Fig.3 Effect of temperature on content of triacylglycerols, by-products and ALA

但是本实验中 Lipozyme RM IM 可以耐受高温,并在一个较广的温度范围内保持活性。随着温度的升高,ALA 的总含量先升高后降低,而 *sn*-2 上的 ALA 含量升高(图 3b)。

2.1.4 反应时间

以 6% 脂肪酶催化 MCT 质量分数为 40% 的底物,在 50℃ 下反应不同时间(0.5、1、2、4、6、8、10、12、14 h)。由图 4a 可知,随着反应的进行,MLCT 的得率提高,并在 4 h 达到平衡,1M2L 和 2M1L 得率的变化与 MLCT 的变化相似。如图 4b 所示,副产物随着反应时间的增加而增加,这将导致产物质量下降和精炼成本增加。延长反应时间有助于酯交换反应达到平衡,将中链脂肪酸引入 TAG,但也可能会因为酰基迁移而降低了 ALA 总含量并增加了 *sn*-2 ALA 含量。

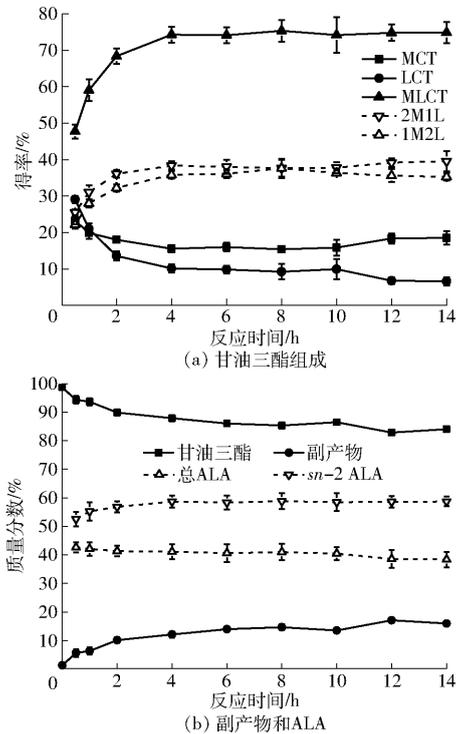


图 4 反应时间对反应中甘油三酯组成、副产物和 ALA 的影响

Fig. 4 Effect of reaction time on content of triacylglycerols, by-products and ALA

2.2 酯交换油脂精炼

2.2.1 甘油酯和脂肪酸含量的变化

在酶促酯交换过程中会产生许多副产物,例如 FFA、DAG 和 MAG^[20]。因此,本研究中减小副产物尤其是游离脂肪酸也是一项重要的目标。酯交换条件如下:酶添加量 6%,底物中 MCT 质量分数 40%,反应温度 60℃,反应时间 4 h。酯交换油脂后的结果如图 5(图中同种物质不同字母表示差异显著)所示,其中 TAG 显著降低至 92.00%,DAG、MAG 和 FFA 含量显著增加,其中 FFA 质量分数为 6.29%;

酯交换油脂经过精炼、两步法除臭、低温脱臭和高温脱臭后 TAG 含量显著增加,其质量分数分别为 98.31%、96.94% 和 98.47%;MAG 和 FFA 含量显著下降,低温除臭后的 FFA 质量分数为 1.44%,远高于两步法脱臭和高温除臭,这表明低温不能有效去除游离脂肪酸。此外,精炼油中还含有大量的多不饱和脂肪酸,如亚油酸和亚麻酸,它们不稳定并可能会在高温下转化为反式脂肪酸(TFA)^[24]。由图 5 可知,高温脱臭促进了 TFA 的形成,质量分数为 10.27%,显著高于两步法脱臭(0.93%)和低温除臭(0.56%)。在两步法除臭过程中,第 1 步(200℃,40 min)除去沸点较低的 FFA,例如 MCFA,第 2 步(240℃,20 min)除去沸点较高的长链脂肪酸,如亚油酸和亚麻酸。由于在高温下该过程的持续时间短,TFA 的形成有限。两步法脱臭结合了高温除臭和低温除臭的优点,它不仅可以去掉 FFA,而且可以限制 TFA 的产生。另外,与化学法脱酸相比,两步法物理脱臭可以纯化酯交换产物并减少中性油的损失^[25],并且比使用 85% 乙醇作为萃取溶剂的阴离子交换树脂纯化方法更加高效^[26]。

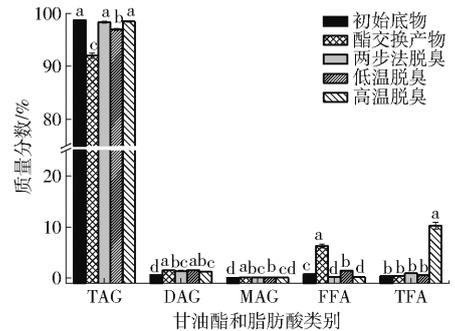


图 5 酯交换和精炼前后甘油酯和脂肪酸含量的变化
Fig. 5 Acylglycerols and fatty acids changed after interesterification and purification

2.2.2 精炼产品中的脂肪酸组成

在脂肪酶的催化下,MCT 中的辛酸和癸酸,紫苏油中的油酸、亚油酸、亚麻酸和其他长链脂肪酸参与酯交换反应,这些脂肪酸在甘油酯中的位置将会重新排列。精炼可以部分除去反应过程中形成的 FFA、MAG 和 DAG,因此精炼产品中的脂肪酸组成会发生变化。与物理混合物相比,酯交换油脂精炼产品的 LCFA 和亚麻酸含量显著增加, α -亚麻酸质量分数高达 44.88%,MCFA 含量显著降低(表 1)。同时,在 *sn*-2 位置,LCFA 和亚麻酸含量明显增加,其质量分数分别为 88.8% 和 59.72%,MCFA 含量明显减少。精炼产品中 MLCT 大部分为 LLM、MLL 和 MLM,而少数为 LML、LMM 和 MML。据报道,MCFA 在 *sn*-1,3 位置、LCFA 在 *sn*-2 位置的甘油三酯可以提高 LCFA 的吸收率,改善吸收不良的情况^[27]。

2.2.3 甘油三酯组成的变化

酯交换作用发生的变化主要体现在甘油三酯组

成上的变化。如图 6 和表 2 所示,反应后 MCT 和 LCT 显著减少,形成 MLCT(包括 2M1L 和 1M2L)。

表 1 紫苏油、MCT、物理混合油和酯交换油的脂肪酸质量分数

Tab.1 Fatty acids composition of perilla oil, MCT, physical blend and purified products

%

脂肪酸	MCT		紫苏油		物理混合		酯交换油	
	总量	sn-2	总量	sn-2	总量	sn-2	总量	sn-2
C8:0	69.16 ± 1.28	45.94 ± 1.34			27.57 ± 0.69	18.13 ± 0.62	23.18 ± 0.89	4.73 ± 1.41
C10:0	30.77 ± 1.29	54.06 ± 1.34			12.63 ± 0.65	21.31 ± 0.76	11.25 ± 0.69	6.46 ± 0.85
C12:0	0.07 ± 0.01				0.08 ± 0.01			
C16:0			5.44 ± 0.22	0.39 ± 0.04	3.47 ± 0.05	0.24 ± 0.05	3.41 ± 0.05	3.45 ± 0.14
C16:1			0.19 ± 0.03	0.09 ± 0.02	0.11 ± 0.02	0.08 ± 0.03	0.08 ± 0.01	
C18:0			1.48 ± 0.11	0.07 ± 0.01	0.98 ± 0.08	0.07 ± 0.01	0.91 ± 0.04	0.84 ± 0.05
C18:1 c			10.47 ± 0.49	14.48 ± 0.23	6.36 ± 0.05	7.98 ± 0.09	6.89 ± 0.15	10.72 ± 0.22
C18:2 t			0.14 ± 0.02	0.23 ± 0.01	0.11 ± 0.03	0.16 ± 0.02	0.06 ± 0.01	
C18:2 c			12.77 ± 0.67	18.29 ± 0.47	7.56 ± 0.07	10.78 ± 0.07	9.19 ± 0.09	13.91 ± 0.21
C18:3 t			0.34 ± 0.03	0.32 ± 0.01	0.24 ± 0.01	0.22 ± 0.02	0.15 ± 0.01	0.17 ± 0.01
C18:3 c			(69.11 ± 1.57) ^a	(66.13 ± 0.77) ^A	(40.89 ± 1.01) ^c	(41.03 ± 1.08) ^C	(44.88 ± 1.24) ^b	(59.72 ± 1.65) ^B
MCFA	100 ^a	100 ^A			(40.28 ± 1.35) ^c	(39.44 ± 1.38) ^B	(34.43 ± 1.57) ^b	(11.19 ± 2.26) ^C
LCFA			100 ^a	100 ^A	(59.72 ± 1.34) ^c	(60.55 ± 1.38) ^C	(65.55 ± 1.58) ^b	(88.80 ± 2.25) ^B

注:不同大写或小写字母表示样品在 0.05 水平差异显著,下同。

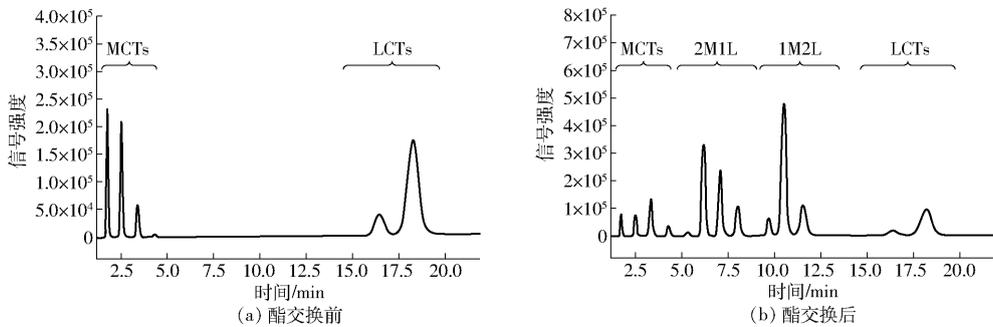


图 6 酯交换前后甘油三酯在气相色谱上的信号强度变化

Fig.6 GC chromatograms of physical blend before and after interesterification

表 2 紫苏油、MCT、物理混合油和酯交换油的质量分数和甘油三酯碳数组成

Tab.2 Triacylglycerols composition of perilla oil, MCT, physical blend and purified products

总碳数	甘油三酯碳数组成	MCT 质量分数/%	紫苏油质量分数/%	质量分数/%	
				物理混合油	酯交换油
C24	(8,8,8)	39.50 ± 0.14		15.80 ± 0.20	3.91 ± 0.16
C26	(8,8,10)	43.52 ± 0.19		17.41 ± 0.17	4.59 ± 0.21
C28	(8,10,10)	15.41 ± 0.05		6.17 ± 0.05	5.74 ± 0.13
C30	(10,10,10)	1.57 ± 0.02		0.63 ± 0.02	1.19 ± 0.19
C32	(8,8,16)				0.83 ± 0.24
C34	(8,10,16), (8,8,18)				19.61 ± 0.11
C36	(8,10,18), (10,10,16)				13.53 ± 0.25
C38	(10,10,18)				4.18 ± 0.11
C40	(8,16,16)				0.05 ± 0.01
C42	(8,16,18), (10,16,16)				2.64 ± 0.13
C44	(10,16,18), (8,18,18)				26.43 ± 0.20
C46	(10,18,18)				7.68 ± 0.22
C48	(16,16,16)		0.06 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.01
C50	(16,16,18)		0.28 ± 0.02	0.16 ± 0.02	0.08 ± 0.01
C52	(16,18,18)		15.73 ± 0.18	9.63 ± 0.06	1.31 ± 0.13
C54	(18,18,18)		83.94 ± 0.19	50.15 ± 0.34	8.18 ± 0.09
MCT		100 ^a		(40.02 ± 0.30) ^b	(15.43 ± 0.45) ^c
2M1L					38.15 ± 0.46
1M2L					36.80 ± 0.25
LCT			100 ^a	(59.98 ± 0.30) ^b	(9.62 ± 0.07) ^c

在 60℃ 下, MCT 质量分数 40% 的底物在 6% 的酶催化下反应 4 h, 达到反应平衡后, 甘油三酯中 MLCT 的质量分数为 74.95%。

3 结束语

40% MCT 和 60% 紫苏油在 6% 的 Lipozyme RM IM

催化作用下, 于 60℃ 进行了 4 h 的酯交换反应, 结果显示甘油三酯中 MLCT 的得率高于 70%。采用两步法脱臭纯化酯交换反应产物, 结果表明, 去除游离脂肪酸的效果明显, 在纯化产物中甘油三酯可以达到 97%, 并且反式脂肪酸质量分数控制在 1% 以内, α -亚麻酸质量分数大于 40%, *sn*-2 位置上 85% 为长链脂肪酸。

参 考 文 献

- [1] 沙爽, 张欣蕊, 唐佳文, 等. 紫苏籽深加工研究进展[J]. 食品工业, 2020, 41(4): 234 - 239.
SHA Shuang, ZHANG Xinrui, TANG Jiawen, et al. Advances in deep processing of perilla seeds[J]. The Food Industry, 2020, 41(4): 234 - 239. (in Chinese)
- [2] 邹兴平, 李红艳, 李夏嘉龙, 等. 几种蛋白壁材制备紫苏油微胶囊[J]. 食品工业, 2019, 40(12): 153 - 156.
ZOU Xingping, LI Hongyan, LI Xiajialong, et al. Different protein preparation of perilla oil microencapsule wall material research[J]. The Food Industry, 2019, 40(12): 153 - 156. (in Chinese)
- [3] BARCELÓ-COBLIJN G, MURPHY E J. Alpha-linolenic acid and its conversion to longer chain n - 3 fatty acids: benefits for human health and a role in maintaining tissue n - 3 fatty acid levels [J]. Progress in Lipid Research, 2009, 48(6): 355 - 374.
- [4] PUNIA S, SANDHU K S, SIROHA A K, et al. Omega 3-metabolism, absorption, bioavailability and health benefits—a review [J]. PharmaNutrition, 2019, 10(8): 100162.
- [5] SALA-VILA A, BARBOSA V M, CALDER P C. Olive oil in parenteral nutrition [J]. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care, 2007, 10(2): 165 - 174.
- [6] RUBIN M, MOSER A, VASERBERG N, et al. Structured triacylglycerol emulsion, containing both medium- and long-chain fatty acids, in long-term home parenteral nutrition: a double-blind randomized cross-over study [J]. Nutrition, 2000, 16(2): 95 - 100.
- [7] 马敏, 邱斌, 孙琪, 等. 中长链结构脂质 MLCT 的研究进展[J]. 食品工业科技, 2020(8): 1 - 11.
MA Min, QIU Bin, SUN Qi, et al. Research progress of medium and long chain structured lipids MLCT[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020(8): 1 - 11. (in Chinese)
- [8] ZHAO H, LU Z, BIE X, et al. Lipase catalyzed acidolysis of lard with capric acid in organic solvent [J]. Journal of Food Engineering, 2007, 78(1): 41 - 46.
- [9] LEE Y Y, TANG T K, PHUAH E T, et al. Palm-based medium-and-long-chain triacylglycerol (P - MLCT): production via enzymatic interesterification and optimization using response surface methodology (RSM) [J]. Journal of Food Science and Technology, 2015, 52(2): 685 - 696.
- [10] 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 & Bioproducts Processing, 2018, 107(4): 121 - 130.
- [11] 伍金华, 周克元. 调节食物中 ω -6 和 ω -3 脂肪酸合适比例研究的进展[J]. 国外医学(卫生学分册), 2006, 33(2): 70 - 73.
- [12] 蒋瑜, 熊文珂, 殷俊玲, 等. 膳食中 ω -3 和 ω -6 多不饱和脂肪酸摄入与心血管健康的研究进[J]. 粮食与油脂, 2016, 29(11): 1 - 5.
JIANG Yu, XIONG Wenke, YIN Junling, et al. Research progress on dietary intake of ω -3 and ω -6 polyunsaturated fatty acid balance and cardiovascular health [J]. Cereals & Oils, 2016, 29(11): 1 - 5. (in Chinese)
- [13] FOMUSO L B, AKOCH C C. Structured lipids: lipase-catalyzed interesterification of triolein and trilinolein [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1998, 75(3): 405 - 410.
- [14] KOH S P, ARIFIN N, LAI O M, et al. Oxidative stability of palm- and soybean-based medium- and long-chain triacylglycerol (MLCT) oil blends [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2009, 89(3): 455 - 462.
- [15] 周飞, 王建宇, 白雪斐, 等. 中长碳链甘油三酯的研究进展[J]. 中国油脂, 2018, 43(7): 67 - 71.
ZHOU Fei, WANG Jianyu, BAI Xuefei, et al. Progress in medium- and long-chain triacylglycerol [J]. China Oils and Fats, 2018, 43(7): 67 - 71. (in Chinese)
- [16] KUMAR F, TYAGI P K, MIR N A, et al. Dietary flaxseed and turmeric is a novel strategy to enrich chicken meat with long chain ω -3 polyunsaturated fatty acids with better oxidative stability and functional properties [J]. Food Chemistry, 2019, 305: 125458.
- [17] MENG Z, GENG W X, LI J W, et al. Enzymatically catalyzed synthesis of anti-blooming agent 1, 3-dibehenoyl-2-oleoyl glycerol in a solvent-free system: optimization by response surface methodology [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(45): 10798 - 10806.
- [18] KARABULUT I, DURMAZ G, HAYALOGLU A A. Fatty acid selectivity of lipases during acidolysis reaction between oleic acid and monoacid triacylglycerols [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(21): 10466 - 10470.
- [19] KIM H, CHOI N, OH S W, et al. Synthesis of α -linolenic acid-rich triacylglycerol using a newly prepared immobilized lipase [J]. Food Chemistry, 2017, 237(12): 654 - 658.

- embedded into carboxyl-terminated self-assembled monolayers[J]. *Phys. Rev. Lett.*, 2015, 115(18): 186101.
- [23] 王永巍,王欣,刘宝林,等. 低场核磁共振技术检测煎炸油品质[J]. *食品科学*, 2012, 33(6): 179-183.
WANG Yongwei, WANG Xin, LIU Baolin, et al. Application of low-field nuclear magnetic resonance (LF-NMR) to analyze frying oil quality[J]. *Food Science*, 2012, 33(6): 179-183. (in Chinese)
- [24] 王雪媛,高琨,陈芹芹,等. 苹果片中短波红外干燥过程中水分扩散特性[J]. *农业工程学报*, 2015, 31(12): 275-281.
WANG Xueyuan, GAO Kun, CHEN Qinqin, et al. Water diffusion characteristics of apple slices during short and medium-wave infrared drying[J]. *Transactions of the CSAE*, 2015, 31(12): 275-281. (in Chinese)
- [25] 宁正祥,黄志良. *食品生物化学*[M]. 广州:华南理工大学出版社, 2006: 408.
- [26] 王相友,魏忠彩,孙传祝,等. 胡萝卜切片红外辐射干燥水分迁移特性研究[J/OL]. *农业机械学报*, 2015, 46(12): 240-245.
WANG Xiangyou, WEI Zhongcai, SUN Chuanzhu, et al. Moisture transfer characteristic of carrot slices by infrared radiation drying[J/OL]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2015, 46(12): 240-245. http://www.j-csam.org/jcsam/ch/reader/view_abstract.aspx?file_no=20151232&flag=1. DOI:10.6041/j.issn.1000-1298.2015.12.032. (in Chinese)
- [27] 张绪坤,祝树森,黄俭花,等. 用低场核磁共振分析胡萝卜切片干燥过程的内部水分变化[J]. *农业工程学报*, 2012, 28(22): 282-287.
ZHANG Xukun, ZHU Shusen, HUANG Jianhua, et al. Analysis on internal moisture changes of carrot slices during drying process using low-field NMR[J]. *Transactions of the CSAE*, 2012, 28(22): 282-287. (in Chinese)
- [28] 夏宝林,丁超,章志华,等. 基于低场核磁成像技术研究稻谷缓苏的机理[J]. *中国粮油学报*, 2019, 34(11): 100-105.
XIA Baolin, DING Chao, ZHANG Zhihua, et al. Researching on the mechanism of rice tempering using the low field magnetic resonance imaging technique[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2019, 34(11): 100-105. (in Chinese)
- [29] 李安琪,武平仓. 特低渗透油藏微米尺度毛细管渗流界面特征[M]. 北京:石油工业出版社, 2014: 30-36.
- [30] 张建平. 改变水分子簇结构对传质过程的影响[D]. 天津:天津大学, 2003.
ZHANG Jianping. Effections of structural changes of water clusters on mass transfer[D]. Tianjin: Tianjin University, 2003. (in Chinese)
- [31] 吴本玠. 红外技术与生物医学[C]//国电子学会生命电子学会委员会全体会议暨全国医疗电子学术交流会, 2001.
- [32] 廉明洋,李青山,杜善钊,等. 远红外线与小分子团水[C]//全国第十五届红外加热暨红外医学发展研讨会, 2015: 234-236.
- [33] 吉喜斌,康尔泗,陈仁升,等. 植物根系吸水模型研究进展[J]. *西北植物学报*, 2006, 26(5): 1079-1086.
JI Xibin, KANG Ersi, CHEN Rensheng, et al. Research advances about water-uptake models by plant roots[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2006, 26(5): 1079-1086. (in Chinese)
- [34] GNANASEKARAN R, XU Y, LEITNER D M. Dynamics of water clusters confined in proteins: a molecular dynamics simulation study of interfacial waters in a dimeric hemoglobin[J]. *Journal of Physical Chemistry B*, 2010, 114(50): 16989.
- [35] SAITO T, YAMANAKA S, KANDA K, et al. Possible mechanisms of water splitting reaction based on proton and electron release pathways revealed for CaMn4O5 cluster of PS II refined to 1.9 Å X-ray resolution[J]. *International Journal of Quantum Chemistry*, 2011, 112(1): 253-276.

(上接第 366 页)

- [20] 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]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(20): 8033-8037.
- [21] 宋海东,魏安池,赵凯艳,等. 影响酶催化制备类可可脂过程中酰基位移和酯交换因素研究[J]. *粮食与油脂*, 2014, 27(2): 1-4.
SONG Haidong, WEI Anchi, ZHAO Kaiyan, et al. Influence factors of acyl migration and enzymatic interesterification during cocoa butter equivalent produced by lipase-catalyzed reaction[J]. *Cereals & Oils*, 2014, 27(2): 1-4. (in Chinese)
- [22] XU X. Enzymatic production of structured lipids: process reactions and acyl migration [J]. *INFORM—International News on Fats, Oils and Related Materials*, 2000, 11(10): 1121-1130.
- [23] WANG B, FU J, LI L, et al. Medium-chain fatty acid reduces lipid accumulation by regulating expression of lipid-sensing genes in human liver cells with steatosis [J]. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2016, 67(3): 288-297.
- [24] 赵芳. 精炼过程对(n-3和n-6)型多不饱和油脂中反式脂肪酸的影响研究[D]. 郑州:河南工业大学, 2012.
ZHAO Fang. The studies on the effects of refining conditions on the trans fatty acids in (n-3/n-6) polyunsaturated oils [D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2012. (in Chinese)
- [25] LU J, JIN Q, WANG X, et al. Preparation of medium and long chain triacylglycerols by lipase-catalyzed interesterification in a solvent-free system [J]. *Process Biochemistry*, 2017, 54(3): 89-95.
- [26] 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]. *LWT—Food Science and Technology*, 2020, 128: 109255.
- [27] MU H, PORSGAARD T. The metabolism of structured triacylglycerols [J]. *Progress in Lipid Research*, 2005, 44(6): 430-448.