

# 酶促酯交换法制备富含神经酸 菜籽油及其品质分析

朱家彬,王媛媛,马改琴,李跃凡,李 琪,高 媛,于修焯

(西北农林科技大学 食品科学与工程学院,陕西省“四主体一联合”功能油脂工程技术  
校企联合研究中心,陕西 杨陵 712100)

**摘要:**旨在为实际生产加工中制备易于人体吸收的富含神经酸菜籽油产品提供参考,以神经酸乙酯和菜籽油为原料,通过酶促酯交换技术制备富含神经酸菜籽油。以神经酸含量和酯交换率为指标,通过单因素试验对酶促酯交换条件进行了优化,同时分析了酯交换前后菜籽油的脂肪酸组成、sn-2 位脂肪酸组成、理化指标[酸值、过氧化值、共轭二烯值( $K_{232}$ )、共轭三烯值( $K_{268}$ )]、植物甾醇含量和角鲨烯含量的变化。结果表明:酶促酯交换制备富含神经酸菜籽油的最优条件为神经酸乙酯与菜籽油质量比1:10、Novozym 435 脂肪酶添加量(以底物总质量计)8%、反应温度 60 °C、反应时间 24 h,在此条件下菜籽油中神经酸含量最高可达 11.11%,sn-2 位神经酸含量最高达 8.92%,酯交换率达到 96.61%;酯交换后,菜籽油的氧化指标  $K_{232}$ 、 $K_{268}$  显著上升,但酸值及过氧化值均符合 GB/T 1536—2021 要求,除豆甾醇外,菜油甾醇、菜籽甾醇、 $\beta$ -谷甾醇、角鲨烯含量显著下降。综上,通过酶促酯交换法制备富含神经酸菜籽油是可行的,但需在反应过程中密切监测油脂质量指标变化。

**关键词:** 菜籽油;神经酸;脂肪酶;酯交换

中图分类号:TS225.1;TS224.8 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2025)05-0049-07

## Preparation of rapeseed oil rich in nervonic acid by enzymatic transesterification and its quality analysis

ZHU Jiabin, WANG Yuanyuan, MA Gaiqin, LI Yuefan,  
LI Qi, GAO Yuan, YU Xiuzhu

(Shaanxi "Four Subjects and One Union" Engineering Technology School – Enterprise Joint Research Center of Functional Oils, College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Yangling 712100, Shaanxi, China)

**Abstract:** In order to provide a reference for the preparation of rapeseed oil rich in nervonic acid products that are easily absorbed by human body in the actual production and processing, the rapeseed oil rich in nervonic acid was prepared by enzymatic transesterification with nervonic acid ethyl ester and rapeseed oil as materials. The enzymatic transesterification reaction conditions were optimized by single factor experiment with the nervonic acid content in the product and transesterification rate as indicators. The change of total and sn-2 fatty acid composition, acid value, peroxide value,  $K_{232}$ ,  $K_{268}$ , and phytosterol and squalene contents of the rapeseed oil before and after transesterification were determined. The results showed that the optimal transesterification conditions were as follows: mass ratio of nervonic acid ethyl

收稿日期:2024-03-14;修回日期:2024-11-08

基金项目:陕西省重点研发一般项目(2024NC-YBXM-135);陕西省科技创新团队(2024RS-CXTD-70)

作者简介:朱家彬(1998),男,在读硕士,研究方向为功能性油脂及安全检测(E-mail) zhujiabin7254@163.com。

通信作者:于修焯,教授(E-mail) xiuzhuyu@nwafu.edu.cn。

ester to rapeseed oil 1:10, Novozym 435 lipase dosage 8% (on the basis of substrates mass), reaction temperature 60 °C, and reaction time 24 h. Under the optimal conditions, the nervonic acid content in the prepared rapeseed oil was up to 11.11%, the nervonic acid content in sn-2

position was up to 8.92%, and the transesterification yield reached 96.61%. After the transesterification, the values of  $K_{232}$ ,  $K_{268}$  of rapeseed oil increased significantly. However, the acid value and peroxide value met the requirement of GB/T 1536 - 2021. Moreover, except for stigmasterol, the contents of campesterol, brassicasterol,  $\beta$ -sitosterol, and squalene decreased significantly. In conclusion, it is feasible to prepare rapeseed oil rich in nervonic acid through enzymatic transesterification, but it is necessary to closely monitor the changes in oil quality indicators during the reaction process.

**Key words:** rapeseed oil; nervonic acid; lipase; transesterification

神经酸是  $\omega$ -9 型的超长链单不饱和脂肪酸, 具有延缓脑神经衰老, 预防脑部疾病, 改善老年认知障碍等多种生理功能, 是一种有着特殊性能的珍贵脂肪酸<sup>[1-2]</sup>。在植物资源中, 仅在元宝枫和文冠果等少数木本油料中发现神经酸, 其油脂中神经酸含量在 3% ~ 6% 之间, 均不具备大规模工业生产价值<sup>[3]</sup>。尽管目前可通过化学反应合成神经酸及其乙酯, 但研究表明, 游离脂肪酸及其乙酯在人体内吸收利用率较甘油三酯差<sup>[4]</sup>。因此, 为了进一步提升神经酸产品的吸收利用, 可将神经酸连接至甘油三酯骨架上将其转化为吸收利用率更高的甘油三酯形式。研究表明, 酶促反应技术可将具有特殊营养和生理功能的脂肪酸结合到油脂(甘油三酯)的特定位置, 使油脂的功能发生改变<sup>[5]</sup>。菜籽油作为我国第二大消费食用油, 不饱和脂肪酸含量较高, 且富含生物活性物质<sup>[6]</sup>。通过酶法催化技术可以将神经酸结合到菜籽油中, 以满足人体营养需求。目前, 尚未有研究通过酶促酯交换技术制备富含神经酸油脂产品。基于此, 本文以神经酸乙酯和菜籽油为原料, 采用脂肪酶催化酯交换制备富含神经酸菜籽油, 探究不同反应条件对酯交换反应的影响, 并对酯交换后菜籽油的品质进行评价, 以期在实际生产加工中制备易于人体吸收利用的富含神经酸的菜籽油产品提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

神经酸, 参考高锦明等<sup>[7]</sup>的方法合成, 纯度大于 95%; 神经酸乙酯(自制), 由神经酸与无水乙醇经浓硫酸催化酯化合成, 使用石油醚-乙醚(体积比 90:10)作为流动相, 经硅胶柱色谱纯化, 纯度大于 95%; 精炼菜籽油, 益海嘉里金龙鱼粮油食品股份有限公司; Novozym 435 脂肪酶、猪胰脂酶, 北京伊诺凯科技有限公司; 14%  $\text{BF}_3$ -甲醇, 北京谨明生物科技有限公司;  $5\alpha$ -胆甾烷- $3\beta$ -醇、角鲨烯、菜油甾醇、豆甾醇、菜籽甾醇、 $\beta$ -谷甾醇标准品(纯度  $\geq$

98%), 上海源叶生物科技有限公司; Tris-盐酸盐、石油醚(30 ~ 60 °C)、乙醚、碳酸钠、氢氧化钾, 均为国产分析纯; 正己烷, 国产色谱纯。

QP 2010 气相色谱质谱联用仪、LC-20AT 高效液相色谱仪, 日本岛津公司; 6890N 气相色谱仪, 安捷伦科技有限公司; TS-18824 振荡加热仪, 赛默飞世尔科技有限公司。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 酶促酯交换反应合成富含神经酸菜籽油

将一定量神经酸乙酯、菜籽油和 Novozym 435 脂肪酶加入反应瓶中混匀, 置于振荡加热仪中, 在一定温度下反应一定时间后, 取出样品瓶, 冷却至室温, 于  $6\ 000 \times g$  离心 10 min, 取上清液。再通过柱层析, 使用石油醚-乙醚(体积比 90:10)作为流动相, 分离得到富含神经酸菜籽油样品及未反应的神经酸乙酯, 置于 4 °C 冰箱储存。

#### 1.2.2 脂肪酸组成的测定

##### 1.2.2.1 总脂肪酸组成

参照宗蕾<sup>[8]</sup>的方法并略加改动测定油样的总脂肪酸组成。用 1 mL 石油醚溶解 50 mg 油样, 用点样针吸取溶液点到 20 cm  $\times$  20 cm 薄层色谱板上, 用展开剂石油醚-乙醚-乙酸(体积比 80:30:1)展开, 展开完全后, 取出晾干, 2', 7'-二氯荧光素显色后用刮刀刮下甘油三酯条带, 乙醚浸提得到甘油三酯纯品, 再采用  $\text{BF}_3$ -甲醇甲酯化处理, 进行气相色谱分析。

气相色谱条件: Zebron © ZB-FAME 色谱柱(30 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.20  $\mu\text{m}$ ); 升温程序为初始温度 100 °C, 保持 2 min, 以 10 °C/min 升至 140 °C, 保持 8 min, 再以 3 °C/min 升至 190 °C, 保持 8 min, 接着以 30 °C/min 升至 250 °C, 保持 8 min; 氢火焰离子化检测器(FID), 检测器温度 260 °C; 进样口温度 250 °C; 载气为高纯氦气, 流速 1 mL/min; 分流模式进样, 分流比 80:1; 进样量 1  $\mu\text{L}$ 。以各脂肪酸甲酯的保留时间定性, 采用峰面积归一化法定量。

### 1.2.2.2 sn-2 位脂肪酸组成

参照 GB/T 24894—2010 方法并加以改动测定油样的 sn-2 位脂肪酸组成。称取约 0.1 g 油样于 10 mL 离心管中,加入约 20 mg 猪胰脂酶和 2 mL pH (8.0 ± 0.2) 的 Tris-HCl 缓冲溶液,小心摇动,然后加入 0.5 mL 1 g/L 胆酸钠溶液和 0.2 mL 220 g/L 氯化钙溶液,盖上塞子小心摇动,放入 40 °C 水浴锅中,振荡 1 min。从水浴锅中取出离心管,用涡旋振荡器摇匀,立即加入 1 mL 6 mol/L 盐酸和 1 mL 乙醚。盖上塞子,用涡旋振荡器摇匀,再加入 1 mL 乙醚振荡,离心,取上层有机液备用。采用薄层色谱分离取单甘酯条带,乙醚浸提法分离出单甘酯纯品,采用 BF<sub>3</sub>-甲醇甲酯化处理后,进行气相色谱分析。气相色谱条件以及脂肪酸定量方法同 1.2.2.1。

### 1.2.3 酯交换率的计算

酯交换率按公式(1)进行计算。

$$y = (m_0 - m_1) / m_0 \times 100\% \quad (1)$$

式中: $y$  为酯交换率; $m_0$  为初始神经酸乙酯的质量,g; $m_1$  为反应结束后通过柱色谱分离的残留神经酸乙酯质量,g。

### 1.2.4 酸值、过氧化值和共轭烯烃的测定

酸值的测定参考 GB 5009.229—2016;过氧化值的测定参考 GB 5009.227—2016;共轭烯烃的测定参考 GB/T 22500—2008。

### 1.2.5 植物甾醇和角鲨烯含量的测定

样品前处理:准确称取 0.2 ~ 0.3 g 样品于 50 mL 离心管中,加入 0.5 mL 0.1 mg/mL 的 5 $\alpha$ -胆甾烷-3 $\beta$ -醇内标溶液,加入 5 mL 2 mol/L KOH-乙醇溶液,在 85 °C 水浴加热处理 1 h,取出冷却,依次加入 5 mL 蒸馏水和 5 mL 正己烷,振荡混匀后于 2 560  $\times$  g 离心 3 min,取上层有机相,下层液体加入 5 mL 正己烷再重复提取 2 次,合并 3 次所得上层有机相,加入 5 mL 蒸馏水,振荡混匀后于 2 560  $\times$  g 离心 3 min,取上清液进行氮吹,吹干后加入 200  $\mu$ L 硅烷化试剂 [N,O-双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺+三甲基氯硅烷 (BSTFA + TMCS, 体积比 99:1)],于 75 °C 水浴反应 30 min。取出冷却,过 0.22  $\mu$ m 有机系滤膜后置于棕色进样小瓶待气相色谱-质谱分析。

气相色谱条件:SH-Rxi-SSiL MS 色谱柱 (30 m  $\times$  0.25 mm  $\times$  0.25  $\mu$ m);升温程序为 40 °C 保持 3 min,以 4 °C/min 升温至 120 °C,再以 6 °C/min 升温至 240 °C 并保持 12 min;进样口温度 320 °C;进样量 1.0  $\mu$ L;分流模式进样,分流比 80:1;载气为高纯氮气,流速 0.7 mL/min。质谱条件:电离源为电子

轰击源,电离能量 70 eV,离子监测模式(定性离子与定量离子见表 1),离子源温度 250 °C,传输线温度 280 °C。采用内标法进行定量。

表 1 植物甾醇与角鲨烯的定性离子与定量离子

Table 1 Qualitative and quantitative ions for phytosterol and squalene

项目	定量离子( $m/z$ )	定性离子( $m/z$ )
菜油甾醇	343.4	382.4,367.4
菜籽甾醇	380.4	470.5,255.3
$\beta$ -谷甾醇	357.5	396.5,381.5
豆甾醇	394.4	255.3,484.5
角鲨烯	81.1	69.1,95.2

### 1.2.6 统计分析

所有试验重复 3 次,结果以“平均值  $\pm$  标准差”表示,使用 IBM SPSS26 对数据进行显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 酶促酯交换制备富含神经酸菜籽油的单因素试验

#### 2.1.1 底物质量比(神经酸乙酯与菜籽油质量比)对酯交换反应的影响

在脂肪酶添加量(以底物总质量计)8%、反应温度 60 °C、反应时间 24 h 的条件下,考察底物质量比(1:10、1:20、1:30、1:40 和 1:50)对酯交换反应(酯交换率和富含神经酸菜籽油中神经酸含量)的影响,结果见图 1。

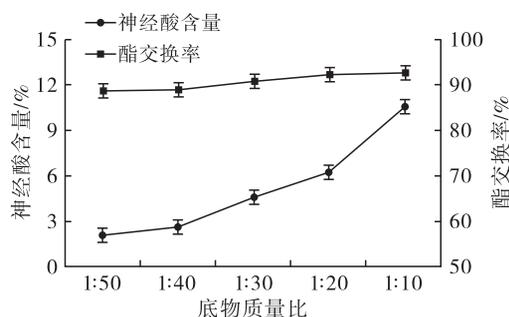


图 1 底物质量比对酯交换反应的影响

Fig. 1 Influence of mass ratio of substrates on transesterification

由图 1 可以看出,随着神经酸乙酯用量的增加,酯交换率和神经酸含量都呈增加的趋势。当底物质量比从 1:20 提高到 1:10 时,神经酸含量大幅提高,由 6.23% 增加至 10.56%,酯交换率由 92.10% 增加至 93.66%。这是因为随着神经酸乙酯用量的持续增加,促进反应向正方向进行<sup>[9]</sup>,考虑到继续增加神经酸乙酯用量会导致生产成本过高,并且在底物质量比 1:10 时,酯交换率提升趋缓,故选择底物质量比为 1:10。

### 2.1.2 反应时间对酯交换反应的影响

在底物质量比 1:10、脂肪酶添加量 8%、反应温度 60℃ 的条件下,考察反应时间(12、18、24、30 h 和 36 h)对酯交换反应的影响,结果见图 2。

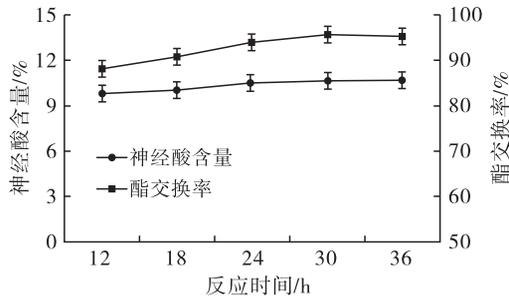


图 2 反应时间对酯交换反应的影响

Fig. 2 Influence of reaction time on transesterification

由图 2 可以看出,随着反应时间的延长,酯交换率和神经酸含量均不断增加。当反应时间由 12 h 延长至 24 h 时,神经酸含量由 9.84% 增加至 10.53%,酯交换率由 88.36% 增加至 94.03%。值得注意的是,一旦反应时间超过 24 h,神经酸含量增加速率减小,说明此时酯交换反应基本达到了平衡。考虑到酯交换率和能源消耗,选择酯交换时间为 24 h。

### 2.1.3 反应温度对酯交换反应的影响

在底物质量比 1:10、脂肪酶添加量 8%、反应时间 24 h 的条件下,考察反应温度(50、60、70、80℃ 和 90℃)对酯交换反应的影响,结果见图 3。

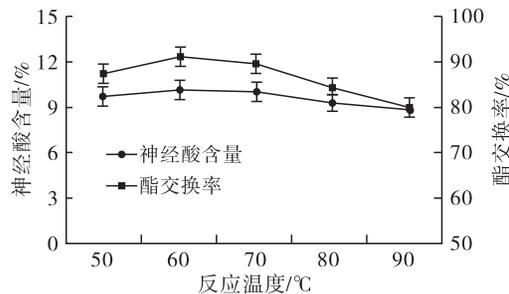


图 3 反应温度对酯交换反应的影响

Fig. 3 Influence of reaction temperature on transesterification

由图 3 可以看出,当反应温度从 50℃ 升高到 60℃ 时,神经酸含量由 9.70% 增加至 10.13%,酯交

换率由 87.40% 增加至 92.89%。当反应温度由 60℃ 升高至 70℃ 时,神经酸含量无明显变化,继续升高反应温度至 90℃ 时,神经酸含量降低至 8.87%。这是由于在高温下部分脂肪酶活性降低甚至失活,导致酯交换率下降<sup>[10]</sup>。因此,选择反应温度为 60℃。

### 2.1.4 脂肪酶添加量对酯交换反应的影响

在底物质量比 1:10、反应温度 60℃、反应时间 24 h 的条件下,考察脂肪酶添加量(4%、6%、8%、10% 和 12%)对酯交换反应的影响,结果见图 4。

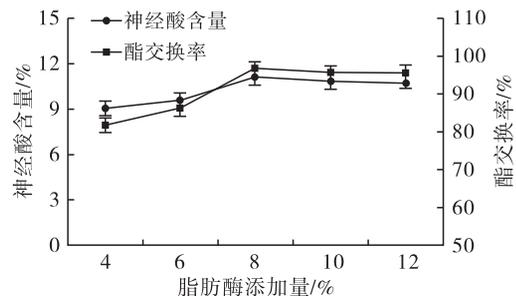


图 4 脂肪酶添加量对酯交换反应的影响

Fig. 4 Influence of dosage of Novozym 435 on transesterification

由图 4 可以看出,随着脂肪酶添加量从 4% 增加到 8%,神经酸含量由 9.01% 增加至 11.11%,酯交换率由 81.84% 增加至 96.61%。当脂肪酶添加量继续增加时,神经酸含量反而略有下降。这是由于过量酶会团聚形成酶复合物,影响底物与酶之间的传质和扩散,部分酶在高浓度下可能会失活或发生构象变化,从而影响其催化性能<sup>[11]</sup>。因此,选择脂肪酶添加量为 8%。

综上,酶促酯交换反应制备富含神经酸菜籽油的最优条件为底物质量比 1:10、脂肪酶添加量 8%、反应温度 60℃、反应时间 24 h。

## 2.2 酶促酯交换对菜籽油脂肪酸组成的影响

### 2.2.1 总脂肪酸组成的变化

对不同反应条件(考察某一反应条件时,固定其他条件为最优酶促酯交换条件。下同)下制备的富含神经酸菜籽油的总脂肪酸组成进行分析,结果见表 2。

表 2 原料菜籽油和富含神经酸菜籽油中主要脂肪酸的相对含量

Table 2 Relative content of main fatty acids in substrate rapeseed oil and product rapeseed oil

项目	相对含量/%					
	棕榈酸	硬脂酸	油酸	亚油酸	亚麻酸	神经酸
原料菜籽油	4.20 ± 0.01	1.82 ± 0.05	60.40 ± 0.75	19.66 ± 0.27	9.30 ± 0.16	0.23 ± 0.01
底物质量比						
1:10	3.84 ± 0.03 <sup>c</sup>	1.73 ± 0.00 <sup>b</sup>	53.35 ± 0.17 <sup>d</sup>	17.48 ± 0.08 <sup>d</sup>	8.03 ± 0.06 <sup>b</sup>	10.56 ± 0.01 <sup>a</sup>
1:20	4.01 ± 0.08 <sup>bc</sup>	1.82 ± 0.06 <sup>a</sup>	54.82 ± 0.05 <sup>d</sup>	18.01 ± 0.38 <sup>c</sup>	8.39 ± 0.49 <sup>ab</sup>	6.23 ± 0.03 <sup>b</sup>
1:30	4.09 ± 0.01 <sup>ab</sup>	1.85 ± 0.01 <sup>a</sup>	55.82 ± 0.13 <sup>c</sup>	17.78 ± 0.12 <sup>d</sup>	8.10 ± 0.10 <sup>b</sup>	4.57 ± 0.31 <sup>c</sup>

续表 2

项目	相对含量/%					
	棕榈酸	硬脂酸	油酸	亚油酸	亚麻酸	神经酸
1:40	4.10 ± 0.01 <sup>ab</sup>	1.87 ± 0.03 <sup>a</sup>	57.19 ± 0.11 <sup>b</sup>	18.55 ± 0.17 <sup>b</sup>	8.52 ± 0.12 <sup>ab</sup>	2.59 ± 0.01 <sup>d</sup>
1:50	4.19 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.82 ± 0.01 <sup>a</sup>	57.35 ± 0.10 <sup>a</sup>	19.28 ± 0.01 <sup>a</sup>	8.90 ± 0.02 <sup>a</sup>	2.07 ± 0.04 <sup>e</sup>
反应时间/h						
12	3.29 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.32 ± 0.09 <sup>a</sup>	50.54 ± 0.49 <sup>a</sup>	15.30 ± 0.11 <sup>a</sup>	6.06 ± 0.05 <sup>a</sup>	9.84 ± 0.42 <sup>a</sup>
18	3.19 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.30 ± 0.08 <sup>a</sup>	50.37 ± 0.62 <sup>a</sup>	15.26 ± 0.59 <sup>a</sup>	6.05 ± 0.67 <sup>a</sup>	10.04 ± 0.11 <sup>a</sup>
24	3.33 ± 0.60 <sup>a</sup>	1.21 ± 0.14 <sup>a</sup>	50.80 ± 0.74 <sup>a</sup>	15.93 ± 0.58 <sup>a</sup>	5.96 ± 0.33 <sup>a</sup>	10.53 ± 0.73 <sup>a</sup>
30	3.45 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.19 ± 0.04 <sup>a</sup>	50.35 ± 0.30 <sup>b</sup>	15.98 ± 0.05 <sup>a</sup>	6.32 ± 0.06 <sup>a</sup>	10.67 ± 0.18 <sup>a</sup>
36	3.06 ± 0.14 <sup>a</sup>	1.14 ± 0.02 <sup>a</sup>	50.04 ± 0.00 <sup>c</sup>	13.91 ± 0.92 <sup>a</sup>	5.07 ± 0.70 <sup>a</sup>	10.66 ± 0.48 <sup>a</sup>
脂肪酶添加量/%						
4	4.22 ± 0.39 <sup>a</sup>	1.76 ± 0.43 <sup>a</sup>	54.52 ± 0.39 <sup>a</sup>	18.25 ± 0.57 <sup>a</sup>	7.43 ± 0.19 <sup>a</sup>	9.01 ± 0.36 <sup>b</sup>
6	3.85 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.52 ± 0.04 <sup>a</sup>	54.14 ± 0.00 <sup>b</sup>	17.81 ± 0.20 <sup>a</sup>	7.50 ± 0.13 <sup>a</sup>	9.58 ± 0.29 <sup>b</sup>
8	3.74 ± 0.11 <sup>a</sup>	1.47 ± 0.11 <sup>a</sup>	53.31 ± 0.35 <sup>c</sup>	17.42 ± 0.35 <sup>a</sup>	7.54 ± 0.07 <sup>a</sup>	11.11 ± 0.37 <sup>a</sup>
10	3.84 ± 0.02 <sup>a</sup>	1.38 ± 0.02 <sup>a</sup>	54.37 ± 0.08 <sup>b</sup>	17.85 ± 0.18 <sup>a</sup>	7.59 ± 0.16 <sup>a</sup>	10.85 ± 0.20 <sup>a</sup>
12	3.89 ± 0.15 <sup>a</sup>	1.39 ± 0.40 <sup>a</sup>	53.93 ± 0.38 <sup>bc</sup>	18.04 ± 0.09 <sup>a</sup>	7.42 ± 0.16 <sup>a</sup>	10.69 ± 0.12 <sup>a</sup>
反应温度/°C						
50	3.02 ± 0.41 <sup>a</sup>	1.83 ± 0.04 <sup>a</sup>	54.99 ± 0.42 <sup>a</sup>	17.87 ± 0.64 <sup>a</sup>	7.15 ± 0.11 <sup>a</sup>	9.70 ± 0.23 <sup>ab</sup>
60	3.93 ± 0.08 <sup>a</sup>	1.83 ± 0.01 <sup>a</sup>	54.91 ± 0.39 <sup>ab</sup>	17.87 ± 0.42 <sup>a</sup>	6.94 ± 0.41 <sup>a</sup>	10.14 ± 0.10 <sup>a</sup>
70	3.98 ± 0.02 <sup>a</sup>	1.78 ± 0.01 <sup>a</sup>	54.53 ± 0.17 <sup>ab</sup>	17.95 ± 0.32 <sup>a</sup>	7.08 ± 0.12 <sup>a</sup>	9.88 ± 0.03 <sup>a</sup>
80	3.92 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.81 ± 0.08 <sup>a</sup>	54.13 ± 0.74 <sup>b</sup>	17.73 ± 0.05 <sup>a</sup>	7.15 ± 0.33 <sup>a</sup>	9.26 ± 0.29 <sup>bc</sup>
90	3.97 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.79 ± 0.01 <sup>a</sup>	55.66 ± 0.09 <sup>a</sup>	17.80 ± 0.04 <sup>a</sup>	6.59 ± 0.08 <sup>a</sup>	8.87 ± 0.03 <sup>c</sup>

注:同一反应条件同列不同字母表示差异显著( $p < 0.05$ )。下同

Note: Different letters in the same column for the same factor represent significant difference ( $p < 0.05$ ). The same below

由表 2 可知,在不同底物质量比、反应温度和反应时间条件下,当产物中神经酸含量最高时,菜籽油中亚麻酸含量下降比例最大,表明神经酸乙酯最容易与亚麻酸酰基发生酯交换反应。根据酯交换后神经酸的相对含量变化可知,底物质量比对酯交换后菜籽油脂肪酸组成影响最大,脂肪酶添加量、反应温度和反应时间的影响程度相对较小。

### 2.2.2 sn-2 位脂肪酸组成的变化

sn-2 位脂肪酸在人体内的代谢过程中扮演着重要角色,它不仅影响人体内脂质的消化和吸收,在人体钙吸收和肠道微生态平衡方面也起着重要作用<sup>[12]</sup>。对不同反应条件制备的富含神经酸菜籽油的 sn-2 位脂肪酸组成进行测定,结果如表 3 所示。

表 3 原料菜籽油和富含神经酸菜籽油 sn-2 位主要脂肪酸的相对含量

Table 3 Relative content of main fatty acids on sn-2 position in substrate rapeseed oil and product rapeseed oil

项目	相对含量/%					
	棕榈酸	硬脂酸	油酸	亚油酸	亚麻酸	神经酸
菜籽油	4.53 ± 0.01	3.68 ± 0.03	58.12 ± 0.25	22.39 ± 0.05	10.02 ± 0.12	ND
底物质量比						
1:10	5.72 ± 0.13 <sup>c</sup>	2.08 ± 0.06 <sup>b</sup>	47.89 ± 0.57 <sup>c</sup>	23.54 ± 0.06 <sup>bc</sup>	9.51 ± 0.01 <sup>d</sup>	8.92 ± 0.12 <sup>a</sup>
1:20	6.21 ± 0.01 <sup>ab</sup>	3.00 ± 0.03 <sup>a</sup>	52.15 ± 0.22 <sup>a</sup>	23.89 ± 0.32 <sup>b</sup>	9.40 ± 0.03 <sup>d</sup>	4.00 ± 0.05 <sup>b</sup>
1:30	6.02 ± 0.01 <sup>b</sup>	2.40 ± 0.06 <sup>b</sup>	50.14 ± 0.22 <sup>b</sup>	25.31 ± 0.03 <sup>a</sup>	9.81 ± 0.04 <sup>c</sup>	3.57 ± 0.13 <sup>c</sup>
1:40	6.09 ± 0.02 <sup>b</sup>	2.24 ± 0.08 <sup>b</sup>	52.11 ± 0.16 <sup>a</sup>	24.06 ± 0.07 <sup>b</sup>	10.01 ± 0.02 <sup>b</sup>	1.37 ± 0.10 <sup>d</sup>
1:50	6.30 ± 0.08 <sup>a</sup>	2.44 ± 0.16 <sup>b</sup>	52.40 ± 0.57 <sup>a</sup>	23.14 ± 0.46 <sup>c</sup>	10.44 ± 0.15 <sup>a</sup>	1.02 ± 0.11 <sup>c</sup>
反应时间/h						
12	6.65 ± 0.11 <sup>bc</sup>	2.64 ± 0.06 <sup>ab</sup>	45.15 ± 0.23 <sup>a</sup>	20.68 ± 0.48 <sup>a</sup>	9.45 ± 0.17 <sup>b</sup>	8.46 ± 0.30 <sup>a</sup>
18	7.22 ± 0.15 <sup>a</sup>	2.42 ± 0.11 <sup>ab</sup>	43.83 ± 0.05 <sup>a</sup>	20.67 ± 0.47 <sup>a</sup>	10.27 ± 0.21 <sup>ab</sup>	8.50 ± 0.54 <sup>a</sup>
24	6.58 ± 0.41 <sup>c</sup>	2.44 ± 0.62 <sup>ab</sup>	45.62 ± 0.56 <sup>a</sup>	20.56 ± 0.78 <sup>ab</sup>	11.10 ± 0.16 <sup>a</sup>	8.64 ± 0.35 <sup>a</sup>

续表 3

项目	相对含量/%					
	棕榈酸	硬脂酸	油酸	亚油酸	亚麻酸	神经酸
30	6.97 ± 0.07 <sup>abc</sup>	2.13 ± 0.30 <sup>b</sup>	46.05 ± 0.09 <sup>a</sup>	21.06 ± 0.37 <sup>a</sup>	9.55 ± 0.50 <sup>b</sup>	8.75 ± 0.33 <sup>a</sup>
36	7.16 ± 0.11 <sup>ab</sup>	2.98 ± 0.05 <sup>a</sup>	45.71 ± 2.45 <sup>a</sup>	19.26 ± 0.38 <sup>b</sup>	7.45 ± 0.54 <sup>c</sup>	8.66 ± 0.44 <sup>a</sup>
脂肪酶添加量/%						
4	6.34 ± 0.57 <sup>ab</sup>	2.03 ± 0.05 <sup>a</sup>	48.97 ± 1.31 <sup>a</sup>	22.80 ± 0.37 <sup>b</sup>	8.86 ± 0.57 <sup>a</sup>	7.78 ± 0.15 <sup>ab</sup>
6	7.52 ± 0.43 <sup>a</sup>	2.18 ± 0.22 <sup>a</sup>	49.28 ± 0.41 <sup>a</sup>	23.52 ± 0.68 <sup>ab</sup>	9.01 ± 0.12 <sup>a</sup>	7.48 ± 0.62 <sup>b</sup>
8	6.24 ± 0.34 <sup>ab</sup>	1.93 ± 0.11 <sup>a</sup>	47.73 ± 0.46 <sup>a</sup>	23.93 ± 0.26 <sup>a</sup>	8.99 ± 0.06 <sup>a</sup>	8.73 ± 0.40 <sup>a</sup>
10	5.98 ± 0.79 <sup>b</sup>	2.01 ± 0.19 <sup>a</sup>	49.06 ± 0.08 <sup>a</sup>	24.02 ± 0.32 <sup>a</sup>	9.37 ± 0.18 <sup>a</sup>	8.31 ± 0.44 <sup>ab</sup>
12	6.74 ± 0.39 <sup>ab</sup>	2.41 ± 0.55 <sup>a</sup>	48.38 ± 0.55 <sup>a</sup>	23.84 ± 0.23 <sup>ab</sup>	9.34 ± 0.48 <sup>a</sup>	8.35 ± 0.44 <sup>ab</sup>
反应温度/°C						
50	6.40 ± 0.17 <sup>bc</sup>	2.06 ± 0.09 <sup>b</sup>	49.51 ± 0.83 <sup>b</sup>	23.48 ± 0.59 <sup>ab</sup>	8.79 ± 0.07 <sup>ab</sup>	7.40 ± 0.54 <sup>a</sup>
60	6.17 ± 0.35 <sup>bc</sup>	2.15 ± 0.35 <sup>b</sup>	49.44 ± 0.80 <sup>b</sup>	24.00 ± 0.13 <sup>a</sup>	8.53 ± 0.57 <sup>ab</sup>	8.20 ± 0.28 <sup>a</sup>
70	5.97 ± 0.06 <sup>c</sup>	2.19 ± 0.03 <sup>b</sup>	51.90 ± 1.43 <sup>a</sup>	23.33 ± 0.49 <sup>ab</sup>	9.45 ± 0.76 <sup>a</sup>	7.86 ± 0.24 <sup>a</sup>
80	6.95 ± 0.11 <sup>ab</sup>	2.97 ± 0.08 <sup>a</sup>	49.55 ± 0.66 <sup>b</sup>	22.16 ± 1.02 <sup>b</sup>	9.00 ± 0.14 <sup>ab</sup>	7.98 ± 0.01 <sup>a</sup>
90	7.65 ± 0.52 <sup>a</sup>	3.26 ± 0.31 <sup>a</sup>	49.25 ± 0.46 <sup>b</sup>	22.51 ± 0.72 <sup>ab</sup>	8.00 ± 0.24 <sup>b</sup>	7.47 ± 0.66 <sup>a</sup>

注:ND 表示未检出

Note:ND. Not detected

由表 3 可知,随着酯交换反应条件发生改变,菜籽油 sn-2 位脂肪酸含量也发生变化,其中硬脂酸含量下降最多,表明在菜籽油甘油三酯 sn-2 位的硬脂酸最易发生酯交换反应。此外,菜籽油 sn-2 位的棕榈酸含量在所有反应条件下均有所上升,sn-2 位油酸含量在所有反应条件下均有所下降,亚油酸含量在底物质量比、脂肪酶添加量、反应温度发生变化时有所上升,而 sn-2 位亚麻酸含量在脂肪酶添加量和反应温度发生变化时均有所下降,而在底物质量比、反应时间发生变化时有上升有下降。上述结果表明,在进行酯交换反应时,除神经酸以外的脂肪酸在 sn-2 位也发生了变化。因此,在应用酯交换法制备富含某种脂肪酸的甘油三酯时不仅需要监测底物变化,还要监测其脂肪酸的变化情况,防止最终产物脂肪酸组成发生较大改变。由表 3 还可知,在底物质量比 1:10 条件下,酯交换后 sn-2 位神经酸含量最高,可达到 8.92%。

### 2.3 酶促酯交换对菜籽油品质的影响

#### 2.3.1 酯交换对菜籽油理化指标的影响

酸值、过氧化值和共轭烯烃是评价油脂品质的重要理化指标<sup>[13]</sup>。测定了最优酶促酯交换条件下制备的富含神经酸菜籽油的理化指标,并与酯交换前的菜籽油进行了对比,结果见表 4。

由表 4 可知,酯交换后菜籽油酸值显著升高,这可能是由于反应过程中,脂肪酶除催化酯交换反应外,也催化了部分甘油三酯与体系中的微量水发生水解反应,导致游离脂肪酸含量上升,但其酸值(KOH)仍符合 GB/T 1536—2021 中的限量要求

( $\leq 3$  mg/g)。过氧化值和共轭烯烃是评价油脂氧化程度的指标,过氧化值与油脂中氢过氧化物含量有关,而共轭烯烃主要与初级氧化产物如共轭二烯(可用  $K_{232}$  表征)和次级氧化产物如共轭三烯(可用  $K_{268}$  表征)含量相关。酯交换后菜籽油的  $K_{232}$  和  $K_{268}$  较酯交换前显著增加,分别从 4.72 和 1.04 增加至 5.15 和 1.91,表明酯交换反应后初级氧化产物和次级氧化产物含量增加。过氧化值则表现出相反的趋势,由 0.26 g/100 g 下降为 0.01 g/100 g,这可能与过氧化物在酯交换反应中进一步降解有关<sup>[14]</sup>。尽管酯交换后菜籽油的理化指标出现了一定程度的变化,但酸值和过氧化值仍然符合 GB/T 1536—2021 中的要求。

表 4 酶促酯交换前后菜籽油理化指标比较

Table 4 Physicochemical indexes of rapeseed oil before and after transesterification

项目	酯交换前	酯交换后
酸值(KOH)/(mg/g)	0.23 ± 0.01	2.79 ± 0.04 <sup>*</sup>
过氧化值/(g/100 g)	0.26 ± 0.01	0.01 ± 0.00 <sup>*</sup>
共轭二烯值( $K_{232}$ )	4.72 ± 0.13	5.15 ± 0.04 <sup>*</sup>
共轭三烯值( $K_{268}$ )	1.04 ± 0.01	1.91 ± 0.02 <sup>*</sup>

注: \* 表示同行数据具有显著性差异( $p < 0.05$ )。下同

Note: \*  $p < 0.05$ . The same below

#### 2.3.2 酯交换对菜籽油中生物活性物质的影响

植物甾醇和角鲨烯是菜籽油中重要的生物活性物质,具有清除自由基、抗炎退热、护肤等多种生理功能<sup>[15-16]</sup>。测定了最优酶促酯交换条件下制备的富含神经酸菜籽油中植物甾醇和角鲨烯含量,并与

酯交换前的菜籽油进行了对比,结果见表5。

表5 酶促酯交换前后菜籽油中生物活性物质含量的变化

生物活性物质	酯交换前	酯交换后
菜油甾醇	2 332.17 ± 6.59	2 031.98 ± 71.68 *
菜籽甾醇	771.83 ± 3.98	707.00 ± 8.68 *
$\beta$ -谷甾醇	3 282.97 ± 25.61	3 107.38 ± 32.27 *
豆甾醇	37.85 ± 0.01	36.65 ± 0.79
角鲨烯	77.14 ± 0.79	73.32 ± 0.90 *

由表5可知,酯交换后,除豆甾醇外,菜籽油中其他植物甾醇与角鲨烯含量均显著下降,其中菜油甾醇含量降低12.87%、菜籽甾醇含量降低8.40%、 $\beta$ -谷甾醇含量降低5.35%、角鲨烯含量降低4.95%。这可能是由于酯交换反应需要进行长时间加热处理,导致一部分植物甾醇和角鲨烯发生氧化降解<sup>[17-18]</sup>。总体来看,菜籽油中的上述生物活性物质在酯交换反应过程中稳定性排序为豆甾醇>角鲨烯> $\beta$ -谷甾醇>菜籽甾醇>菜油甾醇。因此,在采用酯交换反应生产富含神经酸菜籽油时,也需要监测其中的生物活性物质的变化,避免其过度降解。

### 3 结论

本研究利用Novozym 435脂肪酶催化神经酸乙酯和菜籽油进行酯交换反应制备富含神经酸菜籽油产品。通过单因素试验确定适宜反应条件为神经酸乙酯与菜籽油质量比1:10、脂肪酶添加量8%、反应时间24 h、反应温度60℃,在此条件下制备的富含神经酸菜籽油中神经酸含量最高可达11.11%,sn-2位神经酸含量最高达8.92%,酯交换率达到96.61%。酯交换反应前后菜籽油脂肪酸组成测定结果表明,神经酸乙酯最容易与亚麻酸酰基发生酯交换反应,硬脂酸最易脱离sn-2位发生酯交换反应。酯交换反应对菜籽油的品质指标具有显著影响,可导致氧化指标 $K_{232}$ 、 $K_{268}$ 显著升高以及生物活性物质含量下降,但所制得的富含神经酸菜籽油整体质量指标符合GB/T 1536—2021的要求。综上,通过酶促酯交换反应,由神经酸乙酯制备利于人体吸收的富含神经酸菜籽油是可行的,在反应过程中需密切监测菜籽油质量指标的变化以制得高品质的神经酸营养补充产品。

### 参考文献:

[1] 范一铭,高桂珍,薛羽君,等.植物神经酸研究进展[J].生物技术进展,2022,12(5):664-672.  
 [2] LI Q, CHEN J, YU X, et al. A mini review of nervonic acid: Source, production, and biological functions[J/OL]. Food Chem, 2019, 301: 125286 [2024-03-14]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125286>.  
 [3] TU X, WAN J, XIE Y, et al. Lipid analysis of three

special nervonic acid resources in China[J]. Oil Crop Sci, 2020,5(4):180-186.  
 [4] LAWSON L D, HUGHES B G. Human absorption of fish oil fatty acids as triacylglycerols, free acids, or ethyl esters[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1988, 152(1): 328-335.  
 [5] 许浮萍. 驴油性质及酶法定向酯交换制备功能性油脂的研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2014.  
 [6] 王瑞元. 中国菜籽油的生产和消费情况[J]. 中国油脂, 2019, 44(11): 1-2.  
 [7] 高锦明,赵鹏,王性炎,等. 一种神经酸的制备方法及其神经酸: CN202010241898.7[P]. 2022-11-29.  
 [8] 宗蕾. 酶促高油酸花生油脂肪酸/乙酯与棕榈硬脂酯交换制备OPO结构脂的研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2021.  
 [9] ZHANG J, HU B, CHEN X, et al. One-pot enzymatic synthesis of hydrophilicity and lipophilicity caffeoyl structured lipids using diacylglycerols as acceptor in solvent-free system[J]. Biochem Eng J, 2022, 187: 108608 [2024-03-14]. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2022.108608>.  
 [10] ENCINAR J M, GONZÁLEZ J F, SÁNCHEZ N, et al. Sunflower oil transesterification with methanol using immobilized lipase enzymes[J]. Bioprocess Biosyst Eng, 2019, 42(1): 157-166.  
 [11] SUN S, SONG F, BI Y, et al. Solvent-free enzymatic transesterification of ethyl ferulate and monostearin: Optimized by response surface methodology[J]. J Biotechnol, 2012, 164(2): 340-345.  
 [12] QI C, SUN J, XIA Y, et al. Fatty acid profile and the sn-2 position distribution in triacylglycerols of breast milk during different lactation stages[J]. J Agric Food Chem, 2018, 66(12): 3118-3126.  
 [13] REZA F, MOHAMMAD H H K, ALI S, et al. Olive oil oxidation: Rejection points in terms of polar, conjugated diene, and carbonyl values[J]. Food Chem, 2012, 131(4): 1385-1390.  
 [14] 纪俊敏,马宇翔,娄丽娟. 微波加热对几种油脂品质的影响[J]. 粮油加工, 2008(9): 53-56.  
 [15] ABUOBEID R, SÁNCHEZ-MARCO J, FELICES M J, et al. Squalene through its post-squalene metabolites is a modulator of hepatic transcriptome in rabbits[J/OL]. Int J Mol Sci, 2022, 23(8): 4172 [2024-03-14]. <https://doi.org/10.3390/ijms23084172>.  
 [16] SCHROEPFER G J. Oxysterols: Modulators of cholesterol metabolism and other processes[J]. Physiol Rev, 2000, 80(1): 361-554.  
 [17] 李姐汨. 植物甾醇油酸酯的热损耗规律及氧化稳定性研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2021.  
 [18] 李琪,周笙,魏冰,等. 橄榄油与油茶籽油氧化过程中主要微量伴随物的变化[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2022, 43(6): 1-9.