

酶法改性微藻油脂制备功能性油脂的研究进展

周志华¹, 洪育翎¹, 陈娜¹, 陈必链^{1,2}, 何勇锦^{1,2}

(1. 福建师范大学生命科学院, 福州 350117; 2. 福建师范大学工业微生物教育部工程研究中心, 福州 350117)

摘要:多不饱和脂肪酸是一类对人体健康有益的生物活性物质, 微藻油脂富含多不饱和脂肪酸, 是天然可食用的潜在油源。利用微藻油脂开发制备型功能性油脂, 替代动植物天然功能性油脂, 不仅可以提高天然功能性油脂的品质, 解决供应问题, 而且有望得到新的功能性油脂制品。对酶法制备功能性油脂的方法、常见微藻的油脂含量及其油脂的脂肪酸组成进行综述, 并对酶法改性微藻油脂制备富含多不饱和脂肪酸的单酰甘油酯、结构三酰甘油酯、功能性磷脂等功能性油脂的研究进展进行了介绍。酶法改性微藻油脂制备功能性油脂是高值化利用微藻油脂的新途径。

关键词: 脂肪酶; 微藻油脂; 改性; 功能性油脂; 多不饱和脂肪酸

中图分类号: Q814.9; TS225.6 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2023)02-0079-07

Research progress on preparation of functional lipids by enzymatic modification of microalgal oil

ZHOU Zhihua¹, HONG Yuling¹, CHEN Na¹, CHEN Bilian^{1,2}, HE Yongjin^{1,2}

(1. College of Life Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou 350117, China; 2. Engineering Research Center of Industrial Microbiology of Ministry of Education, Fujian Normal University, Fuzhou 350117, China)

Abstract: Polyunsaturated fatty acids (PUFAs) are health-beneficial bioactive compounds. Microalgal oils are natural and edible potential bioresources rich in PUFAs. Using microalgal oils to produce prepared functional lipids to replace natural animal and vegetable functional lipids not only can solve the bottleneck in the quality and supply for natural functional lipids, but also hopefully obtain new functional lipids products. The preparation of functional lipids by enzymatic method, lipid content and fatty acid composition of common microalgae were summarized, and the research progress on the preparation of functional lipids such as monoglycerides, structural triacylglycerides and functional phospholipid rich in PUFAs by enzymatic modification of microalgal oil was introduced. Preparation of functional lipids by enzymatic modification of microalgal oil is an new way for high-value utilization of microalgal oil.

Key words: lipase; microalgal oil; modification; functional lipid; polyunsaturated fatty acid

功能性油脂是一类含有生物活性物质并表现其生理功能的脂类, 对预防和/或治疗心血管疾病如高血压、肿瘤、糖尿病等具有重要的作用^[1-2]。功能性油脂的主要活性物质包括多不饱和脂肪酸[如亚油

酸(LA)、 α -亚麻酸(ALA)、 γ -亚麻酸(GLA)、二十碳四烯酸(AA)、二十碳五烯酸(EPA)、二十二碳六烯酸(DHA)]和磷脂(如磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺等)^[2]。

功能性油脂包括天然功能性油脂和定向改性的功能性油脂即制备型功能性油脂。与天然功能性油脂相比, 利用化学或生物方法定向改性天然油脂获得的制备型功能性油脂, 可为特殊人群定向递送所需的活性物质, 发挥更大的效能, 成为当前功能性油脂的研究热点^[3]。目前, 用于开发制备型功能性油脂的天然油脂主要是鱼油和植物油(如橄榄油、大麻籽油、菜籽油)^[3]。然而, 由于日益严重的环境污

收稿日期: 2021-11-26; 修回日期: 2022-09-28

基金项目: 福建省科学计划项目引导性项目(2020N0008); 福建师范大学碳中和研究院开放项目(TZH2022-03); 国家自然科学基金面上项目(32172997)

作者简介: 周志华(1972), 女, 实验师, 研究方向为微藻培养(E-mail) zzh-bio@fjnu.edu.cn。

通信作者: 何勇锦, 副研究员(E-mail) heyj1234@163.com。

染、动植物生长周期长等原因,制约了制备型功能性油脂的开发与应用^[4]。微藻油脂富含多不饱和脂肪酸,是天然可食用的潜在油源^[5-6]。为此,研究者利用微藻油脂研发高附加值的制备型功能性油脂,以替代动植物天然功能性油脂,不仅可提高天然功能性油脂的品质,解决供应问题,而且有望得到新的功能性油脂制品。

功能性油脂的制备方法有化学法和酶法。化学法制备功能性油脂往往需要强酸或强碱、高温、高压等条件,会使多不饱和脂肪酸氧化,影响产物的品质;此外,化学法所使用的催化剂对催化甘油骨架的羟基位置(sn-1,2,3位)表现出非位置选择性。因此,化学法制备功能性油脂并不是一种定向绿色节能的方法。酶法制备功能性油脂具有反应条件温和、催化效率高、脂肪酸底物催化特异性等特点,成为当前研发制备型功能性油脂的首选方法。

基于此,结合课题组对微藻油脂的研究,本文就酶法制备功能性油脂的方法、常见微藻的油脂含量及脂肪酸组成和酶法改性微藻油脂制备功能性油脂产品的研究进展进行综述,以期利用微藻油脂研发新型定向的功能性油脂提供理论依据。

1 酶法制备功能性油脂的方法

基于酶法制备功能性油脂方法的一致性,以鱼油为例进行论述。

1.1 酯交换反应

酶法催化酯交换反应制备功能性油脂主要是利用脂肪酶催化特定脂肪酸与三酰甘油酯底物的脂肪酸发生酯交换,获得所需的功能性三酰甘油酯结构脂。目前,采用酶法酯交换反应制备功能性三酰甘油的脂肪酶有 sn-1,3 位特异性脂肪酶和非位置特异性脂肪酶。如:郑富良等^[7]采用脂肪酶 Novozym 435 催化樟树籽仁油和乙酯型鱼油进行酯交换,提高樟树籽仁油的 $\omega-3$ 多不饱和脂肪酸含量,通过对樟树籽仁油和产物的脂肪酸组成及位置分布分析推断出 Novozym 435 表现出非位置特异性。Chen 等^[8]利用响应面法优化 Lipozyme RM IM 催化三癸酸甘油酯和 $\omega-3$ 多不饱和脂肪酸(33% EPA 和 22% DHA)制备 ABA 型三酰甘油酯(A 为 $\omega-3$ 多不饱和脂肪酸,B 为癸酸)的条件,结果表明,Lipozyme RM IM 主要表现 sn-1,3 位的选择性, $\omega-3$ 多不饱和脂肪酸嵌合率最高达约 55%。然而,在酯交换过程中,sn-1,3 位特异性脂肪酶往往会产生酰基转移现象,即 sn-1,3 位上的脂肪酸与 sn-2 位的脂肪酸发生交换。在 Chen 等^[8]的研究中,Lipozyme RM IM 酰基转移率最高可达 20.2%。有研究报道,在酯交换反应中,sn-1,3 位特异性脂肪酶的酰基转移率很大程度上取决于其催化条件(如温度、底物浓度、酶载量

等)^[9]。因此,可通过优化催化条件,获得纯度更高的制备型功能性油脂制品。

1.2 醇解反应

脂肪酶催化的醇解反应(或称转酯化反应)是利用脂肪酸三酰甘油酯底物与醇类试剂(如伯醇和仲醇)反应生成脂肪酸醇酯、甘油和甘油酯(二酰甘油酯和单酰甘油酯)。Valverde 等^[10]从 6 种商用脂肪酶中筛选得到最适富集金枪鱼鱼油 DHA(初始 DHA 含量为 22.9%)的生物催化剂,即 Lipozyme TL IM,在最适醇解催化条件(反应温度 35 °C、乙醇与鱼油物质的量比 2.3:1、酶载量为鱼油质量的 5% 和反应时间 48 h)下,Lipozyme TL IM 催化获得的甘油酯 DHA 含量可达 45%,比鱼油 DHA 含量提高近 1 倍。Valverde 等^[11]研究发现:对于富集 DHA,在反应温度 35 °C、异丁醇与鱼油物质的量比 2.3:1 和酶载量为鱼油质量的 20% 的条件下,Lipozyme TL IM 催化醇解金枪鱼油 48 h,制备的甘油酯 DHA 含量可达 69%;对于富集 EPA,在反应温度 35 °C、异丁醇与鱼油物质的量比 2.3:1 和酶载量为鱼油质量的 40% 的条件下,产碱杆菌(*Alcaligenes* sp.)脂肪酶 QLG 催化沙丁鱼油(初始 EPA 含量为 19%)24 h,制备的甘油酯 EPA 含量可达 61%,提高了 2.21 倍。利用脂肪酶催化法也可制备富含 $\omega-3$ 多不饱和脂肪酸的乙酯型制品。Melgosa 等^[12]研发了以超临界二氧化碳流体为介质,利用 Lipozyme RM IM 催化鱼油制备乙酯型鱼油,在最优催化条件(乙醇与鱼油物质的量比 6:1、压力 30 MPa、温度 323.15 K、酶载量 5%)下,乙酯转化率为 86%。

1.3 水解反应

脂肪酶催化的水解反应是一种非均相催化体系,脂肪酶只在油脂底物与水的接触面发生催化反应。目前,已有很多研究利用脂肪酶水解催化富集 $\omega-3$ 多不饱和脂肪酸甘油酯,如陈莹等^[13]研究发现,皱褶假丝酵母脂肪酶催化水解金枪鱼油富集 DHA 的最佳工艺条件为水油质量比 1:1.7、脂肪酶添加量 1%、水解温度 50 °C、水解时间 3 h,在此条件下水解产物甘油酯中 DHA 含量为 35.55%,比原料油 DHA 含量提高了 44.57%。当前,脂肪酶水解富集 $\omega-3$ 多不饱和脂肪酸甘油酯面临着一些挑战,主要是水解率不高和富集能力低。Akanbi 等^[14]通过调节水解反应体系的 pH 维持在 7.0,可提高疏棉状嗜热丝孢菌脂肪酶(*Thermomyces lanuginosus* lipase)对鳀鱼鱼油的水解度(水解率约为 60%),甘油酯中 DHA 含量提高到 24%。因此,如何有效地提高脂肪酶的水解率和 $\omega-3$ 多不饱和脂肪酸富集

水平是今后脂肪酶水解富集 $\omega-3$ 多不饱和脂肪酸甘油酯的重点研究方向^[15]。

对于 sn-2 位特异性脂肪酶催化的水解反应, Rogalska 等^[16]研究了 25 种脂肪酶对三油酸甘油酯和三辛酸甘油酯底物水解位置的特异性,结果表明:在两种底物水解过程中,南极假丝酵母脂肪酶 A (*Candida antarctica* lipase A, CALA)、皱褶假丝酵母脂肪酶 (*Candida rugosa* lipase, CRL)、白地霉脂肪酶 B (*Geotrichum candidum* lipase B, GCB)、白地霉脂肪酶 (*Geotrichum candidum* lipase Münster, GCM) 和筒青霉脂肪酶 (*Penicillium simplicissimum* lipase, PS) 都表现出催化 sn-2 位的特异性。值得注意的是,当 CALA 用于催化水解含 DHA 的微藻油脂时,该酶则表现出非位置选择性和脂肪酸底物选择性。例如, Akanbi 等^[17]研究发现,先利用 CALA 水解裂殖壶藻藻油,再利用 Lipozyme TL 100L 进一步水解 CALA 处理的裂殖壶藻藻油,最终目标产物甘油酯的 DHA 含量可达 89%。

2 微藻油脂

微藻被认为是一个非常具有潜力的细胞工厂,可合成多种生物活性物质,包括多不饱和脂肪酸、氨基酸、多糖、色素等,已被广泛应用于食品、医药、水产、饲料、生物能源等领域。中国卫生部、美国食品药品监督管理局、欧盟新食品管理局等机构已批准将小球藻、裂殖壶藻、寇氏隐甲藻、螺旋藻、杜氏盐藻、雨生红球藻、微拟球藻、三角褐指藻等藻粉列为新资源食品^[6,18]。因此,这些藻种所合成的油脂,可被认定为可食用的新油源。

不同微藻藻种拥有自身独特的脂肪酸和油脂代谢,使其合成的油脂含量和脂肪酸类型存在较大差异。有研究报道,小球藻合成油脂可占生物质的 10%~60%,棕榈酸、油酸、LA、ALA 是其合成的主要脂肪酸^[19]。异养培养裂殖壶藻可合成约 50% 油脂,其中多不饱和脂肪酸主要是二十二碳五烯酸 (DPA) 和 DHA^[6]。表 1 总结了常见微藻的油脂含量和多不饱和脂肪酸类型及其含量。

表 1 常见微藻的油脂含量和多不饱和脂肪酸类型及含量

藻种	油脂含量/%	多不饱和脂肪酸类型及含量	参考文献
绿藻			
普通小球藻 (<i>Chlorella vulgaris</i> Carolina 15-2075)	22.8	HDA 3.63%, HTA 2.54%, LA 41.1%, ALA 10.5%	[19]
小球藻 (<i>Chlorella zofngiensis</i> ATCC 30412)	28	HDA 2.38%, HTA 1.85%, LA 23.7%, ALA 9.8%, SDA 1.62%	[19]
普通小球藻 (<i>Chlorella vulgaris</i> UTEX 395)	26.4	HDA 4.6%, HTA 2.34%, LA 16.2%, ALA 6.5%	[19]
蛋白核小球藻 (<i>Chlorella pyrenoidosa</i> FACHB-9)	25.1	HDA 6.59%, HTA 9.07%, LA 29.4%, ALA 12.6%	[19]
微拟球藻 (<i>Nannochloropsis oceanica</i> IMET1)	15.9	LA 3.4%, ALA 0.5%, AA 0.4%, EPA 2.28%	[19]
微拟球藻 (<i>Nannochloropsis salina</i> CCMP 537)	19.4	LA 5.9%, ALA 0.4%, AA 0.88%, EPA 3.07%	[19]
原始小球藻 (<i>Chlorella protothecoides</i>)	55.2	LA 17.28%	[20]
微拟球藻 (<i>Nannochloropsis oceanica</i> FJ-1)	33.91	LA 0.62%, ALA 0.31%, AA 4.09%, EPA 19.68%	[21]
扁藻 (<i>Tetraselmis suecica</i>)	约 20	ALA 6.8%, SDA 1.7%, EPA 1.63%, DHA 0.08%	[22]
金藻			
等鞭金藻 (<i>Isochrysis</i> sp. ISO-FJ)	22.9	LA 7.5%, ALA 3.1%, SDA 6.57%, EPA 0.77%, DHA 2.17%	[19]
等鞭金藻 (<i>Isochrysis galbana</i> UTEX 2307)	19.2	LA 2.0%, ALA 2.7%, SDA 9.95%, EPA 1.4%, DHA 3.69%	[19]
等鞭金藻 (<i>Isochrysis T-iso</i>)	约 20	ALA 2.9%, SDA 4.3%, EPA 2.8%, DHA 4.6%	[22]
硅藻			
三角褐指藻 (<i>Phaeodactylum tricorutum</i> UTEX 646)	22.7	LA 0.6%, ALA 0.5%, EPA 17.5%	[19]
三角褐指藻 (<i>Phaeodactylum tricorutum</i>)	8	ALA 0.08%, SDA 0.19%, EPA 11.1%, DPA 0.11%, DHA 0.83%	[22]
菱形藻 (<i>Nitzschia laevis</i> UTEX 2047)	16.6	LA 2.2%, ALA 0.4%, AA 6.58%, EPA 12.62%	[19]
海链藻 (<i>Thalassiosira pseudonana</i>)	约 17	ALA 0.19%, SDA 2.04%, EPA 8.1%, DPA 0.18%, DHA 2.09%	[22]
红藻			
紫球藻 (<i>Porphyridium cruentum</i>)		ALA 0.14%, AA 13.61%~18.41%, EPA 8.81%~16.15%	[22]
紫球藻 (<i>Porphyridium cruentum</i> FJ-12)	5~7	LA 9.09%~13%, ALA 0.31%~1.95%, AA 13.61%~18.41%, EPA 8.81%~16.15%	[23]
其他			
裂殖壶藻 (<i>Schizochytrium</i> sp.)	39.6	AA 0.6%, EPA 0.46%, DPA 5.83%, DHA 29.7%	[24]
寇氏隐甲藻 (<i>Cryptocodinium cohnii</i> ATCC 30556)	20	DHA 36.97%	[25]

注:文献[22]的多不饱和脂肪酸含量是基于微藻生物质的含量,其他文献的数据是基于油脂总脂肪酸的含量

由表 1 可知,小球藻可合成较丰富的 LA 和 ALA, EPA 是部分微拟球藻和硅藻合成含量最高的多不饱和脂肪酸,等鞭金藻倾向合成十八碳四烯酸(SDA)。值得注意的是,裂殖壶藻和寇氏隐甲藻合成的 DHA 含量最高。从多不饱和脂肪酸组成上分析,微藻油脂的多不饱和脂肪酸可替代鱼油或植物油的一种或几种多不饱和脂肪酸(见表 2),成为部分或完全替代鱼油或植物油的新油源,用于开发潜在的功能性油脂。此外,某些小球藻还可以合成某些特殊的多不饱和脂肪酸,如蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa* FACHB-9)油脂含 6.59% 十六碳二烯酸(HDA)和 9.07% 十六碳三烯酸(HTA)。这些脂肪酸在鱼油和陆生植物籽油中尚未检测到或含量很低。对于 HDA、HTA 等特殊脂肪酸的生物学功能,还尚未见报道。有研究发现,粉红螺旋聚孢霉(*Clonostachys rosea*)可合成较高含量的共轭 4-甲基-6,8-十六碳二烯酸(占总脂肪酸含量的 23%),该脂肪酸可有效抑制 MCF 乳腺癌细胞的生存能力和油脂代谢乙酰 CoA 羧化酶与脂肪酸合成酶基因的表达水平^[26]。

表 2 鱼油和部分植物油的多不饱和脂肪酸类型及含量

鱼油/植物油	多不饱和脂肪酸类型及其含量	参考文献
鱼油	HDA 0 ~ 1.1%, HTA 0 ~ 1.1%, LA 0.5% ~ 3.4%, ALA 0 ~ 1.2%, GLA 0 ~ 0.9%, SDA 0.3% ~ 2.1%, AA 0.2% ~ 4.4%, EPA 1% ~ 15.1%, DPA 0 ~ 3.8%, DHA 2.3% ~ 32.8%	[27]
玉米油	LA 57.6%, ALA 5.3%	[28]
葡萄籽油	LA 68.1%, ALA 0.1%	[28]
亚麻籽油	LA 14.1%, ALA 46.5%	[28]
葵花籽油	LA 64.1%, ALA 0.79%	[28]
大豆油	LA 44.1%, ALA 2.7%	[28]
百香果籽油	LA 63.2%, ALA 0.9%	[28]

目前关于改性微藻油脂的研究主要集中在含 DHA 的裂殖壶藻或寇氏隐甲藻藻油。不同微藻藻种可合成含不同多不饱和脂肪酸类型的油脂。因此,利用这些微藻油脂,有望研发出含有特殊脂肪酸的功能性油脂新制品,并挖掘出它们的潜在生物学功能。

3 酶法改性微藻油脂制备功能性油脂产品

3.1 富含多不饱和脂肪酸的单酰甘油酯

单酰甘油酯有一个亲油的脂肪酸链和两个亲水的羟基,具有良好的表面活性,包括 1-单酰甘油酯和 2-单酰甘油酯两种构型。目前,单酰甘油酯是世界上用量最大的食品乳化剂,占乳化剂总量的 1/3 ~ 2/3。近年来,有研究报道,食用含 $\omega-3$ 多不饱和脂肪酸的单酰甘油酯更有利于机体组织积累

$\omega-3$ 多不饱和脂肪酸,进而发挥 $\omega-3$ 多不饱和脂肪酸的生理功能^[29]。因此,研发富含多不饱和脂肪酸的单酰甘油酯成为改性微藻油脂研究领域的一个重要方面。Zhang 等^[30]利用 Lipozyme 435 催化醇解 DHA 藻油制备 sn-2 位富含 DHA 的单酰甘油酯,在最优条件下,产物单酰甘油酯的主要成分是 2-单酰甘油酯(纯度为 95%),纯化所得 2-单酰甘油酯的 DHA 含量可达 75.66%。本课题组研发了一种脂肪酶直接催化醇解酶破壁的裂殖壶藻藻粉高效富集多不饱和脂肪酸工艺,在最佳工艺条件下,脂肪酶 CALA 催化乙醇醇解获得单酰甘油酯的 DHA 和 DPA 含量分别可达 77.93% 和 15.15%^[24]。He 等^[31]将该工艺用于催化微拟球藻藻粉富集 EPA 时发现,在最佳工艺条件下,微拟球藻藻油的 EPA 含量从 40.34% 提高到 60.81%。与富集裂殖壶藻 DHA 相比,脂肪酶 CALA 富集微拟球藻 EPA 的效果较差。这可能是因为不同藻粉的油脂类型(中性脂、糖脂和磷脂)和脂肪酸组成存在较大差异,影响脂肪酶对油脂底物的催化性能。对于富集 SDA,脂肪酶 CALA 催化醇解等鞭金藻三酰甘油酯获得单酰甘油酯的 SDA 含量可达 60.69%^[32]。这些研究结果表明,在脂肪酶催化醇解反应过程中,脂肪酶 CALA 是一种高效富集多不饱和脂肪酸的生物催化剂。

3.2 结构三酰甘油酯

结构三酰甘油酯常用酶法将特定脂肪酸嵌入到甘油骨架的 sn-1,2 位和/或 sn-3 位上,进而发挥其生物学功能^[33]。Wang 等^[34]利用 Lipozyme RM IM 催化裂殖壶藻三酰甘油酯与油酸发生酸解反应,使藻油三酰甘油酯底物的总饱和脂肪酸含量从 24.49% 降低至 6.95%,可促进婴幼儿对该结构脂的吸收和减少钙离子的流失。Li 等^[35]以裂殖壶藻藻油和月桂酸为底物,经米曲霉脂肪酶 Lipozyme AOAB8 进行酸解反应制备中长链脂肪酸的结构脂,该结构脂的月桂酸和 DHA 含量分别为 30.91% 和 44.68%,可为婴幼儿奶粉递送定向的功能性油脂,具有提高婴幼儿的免疫力、激活脑部胶质细胞的酮生成等生物学功能。本课题组以 Lipozyme TL IM 为催化剂,研发两步法酶催化等鞭金藻三酰甘油酯制备中链-饱和 + $\omega-3$ 多不饱和脂肪酸-中链的新型三酰甘油酯结构脂,即第一步脂肪酶催化等鞭金藻藻油醇解制备 2-单酰甘油酯,随后再利用回收的脂肪酶催化 2-单酰甘油酯和辛酸制备新型结构三酰甘油酯^[36]。该新型结构三酰甘油酯可用于特殊患者食用,促进机体利用辛酸进行油脂 β -氧化提供能量和降低钙离子流失,同时 sn-2 位含有 $\omega-3$

多不饱和脂肪酸可提高患者的机体免疫力。

人乳替代脂属于结构三酰甘油酯的一种,对婴幼儿生长和发育起着至关重要的作用^[37]。本课题组利用脂肪酶催化微拟球藻三酰甘油酯和等鞭金藻游离脂肪酸改性制备含 ALA、SDA 和 DHA 的新型人乳替代脂,为婴幼儿提供多种 $\omega-3$ 多不饱和脂肪酸^[38]。将所制备的新型人乳替代脂饲喂刚断奶的 SD 大鼠,结果表明,饲喂 28 d 后,SD 大鼠的大脑和肝脏组织的 EPA、DPA 和 DHA 含量与饲料的 $\omega-3$ 多不饱和脂肪酸含量存在正相关性^[39]。这说明该新型人乳替代脂对机体脑部等组织的发育发挥重要作用。

3.3 功能性磷脂

微藻可以合成磷脂,有研究指出,微藻油脂合成过程中,多不饱和脂肪酸往往倾向于分布在磷脂结构上^[40]。Devos 等^[41]研究发现,等鞭金藻所合成的 DHA 主要分布在磷脂上,磷脂的 DHA 含量(50%)远高于中性脂和糖脂的 DHA 含量(小于 10%)。米根霉(*Rhizopus oryzae*)和爪哇毛霉(*Mucor javanicus*)的脂肪酶催化水解处理等鞭金藻磷脂,都能有效地提高磷脂的 DHA 含量,即 DHA 含量由 50% 提高至 80% 左右。

与淡水藻相比,海洋微藻更倾向合成 AA、EPA、DHA 等脂肪酸^[5-6,18-19],如微拟球藻的中性脂和磷脂的 EPA 含量分别为 37.19% 和 52.51%^[31]。本课题组以提取的微拟球藻磷脂为底物,利用脂肪酶醇解和水解催化微藻磷脂联产制备溶血磷脂和多不饱和脂肪酸^[31]。此外,利用脂肪酶 Lipozyme TL IM 催化微拟球藻磷脂和辛酸反应制备结构磷脂,经优化后辛酸嵌合效率最高可达 31.6%^[42]。

4 展望

微藻作为一类光自养生物,通过固定二氧化碳和光合作用,可合成对人类健康有益的生物活性物质,如多不饱和脂肪酸。目前,利用微藻油脂开发制备型功能性油脂尚处于起步阶段,需要科技工作者通过研发高效的脂肪酶催化改性微藻油脂工艺,筛选适合脂肪酶定向催化特定脂肪酸底物,研制适合催化微藻油脂的酶生物反应器等研究工作,推动酶法改性微藻油脂制备功能性油脂的工业化发展。同时,利用微藻油脂获得功能性油脂新制品,需要进一步评估其安全性和功能性,为特殊人群递送精准的生物制品。随着微藻生物技术和酶工程的不断发展,利用脂肪酶改性微藻油脂制备的功能性油脂在医药、保健品等领域的应用将更加全面和精准,有望成为生物产业的新增长点。

参考文献:

- [1] 董青,李敏,杨亦文,等. EPA 和 DHA 的分离研究进展[J]. 中国油脂,2019,44(11):15-20.
- [2] POLOKOWSKI A R, SHAKIL H, CARMICHAEL C L, et al. *Omega-3* fatty acids and anxiety: a systematic review of the possible mechanisms at play [J]. *Nutr Neurosci*, 2020, 23(7): 494-504.
- [3] GUO Y L, CAI Z X, XIE Y P, et al. Synthesis, physicochemical properties, and health aspects of structured lipids: a review [J]. *Compr Rev Food Sci F*, 2020, 19(2): 759-800.
- [4] 代志凯,李祥清,陈子杰,等. 国产与进口鱼油品质分析比较[J]. 中国油脂,2018,43(6):51-55.
- [5] MATOS J, CARDOSO C, BANDARRA N M, et al. Microalgae as healthy ingredients for functional food: a review[J]. *Food Funct*, 2017, 8:2672-2685.
- [6] DA SILVA VAZ B, MOREIRA J B, DE MORAIS M G, et al. Microalgae as a new source of bioactive compounds in food supplements[J]. *Curr Opin Food Sci*, 2016, 7: 73-77.
- [7] 郑富良,杨斌,黄济勇,等. 酶法改性樟树籽仁油制备含 $\omega-3$ 多不饱和脂肪酸结构脂质及其理化性质与抗氧化活性[J]. 中国油脂,2020,45(12):76-83.
- [8] CHEN B Q, ZHANG H, CHEONG L Z, et al. Enzymatic production of ABA-type structured lipids containing *omega-3* and medium-chain fatty acids: effects of different acyl donors on the acyl migration rate[J]. *Food Bioproc Tech*, 2012, 59(1): 541-547.
- [9] 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.
- [10] VALVERDE L M, MORENO P A G, QUEVEDO A R, et al. Concentration of docosahexaenoic acid (DHA) by selective alcoholysis catalyzed by lipases [J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2012, 89: 1633-1645.
- [11] VALVEDE L M, MORENO P A G, CERDAN L E, et al. Concentration of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids by enzymatic alcoholysis with different acyl-acceptors [J]. *Biochem Eng J*, 2014, 91: 163-173.
- [12] MELGOSA R, SANZ M T, SOLAESA Å G, et al. Supercritical carbon dioxide as solvent in the lipase-catalyzed ethanolysis of fish oil: kinetic study [J]. *J CO₂ Util*, 2017, 17:170-179.
- [13] 陈莹,CHEONG L Z,赵家和,等. 响应面法的脂肪酶富集金枪鱼油中二十二碳六烯酸甘油酯工艺优化的研究 [J]. 中国粮油学报,2019,34(9):72-79.
- [14] AKANBI T O, ADCOCK J L, BARROW C J. Selective concentration of EPA and DHA using *Thermomyces lanuginosus* lipase is due to fatty acid selectivity and not regioselectivity [J]. *Food Chem*, 2013, 138: 615-620.

- [15] CASTEJÓN N, SEÑORÁNS F J. Enzymatic modification to produce health – promoting lipids from fish oil, algae and other new *omega* – 3 sources; a review [J]. *New Biotechnol*, 2020, 57(25): 45 – 54.
- [16] ROGALSKA E, CUDERY C, FERRATO F, et al. Stereoselective hydrolysis of triglycerides by animal and microbial lipases[J]. *Chirality*, 1993, 5: 24 – 30.
- [17] AKANBI T O, BARROW C J. *Candida antarctica* lipase A effectively concentrates DHA from fish and *Thraustochytrid* oils[J]. *Food Chem*, 2017, 229:509 – 516.
- [18] MATOS J, CARDOSO C, BANDARRA N M, et al. Microalgae as healthy ingredients for functional food: a review[J]. *Food Funct*, 2017, 8:2672 – 2685.
- [19] HE Y J, WU T, SUN H, et al. Comparison of fatty acid composition and positional distribution of microalgae triacylglycerols for human milk fat substitutes[J]. *Algal Res*, 2019, 37: 40 – 50.
- [20] XU H, MIAO X L, WU Q Y. High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters[J]. *J Biotechnol*, 2006, 126(4): 499 – 507.
- [21] HE Y J, ZHANG B B, GUO S, et al. Sustainable biodiesel production from the green microalgae *Nannochloropsis*: novel integrated processes from cultivation to enzyme – assisted extraction and ethanolysis of lipids[J/OL]. *Energy Convers Manag*, 2020, 209: 112618 [2021 – 11 – 26]. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2020.112618>.
- [22] RYCKEBOSCH E, BRUNEEL C, TERMOTE – VERHALLE R, et al. Nutritional evaluation of microalgae oils rich in *omega* – 3 long chain polyunsaturated fatty acids as an alternative for fish oil[J]. *Food Chem*, 214, 160: 393 – 400.
- [23] HUANG Z C, ZHONG C, DAI J X, et al. Simultaneous enhancement on renewable bioactive compounds from *Porphyridium cruentum* via a novel two – stage cultivation [J/OL]. *Algal Res*, 2021, 55: 102270 [2021 – 11 – 26]. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102270>.
- [24] HE Y J, WANG X F, ZHANG Y, et al. Enzymatic ethanolysis subjected to *Schizochytrium* biomass: sequential processing for DHA enrichment and biodiesel production[J]. *Energy Convers Manag*, 2019, 184: 159 – 171.
- [25] LIU B, LIU J, SUN P P, et al. Sesamol enhances cell growth and the biosynthesis and accumulation of docosahexaenoic acid in the microalga *Cryptocodinium cohnii*[J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63: 5640 – 5645.
- [26] DOS SANTOS DIAS A C, RUIZ N, COUZINET – MOSSION A, et al. The marine – derived fungus *Clonostachys rosea*, source of a rare conjugated 4 – Me – 6E, 8E – hexadecadienoic acid reducing viability of MCF – 7 breast cancer cells and gene expression of lipogenic enzymes[J]. *Mar Drugs*, 2015, 13(8): 4934 – 4948.
- [27] SIGURGISLADÓTTIR S, PÁLMAÐÓTTIR H. Fatty acid composition of thirty – five Icelandic fish species[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 1993, 70(11): 1081 – 1087.
- [28] ALVES A Q, SILVA V A, GÓES A J S, et al. The fatty acid composition of vegetable oils and their potential use in wound care [J]. *Adv Skin Wound Care*, 2019, 32(8): 1 – 8.
- [29] DESTAILLATS F, OLIVEIRA M, SCHMID V B, et al. Comparison of the incorporation of DHA in circulatory and neural tissue when provided as triacylglycerol (TAG), monoacylglycerol (MAG) or phospholipids (PL) provides new insight into fatty acid bioavailability [J/OL]. *Nutrients*, 2018, 10(5): 620 [2021 – 11 – 26]. <https://doi.org/10.3390/nu10050620>.
- [30] ZHANG Y, WANG X S, ZOU S, et al. Synthesis of 2 – docosahexaenoylglycerol by enzymatic ethanolysis [J]. *Bioresour Technol*, 2018, 251: 334 – 340.
- [31] HE Y J, WANG X F, WEI H H, et al. Direct enzymatic ethanolysis of potential *Nannochloropsis* biomass for co – production of sustainable biodiesel and nutraceutical eicosapentaenoic acid [J/OL]. *Biotechnol Biofuels*, 2019, 12: 78 [2021 – 11 – 26]. <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1418-7>.
- [32] HE Y J, LI J B, KODALI S, et al. The near – ideal catalytic property of *Candida antarctica* lipase A to highly concentrate *n* – 3 polyunsaturated fatty acids in monoacylglycerols via one – step ethanolysis of triacylglycerols[J]. *Bioresour Technol*, 2016, 219: 466 – 478.
- [33] 徐文迪, 缪智诚, 王小三, 等. 酶法合成中长链甘油三酯 [J]. *中国油脂*, 2019, 44(8): 51 – 56.
- [34] WANG J, WANG X, ZHAO X, et al. From microalgae oil to produce novel structured triacylglycerols enriched with unsaturated fatty acids [J]. *Bioresour Technol*, 2015, 184: 405 – 414.
- [35] LI Y, LI C, FENG F Q, et al. Synthesis of medium and long – chain triacylglycerols by enzymatic acidolysis of algal oil and lauric acid [J/OL]. *LWT – Food Sci Technol*, 2021, 136(1): 110309 [2021 – 11 – 26]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110309>.
- [36] HE Y J, LI J B, GUO Z, et al. Synthesis of novel medium – long – medium type structured lipids from microalgae oil via two – step enzymatic reactions [J]. *Proc Biochem*, 2018, 68: 108 – 116.
- [37] 韦伟, 张星河, 金青哲, 等. 人乳脂中甘油三酯分析方法及其组成的研究进展 [J]. *中国油脂*, 2017, 42(12): 35 – 39.

到 0.12 mg/mL 时, $ABTS^+$ 清除率达 83.55%, 随着芝麻叶多酚质量浓度的增加, 其对 $ABTS^+$ 的清除能力逐渐接近 V_c 。

2.4.3 Fe^{3+} 还原力(见图 9)

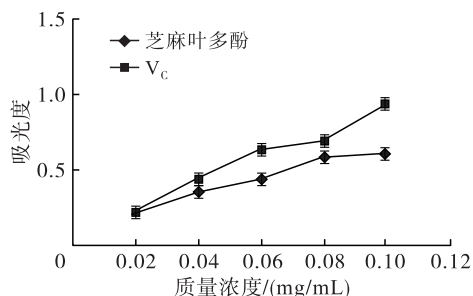


图 9 芝麻叶多酚、 V_c 对 Fe^{3+} 的还原力

由图 9 可知, 随着芝麻叶多酚质量浓度的提高, 其对 Fe^{3+} 的还原力逐渐增强。

3 结论

采用单因素实验和响应面实验对芝麻叶多酚的超声微波辅助提取工艺条件进行优化, 得到芝麻叶多酚的最佳提取工艺条件为乙醇体积分数 70%、料液比 1:30、浸提温度 45 °C、超声功率 160 W、超声时间 25 min、微波功率 400 W、微波时间 2 min, 在此条件下芝麻叶多酚提取率达 4.46%。芝麻叶多酚中阿魏酸含量最高, 为 2.068 mg/g。芝麻叶多酚具有一定的抗氧化活性, 可以通过超声微波辅助的方法从芝麻叶中高效提取。

参考文献:

[1] 刘利娥, 刘洁, 于斐, 等. 原子吸收光谱法测定芝麻叶中矿物元素含量[J]. 现代预防医学, 2009, 36(18): 3517 - 3519, 3523.

[2] NEP E I, CARNACHAN S M, NGWULUKA N C, et al. Structural characterisation and rheological properties of a polysaccharide from sesame leaves (*Sesamum radiatum* Schumach. & Thonn.) [J]. Carbohydr Polym, 2016, 152: 541 - 547.

[3] 黄泽元, 王海滨, 刘志伟. 芝麻叶中总黄酮的最佳提取工艺研究[J]. 农业工程学报, 2004(6): 201 - 204.

[4] 李婷婷, 苗红梅, 汪学德, 等. 不同生长期芝麻叶的主要营养成分变化和多糖提取物的体外抗氧化研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2020, 41(2): 42 - 49.

[5] 文莎莎, 郭蕊, 于修焯. 芝麻叶功能成分提取及其开发应用研究进展[J]. 中国油脂, 2020, 45(10): 100 - 105.

[6] 詹莉莉, 章程辉, 常刚, 等. 福林酚比色法测定露兜筋果实中的总多酚[J]. 广东农业科学, 2013, 40(4): 77 - 80.

[7] 邓刚, 母健菲, 刘玉琪, 等. 福林酚比色法和紫外分光光度法测定虫茶中总多酚含量的比较研究[J]. 重庆第二师范学院学报, 2015, 28(5): 167 - 169, 173.

[8] 蒋金龙, 王姝砚, 缪晓青. 蜂胶挥发油提取及其 DPPH 自由基清除率的研究[J]. 海峡科学, 2010(10): 235 - 237.

[9] 胡新颖, 陶玉欣, 李兴国, 等. 大麦多酚抗氧化及抑菌活性的研究[J]. 农产品加工, 2020(18): 12 - 14, 19.

[10] 徐洪宇, 蒯宜蕴, 詹壮壮, 等. 果皮中酚类物质含量、抗氧化活性及在体外消化过程中成分的变化[J]. 食品科学, 2019, 40(15): 23 - 30.

[11] 魏欢, 颜小捷, 杨建文, 等. 核桃叶多酚含量的测定和抗氧化能力的研究[J]. 广西植物, 2018, 38(5): 596 - 601.

[12] 赵秀玲, 李慕原, 党亚丽. 杭白菊中多酚物质的提取及其抗氧化活性[J]. 精细化工, 2018, 35(6): 974 - 981, 986.

[13] 颜飞翔, 朱丹, 苗欣月, 等. 糜子麸皮中多酚提取工艺优化及其抗氧化活性[J]. 中国粮油学报, 2020, 35(12): 15 - 22.

[14] 郑晓宁, 牟建楼, 陈永浩, 等. 超声辅助分离提取核桃仁种皮多酚研究[J]. 粮食与油脂, 2021, 34(10): 64 - 68.

[15] 王娟, 白雪梅, 孟晓, 等. 川产夏秋绿茶茶多酚超声辅助提取工艺研究[J]. 轻工科技, 2021, 37(3): 1 - 4.

[16] YANG L, JIANG J G, LI W F, et al. Optimum extraction process of polyphenols from the bark of *Phyllanthus emblica* L. based on the response surface methodology[J]. J Sep Sci, 2009, 32(9): 1437 - 1444.

[17] 许瑞如, 张秀玲, 李晨, 等. 微波提取桔梗根多酚工艺优化及抗氧化特性研究[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(4): 187 - 196.

[18] 陈峰, 尹鹏, 郭桂义, 等. 响应面法优化提取绿茶茶多酚工艺研究[J]. 茶叶通讯, 2020, 47(4): 659 - 664.

(上接第 84 页)

[38] HE Y, QIU C, GUO Z, et al. Production of new human milk fat substitutes by enzymatic acidolysis of microalgae oils from *Nannochloropsis oculata* and *Isochrysis galbana* [J]. Bioresour Technol, 2017, 238: 129 - 138.

[39] QIU C, HE Y, HUANG Z, et al. Biosafety evaluation of *Nannochloropsis oculata* and *Schizochytrium* sp. oils as novel human milk fat substitutes [J]. Food Funct, 2021, 12(7): 2972 - 2984.

[40] CALLEJÓN M J, MEDINA A R, MORENO P A G, et al.

Simultaneous extraction and fractionation of lipids from the microalga *Nannochloropsis* sp. for the production of EPA - rich polar lipid concentrates [J]. J Appl Phycol, 2020, 32: 1117 - 1128.

[41] DEVOS M, POISSON L, ERGAN F, et al. Enzymatic hydrolysis of phospholipids from *Isochrysis galbana* for docosahexaenoic acid enrichment [J]. Enzyme Microb Technol, 2006, 39: 548 - 554.

[42] 李韶峰. 脂肪酶催化制备功能性微藻磷脂的研究[D]. 福州: 福建师范大学, 2019.