

酶在油脂制取、精炼与改性中的应用

刘书成¹, 鲁海龙², 张林尚¹, 陈小军³, 杨 硕³, 毕艳兰¹

(1. 河南工业大学 粮油食品学院, 郑州 450001; 2. 中粮工科(西安)国际工程有限公司, 西安 710082;

3. 河南启亿粮油工程技术有限公司, 郑州 450001)

摘要:为了探索绿色、高效的油脂加工工艺,对酶法制油、酶法精炼和酶法改性三个方面的原理,涉及酶的种类和特性,及研究现状进行了简要概述,并就酶技术在油脂加工各领域的发展进行了展望。生物酶技术具有绿色、健康、专一性强等优点,其在油脂加工中的应用有利于优化油脂加工工艺,提升油脂产品附加值与竞争力,以及减少加工产生的废水、废料等。酶技术在油脂工业中具有好的应用潜力,未来油脂的研发方向是细胞油脂和酶技术改性油脂。

关键词:油脂加工;酶技术;酶法制油;酶法精炼;酶法改性

中图分类号:TS224;Q55

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2023)12-0031-09

Application of enzymes in oil production, refining and modification

LIU Shucheng¹, LU Hailong², ZHANG Linshang¹, CHEN Xiaojun³,
YANG Shuo³, BI Yanlan¹

(1. College of Food Science and Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001,

China; 2. COFCO ET(Xi'an) International Engineering Co., Ltd., Xi'an 710082, China;

3. Henan Qi'e Grain and Oil Machinery Co., Ltd., Zhengzhou 450001, China)

Abstract: In order to explore the green and efficient oil processing technology, the principles of enzymatic oil production, enzymatic refining, and enzymatic modification, the types and properties of enzymes involved, and the current status of research were briefly outlined. In addition, the development of enzyme technology in various fields of oil processing was prospected. Bio-enzyme technology has the advantages of being green, healthy and specific, and its application in oil processing is conducive to optimizing the oil processing process, enhancing the added value and competitiveness of oil products, as well as reducing the wastewater and wastes generated by the processing. Enzyme technology holds significant potential for application in the oil industry. Future research and development in this field will focus on cellular fats and enzyme-modified oils.

Key words: oil processing; enzyme technology; enzymatic oil production; enzymatic refining; enzymatic modification

生物酶技术,作为一种新型、绿色、安全无害的加工技术在油脂加工领域中已经有了较为广泛的应用,如水酶法制油、酶法脱胶、酶法定向酯交换等。

生物酶技术在油脂加工中的应用,不仅具有反应专一性强、反应条件温和、反应更加彻底等优点,而且还可以简化工艺流程,节省设备投资,提高产品的质量和附加值,并减少化学品的使用和废弃物的产生,一定程度上解决了传统加工工艺的弊端^[1]。近年来,生物酶技术在油脂加工中的应用已经有了长足的发展,已有学者在此领域进行了综述,如:Sivakanthan等^[2]重点对近十五年的酶法修饰改性技术的应用现状进行了较为详细的综述,但对国内

收稿日期:2023-05-27;修回日期:2023-08-19

基金项目:河南工业大学创新基金支持计划专项资助(2020ZKCJ10)

作者简介:刘书成(2000),男,在读硕士,研究方向为脂质化学与品质(E-mail)2956296711@qq.com。

通信作者:毕艳兰,教授(E-mail)bylzy@126.com。

的发展情况涉及较少;万楚筠等^[3]对酶法制油技术进行了综述,但未涉及精炼、改性等热门技术;王瑛瑶等^[4]对2010年以前酶技术在油脂加工领域的应用进行了简要的概括总结,但随着科技的发展,生物酶技术已应用于功能性磷脂、阿魏酸结构脂等新领域,且国内生物酶的研发与固定化技术也有了较大的进步。本文就近十年酶技术在油脂加工中油脂制取、精炼、改性三大方面的研究与应用情况进行概述,并对油脂加工技术的前景进行展望,旨在为新型油脂加工工艺的发展提供参考。

1 酶法制油技术在油脂行业中的应用现状

1.1 酶法制油工艺中主要使用的酶种类

1.1.1 植物细胞破壁酶

植物细胞破壁酶是指可破坏植物细胞壁的骨架结构,使植物细胞内油脂和蛋白质等营养成分扩散出来,以便于后续提取和加工的一类酶。Hu等^[5]以油莎豆为原料,使用不同种类的酶进行水酶法制油,结果发现,不同酶组的提取效率表现为纤维素酶>半纤维素酶>果胶酶>蛋白酶。可见,不同的酶破壁处理效果存在差异,需要科学合理地选取破壁酶才能实现对油脂的高效提取。

1.1.2 蛋白酶

蛋白酶可以水解细胞壁和界面膜上的结构蛋白,从而破坏细胞壁的网状结构,降低界面膜的稳定性,同时使细胞内蛋白质结构变得疏松,从而有利于后续蛋白和油脂的提取^[6-7]。由于构成细胞壁和界面膜的蛋白质不同,不同蛋白酶对油脂提取的效果也有所差异。杨柳等^[8]研究了不同蛋白酶对水酶法提取大豆油得率的影响,结果发现,在碱性蛋白酶的作用下,大豆油的得率最高,为73.08%。

1.1.3 复合酶

在植物油的酶法提取中,不同种类的酶复配后能够发挥出比原来更好的效果。Hou等^[9]使用半纤维素酶、纤维素酶和果胶酶的复合酶提取山桐子果油,结果发现,复合酶组山桐子果油的提取率(79.36%)极显著高于无酶组和单酶组。植物水解酶(Viscozyme L)是一种具有纤维素酶、半纤维素酶、木聚糖酶和 β -葡聚糖酶等多种酶活性的复合酶,Díaz-Suárez等^[10]在水酶法制油试验中分别使用纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶和Viscozyme L提取蓖麻籽油,结果发现,Viscozyme L组的油脂得率显著高于其他酶组和无酶组。可见,复合酶在提取油脂的过程中可以有效破坏细胞壁的结构,提高油脂得率的效果十分明显,根据不同油料的结构组成复配出对应的复合酶,或可成为水酶法制油时选酶的最优解。

1.2 酶法制油技术的研究现状

全球对水酶法制油技术的研究已经有几十年的历史。Lamsal等^[11](2006年)和De Moura等^[12](2009年)先后对水酶法提取大豆油进行了小试和小规模扩大试验(2 kg),结果表明,经过酶解后油脂提取率最高分别达88%和98%,均取得良好的效果,为后续水酶法提油大规模应用提供了数据支撑。放眼国内,自“十一五”起我国就重点进行了传统工艺的改造,针对油料特殊预处理技术,国内已开始对大宗油料如大豆等的水酶法制油技术进行了研究^[13];而后国内诸多学者分别对花生油^[14-15]、桐子油^[16]、山核桃油^[17]等的水酶法制取工艺进行了优化,充分提高了水酶法的应用价值。然而,水酶法制油存在酶制剂价格高、酶解反应时间较长等缺点,为了改善这些缺点,与其他辅助技术相结合也许是一个优化思路,如超声波-水酶法提油技术,其是利用超声波对植物细胞壁结构的空化效果,与酶协同破坏细胞壁的骨架结构,加快油体的释放速度^[18]。Han^[19]、Huang^[20]等分别以玉米油和米糠油为研究对象,结果发现,超声波辅助可以对水酶法提油产生积极影响,显著提高游离油的得率。与单一水酶法相比,超声波辅助水酶法提取植物油可以有效缩短反应时间、提高油脂得率。在水酶法制油工艺中,影响油脂得率的另一重要因素是油体的破乳,由于蛋白质是双亲性的,在提油过程中常会在油水交界处形成蛋白质-磷脂复合物包裹的乳状液,为提高油脂得率,须进行破乳处理。研究表明,水酶法提油的油脂得率与破乳率呈正相关^[21]。破乳方法按机制可分为物理法(包括冷冻、加热、微波等)、化学法(包括酸碱、无机盐、有机溶剂等)和酶法(磷脂酶、蛋白酶等),也可将上述方法联合使用,以获得较好的破乳效果。Lu等^[22]使用异丙醇超声和添加 Ca^{2+} 的预处理方法对水酶法提取山茶油过程中形成的乳状液进行破乳,油脂得率高达78.03%,是无异丙醇超声和添加 Ca^{2+} 预处理的对照组(45.62%)的1.71倍,乳液含量(1.5%)也仅为对照组(5.3%)的28%。良好的破乳效果可极大地提升水酶法制油的得率,先进的破乳处理方法有利于水酶法制油工艺更大规模的推广和应用。

然而,目前大宗油料的水酶法制油工艺均处于研究或研制阶段,主流的制油技术依旧是浸出、压榨等。水酶法在反应条件、油品质量、环境友好程度上拥有明显的优势,但是仍然有一些限制,如:水酶法制油工艺会产生大量的废水,若不妥善处理,同样会造成环境的污染;酶解油料的细胞壁及油脂体膜的

时间较长,不利于大规模的工业化生产应用,虽然和其他技术联用的思路也有许多研究,但对于工厂的设备、成本都有更高的要求;水酶法制油需要消耗大量的酶制剂,酶制剂重复利用度低,造成生产成本较高;提油过程中形成的乳液会影响油脂的得率,需研究更多先进简便的破乳处理方法。总之,水酶法制油技术还需要完善提升,相信未来随着相关难题的逐渐攻克,水酶法制油技术一定能在大宗油料的制取生产上大放光彩。

2 酶法精炼技术在油脂行业中的应用现状

2.1 酶法脱胶

由于酶作用原理的独特性,其可以使非水化磷脂转化成水溶性更强的溶血磷脂或者磷酸胆碱、磷酸乙醇胺等。相对于传统的脱胶方法,酶法脱胶因产物是溶血磷脂,可降低油脚的黏度,减少中性油的损失,且对于酶法脱胶产物是甘二酯的可有效提高油脂精炼的得率,因此酶法脱胶是未来油脂精炼研究推广的主要技术之一^[23]。

植物油中的磷脂主要为甘油磷脂,包括甘油磷脂酸(PA)、磷脂酰乙醇胺(PE)、磷脂酰胆碱(PC)、磷脂酰肌醇(PI)、磷脂酰甘油(PG)、磷脂酰丝氨酸(PS)等^[24]。根据与磷脂在作用位点上的不同,可将磷脂酶分为磷脂酶 A1 (PLA1)、磷脂酶 A2 (PLA2)、磷脂酶 B (PLB)、磷脂酶 C (PLC) 及磷脂酶 D (PLD),如图 1 所示。PLD 的作用位点在磷酸基团,产物是磷脂酸,其亲水性较弱,不利于后续胶溶性杂质的脱除,故而下面不作讨论。

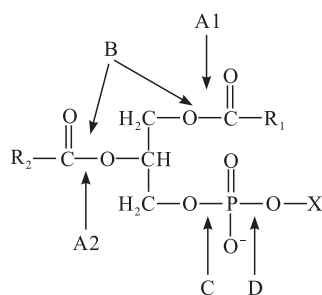


图 1 磷脂酶在磷脂分子上的作用位点

2.1.1 PLA1 和 PLA2

目前,脱胶效果较好的市售磷脂酶主要是 PLA1 和 PLA2,它们的来源和最适使用条件略有不同,详情如表 1 所示。

PLA1 是目前应用较为广泛的磷脂酶,其作用于磷脂 sn-1 位,能有效地水解植物原油中的主要磷脂 PC、PE 和 PA。Lecitase Ultra 是 Novozymes 公司研发的目前已经商业化使用的 PLA1,其具有可观的活性和稳定性,已被试用于多种油脂如大豆油、菜籽

油甚至生物柴油等的脱胶中,均表现出良好的适用性和工业应用价值^[25-27]。

表 1 一些用于油脂脱胶的 PLA1 和 PLA2
(参照文献[28]整理)

磷脂酶商品名	来源	特异性	最适温度/℃	最适 pH	脱胶效果
Lecitase 10L	猪胰脏	A2	65 ~ 70	5.5 ~ 6.0	一般
Lecitase Novo	<i>F. oxysporum</i>	A1	40 ~ 45	4.8	好
Lecitase Ultra	<i>T. lanuginosa</i> / <i>F. oxysporum</i>	A1	50 ~ 55	4.8	非常好
Rohalase MPL	基因工程菌	A2	35 ~ 45	4.0	非常好

PLA2 被最早用于酶法脱胶研究中,其脱胶原理与 PLA1 类似,作用于磷脂 sn-2 位。最初 Novozymes 公司研发的商品化的 PLA2 (Lecitase 10L) 在来源、成本等方面有诸多限制,并没有得到较大范围的使用。随后微生物来源的 PLA2 被开发,降低生产成本的同时还提升了产量,例如重组变铅青链霉菌可高产 PLA2,该酶在米糠油的脱胶中使用,可将脱胶油中磷含量降至 10 mg/kg 以下^[29]。

一些研究将超声技术与磷脂酶联用,在大豆原油的脱胶中有着不错的效果,如 More 等^[30]采用多频超声波技术对大豆原油的酶法脱胶展开了研究,结果表明:在室温(34℃)下,最佳脱胶条件为酶负荷 2.0 mL/L、pH 5、水负荷 5% 和超声功率 100 W,此条件下脱胶效率为 98.38%;500 mL 和 1 L 的放大试验显示,脱胶效率分别为 93.63% 和 91.15%,效果令人满意。随着近些年微生物发酵来源的 PLA1 和 PLA2 的开发和应用,极大程度地降低了酶法脱胶的成本和门槛,酶法脱胶在工业化油脂精炼中逐渐崭露头角,许多企业已经引入了 PLA1 和 PLA2 的酶法脱胶工艺并取得了不错的效果,后续可继续研究提高磷脂酶 PLA1 和 PLA2 的活性,进一步降低生产成本,使得酶法脱胶工艺逐渐取代传统脱胶工艺。

2.1.2 PLB

PLB 是作用于磷脂 sn-1,2 位的羧酸酯水解酶,其在人体和动物的表皮细胞、植物、细菌和真菌中都广泛存在^[31]。关于 PLB 脱胶工艺的研究资料较少,但理论研究表明 PLB 在酶法脱胶中拥有更大的潜力,这是由于其水解反应的主要产物为甘油酰磷脂,甘油酰磷脂有两个羟基,极性比溶血磷脂更大,脱胶时更易与水结合而沉降,因胶质夹带中性油导致的损失也比溶血磷脂更低。因此,理论上采用 PLB 酶法脱胶油得率比 PLA 高。Huang^[32]、Jiang^[33]等先后利用荧光假单胞菌和毕赤酵母成功地表达了 PLB,经过提纯优化后,将 PLB 用于大豆油和花

生油的脱胶,最终得到的脱胶油中磷含量均小于 5 mg/kg,酶活也高于天然的 PLB,可见该酶的脱胶效果良好。使用 PLB 脱胶时,其催化 PC 和 PE 水解生成的产物分别是甘油磷脂酰胆碱(GPC)和甘油磷脂酰乙醇胺(GPE),这两种物质是人体内天然存在的代谢产物,在促进大脑损伤患者的健康恢复、提高青少年记忆力等方面具有一定效果^[34]。因此,使用 PLB 作为脱胶酶,可使得到的油脂具有更高的附加值,更具优势和市场效益。

2.1.3 PLC

PLC 作用于磷脂 sn-3 位上酰基甘油与磷酸基团之间的化学键,生成甘二酯和磷酸盐,其中磷酸盐易溶于水,很容易从油中脱除,而甘二酯本身就是中性油的组分,可变相增加油脂得率,因而 PLC 在酶法脱胶中具有良好的应用前景。但是,普通的非特异性 PLC 无法水解 PI 和 PA,因此单独处理高磷含量的原油时可能效果不佳,需要与其他酶复合使用。

李军等^[35]使用 PLC 对大豆原油进行酶法脱胶,结果表明,PLC 的脱胶效果良好,在最佳反应条件下脱胶油磷含量可降至 1.00 mg/kg,且脱胶油的脂肪酸组成和相对含量与原油相比无显著性差异。杨亚济^[36]在使用 PLC 对大豆油进行酶法脱胶时,发现 PLC 酶法脱胶油磷含量与常规水化脱胶效果几乎相同,但油脂得率比常规水化脱胶高 1.38 个百分点。由此可见,PLC 在油脂脱胶中应用时,其脱胶效果良好,且对脱胶油的脂肪酸组成和相对含量无显著性影响。

酶法脱胶除了可以采用单一磷脂酶外,还可通过多种有针对性的酶类复合来提高脱胶效果。Rodrigues 等^[37]使用 PLA1、PLC 的混合物将脱胶米糠油的磷含量降低到 5 mg/kg。Dos Passos 等^[38]使用 Purifine © 3G(PLC、PLA2、PLC-PI 的混合酶)对大豆原油进行酶法脱胶,并与常规的水化脱胶、酸法脱胶进行了对比,结果表明,酶法脱胶效率(98.5%)超过水化脱胶(92.6%)和酸法脱胶(96.8%),且油脂中的甘二酯和游离脂肪酸含量与常规水化脱胶相比分别上升了 0.16% 和 0.97%,可见合适的复合磷脂酶可以产生良好的脱胶效果。

目前,随着磷脂酶价格的降低,酶法脱胶已经开始应用于大豆油、米糠油等脱胶工艺中,最常用的酶是 PLA1、PLA2 或者两者复合,而 PLC 由于其价格偏高,水解度较差,目前尚未在规模化加工中推广使用。酶法脱胶作为一种低能耗、低污染、高精炼率的脱胶方法,不仅可以在不购置大型设备的情况下引入现有的工厂中,而且适用于大部分油脂的脱胶。然而,目前酶法脱胶尚未完全普及推广,主要原因有

三点:其一,若生产磷脂产品,酶法脱胶会破坏磷脂的结构,不宜采用酶法脱胶工艺;其二,有些企业对酶法脱胶的认识尚不充分,除了担心增加生产投入,还担心调整生产工艺参数需要适应的时间;其三,油料的差异和原油中磷脂组成的差异,造成磷脂酶的脱胶效果稳定性有差异。因此,就目前形势来看,仍然需要在更优质、低成本的酶来源上进行深入研究,当越来越来多的酶被开发,相信更多企业会因其良好的效益而加入酶法脱胶的行列中来。

2.2 酶法脱酸

浸出后得到的原油一般都含有一定量的游离脂肪酸,它们会加速油脂水解酸败,产生小分子的醛、酮、酸等,影响油脂风味,不利于油脂的储存。许多国家标准中都明确规定了油脂的酸值范围,因而精炼时需要将游离脂肪酸脱除,这一工序被称为脱酸。目前,应用范围较广且比较有效的方法是物理蒸馏脱酸和碱炼脱酸。物理蒸馏脱酸时中性油几乎没有损失,但是,该过程没有辅助脱色功能,一般不单独应用于色泽较深油脂的脱酸处理,需要配合碱炼脱酸使用。碱炼脱酸会对油脂中的天然营养成分如甾醇、谷维素、生育酚等造成损失,且碱会与中性油发生皂化反应影响油脂得率,同时加工产生的废弃物和皂脚处理工序复杂,易造成环境污染等问题。

近年来催生了生物酶技术脱酸研究的热潮,其原理是利用脂肪酶催化油脂中的脂肪酸与甘油酯化反应重新生成甘三酯,当油脂的酸值过高时,酶法脱酸或可成为一种不错的脱酸方法。Bi 等^[39]研究表明,真空条件下脂肪酶 Novozym 435 催化中长碳链饱和脂肪酸(C8~C18)以及油酸(C18:1)与甘油酯化的酯化率均大于 95%,甘三酯含量接近 90%。Bhattacharyya 等^[40]利用脂肪酶 Lipozyme TM 对高酸值米糠油进行酶法脱酸,在最佳条件(压力 1.33×10^{-3} Pa,反应温度 70 °C,酶添加量为油质量的 10%)下反应 7 h,可脱除米糠油中 91.3% 的游离脂肪酸。酶法脱酸后只需经过轻微碱炼除去剩余的少量游离脂肪酸便可供食用。这种酶法和碱法相结合的精炼方式相较于其他方法能耗和污染物的排放都大幅减少,有利于资源利用和环境保护。但是目前的酶法脱酸要求原料中杂质很低,固定化酶的活性和利用次数均不高,使得酶法脱酸技术尚未在大宗油脂工业化精炼中普及,相信当这些瓶颈被突破后,酶法脱酸有望取代现有的脱酸方法成为主流。

2.3 酶法脱色

原油中或多或少的都含有来自于油料本身的天然色素,如叶绿素、胡萝卜素、叶黄素等。这些色素

会影响油脂的感官品质和稳定性,故而油脂精炼时需要经过脱色处理^[41]。目前工业上所采用的主流脱色方法为物理吸附法,即通过吸附剂,如白土、凹凸棒土、膨润土、活性炭等将色素吸附,然后再过滤脱除。

酶法脱色是近些年提出的新概念,其主要原理是利用酶与色素进行反应,使得色素的有效结构发生改变,以达到脱色的目的。例如脂肪氧合酶(LOX),它可以将 β -胡萝卜素和叶黄素等油脂中的常见色素氧化,对叶绿素也有一定的漂白作用。酶法脱色一般适用于一些脱色要求较高的油脂,吸附法脱色很难将色素完全脱除达到无色,而酶与色素是直接作用的,能够较为彻底地脱色^[42]。生物酶在脱色中的应用不仅减少了白土等吸附剂的使用,而且无毒无害,易于分离。但是目前酶法脱色并没有投入实际生产中,这是由于在大规模油脂生产中,很难找到对色素具有专一性的酶,大量酶的加入可能会发生不期望的副反应,如LOX可能会使油脂发生酶促氧化而影响其品质。另外,酶法脱色的成本过高,不及吸附法脱色实惠,也是其无法大规模应用的重要原因。

3 酶法改性技术在油脂行业中的应用现状

天然油脂的组成和结构不能完美地满足工业对油脂功能或质构的所有需求,通常需要对油脂进行改性。目前,生物酶技术在油脂改性中的应用主要

是通过其催化的专一性来达到优化油脂功能性质、提升油脂品质的目的^[43]。

酶法改性使用的主要酶类是脂肪酶(Lipase, EC3.1.1.3),其具有良好的特异性和异相反应能力,作用位点在甘三酯的羧酸酯键,其广泛存在于自然界的动植物以及微生物中,具有稳定安全、来源广泛、不受季节影响、成本低、产量高等优点,在工业生产中应用广泛^[44]。酶法油脂改性经过几十年的研究已经取得长足的发展,以下对于酶法改性技术在油脂行业中的应用现状进行简要介绍。

3.1 酶法催化制备功能性甘油酯

3.1.1 甘一酯和甘二酯

甘一酯(MG)是油脂中的天然成分,由于其良好的双亲性,是常见的食品乳化剂。甘二酯(DG)是含有两个脂肪酸的甘油酯,在人体内可抑制血清中血脂含量的升高以及减少内脏脂肪的积累,在生物及化妆品工业中,其可作为抑制剂、酶激活剂、乳化剂、稳定剂等^[45]。

甘一酯和甘二酯均可通过酶法改性技术制取,制取方法包括水解、酯化、酯交换等。其中,酶促酯化法是利用具有位置选择性的脂肪酶以甘油和脂肪酸(或脂肪酸酯)为底物制备具有特定结构的甘一酯或甘二酯^[46]。目前,酶法制备甘一酯、甘二酯更多采用的是甘油解法,即甘油和甘三酯在酶催化下发生酯交换反应,反应机制如图2所示。

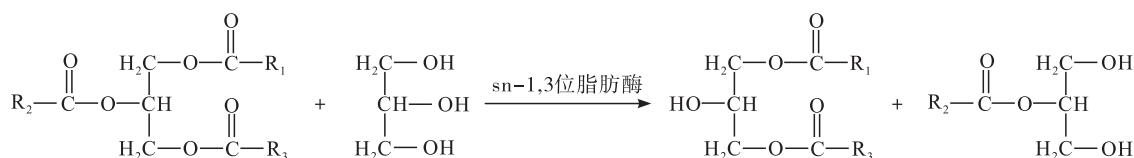


图2 甘油解法制备甘一酯、甘二酯的反应式

甘油解法因产物易分离、反应时间短等优点,在油脂工业中得到较为广泛的应用。马传国^[47]以脂肪酶Novozym 435为催化剂,通过甘油解法以高酸值米糠油和甘油为原料制备甘一酯,甘一酯最大产率为66.82%。但甘油解法最大的问题依旧是酶制剂的成本问题,可用的几种商业化酶制剂(Novozym 435, Lipozyme TL IM等)生产的关键技术掌握在国外公司手中,成本颇高,且无论是进口还是国产的脂肪酶,可能都面临着重复利用性差、缺乏固定化手段以及难以实现大规模生产等问题,这些问题是制约甘一酯和甘二酯生产的重要因素^[48]。

3.1.2 中长碳链甘三酯

中长碳链甘三酯(MLCT)是一种有特定结构的功能性油脂,既含有长碳链脂肪酸,又含有易于消化吸收的中碳链脂肪酸,可在一定程度上控制脂肪在

人体内的蓄积^[49]。关于酶法合成MLCT的方法已有研究,如徐文迪等^[50]以实验室制备的富含OPO、OPL的结构脂和椰子油为原料,以脂肪酶NS40086作催化剂酶法合成MLCT,结果表明,在底物(结构脂与椰子油)物质的量比0.8:1、脂肪酶添加量8%、反应温度65℃和反应时间6h条件下,产物中MLCT含量为70.44%,再经分子蒸馏进一步提纯,得到了MLCT含量为97.22%的产品,可见酶法合成MLCT的效果良好。因此,酶法合成MLCT是未来结构脂质合成的重要趋势。

3.1.3 人乳脂替代品和类可可脂

人乳脂是人乳中的重要成分,在为婴儿提供大部分热量来源的同时,还能够为其提供必需脂肪酸和一些脂溶性营养物质。有别于常见的植物油及动物乳脂的甘三酯结构,人乳脂中主要的甘三酯种类

是1,3-二油酸-2-棕榈酸甘油三酯(OPO),即sn-2位分布的是棕榈酸(C16:0),而大部分植物油甘三酯的sn-2位是不饱和脂肪酸。要制备OPO,化学酯交换难以满足要求,可筛选sn-2位是棕榈酸(C16:0)的油脂通过sn-1,3位特异性脂肪酶与油酸进行酯交换反应来实现。目前,酶法催化制取OPO已有许多研究和应用。Wei等^[51]使用两种较成熟的固定化sn-1,3位特异性脂肪酶Lipozyme TL IM和Lipozyme RM IM,分别在不同的溶剂体系中催化制备OPO,结果表明:脂肪酶Lipozyme TL IM和Lipozyme RM IM分别适用于有溶剂体系和无溶剂体系;在正己烷体系中,使用底物总质量10%的脂肪酶Lipozyme TL IM(底物为实验室制备的高纯度PPP与油酸),在底物物质的量比1:8、温度50℃条件下反应4h,产品中OPO的含量为32.34%;在无溶剂体系中,使用底物总质量12%的脂肪酶Lipozyme RM IM(底物同样为实验室制备的高纯度PPP与油酸),在底物物质的量比1:6、温度60℃下反应4h,产品中OPO含量为40.23%,且产品在sn-2位含有85%以上的棕榈酸。上述两种方法的反应时间都较短,说明酶法制取OPO的方式适用于食品生产。Liu等^[52]使用脂肪酶*Candida* sp. 99-125为催化剂,在丙酮体系下,通过醇解-酯化两步法制备OPO。第一步,脂肪酶*Candida* sp. 99-125催化PPP乙醇解制备2-MAG,通过溶剂分提分离纯化2-MAG(纯度98.01%和得率78.03%);第二步,在无溶剂体系下,脂肪酶*Candida* sp. 99-125催化2-MAG与油酸酯化制备OPO,产物中OPO含量为65%,75%的棕榈酸位于sn-2位。雷祎晨^[53]研究了进口脂肪酶Novozym 40086和国产脂肪酶VL089催化油酸与棕榈硬脂制备OPO的效果,结果表明,在各自最佳条件下,Novozym 40086的重复利用次数(4次)高于VL089的(2次),Novozym 40086制备OPO的产率(22.22 kg/kg)也高于VL089的(18.72 kg/kg),但VL089的价格仅为Novozym 40086的30%。可见一些国产酶虽然酶活低,催化效果不如Novozym 40086,但拥有良好的价格优势,相同质量的脂肪酶VL089催化制备的产品量仅比Novozym 40086少16%,工业化生产中企业可根据原料及成本的要求灵活选择酶源。

在人们日益增长的消费水平和质量要求下,酶法合成的人乳脂替代品在我国具有十分重要的市场潜力。虽然酶法合成的产品优点众多,但不难看出,大多数研究使用的特异性脂肪酶均来自国外,成本颇高,而目前国内的sn-1,3位特异性脂肪酶有了

不错的进展,但酶的活性和固定化技术还有待提高。酶促合成的巨大优势值得我们去研究和挖掘出廉价、稳定、专一性强的特异性脂肪酶以求降低酶法合成的成本,未来仍需为提高游离酶活和固定化稳定性,减少固定化过程脂肪酶活性损失上深入研究,而随着磁性纳米材料、天然纤维等易于回收且固定化效果不错的新型材料被用于酶固定化的载体^[54],一些性价比极高的酶固定化方法也将被开发,相信可以改变我国目前酶法合成成本高的困境。

3.2 酶法催化制备其他功能性酯类

酶法催化技术也广泛应用于功能性复杂脂质的制备,以下以磷脂酰丝氨酸(PS)和富含阿魏酸的结构脂质为例说明酶法催化制备的特点。

3.2.1 功能性磷脂

磷脂是油脂制取中主要的伴随物,普遍存在于动植物细胞的生物膜和原生质中,对生命机体的正常代谢有重要的调节功能。PS是构成动物神经组织和红血球的基本磷脂类物质,PS的摄入对于预防老年痴呆,提高儿童注意力,提升大脑记忆等均有一定功效^[55]。PS的酶法合成技术因反应条件温和、环境友好、PS产量大等优点而备受关注^[56]。PLD是作用于磷脂分子磷酸取代基上的一种磷脂酶,可被用于酶法合成PS,其机制是将磷脂酰胆碱(PC)转磷脂酰化生成PS^[57]。但由于底物PC与PLD、L-丝氨酸的极性差距较大,难以在纯水相或纯有机相中顺利反应,因而酶促合成的同时往往还需对反应体系进行优化。Liu等^[58]利用转基因毕赤酵母成功表达了PLD,建立了一种以微生物为催化剂的新体系用于酶法合成PS,该反应体系无有机溶剂危害,适用于大规模生产过程的水体系中,最终PS的转化率为53%,在水体系中重复使用4次后,相对产率依然保持在40%以上,为PS工业生产提供了一种新的途径。黄婷婷^[59]优化了纯水相中PLD催化生产PS的工艺,同样避免了有机溶剂的使用,在最佳反应条件下PS转化率达到96.7%,副产物PA仅生成0.2%,底物得到高效转化。酶的应用为绿色高效地合成功能性磷脂提供了方向,随着近年来食品、医药等行业对其需求的日益增加,未来酶法制备仍是重点的研究方向。

3.2.2 富含阿魏酸的结构脂质

阿魏酸是一种天然抗氧化剂,具有广泛的生物活性,例如抗氧化和抗菌能力。然而,阿魏酸在亲水性和亲脂性介质中的溶解度较差,难以在食用油中应用。将阿魏酸与甘三酯酯化形成新的结构脂质或可解决这一问题,考虑到脂肪酸的氧化性和热敏性,

酶法改性比传统化学工艺更合适^[60]。Sun等^[61]将阿魏酸乙酯和单硬脂酸甘油酯的酶促酯交换反应用于阿魏酸酰化脂质的生产,在最佳条件(酶添加量为底物质量的20%,反应温度74℃)下反应23h,阿魏酸乙酯的转化率为98.3%。Zhang等^[62]将阿魏酸乙酯与甘三酯作为酯交换反应的底物,通过无溶剂超声预处理酶法制备了阿魏酸结构脂质,结果表明:与传统机械搅拌相比,阿魏酸乙酯转化的活化能从50.0 kJ/mol降至40.7 kJ/mol,表观动力学常数增加了13倍以上,阿魏酸乙酯的转化效率均在92%以上;与原料油相比,富含阿魏酸的结构脂质的抗氧化活性显著增加,该结构脂质可广泛应用于功能食品的许多领域。

4 结 语

酶技术在油脂的制取、精炼、改性等方面都有不错的应用潜力,有望替代或颠覆现有的工艺,未来油脂的研发方向是细胞油脂和酶技术改性油脂等,酶技术为建立细胞工厂直接生产目标油脂或改性油脂提供了可能,同时促进了传统工艺向低碳工艺转化升级。因此,当务之急是寻找优良的酶固定化方法,提升酶的使用次数,并开发国产的生物酶来降低酶技术的使用成本,同时寻找更多的优质酶来源为市场提供选择。相信未来随着基因技术、生物技术及酶固定化方法等的不断完善发展,目前这些瓶颈问题都能够得到解决。

参考文献:

[1] ZHOU J, LEE Y Y, MAO Y, et al. Future of structured lipids: enzymatic synthesis and their new applications in food systems[J/OL]. *Foods*, 2022, 11(16): 2400[2022-05-27]. <https://doi.org/10.3390/foods11162400>.

[2] SIVAKANTHAN S, MADHURJITH T. Current trends in applications of enzymatic interesterification of fats and oils: a review[J/OL]. *LWT - Food Sci Technol*, 2020, 132: 109880[2022-05-27]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109880>.

[3] 万楚筠, 黄凤洪, 夏伏建. 生物酶技术在油脂制取中应用[J]. *粮食与油脂*, 2005, 18(11): 33-35.

[4] 王瑛瑶, 栾霞, 魏翠平, 等. 酶技术在油脂加工业中的应用[J]. *中国油脂*, 2010, 35(7): 8-11.

[5] HU B, LI Y, SONG J, et al. Oil extraction from tiger nut (*Cyperus esculentus* L.) using the combination of microwave-ultrasonic assisted aqueous enzymatic method - design, optimization and quality evaluation [J/OL]. *J Chromatogr A*, 2020, 1627: 461380[2022-05-27]. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461380>.

[6] 赵自通, 陈复生, 张丽芬, 等. 酶制剂在植物油脂与蛋

白质提取过程中应用的研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2017, 38(19): 205-210.

[7] ROSENTHAL A, PYLE D L, NIRANJAN K, et al. Combined effect of operational variables and enzyme activity on aqueous enzymatic extraction of oil and protein from soybean[J]. *Enzyme Microb Technol*, 2001, 28(6): 499-509.

[8] 杨柳, 江连洲, 李杨, 等. 蛋白酶对水酶法提取大豆油脂及蛋白质的影响研究[J]. *食品工业科技*, 2009, 30(10): 240-243.

[9] HOU K, YANG X, BAO M, et al. Composition, characteristics and antioxidant activities of fruit oils from *Ilexia polycarpa* using homogenate-circulating ultrasound-assisted aqueous enzymatic extraction[J]. *Ind Crop Prod*, 2018, 117: 205-215.

[10] DÍAZ-SUÁREZ P, ROSALES - QUINTERO A, FERNANDEZ-LAFUENTE R, et al. Aqueous enzymatic extraction of *Ricinus communis* seeds oil using Viscozyme L[J]. *Ind Crop Prod*, 2021, 170(10): 1-9.

[11] LAMSAL B P, MURPHY P A, JOHNSON L A. Flaking and extrusion as mechanical treatments for enzyme-assisted aqueous extraction of oil from soybeans[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2006, 83(11): 973-979.

[12] DE MOURA J M L N, JOHNSON L A. Two-stage countercurrent enzyme-assisted aqueous extraction processing of oil and protein from soybeans[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2009, 86(3): 283-289.

[13] 李杨, 江连洲, 许晶, 等. 挤压膨化预处理水酶法提取大豆油的工艺研究[J]. *中国油脂*, 2009, 34(6): 6-10.

[14] GAO Y, LIU C, YAO F, et al. Aqueous enzymatic extraction of peanut oil body and protein and evaluation of its physicochemical and functional properties[J]. *Int J Food Eng*, 2021, 17(11): 897-908.

[15] NIU R, CHEN F, LIU C, et al. Composition and rheological properties of peanut oil bodies from aqueous enzymatic extraction[J]. *J Oleo Sci*, 2021, 70(3): 375-383.

[16] 曹秋霞, 梁文斌, 杨艳, 等. 水酶法提取栀子油工艺优化及其脂肪酸组成[J]. *中国油脂*, 2022, 47(7): 22-27.

[17] 王亚萍, 姚小华, 常君, 等. 薄壳山核桃油水酶法提取工艺优化及品质分析[J]. *中国油脂*, 2022, 47(5): 1-6.

[18] 李天赐, 杨趁仙, 刘昆仑, 等. 水酶法提油技术及其对植物油脂品质影响的研究进展[J]. *食品与发酵工业*, 2023, 49(9): 365-372.

[19] HAN C, LIU Q, JING Y, et al. Ultrasound-assisted aqueous enzymatic extraction of corn germ oil: analysis of quality and antioxidant activity[J]. *J Oleo Sci*, 2018, 67(6): 745-754.

[20] HUANG W W, WANG W, LI J, et al. Study on the

- preparation process of rice bran oil by the ultrasonic enzymatic extraction[J]. *Adv J Food Sci Technol*, 2013, 5(2): 213 – 216.
- [21] 高玉航, 牛瑞浩, 姚飞, 等. 水酶法提油过程中破乳方法研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2021, 42(14): 172 – 177.
- [22] LU Y, HOU R, SHAO S, et al. In – depth potential mechanism of combined demulsification pretreatments (isopropanol ultrasonic pretreatments and Ca^{2+} flow additions) during aqueous enzymatic extractions of *Camellia* oils[J/OL]. *Food Chem*, 2023, 414: 135681 [2022 – 05 – 27]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135681>.
- [23] SAMPAIO K A, ZYAYKINA N, WOZNIAC B, et al. Enzymatic degumming: degumming efficiency versus yield increase[J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2015, 117(1): 81 – 86.
- [24] 毕艳兰. *油脂化学*[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [25] 徐赢华, 王国敬, 李春, 等. 酶法脱胶在植物油脂精炼中的应用进展[J]. *农业工程学报*, 2015, 31(23): 269 – 276.
- [26] VIRGEN – ORTIZ J J, SANTOS J C S, ORTIZ C, et al. Lecitase ultra: a phospholipase with great potential in biocatalysis [J/OL]. *Mol Catal*, 2019, 473: 110405 [2022 – 05 – 27]. <https://doi.org/10.1016/j.mcat.2019.110405>.
- [27] GOFFERJÉ G, MOTULEWICZ J, STÄBLER A, et al. Enzymatic degumming of crude *Jatropha* oil: evaluation of impact factors on the removal of phospholipids[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2014, 91(12): 2135 – 2141.
- [28] 王瑛瑶, 栾霞, 魏翠平, 等. 酶技术在油料基物料加工中的应用[C] //中国粮油学会油脂分会第十八届学术年会暨产品展示会论文集. 北京: 中国粮油学会油脂分会, 2009:31 – 34.
- [29] 叶绿笋. 变铅青链霉菌 LH001 产孢条件优化及其发酵产物 PLA₂在米糠油脱胶中的应用[D]. 武汉: 华中农业大学, 2011.
- [30] MORE N S, GOGATE P R. Ultrasound assisted enzymatic degumming of crude soybean oil[J]. *Ultrason Sonochem*, 2018, 42: 805 – 813.
- [31] 李明杰. 磷脂酶 B 的高效表达和酶学性质分析及其应用研究[D]. 天津: 天津科技大学, 2017.
- [32] HUANG S, LIANG M, XU Y, et al. Characteristics and vegetable oils degumming of recombinant phospholipase B [J]. *Chem Eng J*, 2014, 237: 23 – 28.
- [33] JIANG F, WANG J, KALEEM I, et al. Degumming of vegetable oils by a novel phospholipase B from *Pseudomonas fluorescens* BIT – 18 [J]. *Bioresour Technol*, 2011, 102(17): 8052 – 8056.
- [34] WANG Z, HAZEN J, JIA X, et al. The nutritional supplement *L* – α glycerylphosphorylcholine promotes atherosclerosis[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(24): 13477 [2022 – 05 – 27]. <https://doi.org/10.3390/ijms222413477>.
- [35] 李军, 杨静媚, 苏沛, 等. 磷脂酶 C 对大豆原油脱胶效果的研究[J]. *中国油脂*, 2022, 47(8): 19 – 24.
- [36] 杨亚济. 大豆油酶法脱胶应用实践[J]. *中国油脂*, 2016, 41(8): 107 – 109.
- [37] RODRIGUES M S, DOS PASSOS R M, PONTES P V A, et al. Enzymatic degumming of rice bran oil using different commercial phospholipases and their cocktails[J/OL]. *Life (Basel)*, 2021, 11(11): 1197 [2022 – 05 – 27]. <https://doi.org/10.3390/life11111197>.
- [38] DOS PASSOS R M, DA SILVA R M, DE ALMEIDA PONTES P V, et al. Phospholipase cocktail: a new degumming technique for crude soybean oil[J/OL]. *LWT – Food Sci Technol*, 2022, 159: 113197 [2022 – 05 – 27]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113197>.
- [39] BI Y L, CHEN J, LIU T, et al. High efficiency enzymatic synthesis of triglycerides with varying chain length and degree of unsaturation in a solvent – free system under vacuum [J]. *J Chem Technol Biotechnol*, 2020, 95(7): 2009 – 2016.
- [40] BHATTACHARYYA S, BHATTACHARYYA D K. Biorefining of high acid rice bran oil[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 1989, 66(12): 1809 – 1811.
- [41] KURTULBAŞ E, TOPRAKÇI İ, PEKEL A G, et al. A model study for decolorization reasons: β – carotene removal and its kinetics and thermodynamics behaviors [J]. *Biomass Convers Biorefin*, 2023, 13(9): 7755 – 7761.
- [42] 张振山, 康媛解, 刘玉兰. 植物油脂脱色技术研究进展[J]. *河南工业大学学报(自然科学版)*, 2018, 39(1): 121 – 126.
- [43] VÁZQUEZ L, BAÑARES C, TORRES C F, et al. Green technologies for the production of modified lipids [J]. *Annu Rev Food Sci Technol*, 2020, 11: 319 – 337.
- [44] KIM B H, HWANG J, AKOH C C. Liquid microbial lipase: recent applications and expanded use through immobilization[J/OL]. *Curr Opin Food Sci*, 2023, 50: 100987 [2022 – 05 – 27]. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2023.100987>.
- [45] ALESSA E R A, RAMIRO B J, GARCÍA HUGO S. Preparation of curcumin – carrying nanoemulsions using mono – and diacylglycerides enzymatically structured with bioactive fatty acids[J]. *Biocatal Biotransform*, 2020, 38(2): 93 – 103.

- [46] ABD R N N, GEW L T, PERES Y, et al. Statistical optimization and kinetic modeling of lipase - catalyzed synthesis of diacylglycerol in the mixed solvent system of acetone/*tert* - butanol[J]. *Ind Eng Chem Res*, 2021, 60 (39): 14026 - 14037.
- [47] 马传国. 高酸价米糠油酯化和酯交换反应及其制备甘二酯油脂[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013.
- [48] 王苑力, 栾霞, 魏征, 等. 甘油二酯的制备及纯化工艺研究进展[J/OL]. *中国粮油学报*, 2022; 1 - 20[2022 - 05 - 27]. <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2864.TS.20220720.1543.006.html>.
- [49] 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]. *Int J Food Sci Nutr*, 2016, 67(3): 288 - 297.
- [50] 徐文迪, 缪智诚, 王小三, 等. 酶法合成中长碳链甘油三酯[J]. *中国油脂*, 2019, 44(8): 51 - 56.
- [51] WEI W, FENG Y, ZHANG X, et al. Synthesis of structured lipid 1, 3 - dioleoyl - 2 - palmitoylglycerol in both solvent and solvent - free system [J]. *LWT - Food Sci Technol*, 2015, 60(2): 1187 - 1194.
- [52] LIU C, ZHANG Y, ZHANG X, et al. The two - step synthesis of 1, 3 - oleoyl - 2 - palmitoylglycerol by *Candida* sp. 99 - 125 lipase[J]. *J Mol Catal B - Enzym*, 2016, 133: S1 - S5.
- [53] 雷祎晨. 两种酶催化油酸与棕榈硬脂反应制备 OPO 工艺及酶的重复利用比较研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2022.
- [54] CIEH N L, MOKHTAR M N, BAHARUDDIN A S, et al. Progress on lipase immobilization technology in edible oil and fat modifications[J/OL]. *Food Rev Int*, 2023; 1 - 47 [2022 - 05 - 27]. <https://doi.org/10.1080/87559129.2023.2172427>.
- [55] HASEGAWA J, UCHIDA Y, MUKAI K, et al. A role of phosphatidylserine in the function of recycling endosomes [J/OL]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 783857[2022 - 05 - 27]. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.783857>.
- [56] LIU Y, ZHANG T, QIAO J, et al. High - yield phosphatidylserine production via yeast surface display of phospholipase D from *Streptomyces chromofuscus* on *Pichia pastoris* [J]. *J Agric Food Chem*, 2014, 62(23): 5354 - 5360.
- [57] MAO X, LIU Q, QIU Y, et al. Identification of a novel phospholipase D with high transphosphatidylase activity and its application in synthesis of phosphatidylserine and DHA - phosphatidylserine[J]. *J Biotechnol*, 2017, 249: 51 - 58.
- [58] LIU Y, HUANG L, FU Y, et al. A novel process for phosphatidylserine production using a *Pichia pastoris* whole - cell biocatalyst with overexpression of phospholipase D from *Streptomyces halstedii* in a purely aqueous system[J]. *Food Chem*, 2019, 274: 535 - 542.
- [59] 黄婷婷. 磷脂酶 D 的重组优化表达及生物转化制备磷脂酰丝氨酸[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2019.
- [60] SILVA T M S, SANTOS F P, EVANGELISTA - RODRIGUES A, et al. Phenolic compounds, melissopalynological, physicochemical analysis and antioxidant activity of jandaíra (*Melipona subnitida*) honey[J]. *J Food Compos Anal*, 2013, 29(1): 10 - 18.
- [61] 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.
- [62] ZHANG H, ZHENG M, SHI J, et al. Enzymatic preparation of "functional oil" rich in feruloylated structured lipids with solvent - free ultrasound pretreatment[J]. *Food Chem*, 2018, 248: 272 - 278.

(上接第 19 页)

- [12] 杨慧莲, 王海南, 韩旭东, 等. 我国玉米种植区域比较优势及空间分布: 基于全国 18 省 1996—2015 年数据测算[J]. *农业现代化研究*, 2017, 38(6): 921 - 929.
- [13] 王秀娟. 陕西苹果生产与出口贸易研究[D]. 陕西 杨凌: 西北农林科技大学, 2012.
- [14] 张有望, 宋长鸣. 区域合作视角下中三角地区主要农作物生产比较优势格局研究[J]. *农业现代化研究*, 2017, 38(3): 502 - 509.
- [15] 李远发, 胡灵, 王凌晖. 油茶资源研究利用现状及其展望[J]. *广西农业科学*, 2009, 40(4): 450 - 454.
- [16] 黄敦元, 郝家胜, 余江帆, 等. 油茶研究现状与展望[J]. *生命科学研究*, 2009, 13(5): 459 - 465.
- [17] 王小军, 刘光旭, 肖彤. 气候变化情景下油茶生长的适宜性特征[J]. *热带地理*, 2020, 40(5): 868 - 880.
- [18] 罗善军, 何英彬, 罗其友, 等. 中国马铃薯生产区域比较优势及其影响因素分析[J]. *中国农业资源与区划*, 2018, 39(5): 137 - 144.
- [19] 李婷. 中国木本食用油料价格波动研究[D]. 陕西 杨凌: 西北农林科技大学, 2015.
- [20] 孟桂元, 韩杰铖, 詹兴国, 等. 我国油茶产业分析与发展对策[J]. *中国油脂*, 2021, 46(7): 104 - 108, 113.
- [21] 周立群, 杨国新. 现代农业的准公共物品特征及其政策意义[J]. *经济问题*, 2009(11): 31 - 34.