

# 脂肪酶 Lipozyme TL IM 水解金枪鱼油工艺优化及其脂质分析

罗婷予<sup>1</sup>, 禩俊勇<sup>1</sup>, 金可涵<sup>1</sup>, 王文天<sup>1</sup>, 招志颖<sup>1</sup>, 黄梦婷<sup>1</sup>, 夏秋瑜<sup>1,2,3</sup>, 刘书成<sup>1,2,3</sup>

(1. 广东海洋大学 食品科技学院, 广东省水产品加工与安全重点实验室, 广东省海洋食品工程技术研发中心, 广东省海洋生物制品工程重点实验室, 水产品深加工广东普通高校重点实验室, 广东 湛江 524088; 2. 大连工业大学 海洋食品精深加工关键技术省部共建协同创新中心, 辽宁 大连 116034; 3. 南方海洋科学与工程广东省实验室(湛江), 广东 湛江 524025)

**摘要:**旨在为 Lipozyme TL IM 在鱼油脂质改性及相关功能性产品的研发和应用提供参考, 以金枪鱼油为原料, 采用固定化脂肪酶 Lipozyme TL IM 对其进行水解, 并分离改性水解甘油酯。采用单因素试验研究了 pH、水油比(质量比)、水解温度和水解时间对金枪鱼油水解度的影响, 确定了适宜的水解工艺参数, 并分析了不同水解度下(20%~50%)改性水解甘油酯的脂肪酸组成、结构、热稳定性和氧化稳定性。结果表明: Lipozyme TL IM 水解金枪鱼油的适宜工艺参数为 pH 6.0、水油比 3:1、水解温度 40℃、酶添加量 5% (以鱼油质量计), 在此条件下水解 30、60、80、120 min 可分别得到水解度为 20%、30%、40% 和 50% 的改性水解甘油酯; 随着水解度的增加, 所得改性水解甘油酯的多不饱和脂肪酸含量增多, 饱和脂肪酸含量减少, 结构改变, 热稳定性和氧化稳定性变差。综上, 可采用 Lipozyme TL IM 对金枪鱼油进行水解以富集多不饱和脂肪酸, 为后续产品开发提供特异性底物。

**关键词:**金枪鱼油;  $\omega$ -3 多不饱和脂肪酸; 酶法水解; 水解甘油酯

中图分类号: TS225.2; Q556+.1 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2024)07-0068-07

## Process optimization of lipase Lipozyme TL IM hydrolysis of tuna oil and its lipid analysis

LUO Tingyu<sup>1</sup>, XUAN Junyong<sup>1</sup>, JIN Kehan<sup>1</sup>, WANG Wentian<sup>1</sup>, ZHAO Zhiying<sup>1</sup>, HUANG Mengting<sup>1</sup>, XIA Qiuyu<sup>1,2,3</sup>, LIU Shucheng<sup>1,2,3</sup>

(1. Key Laboratory of Advanced Processing of Aquatic Product of Guangdong Higher Education Institution, Guangdong Province Engineering Key Laboratory for Marine Biological Products, Guangdong Province Engineering Technology Research Center of Seafood, Guangdong Province Key Laboratory of Aquatic Product Processing and Safety, College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, Guangdong, China; 2. Collaborative Innovation Center for Key Technologies of Marine Food Deep Processing, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, Liaoning, China; 3. Guangdong Province Laboratory of Southern Marine Science and Engineering, Zhanjiang 524025, Guangdong, China)

**Abstract:** In order to provide a reference for the research and application of Lipozyme TL IM in the

收稿日期: 2023-03-18; 修回日期: 2024-03-15

基金项目: 国家自然科学基金(32172252); 广东省普通高校重点领域专项(2022ZDZX2028); 广东海洋大学科研启动费资助项目(R20077); 广东海洋大学大学生创新训练项目(CXXL2022027)

作者简介: 罗婷予(1999), 女, 在读硕士, 研究方向为功能性脂质研究与开发(E-mail) lty2273802811@163.com。

通信作者: 夏秋瑜, 博士(E-mail) qiuyuxia@163.com。

modification of fish oil and related functional products, tuna oil was used as raw material, and the immobilized lipase Lipozyme TL IM was used for hydrolysis, and the modified hydrolyzed glycerides were separated. The effects of pH, water-oil ratio (mass ratio), hydrolysis temperature and hydrolysis time on the degree of hydrolysis were studied by single factor experiments, and the appropriate hydrolysis process parameters

were determined. In addition, the fatty acid composition, structure, thermal stability and oxidation stability of the modified hydrolyzed glycerides under different degrees of hydrolysis (20% - 50%) were analyzed. The results showed that the suitable process parameters for hydrolysis of tuna oil by Lipozyme TL IM was pH 6.0, water - oil ratio 3:1, hydrolysis temperature 40 °C and lipase dosage 5% (based on mass of tuna oil). Under these conditions, after hydrolysis for 30, 60, 80 min and 120 min, the modified hydrolyzed glycerides with hydrolysis degrees of 20%, 30%, 40% and 50% were obtained, respectively. With the increase of the hydrolysis degree, the polyunsaturated fatty acid content of modified hydrolyzed glycerides increased, the saturated fatty acid content decreased, the structure changed, and the thermal stability and oxidation stability deteriorated. In conclusion, Lipozyme TL IM can be used to hydrolyze tuna oil to enrich polyunsaturated fatty acids, and provide specific substrates for subsequent product development.

**Key words:** tuna oil;  $\omega$ -3 polyunsaturated fatty acid; enzymatic hydrolysis; hydrolyzed glycerides

以二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)为代表的 $\omega$ -3多不饱和脂肪酸( $\omega$ -3 PUFA)的健康功效已被广泛报道<sup>[1]</sup>,但许多国家公众日常膳食中 $\omega$ -3 PUFA摄入量偏低<sup>[2]</sup>,进而导致公众患肥胖、心血管疾病、关节炎、糖尿病等慢性疾病的风险上升<sup>[3-5]</sup>。鱼油是常用于补充 $\omega$ -3 PUFA的营养补充剂之一,但天然鱼油中的 $\omega$ -3 PUFA含量通常不高,并且天然鱼油中DHA和EPA的含量、比例及其脂质结构差异较大,不能满足食品、保健品及医药等领域的高端需求<sup>[6]</sup>。通过尿素包合法<sup>[7]</sup>、硝酸银络合法<sup>[8]</sup>以及酶法<sup>[9]</sup>等方法可有效富集油脂中的 $\omega$ -3 PUFA,其中酶法因具有反应条件温和,特异性强,能避免PUFA双键氧化、异构、聚合等副反应发生等优点,已成为近年来脂质改性的研究热点。利用脂肪酶水解油脂能有效改善其脂肪酸组成和结构,富集功能性脂肪酸,提高天然功能性油脂的品质。如:Xia等<sup>[10]</sup>使用脂肪酶CAL-A水解棕榈油以选择性去除其中的饱和脂肪酸(SFA),可将棕榈酸含量从40.0%降低到28.7%,油酸含量从40.0%升高到50.5%;Akanbi等<sup>[11]</sup>用脂肪酶CAL-A水解裂殖壶藻油,将DHA含量从40%提高至82%;禚俊勇等<sup>[12]</sup>研究发现,脂肪酶ADL水解金枪鱼油能有效富集 $\omega$ -3 PUFA。

研究表明,固定化脂肪酶Lipozyme TL IM是用途广泛的Sn-1,3位特异性脂肪酶。如:向小乐等<sup>[13]</sup>采用Lipozyme TL IM催化水解茶叶籽油,在超声波功率320 W、搅拌转速840 r/min、酶解温度50.5 °C、酶添加量3.0% (以油质量计)、缓冲液初始pH 8.5、酶解时间8 h条件下,茶叶籽油水解率达73%;李琳媛等<sup>[14]</sup>利用Lipozyme TL IM催化酯交换反应合成了中碳链-长碳链-中碳链(MLM)型结

构脂;孙晓洋等<sup>[15]</sup>在无溶剂体系中利用Lipozyme TL IM催化油茶籽油与硬脂酸和棕榈酸进行酯交换反应制备类可可脂;陈福妮等<sup>[16]</sup>使用Lipozyme TL IM催化精炼蚕蛹油与三辛酸甘油酯酯交换反应合成中长链脂肪酸甘油三酯,综上可看出目前对Lipozyme TL IM的研究多见于酯交换反应中,而用于水解反应的报道较少。

本文利用固定化脂肪酶Lipozyme TL IM水解金枪鱼油制备不同改性水解甘油酯,优化了水解条件,并分析了不同水解度下所得水解甘油酯的脂肪酸组成、热稳定性和氧化稳定性的差异,以期脂肪酶Lipozyme TL IM在鱼油脂质改性及其相关功能性产品的研发和应用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 原料与试剂

精制金枪鱼油,舟山新诺佳生物工程有限公司;固定化脂肪酶Lipozyme TL IM,北京高端森科技有限公司;无水乙醚、正己烷、甲醇、甲苯、乙酰氯等,均为分析纯,广州化学试剂厂。

#### 1.1.2 仪器与设备

UV-2550紫外分光光度计、TQ 8050 NX型气相色谱-质谱联用仪,日本岛津公司;TENSOR 27型傅里叶变换红外光谱仪,江苏天瑞仪器股份有限公司;SA449F3差示扫描量热仪,美国TA公司;YP 10002型电子天平,上海佑科仪器有限公司;FE 28型pH计,梅特勒-托利多公司;N-1100V-WB型旋转蒸发器,日本EYELA公司;控温磁力搅拌器,深圳市博大精科生物科技有限公司。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 金枪鱼油的水解

参照Xia等<sup>[17]</sup>的方法并稍作修改。取5 g金

枪鱼油于圆底烧瓶中,加入 5% (以鱼油质量计) 的 Lipozyme TL IM, 再按一定水油比 (质量比) 加入一定 pH 的磷酸盐缓冲溶液, 置于控温磁力搅拌器中, 在 350 r/min、一定温度下水解一定时间, 得到水解液。

### 1.2.2 改性水解甘油酯的分离

参照文献[18]的方法分离改性水解甘油酯。取 1.2.1 中的水解液, 加入 3 mL 无水乙醇终止反应, 用 0.5 mol/L KOH (含 30% 无水乙醇) 溶液中中和游离脂肪酸, 用无水乙醚萃取上清液, 萃取液在 30℃ 下旋转蒸发除去乙醚, 再用正己烷萃取, 于 50℃ 旋转蒸发, 氮吹, 得到改性水解甘油酯, 于 4℃ 下密封保存。

### 1.2.3 水解度的测定

称取 0.2 ~ 0.3 g 金枪鱼油水解液, 加入 5 mL 无水乙醇-乙醚 (体积比 1:2) 溶解, 再滴加 1~2 滴酚酞作指示剂, 混匀, 用 0.1 mol/L NaOH 溶液滴定, 待反应液变为微红色且 30 s 内不褪色时为滴定终点。水解度 (HD) 计算公式如下<sup>[17]</sup>。

$$D = \frac{56.1 \times C \times V}{m \times a \times 187} \times 100\% \quad (1)$$

式中:  $D$  为水解度; 56.1 为 KOH 的摩尔质量, g/mol;  $C$  为 NaOH 溶液的浓度, mol/L;  $V$  为 NaOH 溶液的用量, mL;  $m$  为水解液质量, g;  $a$  为油相在水解液中的质量分数; 187 为金枪鱼油的皂化值 (KOH), mg/g。

### 1.2.4 脂肪酸组成分析

样品先进行甲酯化, 再采用气相色谱法分析其脂肪酸组成。其中, 甲酯化方法参考 Akanbi 等<sup>[19]</sup> 方法并稍作修改。取 0.15 mL 样品于 25 mL 带塞比色管中, 加入 1 mL 甲苯、0.2 mL 1 mg/mL 2,6-二叔丁基对甲酚抗氧化剂、2 mL 体积分数 10% 的乙酰氯-甲醇溶液, 封口, 于 50℃ 鼓风干燥箱中过夜, 再加入 5 mL NaCl 溶液 (质量浓度 5 g/100 mL)、5 mL 正己烷, 取上清液加入 5 mL KHCO<sub>3</sub> 溶液 (质量浓度 2 g/100 mL), 取上清液加适量的无水硫酸钠, 过 0.22 μm 有机滤膜, 置 4℃ 下保存待气相色谱分析。

气相色谱条件: 载气为氦气, 压力 54.2 kPa, 流速 31.5 cm/s; 色谱柱流量 0.70 mL/min; 分流方式进样, 分流比 50:1, 总流量 41.7 mL/min; 进样量 1 μL; 进样口温度 250℃; 检测器温度 250℃; 柱升温程序为 130℃ 保持 5 min, 以 4℃/min 升至 240℃, 保持 45 min。

采用脂肪酸甲酯混标对样品中脂肪酸进行定性, 采用峰面积归一化法对脂肪酸进行定量。

### 1.2.5 傅里叶红外光谱 (FT-IR) 分析

取一定质量的样品, 加入样品质量 100 倍的干燥 KBr, 研钵研磨后, 压片机压制成片, 以空白 KBr 为对照, 用傅里叶变换红外光谱仪测量, 测量条件: 分辨率 4 cm<sup>-1</sup>, 扫描范围 400 ~ 4 000 cm<sup>-1</sup>, 扫描次数 32 次<sup>[20]</sup>。

### 1.2.6 热稳定性分析

取 8 mg 样品于 Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 坩埚中, 在差示扫描量热仪 (DSC) 中进行分析, 分析条件: 保护气为高纯 N<sub>2</sub> (99.99%), 流量 20 mL/min; 试验气氛为高纯 N<sub>2</sub> 和 O<sub>2</sub> (99.99%), 流量 50 mL/min; 升温程序为初始温度 35℃, 升温速率 10℃/min, 结束温度 600℃<sup>[21]</sup>。

### 1.2.7 氧化稳定性分析

分别测定样品的水分及挥发物含量<sup>[22]</sup>、过氧化值 (POV)<sup>[23]</sup>、茴香胺值 ( $p-AV$ )<sup>[24]</sup> 和 2-硫代巴比妥酸值 (TBARS)<sup>[25]</sup>, 用以表征样品的氧化稳定性。

### 1.2.8 数据处理

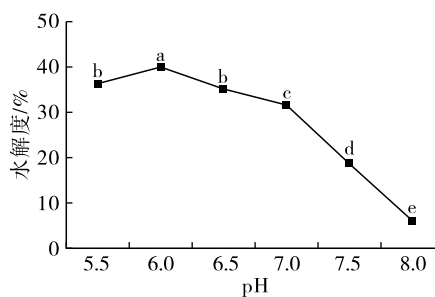
采用 JMP Pro 14.0 软件进行数据分析, 采用 Origin 8.0 作图。每组数据重复 3 次。

## 2 结果与分析

### 2.1 Lipozyme TL IM 水解金枪鱼油单因素试验

#### 2.1.1 pH 的影响

在水油比 1:1、水解温度 30℃、水解时间 6 h 条件下, 考察 pH 对 Lipozyme TL IM 水解金枪鱼油水解度的影响, 结果见图 1。



注: 不同字母表示差异显著 ( $p < 0.05$ )。下同

图 1 pH 对水解度的影响

由图 1 可见: 当体系 pH 从 5.5 升至 6.0 时, 金枪鱼油水解度呈上升趋势, 说明此时酶分子的空间结构处于最佳解离状态, 活力高; 当 pH 从 6.0 升至 8.0 时, 金枪鱼油水解度逐渐降低, 可能是碱性环境影响酶的活性, 抑制了酶的活力<sup>[26]</sup>。因此, 选择最适 pH 为 6.0。

#### 2.1.2 水油比的影响

在 pH 6.0、水解温度 30℃、水解时间 6 h 条件下, 研究水油比对 Lipozyme TL IM 水解金枪鱼油水解度的影响, 结果见图 2。

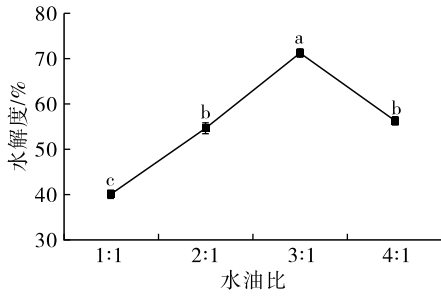


图2 水油比对水解度的影响

由图2可见,当水油比从1:1升至3:1时,金枪鱼油水解度呈上升趋势,之后金枪鱼油水解度随水油比的上升而下降,这可能是因为一定范围内的水油比能更好地促进酶与底物互相作用,激发酶的活力,但随着缓冲液增多,酶浓度下降进而导致酶活力下降,也可能导致其他副反应的发生<sup>[9]</sup>。因此,选择最适水油比为3:1。

### 2.1.3 水解温度的影响

在水油比3:1、pH 6.0、水解时间6 h条件下,研究水解温度对Lipozyme TL IM水解金枪鱼油水解度的影响,结果见图3。

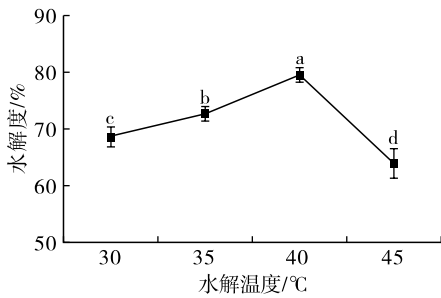


图3 水解温度对水解度的影响

由图3可见,随着水解温度的升高,金枪鱼油水

解度呈先升后降趋势,在水解温度40℃时金枪鱼油水解度最高。因此,选择最适水解温度为40℃。

### 2.1.4 水解时间的影响

在水油比3:1、pH 6.0、水解温度40℃条件下,研究水解时间对Lipozyme TL IM水解金枪鱼油水解度的影响,结果见图4。

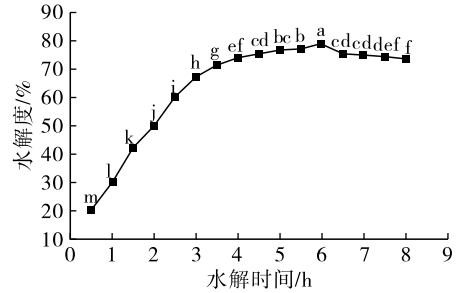


图4 水解时间对水解度的影响

由图4可见,当水解时间从30 min延长至6 h时,水解度快速上升,当水解时间超过6 h时,水解度缓慢下降。水解度下降可能由于水解反应体系中水解底物、产物及酶等参数的变化导致水解反应缓慢,或者发生了酯化、酯交换等副反应所致。

根据图4所示,按1.2.1方法,在水油比3:1、pH 6.0、水解温度40℃条件下分别水解30、60、80、120 min,得到水解度分别为20%、30%、40%和50%的水解液,再按1.2.2方法分离,得到相应的改性水解甘油酯产品,分别记为HD 20%、HD 30%、HD 40%和HD 50%。

## 2.2 金枪鱼油和改性水解甘油酯的脂肪酸组成

金枪鱼油和改性水解甘油酯的脂肪酸组成及含量见表1。

表1 金枪鱼油和改性水解甘油酯的脂肪酸组成及含量

脂肪酸	金枪鱼油	HD 20%	HD 30%	HD 40%	HD 50%
C14:0	3.03 ± 0.08 <sup>a</sup>	2.84 ± 0.15 <sup>a</sup>	2.76 ± 0.25 <sup>a</sup>	2.73 ± 0.21 <sup>a</sup>	2.60 ± 0.18 <sup>a</sup>
C14:1	0.83 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.79 ± 0.22 <sup>a</sup>	0.73 ± 0.42 <sup>a</sup>	0.88 ± 0.44 <sup>a</sup>	1.57 ± 0.51 <sup>a</sup>
C15:0	1.09 ± 0.08 <sup>ab</sup>	1.35 ± 0.01 <sup>a</sup>	1.29 ± 0.11 <sup>a</sup>	0.76 ± 0.19 <sup>b</sup>	0.70 ± 0.01 <sup>b</sup>
C15:1	0.31 ± 0.18 <sup>a</sup>	0.51 ± 0.21 <sup>a</sup>	0.54 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.29 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.53 ± 0.21 <sup>a</sup>
C16:0	20.02 ± 0.21 <sup>a</sup>	19.58 ± 0.66 <sup>a</sup>	19.18 ± 0.85 <sup>ab</sup>	18.93 ± 0.38 <sup>ab</sup>	17.25 ± 0.06 <sup>b</sup>
C16:1	5.42 ± 0.33 <sup>a</sup>	5.09 ± 0.23 <sup>ab</sup>	5.23 ± 0.40 <sup>ab</sup>	4.74 ± 0.12 <sup>ab</sup>	4.23 ± 0.09 <sup>b</sup>
C17:0	1.18 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.13 ± 0.06 <sup>a</sup>	1.09 ± 0.07 <sup>a</sup>	0.92 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.89 ± 0.13 <sup>a</sup>
C17:1	0.93 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.31 ± 0.18 <sup>a</sup>	0.40 ± 0.30 <sup>a</sup>	0.64 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.75 ± 0.06 <sup>a</sup>
C18:0	5.24 ± 0.21 <sup>a</sup>	5.08 ± 0.13 <sup>a</sup>	5.22 ± 0.52 <sup>a</sup>	4.66 ± 0.21 <sup>ab</sup>	3.82 ± 0.12 <sup>b</sup>
C18:1	22.42 ± 0.04 <sup>a</sup>	21.56 ± 0.10 <sup>a</sup>	21.73 ± 1.39 <sup>a</sup>	20.35 ± 0.49 <sup>ab</sup>	18.05 ± 0.13 <sup>b</sup>
C18:2	1.53 ± 0.04 <sup>a</sup>	1.39 ± 0.14 <sup>a</sup>	1.56 ± 0.29 <sup>a</sup>	1.28 ± 0.09 <sup>a</sup>	1.19 ± 0.05 <sup>a</sup>
C18:3(n-3)	0.54 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.26 ± 0.18 <sup>a</sup>	0.23 ± 0.32 <sup>a</sup>	0.49 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.38 ± 0.11 <sup>a</sup>
C20:0	0.40 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.54 ± 0.23 <sup>a</sup>	0.12 ± 0.17 <sup>a</sup>	0.25 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.18 ± 0.06 <sup>a</sup>
C20:1	2.02 ± 0.08 <sup>a</sup>	1.90 ± 0.18 <sup>a</sup>	1.06 ± 1.11 <sup>a</sup>	1.90 ± 0.03 <sup>a</sup>	1.55 ± 0.17 <sup>a</sup>
C20:2	0.31 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.07 ± 0.09 <sup>bc</sup>	0.01 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.26 ± 0.04 <sup>ab</sup>	0.37 ± 0.07 <sup>a</sup>
C20:4(ARA)	2.03 ± 0.06 <sup>c</sup>	2.50 ± 0.01 <sup>a</sup>	2.35 ± 0.01 <sup>ab</sup>	2.23 ± 0.11 <sup>bc</sup>	2.02 ± 0.01 <sup>c</sup>

续表 1

脂肪酸	金枪鱼油	HD 20%	HD 30%	HD 40%	HD 50%
C20:3( <i>n</i> -3)	0.26 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.16 ± 0.22 <sup>a</sup>	0.01 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.16 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.12 ± 0.02 <sup>a</sup>
C20:5(EPA)	5.71 ± 0.11 <sup>a</sup>	6.14 ± 0.11 <sup>a</sup>	6.03 ± 0.26 <sup>a</sup>	6.24 ± 0.11 <sup>a</sup>	5.95 ± 0.18 <sup>a</sup>
C22:0	0.49 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.40 ± 0.23 <sup>a</sup>	0.35 ± 0.11 <sup>a</sup>	0.29 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.30 ± 0.16 <sup>a</sup>
C22:1	0.25 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.35 ± 0.13 <sup>a</sup>	0.21 ± 0.30 <sup>a</sup>	0.40 ± 0.29 <sup>a</sup>	0.16 ± 0.03 <sup>a</sup>
C22:5(DPA)	1.62 ± 0.06 <sup>a</sup>	1.84 ± 0.13 <sup>a</sup>	1.82 ± 0.28 <sup>a</sup>	1.76 ± 0.10 <sup>a</sup>	2.29 ± 0.21 <sup>a</sup>
C22:6(DHA)	23.09 ± 0.27 <sup>d</sup>	25.87 ± 0.07 <sup>c</sup>	27.13 ± 1.03 <sup>bc</sup>	28.49 ± 0.72 <sup>b</sup>	33.82 ± 0.60 <sup>a</sup>
C24:1	1.24 ± 0.15 <sup>a</sup>	0.40 ± 0.09 <sup>b</sup>	0.48 ± 0.15 <sup>b</sup>	1.30 ± 0.08 <sup>a</sup>	1.20 ± 0.01 <sup>a</sup>
SFA	31.44 ± 0.39 <sup>a</sup>	30.91 ± 0.33 <sup>a</sup>	30.00 ± 1.87 <sup>a</sup>	28.53 ± 0.64 <sup>ab</sup>	25.72 ± 0.14 <sup>b</sup>
MUFA	33.39 ± 0.01 <sup>a</sup>	30.89 ± 0.35 <sup>b</sup>	30.37 ± 0.04 <sup>b</sup>	30.48 ± 0.25 <sup>b</sup>	28.03 ± 0.64 <sup>c</sup>
PUFA	35.08 ± 0.27 <sup>c</sup>	38.21 ± 0.02 <sup>bc</sup>	39.10 ± 1.58 <sup>b</sup>	40.89 ± 0.87 <sup>b</sup>	46.11 ± 0.69 <sup>a</sup>
DHA + EPA	28.80 ± 0.16 <sup>c</sup>	32.01 ± 0.18 <sup>b</sup>	33.15 ± 1.29 <sup>b</sup>	34.73 ± 0.83 <sup>b</sup>	39.77 ± 0.78 <sup>a</sup>

注:SFA为饱和脂肪酸,MUFA为单不饱和脂肪酸,PUFA为多不饱和脂肪酸;同行不同上标字母表示有显著差异( $p < 0.05$ )。下同

由表 1 可见,金枪鱼油及其改性水解甘油酯中共检测出 23 种脂肪酸。金枪鱼油经 Lipozyme TL IM 水解后,其主要饱和脂肪酸 C14:0、C15:0、C16:0、C17:0、C18:0 的含量分别从 3.03%、1.09%、20.02%、1.18%、5.24% 降为 HD 50% 的 2.60%、0.70%、17.25%、0.89%、3.82%。经 Lipozyme TL IM 水解后,金枪鱼油的 SFA 和 MUFA 含量随水解度的增加而下降,而 PUFA 含量则随着水解度的增加而增加,其中 DHA + EPA 含量亦随水解度增加而增加,说明 Lipozyme TL IM 水解金枪鱼油可以富集 PUFA,这与文献[27-28]的报道一致。这可能是因为 Sn-2 位上大部分是 PUFA(超过 90%)<sup>[29]</sup>,Lipozyme TL IM 有 Sn-1,3 位特异性,优先水解三酰甘油上 Sn-1,3 位的 SFA,生成游离脂肪酸和 Sn-2 甘油一酯。

### 2.3 金枪鱼油和改性水解甘油酯的 FT-IR 分析

金枪鱼油和改性水解甘油酯的 FT-IR 谱图如图 5 所示。

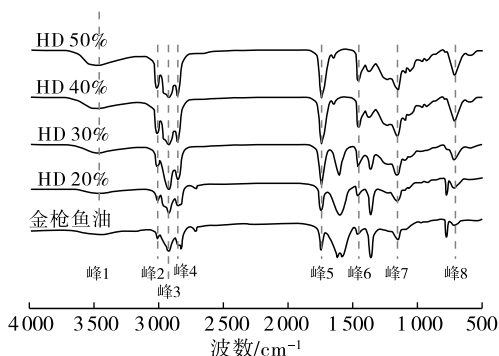


图 5 金枪鱼油和改性水解甘油酯的 FT-IR 谱图

如图 5 所示,峰 1(3 400 ~ 3 600  $\text{cm}^{-1}$ )代表羟基( $-\text{OH}$ )伸缩振动,金枪鱼油在此时没有明显的吸收峰,而改性水解甘油酯则随着水解度的增加,峰 1 的吸收峰越来越强,说明生成了较多的羟基

( $-\text{OH}$ ),可能是因为随着水解度增加,金枪鱼油中的甘油三酯水解生成更多的甘油一酯和甘油二酯所致。峰 2、峰 3 和峰 4(2 800 ~ 3 100  $\text{cm}^{-1}$ )分别代表顺式碳碳双键( $\text{C}=\text{C}$ )伸缩振动、不对称亚甲基( $-\text{CH}_2-$ )伸缩振动和对称亚甲基( $-\text{CH}_2-$ )伸缩振动,振动越强表示样品中 PUFA 含量越多<sup>[30]</sup>,随着水解度的增加,改性水解甘油酯在此处的吸收峰越来越强,与表 1 结果相对应。峰 5(1 700 ~ 1 800  $\text{cm}^{-1}$ )代表羰基( $\text{C}=\text{O}$ )的轴向振动,这是三酰基甘油中特有的结构<sup>[31]</sup>,可以证明图 5 中的 5 种样品有甘油酯结构。峰 6(1 400 ~ 1 500  $\text{cm}^{-1}$ )代表亚甲基( $-\text{CH}_2-$ )和甲基( $-\text{CH}_3$ )弯曲振动;峰 7(1 100 ~ 1 250  $\text{cm}^{-1}$ )范围内的高振动带是通过单键拉伸产生的链接,通常称为样品的指纹区,也是判断是否存在酯键( $-\text{COOR}$ )的关键因素<sup>[32]</sup>。峰 8(665 ~ 770  $\text{cm}^{-1}$ )的高振动强度可能是顺式碳碳双键( $\text{C}=\text{C}$ )的面外弯曲振动,随着水解度的增加,改性水解甘油酯中该峰的强度越来越高,与峰 1 ~ 峰 4 的变化趋势一致。

### 2.4 金枪鱼油和改性水解甘油酯的热稳定性

金枪鱼油和改性水解甘油酯的 DSC 曲线如图 6 所示。

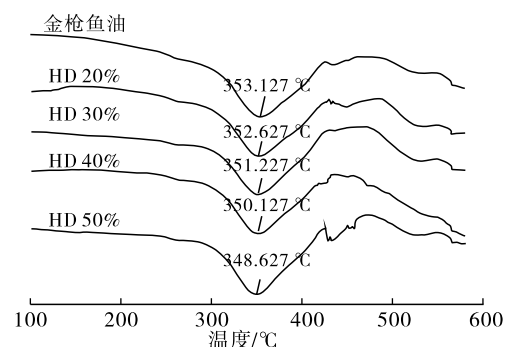


图 6 金枪鱼油和改性水解甘油酯的 DSC 曲线

由图6可见,金枪鱼油、HD 20%、HD 30%、HD 40%、HD 50%的峰值温度分别为353.127、352.627、351.227、350.127、348.627℃,金枪鱼油的峰值温度最高,随水解度增加,改性水解甘油酯的峰值温度逐渐降低,这可能是因为随着水解度的增加,形成了饱和度更低的甘油酯,导致热稳定性变差<sup>[33]</sup>。

### 2.5 金枪鱼油和改性水解甘油酯的氧化稳定性

金枪鱼油和改性水解甘油酯的氧化指标见表2。

表2 金枪鱼油和改性水解甘油酯的氧化指标

项目	金枪鱼油	HD 20%	HD 50%
水分及挥发物/%	0.40 ± 0.01 <sup>c</sup>	1.97 ± 0.01 <sup>b</sup>	2.30 ± 0.01 <sup>a</sup>
POV/(g/100 g)	0.04 ± 0.01 <sup>c</sup>	0.21 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.28 ± 0.01 <sup>a</sup>
TBARS/(mg/kg)	0.043 ± 0.001 <sup>c</sup>	0.057 ± 0.001 <sup>b</sup>	0.065 ± 0.001 <sup>a</sup>
p-AV	7.44 ± 0.13 <sup>c</sup>	7.74 ± 0.03 <sup>b</sup>	8.88 ± 0.03 <sup>a</sup>

由表2可见,改性水解甘油酯的水分及挥发物含量、过氧化值、2-硫代巴比妥酸值和茴香胺值都比金枪鱼油的高,且HD 50%的比HD 20%的高。这可能是因为随着水解时间的延长,水解度升高,氧化程度加深,与禔俊勇等<sup>[12]</sup>研究金枪鱼油水解前后氧化稳定性的结果一致。

### 3 结论

固定化脂肪酶Lipozyme TL IM可用于水解金枪鱼油得到改性水解甘油酯。在pH 6.0、水油比3:1、水解温度40℃、酶添加量5%的条件下,水解速率较快,水解2 h可达到50%的水解度,水解6 h达到水解动态平衡。Lipozyme TL IM能有效富集PUFA,随着水解度的增加PUFA富集效果越明显,PUFA含量从水解前的35.08%增加到46.11%(HD 50%)。随水解度增加,改性水解甘油酯热稳定性和氧化稳定性显著降低。综上,金枪鱼油经过Lipozyme TL IM水解可以有效富集PUFA,可为后续酯化、酸解等脂质改性反应提供特异性底物,从而为高附加值的脂质改性衍生产品的研发提供依据。

### 参考文献:

[1] 崔晨茜,张红燕,袁贝,等.金枪鱼油加热后脂肪酸的动态变化[J].食品工业科技,2017,38(9):271-276.  
 [2] LUCAS M, ASSELIN G, PLOURDE M, et al. n-3 Fatty acid intake from marine food products among Quebecers: Comparison to worldwide recommendations [J]. Public Health Nutr, 2010, 13(1): 63-70.  
 [3] 冯晓玲,高鸿亮,张琪琪,等.ω-3多不饱和脂肪酸对炎症性肠病患者免疫细胞功能及炎症指标的影响[J].现代消化及介入诊疗,2022,27(2):205-209.

[4] LEUNG H H, NG A L, DURAND T, et al. Increase in omega-6 and decrease in omega-3 polyunsaturated fatty acid oxidation elevates the risk of exudative AMD development in adults with Chinese diet [J]. Free Radic Biol Med, 2019, 145: 349-356.  
 [5] ZHANG Y, ZHUANG P, MAO L, et al. Current level of fish and omega-3 fatty acid intakes and risk of type 2 diabetes in China [J/OL]. J Nutr Biochem, 2019, 74: 108249 [2023-03-18]. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2019.108249>.  
 [6] MOLFINO A, GIOIA G, ROSSI FANELLI F, et al. The role for dietary omega-3 fatty acids supplementation in older adults [J]. Nutrients, 2014, 6(10): 4058-4072.  
 [7] 刘书成,李德涛,欧冠强,等.尿素包合法富集蛇鲻鱼油中EPA和DHA的研究[J].广东海洋大学学报,2008,28(3):61-65.  
 [8] 刘卓华,刘书成,田树良,等.硝酸银络合法浓缩金枪鱼油多不饱和脂肪酸的研究[J].湛江海洋大学学报,2004,24(4):33-37.  
 [9] 刘书成,章超桦,谢燕,等.脂肪酶水解低值鱼油富集EPA和DHA甘油酯的研究[J].中国粮油学报,2009,24(3):79-83.  
 [10] XIA Q, AKANBI T O, LI R, et al. Lipase-catalysed synthesis of palm oil-omega-3 structured lipids [J]. Food Funct, 2019, 10(6): 3142-3149.  
 [11] 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.  
 [12] 禔俊勇,夏秋瑜,陈相权,等.选择性脂肪酶水解金枪鱼油制备改性水解甘油酯工艺优化[J].广东海洋大学学报,2022,42(2):104-111.  
 [13] 向小乐,余佶,杨万根,等.探头式超声乳化催化脂肪酶TL IM水解茶叶籽油工艺优化[J].食品与机械,2015,31(3):167-171.  
 [14] 李琳媛,刘萍,刘莉,等.超声波对酶法制备MLM型结构脂质的影响[J].中国油脂,2008,33(8):43-46.  
 [15] 孙晓洋,孟宏昌,毕艳兰,等.Lipozyme TL IM脂肪酶催化茶油酯交换制备类可脂的研究[J].中国粮油学报,2009,24(12):72-76,87.  
 [16] 陈福妮,钟赛意,王卫飞,等.富含α-亚麻酸的中长链脂肪酸结构脂酶法合成与理化性质研究[J/OL].中国油脂,2023:230011 [2023-03-18]. <https://doi.org/10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.230011>.  
 [17] XIA Q Y, AKANBI T O, WANG B, et al. Investigation of enhanced oxidation stability of microencapsulated enzymatically produced tuna oil concentrates using complex coacervation [J]. Food Funct, 2020, 11(12): 10748-10757.  
 [18] GÁMEZ-MEZA N, NORIEGA-RODRÍGUEZ J A,

- MEDINA - JUÁREZ L A, et al. Concentration of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid from fish oil by hydrolysis and urea complexation [J]. *Food Res Int*, 2003, 36(7): 721 - 727.
- [19] 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(1): 615 - 620.
- [20] 宋朝霞, 慕鸿雁. 基于壳聚糖 - 三聚磷酸盐的鱼油纳米颗粒制备及性能表征 [J]. *食品科技*, 2022, 47(6): 278 - 283.
- [21] 梅德清, 张永涛, 谭文兵, 等. 脂肪酸酯在 TG - DSC 下的挥发与氧化特性 [J]. *林产化学与工业*, 2014, 34(5): 133 - 138.
- [22] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 动植物油脂水分及挥发物的测定: GB 5009.236—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [23] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中过氧化值的测定: GB 5009.227—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [24] *p* - Anisidine value: AOCS official method Cd 18 - 90 [S]. Champaign, IL: AOCS, 2021.
- [25] 国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. 动植物油脂 2 - 硫代巴比妥酸值的测定 直接法: GB/T 35252—2017[S]. 北京: 中国标准出版社, 2018.
- [26] 李梦凡, 陶宁萍, 刘承初, 等. 酶解法制备罗非鱼油工艺研究 [J]. *中国油脂*, 2015, 40(7): 6 - 11.
- [27] 陈焯, 黄璟雯, 王熠璠, 等. 甘油酯型 *n* - 3 多不饱和脂肪酸富集方法研究进展 [J]. *中国油脂*, 2022, 47(2): 74 - 78.
- [28] 贺延苓, 黄若安, 蔡昌兰. *n* - 3 多不饱和脂肪酸的抗癌功效及其生物学机制的研究进展 [J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 26(24): 4025 - 4028.
- [29] 袁小武, 邓泽元, 李静, 等. 胰脂肪酶法测定食用甘油三酯中脂肪酸的位置分布 [J]. *食品科学*, 2008, 29(11): 544 - 547.
- [30] GUO T, WAN C, HUANG F, et al. Evaluation of quality properties and antioxidant activities of tiger nut (*Cyperus esculentus* L.) oil produced by mechanical expression or/with critical fluid extraction [J/OL]. *LWT - Food Sci Technol*, 2021, 141: 110915 [2023 - 03 - 18]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110915>.
- [31] ENGELMANN J I, SILVA P P, IGANSI A V, et al. Structured lipids by swine lard interesterification with oil and esters from common carp viscera [J/OL]. *J Food Process Eng*, 2018, 41(4): e12679 [2023 - 03 - 18]. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12679>.
- [32] TIMILSENA Y P, VONGSVIVUT J, ADHIKARI R, et al. Physicochemical and thermal characteristics of Australian chia seed oil [J]. *Food Chem*, 2017, 228: 394 - 402.
- [33] 黄雨洋, 齐宝坤, 赵城彬, 等. 加速氧化过程中不同植物油的稳定性研究 [J]. *中国食品学报*, 2019, 19(1): 243 - 248.
- 
- (上接第 60 页)
- [33] SLATTERY M L, POTTER J D, DUNCAN D M, et al. Dietary fats and colon cancer: Assessment of risk associated with specific fatty acids [J]. *Int J Cancer*, 1997, 73(5): 670 - 677.
- [34] HIETANEN E, BARTSCH H, BÉRÉZIAT J C, et al. Diet and oxidative stress in breast, colon and prostate cancer patients: A case - control study [J]. *Eur J Clin Nutr*, 1994, 48(8): 575 - 586.
- [35] SONG M, ZHANGX, MEYERHARDT J A, et al. Marine  $\omega$  - 3 polyunsaturated fatty acid intake and survival after colorectal cancer diagnosis [J]. *Gut*, 2017, 66(10): 1790 - 1796.
- [36] LONG Y, SANCHEZ - ESPIRIDION B, LIN M, et al. Global and targeted serum metabolic profiling of colorectal cancer progression [J]. *Cancer*, 2017, 123(20): 4066 - 4074.
- [37] PASCUAL G, DOMÍNGUEZ D, ELOSÚA - BAYES M, et al. Dietary palmitic acid promotes a prometastatic memory via Schwann cells [J]. *Nature*, 2021, 599(7885): 485 - 490.
- [38] BHUMIREDDY S R, ROCCHETTI G, PALLERLA P, et al. A combined targeted/untargeted screening based on GC/MS to detect low - molecular - weight compounds in different milk samples of different species and as affected by processing [J/OL]. *Int Dairy J*, 2021, 118: 105045 [2024 - 03 - 28]. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105045>.
- [39] KANG C, ZHANG Y, ZHANG M, et al. Screening of specific quantitative peptides of beef by LC - MS/MS coupled with OPLS - DA [J/OL]. *Food Chem*, 2022, 387: 132932 [2024 - 03 - 28]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132932>.
- [40] KONDO Y, NISHIUMI S, SHINOHARA M, et al. Serum fatty acid profiling of colorectal cancer by gas chromatography/mass spectrometry [J]. *Biomark Med*, 2011, 5(4): 451 - 460.
- [41] ORITA H, COULTER J, TULLY E, et al. High levels of fatty acid synthase expression in esophageal cancers represent a potential target for therapy [J]. *Cancer Biol Ther*, 2010, 10(6): 549 - 554.