

甘油酯型 $n-3$ 多不饱和脂肪酸 富集方法研究进展

陈 焯¹, 黄璟雯¹, 王熠璠¹, 黄家祺¹, 李康宁¹, 李才明¹, 王小三¹, 杨兆琪²

(1. 江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 药学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: $n-3$ 多不饱和脂肪酸($n-3$ PUFA)具有多种生理活性,其主要有3种存在形式,其中甘油酯型 $n-3$ PUFA 因其生物利用度高和不易被氧化而优于游离型和乙酯型。然而,目前鲜有对甘油酯型 $n-3$ PUFA 进行高纯度富集的方法。为了对甘油酯型 $n-3$ PUFA 的高值化更加深入的研究提供参考,综述了富集甘油酯型 $n-3$ PUFA 的3种常见方法(物理一步法、两步法和酶一步法)及优缺点。物理一步法可以避免产物氧化,但得率较低;两步法工艺复杂,并有可能产生环境污染;而酶一步法具有简单、高效等优点,成为学者们关注的焦点。现有脂肪酶对甘油酯型 $n-3$ PUFA 的富集能力有限,还需进一步发掘富集能力更强的选择性脂肪酶。

关键词: $n-3$ PUFA; 脂肪酶; 甘油酯型 PUFA; 选择性水解

中图分类号:TQ645.6;O641 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2022)02-0074-05

Progress on enrichment methods of glyceride - type $n-3$ polyunsaturated fatty acids

CHEN Ye¹, HUANG Jingwen¹, WANG Yifan¹, HUANG Jiaqi¹,
LI Kangning¹, LI Caiming¹, WANG Xiaosan¹, YANG Zhaoqi²

(1. School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China;

2. School of Pharmaceutical Science, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China)

Abstract: There are three main forms of $n-3$ polyunsaturated fatty acids ($n-3$ PUFA) with a variety of physiological activities, of which glyceride - type $n-3$ PUFA is superior to free and ethyl ester forms due to its high bioavailability and less susceptibility to oxidation. However, there is few method for the enrichment of glyceride - type $n-3$ PUFA with high purity. In order to provide a reference for a more in - depth study of the high value of glyceride - type $n-3$ PUFA, three common methods (physical one - step, two - step and enzymatic one - step), and their advantages and disadvantages of enriching glyceride - type $n-3$ PUFA were reviewed. The physical one - step method can avoid product oxidation, but the yield is low; the two - step method is complicated and may produce environmental pollution; while the enzymatic one - step method has the advantages of simplicity and high efficiency, which has become the focus of scholars' attention. The existing lipases are limited in their ability to enrich glyceride - type $n-3$ PUFA, and there is a need to further explore selective lipases with higher enrichment capacity.

Key words: $n-3$ PUFA; lipase; glyceride - type PUFA; selective hydrolysis

收稿日期:2021-05-24;修回日期:2021-10-25

基金项目:2021年江南大学大学生创新训练计划(2021014Z)

作者简介:陈 焯(2000),女,在读本科,专业为食品科学与工程(E-mail)ritachan23@foxmail.com。

通信作者:王小三,副教授,硕士生导师(E-mail)wxstongxue@163.com。

$n-3$ 多不饱和脂肪酸(PUFA)指在甲基端第三位出现第一个双键的多烯脂肪酸。 $n-3$ PUFA 常见的形式有二十碳五烯酸(EPA)、二十二碳五烯酸(DPA)、二十二碳六烯酸(DHA)和 α -亚麻酸(ALA),其中:DHA和EPA主要来源于藻油以及海豹油、沙丁鱼油等海洋油脂,微藻中EPA和DHA分

别占总脂的 13.19% ~ 31.93% 和 4.25% ~ 13.36%^[1],海豹油中 DHA 和 EPA 相对含量分别为 7.98% 和 8.24%^[2],沙丁鱼中 EPA 与 DHA 的含量分别为 99.0 mg/100 g 和 495.0 mg/100 g^[3];DPA 在海豹油、深海鱼油等海洋油脂中含量相对较高,其中,海豹油中 DPA 相对含量为 4.09%,深海鱼油中含 2.09% 的 DPA^[2];而 ALA 主要来源于亚麻籽油、紫苏籽油等植物油,亚麻籽油中不饱和脂肪酸含量为 80% 以上,其中 α -亚麻酸含量约 60%,紫苏籽油中不饱和脂肪酸含量达 90% 以上,其中 α -亚麻酸含量在 60% 左右^[4]。

$n-3$ PUFA 与机体健康密切相关。研究表明, $n-3$ PUFA 具有良好的抗炎、免疫调节等作用,对脓毒症患者肠道菌群失调的改善、重型颅脑损伤患者炎症的抑制与治疗具有良好的作用^[5-6]。同时, $n-3$ PUFA 对于癌症也具有一定的治疗功效,DHA 和 EPA 不但可以预防癌症的发生,还能够抑制癌细胞的增殖,加快癌细胞凋亡,减少不良反应的发生,目前已被广泛应用于胃癌、食管癌、大肠癌等癌症患者的治疗^[7-9]。 $n-3$ PUFA 对于母婴健康也有重要意义, $n-3$ PUFA 能够参与卵母细胞的物质代谢,调节卵母细胞膜的合成与功能,因此 $n-3$ PUFA 能够提高卵母细胞质量,有利于寻找不孕病因从而对生殖的改善具有重要作用^[10]。DHA 有利于婴幼儿大脑、视觉、机体的认知和免疫功能的发育^[11]。不仅如此,由于 EPA 和 DHA 能够抑制炎症、增强巨噬细胞的吞噬能力,因此 EPA 和 DHA 被认为可以用于新冠病毒(COVID-19)的辅助治疗^[12]。

$n-3$ PUFA 作为药物及保健品的功效取决于两方面: $n-3$ PUFA 的纯度和其存在的形式。 $n-3$ PUFA 主要有 3 种存在形式,即游离型、乙酯型和甘油酯型。

由于天然油脂中 $n-3$ PUFA 的含量较少,对其进行高效富集极其重要。由于提取与制备游离型与乙酯型的 $n-3$ PUFA 工艺较为成熟,故目前市场上常见的食品或药品中的 $n-3$ PUFA 多以游离型和乙酯型存在。游离型 $n-3$ PUFA 生物利用度较高,但是稳定性差,在制备与富集的过程中易被氧化,造成产率降低;乙酯型 $n-3$ PUFA 稳定性好,不易被氧化,但是生物利用度低,很难被机体吸收;而甘油酯型 $n-3$ PUFA 的生物利用度高且不易被氧化,其作为 DHA 和 EPA 的天然存在形式,机体中的胰脂酶水解甘油酯型 $n-3$ PUFA 的速度为乙酯型的

10~50 倍^[13],因此甘油酯型 $n-3$ PUFA 更容易被生物体利用。在市面上已有的添加甘油酯型鱼油的保健品及药品中, $n-3$ PUFA 的含量普遍不高,而且目前鲜有对甘油酯型 $n-3$ PUFA 进行高纯度富集的方法。在已经存在的甘油酯型 $n-3$ PUFA 富集方法中,酶法以其安全环保、选择性强等优点近年来备受关注,但是仅有少数脂肪酶被证实拥有选择性富集甘油酯型 $n-3$ PUFA 的能力,导致该方法的成本较高,难以实现工业化生产。本文着重整理了目前甘油酯型 $n-3$ PUFA 的 3 种常见富集方法,以期对甘油酯型 $n-3$ PUFA 的高值化更加深入的研究提供参考。

1 物理法一步富集甘油酯型 $n-3$ PUFA

低温结晶法为较为常见的富集甘油酯型 $n-3$ PUFA 的物理法,其是利用不同脂肪酸甘三酯因脂肪酸不饱和程度和分子结构的不同而引起的溶解度不同的性质,在较低的温度下,使溶解度较低的脂肪酸甘三酯结晶析出,从而达到富集 $n-3$ PUFA 的目的。Mu 等^[14]分别以游离脂肪酸(FFA)和甘三酯为原料,富集其中的 DHA,研究了反应温度、溶剂类型、FFA(或甘三酯)与溶剂比和反应时间等因素对富集效果的影响,发现在以 FFA 为原料时,FFA 质量与溶剂(乙腈)体积比为 1:5,在 -60°C 下结晶 80 min 时,DHA 产率最高,为 52.57%,含量为 64.81%;而以甘三酯为原料时,在甘三酯质量与溶剂(丙酮)体积比 1:10、 -80°C 下结晶 4 h,DHA 产率和含量分别为 62.46% 和 53.87%。Wang 等^[15]将裂殖壶菌油在 -80°C 下结晶 6 h 后,甘油酯型的 DPA 含量由 16.4% 提高到 28.1%。近两年来,由于低温结晶法可以有效避免产物被氧化,其成为了物理法富集甘油酯型 $n-3$ PUFA 的重要方法。

2 两步法富集甘油酯型 $n-3$ PUFA

为了避免物理法直接富集甘油酯型 $n-3$ PUFA 存在的产物得率低等局限性,学者们研究利用两步法富集甘油酯型 $n-3$ PUFA。甘油酯型 $n-3$ PUFA 的两步法富集工艺为首先富集游离型或乙酯型 $n-3$ PUFA,然后再经过酯化或酯交换制得高 $n-3$ PUFA 含量的甘油酯。

2.1 游离型及乙酯型 $n-3$ PUFA 的富集

2.1.1 物理法

传统的游离型及乙酯型 $n-3$ PUFA 的物理富集方法主要有分子蒸馏法、尿素包合法、低温结晶法

等。王亚男等^[16]使用分子蒸馏法对金枪鱼油乙酯的富集工艺进行了研究,结果表明,经过3级分子蒸馏,最终得到得率为10.1%、*n*-3 PUFA含量为70.78%的产品。孙素玲^[17]以海狗油为原料,采用皂化法制备游离脂肪酸,再使用尿素包合法富集PUFA,结果表明,在尿素与脂肪酸质量比为4.5:1、结晶温度4℃、结晶时间20 h条件下,富集得到的脂肪酸产率为17.91%,EPA、DPA和DHA的总含量从21.1%提高至73.32%。罗庆华等^[18]采用低温结晶法富集鳃鱼内脏油中PUFA,可使PUFA的含量提高24.26个百分点。尿素包合法和低温结晶法为传统富集游离型*n*-3 PUFA的方法,工艺简单,成本低廉,*n*-3 PUFA的双键不易被氧化;但是这两种方法产品得率都不高,并且尿素包合过程中会产生致癌物,对人的健康安全带来隐患^[19]。

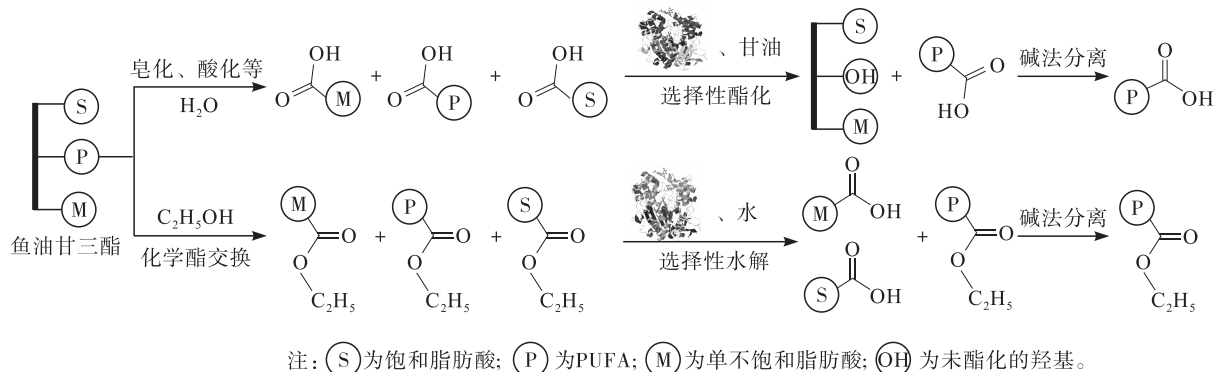


图1 游离型和乙酯型PUFA酶法选择性富集路线示意图

2.2 酶法酯化或酯交换制备甘油酯型*n*-3 PUFA

此步骤主要通过乙酯型*n*-3 PUFA与甘油酯发生酯交换,或游离型*n*-3 PUFA与甘油直接酯化合成甘油酯型*n*-3 PUFA。孙兆敏等^[21]采用固定化酶Novozym 435催化脂肪酸乙酯与甘油酯进行酯交换反应,制备甘油酯型*n*-3 PUFA,在反应温度60℃、反应时间24 h、底物质量比5:4、加酶量80 U、体系中不加水的条件下,制得甘油酯中EPA和DHA的含量分别为32.40%和13.10%的产品。陈小娥等^[22]利用脂肪酶催化游离型EPA、DHA与甘油反应,在反应体系中含正己烷6 mL、甘油与EPA(DHA)摩尔比1:3、Novozym 435脂肪酶添加量100 mg条件下,于40℃反应24 h后添加1 g分子筛,继续反应48 h,最终甘油酯型EPA和甘油酯型DHA的得率分别为88.64%和88.07%,酯化度分别高达95.0%和94.5%。使用酶法将游离型和乙酯型*n*-3 PUFA转换为甘油酯型*n*-3 PUFA,方便快捷,但是使用的脂肪酶如Novozym 435,虽能重复利用,却价

2.1.2 酶法

利用脂肪酶选择性富集游离型或乙酯型*n*-3 PUFA也是一种常用的方法。游离型和乙酯型PUFA酶法选择性富集路线示意图如图1所示。由图1可知,游离型和乙酯型*n*-3 PUFA分别通过酶催化选择性酯化和水解,再采用碱法分离获得富集。富集游离型*n*-3 PUFA时,利用酶选择性地催化饱和、单不饱和脂肪酸与甘油进行酯化,生成脂肪酸酯,而PUFA难以与甘油发生酯化反应,以游离脂肪酸形式存在于产物中,将游离脂肪酸与脂肪酸酯分离后,即可得到高纯度的游离型PUFA^[20]。富集乙酯型*n*-3 PUFA时,利用酶选择性催化饱和、单不饱和脂肪酸乙酯水解生成游离脂肪酸,而PUFA仍以乙酯的形式存在于产物中,分离游离脂肪酸后即可得到高纯度的乙酯型PUFA。

格昂贵,导致总体生产成本较高。因此,若要将此方法应用于大规模生产,仍需寻找价廉且高效的脂肪酶。

两步法富集甘油酯型*n*-3 PUFA需要先将含*n*-3 PUFA的天然油脂水解或乙酯化得到游离型或乙酯型*n*-3 PUFA,然后在酶的催化下通过酯化或酯交换反应生成甘油酯型*n*-3 PUFA。该富集工艺复杂,在转化过程中易造成*n*-3 PUFA的氧化,导致产率降低,同时还会产生废水,且酯化反应较易生成不稳定的sn-1,3位的甘油酯型*n*-3 PUFA,这些缺陷严重制约着该方法在甘油酯型*n*-3 PUFA富集中的应用。

3 酶法一步富集*n*-3 PUFA甘油酯

近20年来,脂肪酶催化水解甘油酯(TAG)直接富集*n*-3 PUFA的研究一直在进行,许多研究人员在探寻能够选择性水解甘油酯上的饱和脂肪酸(SFA)和单不饱和脂肪酸(MUFA)以产生富含*n*-3 PUFA的甘油酯的脂肪酶。表1总结了一些近年来酶法水解直接富集*n*-3 PUFA的反应中使用的脂肪酶、最适温度、pH和相应的富集效果。

表1 脂肪酶水解富集 $n-3$ PUFA 的研究

作者	脂肪酶	原料油	反应条件	反应结果
Sun 等 ^[23]	脂肪酶 AY “Amano” 30, 脂肪酶 PS “Amano”	三文鱼内脏油	1 mL 油, 4.5 mL 醋酸钠(50 mmol/L), 0.5 mL 氯化钙溶液(100 mmol/L), 37 °C, pH 5.6, 20 h	在两种酶催化下 EPA + DHA 含量分别提高 2.0 倍和 1.4 倍
Ko 等 ^[24]	皱褶念珠菌 VII 型脂肪酶	金枪鱼油	3 g 油, 2 mL 磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L), 10 mL 异辛烷, 40 °C, pH 5.0, 30 min	$n-3$ PUFA 含量从 26.4% 增加到 49.8%, DHA 含量从 19.1% 增加到 38.9%
Okada 等 ^[25]	皱褶念珠菌脂肪酶	沙丁鱼油	2 g 油, 20 mL 磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L), 35 ~ 40 °C, pH 6.0, 90 min	$n-3$ PUFA 含量从 38.1% 提高至 65.3%
Akanbi 等 ^[26]	南极假丝酵母脂肪酶 A	藻油	2 g 油, 6 mL 磷酸钠缓冲液(20 mmol/L), 氯化钙溶液(10 mmol/L), 0.03% 阿拉伯胶, 45 °C, pH 7.0, 20 min	DHA 含量从 40% 提高至 82%
Liang 等 ^[27]	固定化米黑根毛霉脂肪酶	金枪鱼油	癸酸与金枪鱼油摩尔比 4:1, 酶添加量 4%, 58 °C, 7.5 h	DHA + EPA 含量从 26.86% 提高至 40.03%
Yang 等 ^[28]	脂肪酶 AY “Amano” 400SD	金枪鱼油	3 g 油, 3 g 磷酸钠缓冲液(0.1 mol/L), Ca ²⁺ (20 mmol/L), 37 °C, pH 7.0, 4 h	$n-3$ PUFA 含量从 34.30% 提高至 57.70%

影响脂肪酶催化水解反应活性的主要因素是反应温度和 pH, 脂肪酶水解反应的 pH 一般为 5 ~ 8, 温度一般为 25 ~ 45 °C。脂肪酶催化水解富集甘油酯型 $n-3$ PUFA 不仅需要脂肪酶具有脂肪酸选择特异性, 也要控制水解反应的程度, 避免过度水解。PUFA 的酶催化水解富集通常需要 8 h 以上的水解时间, 加入金属离子可以大大缩短反应时间^[29]。Akanbi 等^[26]加入钙离子后能在 3 h 内完成水解反应, 远低于纯油体系 8 h 的反应时间; Yang 等^[28]发现, 钙离子的加入能将反应到达平衡的时间从 10 h 缩短至 4 h, 大大提升水解效率, 在降低成本的同时减少 $n-3$ PUFA 因长时间暴露而产生的损失。Kamal 等^[30]研究了 38 种有选择性浓缩 $n-3$ PUFA 甘油酯潜力的脂肪酶, 通过共价和非共价连接, 对底物-脂肪酶相互作用进行了详细的研究, 并从脂肪酶的微观结构对脂肪酶的选择性进行了解释。尽管如此, 现有脂肪酶对甘油酯型 $n-3$ PUFA 的富集能力有限, 因而对于富集能力更强的选择性脂肪酶的发掘是必要的。酶法水解可以直接将含有 $n-3$ PUFA 的天然油脂上的 SFA 和 MUFA 水解下来, 产生的游离脂肪酸 SFA 和 MUFA 可以通过加碱中和的方法比较容易地去除, 操作简单方便。Kralovec 等^[31]发现, 天然鱼油中 sn-2 位的 $n-3$ PUFA 含量高于 sn-1, 3 位, 而酶法水解天然油脂得到的产品中 $n-3$ PUFA 仍然保持在 sn-2 位, 因此可以最大程度保持天然结构, 使产物具有更强的结构稳定性和更高价值^[32]。综合看来, 酶法催化水解是富集甘油酯型 $n-3$ PUFA 最有效可行的方法。

4 结 语

甘油酯型 $n-3$ PUFA 作为 $n-3$ PUFA 的自然存在状态, 具有吸收性好、安全性高等优点。传统的甘油酯型 $n-3$ PUFA 富集方法为物理一步法与两步法。物理一步法可以避免产物氧化, 但是得率较低; 两步法工艺复杂, 并有可能产生环境污染。而酶一步法富集甘油酯型 $n-3$ PUFA 以其简单、高效等优点成为了近年来学者们关注的焦点。目前已经发现了能够特异性识别并“剪切”甘油酯的脂肪酶, 但是甘油酯型 $n-3$ PUFA 的商业化应用仍未形成规模, 主要原因为酶法选择性水解工艺尚不成熟, 难以达到甘油酯型 $n-3$ PUFA 的高效富集以及高值化应用。因此, 未来应加大对于增加固定化酶重复利用的次数、降低富集成本以及进一步提高所得 $n-3$ PUFA 甘油酯的纯度和得率的深入研究。

参考文献:

- [1] 梁英, 麦康森. 微藻 EPA 和 DHA 的研究现状及前景[J]. 水产学报, 2000, 24(3): 289-296.
- [2] 曹淑兰, 关紫烽, 蔡云萍, 等. 深海鱼油、海豹油脂脂肪酸组份的分析研究[J]. 质谱学报, 1999(1): 71-76.
- [3] 沈涛, 詹珂, 刘思奇. 海洋生物中 EPA、DHA 含量及性价分析[J]. 四川烹饪高等专科学校学报, 2011(4): 32-36.
- [4] 韩丽丽, 侯占群, 文剑, 等. 富含 α -亚麻酸的功能性油脂及其微胶囊化研究进展[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(2): 185-189.
- [5] 汪晨扬, 伍静. Omega-3 多不饱和脂肪酸对脓毒症相关肠道菌群失调的治疗潜力[J]. 中国现代医学杂志, 2021, 31(4): 71-75.

- [6] 郇国虎, 蒋伟. ω -3 多不饱和脂肪酸在重型颅脑损伤患者中的临床应用[J]. 重庆医学, 2021, 50(5): 811-814.
- [7] 张星霞, 李卡. Ω -3 多不饱和脂肪酸在胃癌患者中应用的研究进展[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2021, 28(5): 678-682.
- [8] 沈丹丹, 徐慧鲜, 邓国孙. n -3 多不饱和脂肪酸在食管癌细胞增殖和凋亡中的作用机制探讨[J]. 现代肿瘤医学, 2021, 29(1): 22-26.
- [9] 刘春安, 汪雄, 龙朝辉, 等. *Omega*-3 PUFA 抑制大肠癌细胞株转移差异基因表达的筛选[J]. 国际医药卫生导报, 2020(6): 741-745.
- [10] 郭子瑜, 钱云. ω -3 多不饱和脂肪酸与卵母细胞质量相关性研究进展[J]. 医学综述, 2021, 27(10): 1920-1925.
- [11] 王美辰, 石羽杰, 刘彪, 等. 二十二碳六烯酸与认知功能发育研究进展[J]. 中国儿童保健杂志, 2020, 28(11): 1227-1230.
- [12] DAS U N. Can bioactive lipids inactivate coronavirus (COVID-19)? [J]. Arch Med Res, 2020, 51: 282-286.
- [13] FERNIE C E, DUPONT I E, SCRUEL O, et al. Relative absorption of conjugated linoleic acid as triacylglycerol, free fatty acid and ethyl ester in a functional food matrix [J]. Eur J Lipid Sci Technol, 2004, 106: 347-354.
- [14] MU H Y, ZHANG H J, YUAN L, et al. Enrichment of DPA n -6 and DHA from *Schizochytrium* sp. oil by low-temperature solvent crystallization [J]. Ind Eng Chem Res, 2015, 55: 737-746.
- [15] WANG X S, WANG X H, WANG W, et al. Synthesis of docosapentaenoic acid-enriched diacylglycerols by enzymatic glycerolysis of *Schizochytrium* sp. oil [J]. Bioresource Technol, 2018, 262: 278-283.
- [16] 王亚男, 徐茂琴, 季晓敏, 等. 分子蒸馏富集金枪鱼鱼油 ω -3 脂肪酸的研究[J]. 中国食品学报, 2014, 14(7): 52-58.
- [17] 孙素玲. 海狗油多不饱和脂肪酸富集及酯化工艺的研究[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2004.
- [18] 罗庆华, 宋英杰, 王海磊, 等. 低温结晶法富集鳕鱼内脏油中多不饱和脂肪酸[J]. 中国油脂, 2015, 40(10): 36-39.
- [19] ÁNGELA G S, MARÍA T S, MIA F, et al. Production and concentration of monoacylglycerols rich in *omega*-3 polyunsaturated fatty acids by enzymatic glycerolysis and molecular distillation [J]. Food Chem, 2016, 190: 960-967.
- [20] LEE E J, LEE M W, DA S N, et al. Preparation of high purity docosahexaenoic acid from microalgae oil in a packed bed reactor via two-step lipase-catalysed esterification[J]. J Funct Food, 2016, 21: 330-337.
- [21] 孙兆敏, 李金章, 王玉明, 等. 酶法制备 n -3 多不饱和脂肪酸甘油三酯的工艺[J]. 食品工业科技, 2010, 31(9): 262-264.
- [22] 陈小娥, 方旭波, 陈洁, 等. 高纯度 EPA/DHA 甘油三酯的酶法合成[J]. 过程工程学报, 2009, 9(3): 552-557.
- [23] SUN T, PIGOTT G M, HERWIG R P. Lipase-assisted concentration of n -3 polyunsaturated fatty acids from viscera of farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) [J]. J Food Sci, 2010, 67: 130-136.
- [24] KO W C, WANG H J, HWANG J S, et al. Efficient hydrolysis of tuna oil by a surfactant-coated lipase in a two-phase system [J]. J Agric Food Chem, 2006, 54: 1849-1853.
- [25] OKADA T, MORRISSEY M T. Production of n -3 polyunsaturated fatty acid concentrate from sardine oil by immobilized *Candida rugosa* lipase [J]. J Food Sci, 2008, 73: 146-150.
- [26] 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.
- [27] LIANG S H, WANG M Y, ZHU L J, et al. Preparation of DHA- and EPA-enriched glycerides by enzymatic interesterification using tuna oil and capric acid [J]. Grain Oil Sci Technol, 2018, 1: 197-104.
- [28] YANG Z Z, JIN W H, CHENG X Y, et al. Enzymatic enrichment of n -3 polyunsaturated fatty acid glycerides by selective hydrolysis [J/OL]. Food Chem, 2021, 346: 128473 [2021-05-24]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128743>.
- [29] GOSWAMI D, BASU J K, DE SIRSHENDU. Lipase applications in oil hydrolysis with a case study on castor oil: a review [J]. Crit Rev Biotechnol, 2012, 33: 81-96.
- [30] KAMAL M Z, BARROW C J, RAO N M. A computational search for lipases that can preferentially hydrolyze long-chain *omega*-3 fatty acids from fish oil triacylglycerols [J]. Food Chem, 2015, 173: 1030-1036.
- [31] KRALOVEC J A, ZHANG S C, ZHANG W, et al. A review of the progress in enzymatic concentration and microencapsulation of *omega*-3 rich oil from fish and microbial sources [J]. Food Chem, 2012, 131(2): 639-644.
- [32] ZHANG Y, WANG X S, ZOU S, et al. Synthesis of 2-docosahexaenoylglycerol by enzymatic ethanolysis [J]. Bioresour Technol, 2018, 251(1): 334-340.