

高油酸葵花籽油酶促酯交换制备中长链甘油三酯的工艺研究

吴凡¹, 杨博¹, 郭嘉²

(1. 华南理工大学生物与工程学院, 广州 510006; 2. 华南理工大学食品学院, 广州 510641)

摘要:旨在为开发健康油脂提供参考, 利用脂肪酶 Lipozyme RM IM 催化高油酸葵花籽油与椰子油合成中长链甘油三酯(MLCT)。采用单因素试验和响应面试验对 MLCT 的合成条件进行优化, 并对原料油与最佳工艺条件下制得的产品脂肪酸组成进行对比。结果表明:最佳的 MLCT 合成工艺条件为反应温度 61 °C、反应时间 6.2 h、酶用量 9.3%、底物配比 6:4(椰子油与高油酸葵花籽油物质的量比), 在此条件下产品中 MLCT 含量为 75.98%; 产品中主要脂肪酸为油酸(42.711%)和月桂酸(26.226%)。综上, 制备的产品中富含 MLCT, 有较大的市场应用潜力。

关键词: 中长链甘油三酯; 高油酸葵花籽油; 椰子油; 酯交换; 响应面法

中图分类号: TS225.6; Q814.9 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2025)02-0076-05

Preparation of medium – and long – chain triglycerides by enzymatic transesterification of high oleic acid sunflower seed oil

WU Fan¹, YANG Bo¹, GUO Jia²

(1. School of Biology and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510006, China;

2. School of Food Science, South China University of Technology, Guangzhou 510641, China)

Abstract: In order to provide references for the development of healthy fats and oils, the medium – and long – chain triglycerides (MLCT) was synthesized from high oleic acid sunflower seed oil and coconut oil catalyzed by the lipase Lipozyme RM IM, and the synthesis conditions of MLCT were optimized using single factor test and response surface test. The fatty acid compositions of the raw oils were compared with the product produced under the optimal process conditions. The results showed that the optimal MLCT synthesis conditions were reaction temperature 61 °C, reaction time 6.2 h, enzyme dosage 9.3%, and substrate ratio 6:4 (molar ratio of coconut oil to high oleic acid sunflower seed oil). Under the optimal conditions, the MLCT content was 75.98%, and the main fatty acids in the product were oleic acid (42.711%) and lauric acid (26.226%). In conclusion, the prepared product is rich in MLCT and has a large potential for market application.

Key words: medium – and long – chain triglycerides; high oleic acid sunflower seed oil; coconut oil; transesterification; response surface method

现如今, 肥胖已经在世界范围内越来越普遍, 并且与许多疾病如糖尿病、高脂血症等有关, 肥胖已经成为危害社会公共健康的主要问题之一^[1]。肥胖

与居民食用油的摄入量存在关联, 食用油是脂肪的重要来源, 但过量的脂肪摄入会导致能量摄入过剩, 进而引起体质量增加和肥胖。根据相关数据统计, 我国居民人均食用油摄入量约为 41.8 g/d, 远高于我国居民膳食指南中推荐的不超过 30 g/d 的标准^[2-3]。

功能性结构脂是通过改变甘油三酯中脂肪酸的分布位置或组成, 从而使其具有传统食用油所不具备的生理功效, 例如预防肥胖、减少脂肪累积等^[4]。

收稿日期: 2023-08-10; 修回日期: 2024-09-05

作者简介: 吴凡(1999), 女, 硕士研究生, 研究方向为特种食品应用(E-mail) 1160851431@qq.com。

通信作者: 杨博, 教授(E-mail) yangbo@scut.edu.cn。

中长链甘油三酯(MLCT)是指在甘油三酰基骨架上同时存在中链脂肪酸和长链脂肪酸,其既具有中链脂肪酸易吸收代谢、难累积的特点,同时又可以保持人体对某些必需脂肪酸的需求^[5-6]。

MLCT的合成方法主要有化学法和酶法。化学法副产物多,分离纯化复杂;酶法安全性高,副产物少,且操作简单^[7]。以酶法合成MLCT的研究较多,如:Zhao等^[8]以香樟籽油和油茶籽油为底物,在脂肪酶Lipozyme RM IM的催化下合成了含量为55.81%的MLCT。Lu等^[9]使用大豆油与中链甘油三酯(MCT)进行酯交换,在脂肪酶Lipozym 435的催化下合成了MLCT,其含量可达到74.9%;杨颖等^[10]以菜籽油和MCT为底物,在脂肪酶Lipozyme TL IM的催化下合成了含量为87.50%的MLCT;邹孝强等^[11]以核桃油和MCT为底物,在脂肪酶Novozym 435的催化下合成了含量为76.2%的MLCT。MLCT在国外已经有了一些较为成熟的商品油,但在国内尚处于起步阶段。

葵花籽油富含维生素E和甾醇,气味清香,适合多种烹饪用法,因而越来越受到人们的欢迎。据统计,葵花籽油在我国食用油消费中仅次于大豆油、菜籽油、棕榈油和花生油,并且其近几年的消费量增长率均在10%以上^[12-13]。与普通葵花籽油相比,高油酸葵花籽油具有更高的氧化稳定性和营养价值^[14],被认为是高品质食用油。目前,大豆油、菜籽油等均作为底物参与MLCT的制备,但是以葵花籽油为底物进行酯交换制备MLCT的研究鲜有报道。椰子油主要脂肪酸为中链脂肪酸,为常用的酯交换合成MLCT的原料油。1,3-特异性脂肪酶Lipozyme RM IM作为成熟的商品化酶,被广泛用作酯交换反应催化剂。因此,本研究以高油酸葵花籽油和椰子油为原料,1,3-特异性脂肪酶Lipozyme RM IM为催化剂,进行酶促酯交换合成MLCT,采用单因素试验和响应面试验对合成工艺条件进行了优化,以期MLCT的工业化应用提供新的选择和数据支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

椰子油,海南洪山合贸易有限公司;高油酸葵花籽油,包头市金鹿油脂有限责任公司;脂肪酶Lipozyme RM IM,丹麦诺维信公司。

1.1.2 仪器与设备

7890B气相色谱仪,美国Agilent公司;超高压液相色谱飞行时间质谱仪(UPLC-Q-TOF-MS),美国Waters公司;台式恒温振荡培养箱,知楚仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 MLCT的合成

将椰子油与高油酸葵花籽油按照一定物质的量比混合,加入一定量脂肪酶Lipozyme RM IM(以底物质量计),在恒温振荡培养箱中以200 r/min、一定温度反应一定时间,过滤掉脂肪酶,得产品MLCT,冷冻保存。

1.2.2 MLCT含量的测定

用异丙醇将样品稀释到1 μg/mL,进UPLC-Q-TOF-MS进行检测。色谱条件:柱温65℃,进样量5 μL;流动相A由体积比2:3的水与乙腈组成,并含有0.1%甲酸和10 mmol/L的甲酸铵,流动相B由体积比9:1的异丙醇与乙腈组成,并含有0.1%甲酸和10 mmol/L的甲酸铵,流速0.40 mL/min;洗脱梯度为0 min 85% A和15% B,0~2 min 70% A和30% B,2~2.5 min 52% A和48% B,2.5~11 min 18% A和82% B,11~11.5 min为1% A和99% B,11.5~15 min 85% A和15% B。质谱条件:电喷雾离子源(ESI),三重四极杆-飞行时间质谱全扫描复合扫描模式,正离子模式,锥孔电压30 V,质量扫描范围 m/z 100~2 000。

使用甘油三酯、甘油二酯和甘油一酯标准品的保留时间进行各组分的定性分析,使用峰面积归一化法进行定量。

酶法酯交换催化效率以产品中MLCT含量作为评价指标,其计算公式见式(1)。

$$Y = \frac{X_1 + X_2}{X_1 + X_2 + X_3 + X_4} \times 100\% \quad (1)$$

式中: Y 为MLCT含量; X_1 为MML(L为长链脂肪酸,M为中链脂肪酸)含量; X_2 为MLL含量; X_3 为MMM含量; X_4 为LLL含量。MML包含M-M-L、M-L-M同分异构体,MLL包括M-L-L、L-M-L同分异构体。

1.2.3 脂肪酸组成的测定

参考GB 5009.168—2016测定样品的脂肪酸组成及含量。

1.2.4 数据处理

数据经3组平行试验测得,采用Design-Expert 12软件对试验数据进行分析,拟合相应的回归方程并确定最佳反应条件,使用Origin软件进行显著性分析。

2 结果与讨论

2.1 MLCT合成单因素试验

2.1.1 底物配比对MLCT含量的影响

在反应温度60℃、反应时间6 h、酶用量10%的条件下,考察底物配比(椰子油与高油酸葵花籽油物质的量比)对MLCT含量的影响,结果如图1所示。

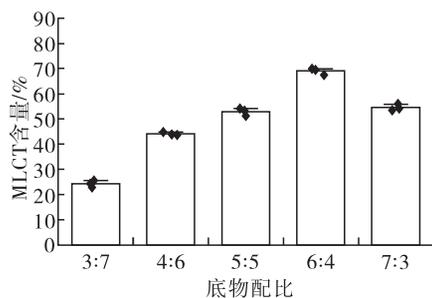


图1 底物配比对 MLCT 含量的影响

Fig. 1 Effect of substrate ratio on MLCT content

由图1可知,MLCT含量随着底物配比的升高先升高后降低,在底物配比为6:4时达到最高,为71.9%。因此,选择6:4为最佳底物配比。

2.1.2 反应温度对 MLCT 含量的影响

在底物配比6:4、反应时间6 h、酶用量10%的条件下,考察反应温度对 MLCT 含量的影响,结果如图2所示。

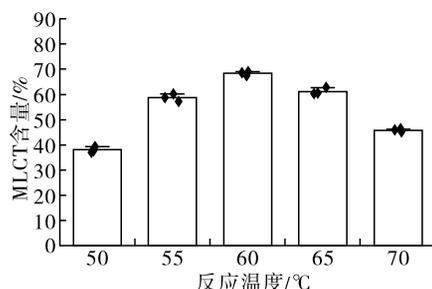


图2 反应温度对 MLCT 含量的影响

Fig. 2 Effect of reaction temperature on MLCT content

由图2可知,随反应温度升高,MLCT含量升高,在反应温度60 °C时,MLCT含量最高,之后随着反应温度的继续升高,MLCT含量开始降低,可能是温度过高使蛋白质失活,影响了酶的活性。因此,选择60 °C为最佳反应温度。

2.1.3 反应时间对 MLCT 含量的影响

在底物配比6:4、反应温度60 °C、酶用量10%的条件下,考察反应时间对 MLCT 含量的影响,结果如图3所示。

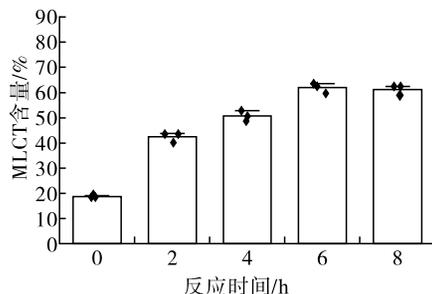


图3 反应时间对 MLCT 含量的影响

Fig. 3 Effect of reaction time on MLCT content

由图3可知,MLCT含量随着反应时间的延长而

增加,在6 h时达到最高,之后随着反应时间的继续延长,MLCT含量无明显变化,说明酯交换反应在反应6 h已达到饱和点。因此,选择6 h为最佳反应时间。

2.1.4 酶用量对 MLCT 含量的影响

在底物配比6:4、反应温度60 °C、反应时间6 h的条件下,考察酶用量对 MLCT 含量的影响,结果如图4所示。

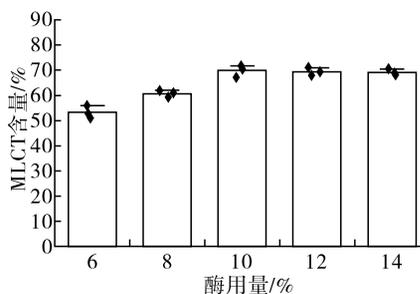


图4 酶用量对 MLCT 含量的影响

Fig. 4 Effect of enzyme dosage on MLCT content

由图4可知,MLCT含量随着酶用量的增加而增加,在酶用量10%时达到最高,之后随着酶用量的继续增加 MLCT 含量无明显变化,说明在10%酶用量下酯交换反应已经达到饱和点。因此,选择10%为最佳酶用量。

2.2 MLCT 合成响应面试验

2.2.1 响应面试验设计

在单因素试验的基础上,固定底物配比6:4,以反应时间(A)、反应温度(B)和酶用量(C)为自变量,以产品中 MLCT 含量(Y)为响应值,采用 Design - Expert 12 软件设计响应面试验,探究自变量之间的相互影响并确定最佳反应条件。响应面试验因素与水平见表1,响应面试验设计及结果见表2。

表1 响应面试验因素与水平

Table 1 Response surface test factors and levels

水平	反应时间/h	反应温度/°C	酶用量/%
-1	4	55	8
0	6	60	10
1	8	65	12

表2 响应面试验设计及结果

Table 2 Response surface test design and results

试验号	A	B	C	Y/%
1	-1	0	-1	59.01
2	-1	-1	0	63.65
3	0	1	-1	68.73
4	1	0	1	79.60
5	1	1	0	74.85
6	0	1	1	78.34
7	1	-1	0	70.45

续表 2

试验号	A	B	C	Y/%
8	0	-1	-1	67.93
9	0	0	0	75.82
10	0	0	0	75.36
11	0	0	0	75.77
12	1	0	-1	74.32
13	0	0	0	76.40
14	0	0	0	76.43
15	-1	1	0	60.85
16	-1	0	1	73.68
17	0	-1	1	74.97

2.2.2 模型建立与方差分析

经回归拟合得到 MLCT 含量与反应时间、反应温度和酶用量的二次多项式回归模型： $Y = -487.969 + 11.715A + 16.820B + 0.106C + 0.180AB + -0.587AC + 0.064BC - 1.168A^2 - 0.153B^2 + 0.092C^2$ 。该模型的方差分析结果见表 3。

表 3 方差分析

Table 3 Analysis of variance

方差来源	自由度	平方和	均方	F	p
模型	591.31	9	65.70	151.28	<0.000 1
A	220.82	1	220.82	508.44	<0.000 1
B	4.16	1	4.16	9.58	0.017 4
C	167.45	1	167.45	385.55	<0.000 1
AB	12.96	1	12.96	29.84	0.000 9
AC	22.04	1	22.04	50.76	0.000 2
BC	1.65	1	1.65	3.80	0.092 2
A ²	91.94	1	91.94	211.71	<0.000 1
B ²	61.86	1	61.86	142.44	<0.000 1
C ²	0.57	1	0.57	1.32	0.287 7
残差	3.04	7	0.43		
失拟项	2.21	3	0.74	3.55	0.126 3
纯误差	0.83	4	0.21		
总和	594.35	16			

注： $p < 0.05$ 表示差异显著； $p < 0.01$ 表示差异极显著

Note： $p < 0.05$ significant difference； $p < 0.01$ highly significant difference

由表 3 可知：该模型 p 小于 0.000 1，表示该模型极显著；失拟项 p 为 0.126 3，不显著；该模型决定系数 (R^2) 为 0.994 9，校正决定系数 (R^2_{Adj}) 为 0.988 3，差值小于 0.2，表明模型拟合很好。一次项 B 对 MLCT 含量影响显著，一次项 A 、 C ，交互项 AB 、 AC ，二次项 A^2 和 B^2 对 MLCT 含量影响极显著，交互项 BC 和二次项 C^2 对 MLCT 含量影响不显著。

2.2.3 响应面试验优化最佳条件及验证

利用 Design - Expert 12 软件，得到模型最佳条件为反应时间 6.20 h、反应温度 60.99 °C、酶用量 9.29%，该条件下 MLCT 含量理论值为 81.61%。为了试验的简便性与可操作性，调整反应条件为反应时间 6.2 h、反应温度 61 °C、酶用量 9.3%，在底物配比为 6:4 的条件下进行 3 次验证试验，得到 MLCT 含量分别为 75.13%、77.32% 和 75.48%，平均值为 75.98%，符合预期结果，说明使用该模型所得数据可用于指导后续的试验及生产工作。

2.3 原料油和产品脂肪酸组成

原料油和产品脂肪酸组成及含量如表 4 所示。

表 4 原料油和产品脂肪酸组成及含量

Table 4 Fatty acid composition and content of

脂肪酸	raw oils and product		%
	椰子油	高油酸葵花籽油	
辛酸 C8:0	8.063		4.281
癸酸 C10:0	6.624		3.350
月桂酸 C12:0	49.058		26.226
肉豆蔻酸 C14:0	17.678		9.415
棕榈酸 C16:0	8.207	4.264	6.212
硬脂酸 C18:0	3.201	2.913	3.023
油酸 C18:1	5.602	83.905	42.711
亚油酸 C18:2	0.969	7.694	4.372
亚麻酸 C18:3		0.954	0.231

由表 4 可知，以椰子油和高油酸葵花籽油为原料进行酯交换后制备的产品的脂肪酸组成以油酸 (42.711%)、月桂酸 (26.226%) 为主，说明在酯交换过程中，MLCT 保留了大部分高油酸葵花籽油中的油酸，理论上仍具有减少心血管疾病的发生和降低胆固醇等功效。

3 结论

利用脂肪酶 Lipozyme RM IM 催化高油酸葵花籽油与椰子油进行酯交换反应合成 MLCT，并通过单因素试验和响应面试验优化其反应条件。结果表明：脂肪酶 Lipozyme RM IM 催化高油酸葵花籽油与椰子油反应制备 MLCT 的最佳条件为反应时间 6.2 h、反应温度 61 °C、酶用量 9.3%、底物配比 6:4，在此条件下 MLCT 含量为 75.98%，所得 MLCT 产品中油酸和月桂酸含量分别达到 42.711% 和 26.226%。目前制备 MLCT 大多使用酶法催化，但在本研究中未研究其他脂肪酶的催化效果，以及脂肪酶 Lipozyme RM IM 用于催化合成 MLCT 的稳定性和可重复利用性，今后可做进一步的研究。

(下转第 107 页)

参考文献:

- [1] 陈永忠, 邓绍宏, 陈隆升, 等. 油茶产业发展新论[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2020, 44(1): 1-10.
- [2] 陈永忠. 我国油茶科技进展与未来核心技术[J]. 中南林业科技大学学报, 2023, 43(7): 1-22.
- [3] 刘广. 贵州典型油茶种植区土壤特征与茶油品质综合分析研究[D]. 贵阳: 贵州师范大学, 2023.
- [4] 范丽美, 侯黔灵. 贵州省油茶加工业现状、存在问题及发展对策[J]. 中国油料作物学报, 2024, 46(2): 260-266.
- [5] 邓雪, 田美芬, 杨守禄, 等. 贵州油茶产业状况分析[J]. 绿色科技, 2021, 23(7): 86-88.
- [6] 邓可, 许俊波, 廖德胜, 等. 贵州省册亨县油茶产业发展现状及对策思考[J]. 贵州林业科技, 2022, 50(2): 51-55.
- [7] 范玉蓉, 刘四黑, 王蓉, 等. 铜仁市油茶种质资源现状及产业发展对策分析[J]. 南方农业, 2023, 17(3): 193-197.
- [8] 肖明静, 杨秀钟, 蒲洪菊, 等. 黔东南州油茶产业发展现状、问题及对策分析[J]. 贵州林业科技, 2021, 49(1): 48-51, 47.
- [9] 王菖莉, 陈福, 徐德兵, 等. 5个油茶新品种的选育[J]. 现代农业科技, 2019(5): 31-37.
- [10] 马洪军, 牛焕琼, 刘英杰, 等. 红河引种云油茶新品种的早期适应性研究[J]. 西部林业科学, 2012, 41(1): 99-102.
- [11] 徐德兵, 陈福, 向华, 等. “云油茶3号”等5个油茶品种在师宗县的早期适应性研究[J]. 西部林业科学, 2019, 48(2): 84-89.
- [12] 胡玉玲, 吴娇娇, 严兴, 等. 不同库源调节处理对油茶经济性状的影响[J]. 山地农业生物学报, 2021, 40(5): 56-61.
- [13] 程离, 闫梦, 任志华, 等. 江西不同生境五个长林系列油茶生长和产量的相关分析[J]. 江西农业大学学报, 2024, 46(1): 139-151.
- [14] 陈永忠, 许彦明, 张震, 等. 油茶果实主要数量性状分析及育种指标体系筛选[J]. 中南林业科技大学学报, 2021, 41(3): 1-9.
- [15] 向婷婷, 孔庆博, 郑倩, 等. 野生油茶资源与引进品种的经济性状及脂肪酸组成对比分析[J]. 中国粮油学报, 2022, 37(8): 253-260.
- [16] 向婷婷, 郑倩, 汪秋凤, 等. 四川雅安野生油茶经济性状及脂肪酸组成[J]. 中国油脂, 2021, 46(10): 98-103.
- [17] 陈晓, 魏振宇, 程一鸣, 等. 阳新本地油茶种质果实性状分析与评价[J]. 安徽农业大学学报, 2023, 50(6): 936-942.
- [18] 杨露, 高超, 廖德胜, 等. 贵州低热河谷区油茶种质果实性状分析与评价[J]. 植物遗传资源学报, 2022, 23(2): 430-441.

(上接第79页)

参考文献:

- [1] POPKIN B M, ADAIR L S, NG S W. Global nutrition transition and the pandemic of obesity in developing countries[J]. Nutr Rev, 2012, 70(1): 3-21.
- [2] 房红芸, 何宇纳, 于冬梅, 等. 中国居民食用油摄入状况及变化[J]. 中国食物与营养, 2017, 23(2): 56-58.
- [3] 蒲刚伟. 城市居民食用油营养认知与消费行为研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2020.
- [4] LEE Y Y, TANG T K, LAI O M. Health benefits, enzymatic production, and application of medium- and long-chain triacylglycerol (MLCT) in food industries: A review[J]. J Food Sci, 2012, 77(8): R137-R144.
- [5] 王秀秀, 贾敏, 宗爱珍, 等. 中国结构脂产业现状与发展对策建议[J]. 粮油食品科技, 2023, 31(1): 12-20.
- [6] LEE Y Y, TANG T K, CHAN E S, et al. Medium chain triglyceride and medium- and long chain triglyceride: Metabolism, production, health impacts and its applications: A review[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2022, 62(15): 4169-4185.
- [7] 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.
- [8] ZHAO M L, HU J N, ZHU X M, et al. Enzymatic synthesis of medium- and long-chain triacylglycerols-enriched structured lipid from *Cinnamomum camphora* seed oil and camellia oil by Lipozyme RM IM[J]. Int J Food Sci Tech, 2014, 49(2): 453-459.
- [9] 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 Biochem, 2017, 54: 89-95.
- [10] 杨颖, 熊巍林, 汪增乾, 等. Lipozyme TL IM 催化合成中长链脂肪酸甘油三酯的工艺优化[J]. 中国油脂, 2022, 47(12): 37-40, 63.
- [11] 邹孝强, 高盼, 徐林海, 等. 基于核桃油的中长链甘油三酯的酶法制备及纯化[J]. 中国油脂, 2022, 47(4): 58-63.
- [12] 王瑞元. 我国葵花籽油产业现状及发展前景[J]. 中国油脂, 2020, 45(3): 1-3.
- [13] 周易枚, 刘尧刚, 王忠强. 浓香葵花籽油加工工艺实践[J]. 粮食与食品工业, 2020, 27(5): 33-35.
- [14] 张运艳, 顾斌, 陈凤香, 等. 高油酸葵花籽油与普通葵花籽油的比较研究[J]. 粮食与油脂, 2015, 28(7): 50-52.