

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2020.04.014

酶法制备含 ω -3 多不饱和脂肪酸油脂的国际研究进展

Dilay Sen, Derya Kahveci

(土耳其伊斯坦布尔科技大学 化学与冶金工程学院 食品工程系, 土耳其 伊斯坦布尔 34469)

摘要: 综述 ω -3 多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acids, PUFA) 作为一类必需脂肪酸 (essential fatty acids, EFAs), 主要来源为海产品中的鱼油, 对多种人体疾病治疗和/或预防具有的积极作用。梳理了酶法制备富含 ω -3 多不饱和脂肪酸油脂的研究最新进展 (截至 2019 年), 讨论很多不同产品的营养功效、不同脂肪酸组成的结构脂质、 ω -3 多不饱和脂肪酸浓缩液、磷脂的酶促酯交换制备技术及应用, 历年研究发现, 可以通过改善油脂中 ω -3 多不饱和脂肪酸含量的方式提高其在饮食中的摄入量。由于酶法反应条件温和, 尤其是脂肪酶特异性强, 且从生物利用度角度 ω -3 多不饱和脂肪酸在脂质分子上的位置与其含量同等重要, 因此相对于化学法, 酶法制备含 ω -3 多不饱和脂肪酸的油脂因安全高效而更受青睐。

关键词: ω -3 多不饱和脂肪酸; 营养功效; 酯交换; 酶法制备; 结构脂质; 多不饱和脂肪酸浓缩液; 磷脂; 鱼油

中图分类号: TS229 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2020)04-0082-11

网络首发时间: 2020-06-17 13:28:04

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3863.TS.20200617.1021.006.html>

The global research progress of enzymatic processing of oils with Omega 3 polyunsaturated fatty acids

Dilay Sen, Derya Kahveci

(Food Engineering Department, Faculty of Chemical and Metallurgical Engineering, Istanbul Technical University, Istanbul, Turkey, 34469)

Abstract: This paper has reviewed that Omega 3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs), as an essential fatty acids (EFAs), mainly come from fish oil of marine products, has positive effects on treatment and/or prevention of several diseases. In this review, the recent developments by 2019 in the field of enzymatic modification of oils rich in omega 3 PUFAs have summarized. Several different products, such as structured lipids with a variety of FA compositions, nutritional aspects, omega 3 PUFA concentrates, phospholipids and phenolic lipids, have discussed from the point of process technology as well as possible applications. Enhancing omega 3 PUFA content in diet involves a number of strategies aiming to modify the content of such FAs in fats and oils. Due to the mild reaction conditions used, especially the lipase specificity, the position as well as content of omega 3 PUFAs in lipid molecules being of importance from the point of bioavailability, enzymatic processing of omega 3 PUFA oil is safe, efficient and preferred over chemical treatments.

收稿日期: 2020-03-18

作者简介: Dilay Sen, 女, 1993 年出生, 博士研究生, 研究方向为食品生物技术、食品脂质和功能性食品研究。

通讯作者: Derya Kahveci, 女, 1984 年出生, 博士, 助理教授, 研究方向为食品废物价值化、酶法在食品生产中的应用和功能性食品开发。E-mail: kahvecid@itu.edu.tr. 详见本期第 C6-C7 页“国际约稿”介绍。

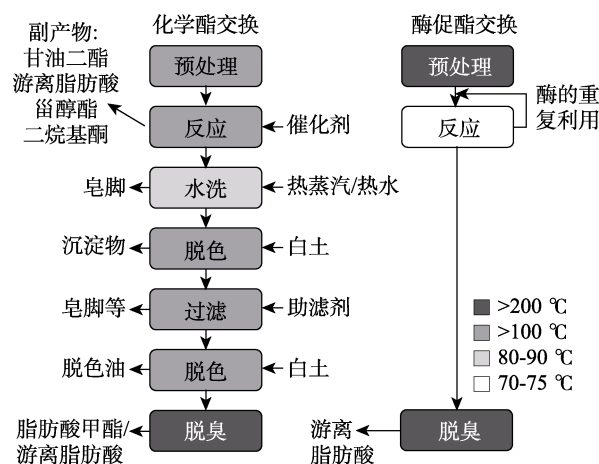
Key words: Omega 3 polyunsaturated fatty acids; nutritional aspects; interesterification; enzymatic processing; structured lipids; PUFA concentrates; phospholipids; phenolic lipids; fish oil

多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acids, PUFA) 是一类重要的营养物质。根据靠近脂肪酸分子甲基端的第一个双键的位置, 多不饱和脂肪酸主要分为 ω -3 和 ω -6 多不饱和脂肪酸。 ω -3 多不饱和脂肪酸主要是 α -亚麻酸 (α -linolenic acid, ALA, C18:3), ω -6 多不饱和脂肪酸主要是亚油酸 (linolenic acid, LA, C18:2)。这两种脂肪酸 (FAs) 都不能在体内合成, 因而是必需的营养物质, 被称为必需脂肪酸。 ω -3 和 ω -6 多不饱和脂肪酸在代谢过程中使用相同的酶, 因此, ALA 和 LA 的相对含量会影响彼此的代谢效率^[1]。

目前研究表明, ω -3 多不饱和脂肪酸, 尤其是二十碳五烯酸 (eicosapentaenoic acid, EPA, C20:5) 和二十二碳六烯酸 (docosahexaenoic acid, DHA, C22:6) 对人体健康有益。在成人体内只有不到 8% 的 ALA 转化为 EPA, 而 ALA 向 DHA 的转化则可忽略不计 (<0.02%~4%)。因此, EPA 和 DHA 都应通过饮食摄入进行补充。 ω -3 多不饱和脂肪酸的主要来源是海产品, 由浮游植物和藻类合成, 经食物链进入鱼类和海洋哺乳动物的脂质中^[2]。为了充分发挥 ω -3 多不饱和脂肪酸对人体健康的益处, 建议将此类必需脂肪酸引入食品和油脂中, 而非食用鱼类。Ward 和 Singh^[3]指出, 每天摄入 1 g EPA 和 DHA 需要食用 60~135 g 鲑鱼, 这引起了人们对富含 ω -3 多不饱和脂肪酸油脂的兴趣。

可以通过化学酯交换或酶促酯交换的方法进行油脂改性, 其工艺过程如图 1 所示。由于 ω -3 多不饱和脂肪酸的高不饱和度, 特别易于氧化, 因此需要在高温下进行的化学酯交换不适用于此类油脂。此外, ω -3 多不饱和脂肪酸在甘油骨架上的位置对其在体内的消化吸收有重要影响。 ω -3 多不饱和脂肪酸位于甘油骨架的 *sn*-2 位上时可有效防止氧化^[4], 而且以 2-单酰基甘油 (2-monoacylglycerol, 2-MAG) 的形式更利于吸收利用^[5]。因此, 具有特异选择性的酶法酯交换更适合制备富含 ω -3 多不饱和脂肪酸的油脂。

本文将简要介绍含 ω -3 多不饱和脂肪酸油脂的营养特性, 并重点评述 2015—2019 年酶法制备含 ω -3 多不饱和脂肪酸油脂的国际研究进展。



(注: 酶促酯交换过程是在固定床反应器中进行的, 因此不需要脂肪酶的过滤步骤。)

图 1 化学酯交换和酶促酯交换反应过程流程图
(改编自参考文献 6)。

1 ω -3 多不饱和脂肪酸的营养功效

20 世纪 70 年代以来, 研究发现格罗兰爱斯基摩人的低冠心病发病率与他们对多脂鱼类的高摄入量有关^[7], 因此, 人们开始关注 ω -3 多不饱和脂肪酸对健康的影响。 ω -3 多不饱和脂肪酸主要是通过改变细胞膜脂组成、细胞代谢、信号传导和调控基因表达而发挥作用, 它们可以调控肝脏、心脏、脂肪组织和大脑中的基因表达^[8]。根据现有的研究, ω -3 多不饱和脂肪酸在预防和治疗心血管疾病、高血压、糖尿病、关节炎和其它炎症性及自身免疫性疾病和癌症方面发挥着重要作用, 对正常的生长发育, 尤其是大脑和视网膜的生长发育至关重要。

1.1 对心血管疾病的功效

心血管疾病是所有影响心脏和循环系统的疾病的通称。它是西方社会人群的主要死亡原因, 并且与西方饮食中常见的高脂肪摄入, 尤其是饱和脂肪的摄入有关。经常食用含 ω -3 多不饱和脂肪酸的鱼或鱼油可降低冠心病的发病率和死亡率^[9],

这已被流行病学研究充分证实^[10], 然而, 为了预防心血管疾病而食用的 ω -3 多不饱和脂肪酸补充剂的作用, 至今仍存在争议^[11]。研究表明, 鱼对心血管疾病风险的有益影响是源于鱼体内营养物质的协同作用, 而不仅仅是 ω -3 多不饱和脂肪酸的作用。

1.2 对癌症的功效

癌症一词涵盖了 100 多种疾病。 ω -3 多不饱和脂肪酸已被证实具有抗癌作用, 特别是对乳腺癌^[12]、结肠癌^[13]和前列腺癌^[14]。此外, ω -3 多不饱和脂肪酸可能会增加肿瘤细胞对常规疗法的敏感性, 从而提升常规疗法的功效, 特别是对治疗耐药癌症的疗效^[15]。

1.3 对糖尿病的功效

胰岛素在细胞水平参与脂肪酸代谢的各个方面, 这也与糖尿病相关。大量人群实验的结果表明, ω -3 多不饱和脂肪酸对高甘油三酯血症具有积极作用且可改变胆固醇的分布, 因此, 建议对糖尿病患者使用 ω -3 多不饱和脂肪酸^[16]。其中一个有趣的发现是, 爱斯基摩人胰岛素抵抗和葡萄糖不耐症的发病率迅速增加, 这与从食用含高 ω -3 多不饱和脂肪酸和低饱和脂肪酸 (saturated FAs, SFA) 的天然鱼类和海洋哺乳动物转变为食用低 ω -3 多不饱和脂肪酸和高饱和脂肪酸的食品有关^[17]。

1.4 对炎症性疾病的功效

炎症是一系列急性和慢性人类疾病的组成部分, 其特征是炎症性细胞因子的产生。花生四烯酸 (arachidonic acid, AA, C20:4) 的衍生物类花生酸具有促炎效应。另一方面, ω -3 多不饱和脂肪酸代谢产生了消炎介质^[18-19], 称为消退素、保护素和巨噬细胞消炎素。它们既有直接作用 (例如, 通过代替 AA 作为类花生酸底物并抑制 AA 代谢), 又有间接作用 (例如, 通过影响转录因子激活改变炎症基因的表达)^[18,20-21]。此外, 食用富油鱼类也可有效预防儿童哮喘^[22]。

1.5 对神经组织发育的功效

ω -3 多不饱和脂肪酸, 尤其是 DHA, 是人脑的重要组成部分, 脑内约三分之一的脂质由 ω -3 多不饱和脂肪酸组成。大脑发育中 DHA 的减少与动物体内神经元再生的减少、神经递质代谢的不

足、学习和视觉功能以及运动技能的改变有关^[23]。此外, 流行病学研究表明, 孕妇 DHA 水平低与其婴儿神经和视觉系统发育不良风险增加之间存在关联^[24-26]。孕妇饮食中包含 EPA 和 DHA 对于确保她们的脂肪组织中含有这些必需脂肪酸, 以供发育中的胎儿和母乳喂养的新生儿成长发育是非常重要的^[27]。 ω -3 多不饱和脂肪酸对神经系统的另一个作用是预防精神疾病。尽管这些疾病的病因还不完全清楚, 但目前的研究表明, 食用 ω -3 多不饱和脂肪酸可降低抑郁的风险^[25,28-29], 并改善慢性患者的抑郁症状^[30]。患有单相抑郁症、季节性冬季情感障碍或社交焦虑障碍患者, 红细胞膜和血浆中的 EPA 浓度^[31]和 DHA 浓度^[31-32]含量较低^[25]。

1.6 对其他疾病的功效

其他报道的 ω -3 多不饱和脂肪酸的作用包括增强体重减轻对超重患者血脂血糖和胰岛素水平的影响^[33-34]、降低血压^[35]、减轻类风湿关节炎、神经肌肉痛、炎症性肠病、痛经^[36-37]、减少更年期妇女的潮热^[38]等。

轻度消化不良和打嗝是食用鱼油的主要不良反应。汞和多氯联苯等环境毒素可能污染鱼类等海洋产品, 并对人类造成潜在危害^[39]。

2 含有 ω -3 多不饱和脂肪酸的结构脂质

结构脂质 (structured lipids, SLs) 是具有特殊功能或营养特性的重组甘油三酯 (triacylglycerols, TAGs)。结构脂质的制备是通过化学或酶法改变甘油三酯的脂肪酸组成或脂肪酸位置分布。

sn-1 和 *sn*-3 位置含有中碳链脂肪酸 (M) 和 *sn*-2 位置含有 ω -3 多不饱和脂肪酸 (L) 的结构脂质因其营养特性而备受关注。这种脂质被称为 MLM 型结构脂质, 综合了不同链长脂肪酸的营养功能, 并在体内消化代谢过程中发挥健康效应。摄入后, 甘油三酯通过舌、胃, 更主要是通过胰脂肪酶水解为 2-单酰基甘油 (2-MAG) 和 2 个脂肪酸。对于 MLM 型结构脂质, 消化产物是富含 ω -3 多不饱和脂肪酸的 2-MAG 和中碳链游离脂肪酸 (medium-chain free fatty acids, MCFFA), 后者具有更高的血浆清除率、更高的氧化速率、更好的氮平衡作用和更少沉积在脂肪组织中的倾

向。因此, MLM 型结构脂质适合为吸收不良患者、短肠综合征患者、烧伤后的恢复患者以及早产儿快速提供能量。但是, 富含中碳链脂肪酸的油脂往往缺乏必需的 ω -3 多不饱和脂肪酸。将 ω -3 多不饱和脂肪酸结合到甘油骨架的 *sn*-2 位置, 可以更好地防止氧化^[4]以及更好地以 2-MAG 形式被吸收^[5]。MLM 型结构脂质对免疫功能、氮平衡和血液中的脂质清除具有积极作用, 不仅可以作为消化不良和脂质吸收不良患者的营养物质来源, 而且还可以作为老年人的高附加值保健品^[40]。

酶法合成结构脂质主要有三种方法: (1) 富含 ω -3 多不饱和脂肪酸的甘油三酯与中碳链脂肪酸的酸解反应, 其目的是用中碳链脂肪酸取代 *sn*-1,3 位置的脂肪酸、保留 *sn*-2 位置的 ω -3 多不饱和脂肪酸, 反应结束后, 游离脂肪酸可经蒸馏

或碱提后除去。(2) 分别富含 ω -3 多不饱和脂肪酸和中碳链脂肪酸的两个甘油三酯进行酯交换反应。如果可以抑制水解反应, 则产物将只有重组甘油三酯, 通过去除催化剂即可回收产物。然而, 产生的重组甘油三酯将包括 MLM 型结构脂以及其它重组甘油三酯。因此, 此方法不适合制备纯 MLM 型结构脂质。(3) 两步法, 首先是甘油三酯醇解反应生成富含 ω -3 多不饱和脂肪酸的 2-MAG, 再与中碳链游离脂肪酸发生酯化反应制得。醇解反应后分离除去副产物, 因此, 该方法是合成高纯度结构脂质的最适宜路线。*sn*-1,3 特异性脂肪酶, 尤其是来源于 *Rhizomucormiehei* 和 *Thermomyceslanuginosus* 的固定化脂肪酶, 应用广泛。表 1 总结 2015—2019 年该主题的研究进展, 更早的研究已经在其它文献中进行了综述^[48-49]。

表 1 2015—2019 年酶法制备含 ω -3 多不饱和脂肪酸结构脂质的国际文献汇总

反应	脂肪酶来源	产物组成	参考文献
棕榈油与 EPA 的酸解反应	固定化 <i>Rhizomucormiehei</i> 脂肪酶	35.1% 油酸, 31.1% EPA	41
鱼油与癸酸的酸解反应	固定化 <i>Candida antarctica</i> 脂肪酶 B	19.5% 癸酸, 16.74% EPA, 11.69% DHA	42
鱼油与癸酸的酸解反应	固定化 <i>Rhizomucormiehei</i> 脂肪酶	9.81% 癸酸, 20.70% EPA, 14.13% DHA	42
大豆油与沙丁鱼油中的游离脂肪酸的酸解反应	固定化 <i>Aspergillusniger</i> 脂肪酶	6.4% EPA, 5.3% DHA, 67.9% 多不饱和脂肪酸	43
大豆油与沙丁鱼油中的游离脂肪酸的酸解反应	<i>Rhizopusjavanicus</i> 固定化脂肪酶	4.6% EPA, 2.6% DHA, 59.7% 多不饱和脂肪酸	43
鱼油与辛酸的酸解反应	固定化 <i>Rhizomucormiehei</i> 脂肪酶	19.79%~28.90% 辛酸, 11.35%~12.66% EPA, 10.57%~10.75% DHA	44
鱼油与辛酸的酸解反应	固定化 <i>Candida antarctica</i> 脂肪酶 B	20.27%~30.29% 辛酸, 11.25%~11.56% EPA, 10.29%~10.67% DHA	44
鱼油与硬脂酸的酸解反应	固定化 <i>Rhizomucormiehei</i> 脂肪酶	19.32%~29.25% 硬脂酸, 7.84%~8.94% EPA, 7.62%~8.69% DHA	44
鱼油与硬脂酸的酸解反应	固定化 <i>Candida antarctica</i> 脂肪酶 B	20.58%~30.02% 硬脂酸, 11.15%~12.88% EPA, 10.14%~10.78% DHA	44
鱼油中 ω -3 游离脂肪酸浓缩液与双辛酸甘油酯的酯化反应	固定化 <i>Candida antarctica</i> 脂肪酶 B	24.13% 癸酸, 41.5% 多不饱和脂肪酸	45
鱼油与癸酸乙酯的酯交换反应	固定化 <i>Candida antarctica</i> 脂肪酶 B	30.76% 癸酸, 15.42% EPA, 9.83% DHA	42
鱼油与癸酸乙酯的酯交换反应	固定化 <i>Rhizomucormiehei</i> 脂肪酶	28.63% 癸酸, 16.25% EPA, 10.61% DHA	42
1. 微藻油的乙醇解反应 2. 辛酸与 2-MAG 的酯化反应	固定化 <i>Thermomyceslanuginosus</i> 脂肪酶	8.52% 癸酸, 34.90% 多不饱和脂肪酸	46
1. 茶籽油的乙醇解反应 2. 2-MAGs 和 EPA 或 DHA 乙酯的酯交换反应	1. 固定化 <i>Thermomyceslanuginosus</i> 脂肪酶 2. 固定化 <i>Candida antarctica</i> 脂肪酶 B	81.0% DHA STAGs	47

产物的产量和纯度取决于所用脂肪酶的特异性。例如, 来源于 *Candida rugosa* 的脂肪酶

由于具有脂肪酸特异性而不适合催化富含 ω -3 多不饱和脂肪酸油脂的酸解反应制备结构脂质^[50-51]。研

究表明, *Candida rugosa* 脂肪酶不仅能特异识别甘油三酯的脂肪酸, 而且可以识别整个甘油三酯分子^[52-53]。*Candida rugosa* 脂肪酶催化的水解反应分为两步: 不含 DHA 的甘油三酯分子首先被水解, 随着反应的进行, 含有 DHA 的甘油三酯分子也被水解。由于甘油三酯的酸解反应是连续的水解与酯化反应, 因此, *Candida rugosa* 脂肪酶催化的富含 ω -3 多不饱和脂肪酸油脂的酸解反应产率较低。此外, 脂肪酶的位置特异性对结构脂质的产量和纯度也有影响。与不具有位置特异性的 *Candida antarctica* 脂肪酶 B 和 *Pseudomonas* sp. 脂肪酶相比, *sn*-1,3 位置特异性 *Rhizomucormiehei* 脂肪酶在催化月桂酸和海豹油酸解制备 MLM 型结构脂质中最为有效^[54]。

含 ω -3 多不饱和脂肪酸的结构脂质的氧化稳定性是一个有待解决的主要问题^[55]。近年来, 富含多不饱和脂肪酸油脂体系中乳液模板化油凝胶的氧化稳定性引起了科研人员的关注。为了提高富含 ω -3 多不饱和脂肪酸结构脂质的氧化稳定性, 进行了油凝胶微胶囊的研究。以 β -谷甾醇/ γ -谷维素的植物甾醇混合物或蔗糖硬脂酸酯/抗坏血酸棕榈酸酯的混合物作为油凝胶剂, 以鲱鱼鱼油或鲱鱼鱼油与辛酸和/或硬脂酸制得的结构脂质作为脂质相制备了油凝胶。结果显示, 油凝胶及其微胶囊改善了脂质的氧化稳定性^[56]。之前的一项研究发现了相似的结果, 即内部结构(油凝胶)和外部涂层(微胶囊)都提高了油脂氧化稳定性, 原因是它们都对油脂进行了氧暴露的防护, 而氧暴露是导致脂质氧化的主要因素^[57]。研究表明, 与液态油相比, 由茶多酚棕榈酸酯颗粒和柑橘果胶构成的茶油(富含油酸)凝胶具有更高的氧化稳定性, 这可能是茶多酚棕榈酸酯及其形成的凝胶都具有抗氧化功能的结果^[58]。

3 酯交换法制备富含 ω -3 多不饱和脂肪酸的脂质

将 ω -3 多不饱和脂肪酸引入到长碳链脂肪酸油脂中, 可以改善其营养特性。此类脂质的典型案例就是母乳脂替代品(human milk fat substitutes, HMFS)。母乳脂成分独特, 其 *sn*-2 位置主要是棕榈酸(约占 *sn*-2 脂肪酸总量的 60%)。研究表明,

在母乳脂中, *sn*-2 位置大量的棕榈酸能提高婴儿对脂肪和钙的吸收, 并防止钙皂的形成。婴儿期和幼儿期的大脑发育需要饮食中含有充足和均衡的 ω -3 多不饱和脂肪酸, 其中, DHA 对婴儿神经系统的早期发育尤为重要。多项研究表明, 血液 DHA 水平与认知和视觉功能的提升呈正相关, 这种影响一直持续到幼儿时期^[59]。婴儿出生后, 母乳是婴儿 ω -3 多不饱和脂肪酸的唯一来源, 其含量取决于母亲的饮食。如果母亲患有 ω -3 多不饱和脂肪酸缺乏症和/或无法进行母乳喂养, 则应通过配方奶粉补充 ω -3 多不饱和脂肪酸。制备母乳脂替代品最常用的方法是用三棕榈酸甘油酯或 *sn*-2 位富含棕榈酸的结构脂质与各种来源的游离脂肪酸进行酸解反应。除纯油酸外, 还使用了从不同植物油(如橄榄油、榛子油、葵花籽油、大豆油、红花油、菜籽油、鱼油或微生物油脂)中获得的可以作为 ω -3 多不饱和脂肪酸(主要是 DHA 和 AA)来源的其它游离脂肪酸^[60-61]。当前的研究热点聚焦于 DHA 和 ARA 在母乳脂替代品甘油三酯特定位点的引入, 因此, 筛选能够催化制备具有特定功能结构脂质的脂肪酶的研究大幅增加^[62-63]。

除了母乳脂替代品外, 其他食用油也经过酶催化, 引入 ω -3 多不饱和脂肪酸以提高其营养价值。2001—2009 年期间的研究主要有三油酸甘油酯^[64-65]、榛子油^[66]、橄榄油^[67]、大豆油^[68]和棕榈油^[69-70]与 ω -3 多不饱和脂肪酸的酸解反应, 鲱鱼鱼油与松脂酸^[71]、鸡肉脂肪游离脂肪酸^[72]和共轭亚油酸^[73]的酸解反应, 富含 DHA 的 2-MAG 与油酸的酯化反应^[74], 棕榈仁油^[75]与棕榈油硬脂、硬脂酸乙酯(EE 是乙酯的缩写, 硬脂酸乙酯缩写应该是 SAEE)^[76]与富含 ω -3 多不饱和脂肪酸甘油三酯的酯交换反应。

4 酶法制备 ω -3 多不饱和脂肪酸浓缩液

浓缩液可提供更高浓度的 ω -3 多不饱和脂肪酸, 同时减少饱和与单不饱和脂肪酸、以及总脂肪的摄入量。此外, 鱼类消费负面影响的主要关注点^[77]为汞含量, 商品鱼油胶囊的汞含量从未检出, 可以忽略不计^[78]。

ω -3 多不饱和脂肪酸的主要浓缩方法有色谱

分离、分馏或分子蒸馏、低温结晶、超临界流体萃取和尿素络合法等。酶法与上述方法相比有许多优点。酶法不涉及极端 pH 值和温度,从而避免因氧化、顺反异构化或双键迁移而部分破坏 ω -3 多不饱和脂肪酸的天然全顺式结构。同时,温和的反应条件也降低了工艺成本。酶法的特征之一是,由于脂肪酶的底物和位置特异性,其产物也是定向可控的。

脂肪酶催化水解、醇解和酯化反应均可用于

制备 ω -3 多不饱和脂肪酸浓缩液。2015—2019 年脂肪酶催化水解制备 ω -3 多不饱和脂肪酸浓缩液的国际研究情况见表 2。水解反应的底物是脂质和水,方法简单且环境友好。水解反应的产物可以简单地通过沉降或离心进行分离。反应通常在线去除副产物(游离脂肪酸),而游离脂肪酸的积累会促使水解反应速率逐渐降低。可以通过皂化或蒸馏的方式从产物中脱除游离脂肪酸。

表 2 2015-2019 年脂肪酶催化水解制备 ω -3 多不饱和脂肪酸浓缩液的国际文献汇总

脂肪酶来源	底物 (ω -3 多不饱和脂肪酸含量/%)	产物中 ω -3 多不饱和脂肪酸含量 ^a /%	参考文献
<i>Bacillus subtilis</i>	鱼油 (29.89)	38.64	80
<i>Candida antarctica</i>	鱼肝油 (25.95)	36.65	81
<i>Candida rugosa</i>	鱼肝油 (25.95)	48.88	81
	棱鲱鱼油 (23.19)	46.38	82
	沙丁鱼油 (17.91)	50.79	83
<i>Cryptococcus</i> MTCC 5455	鱼油 (32.39)	48.01	84
	沙丁鱼油 (33.3)	50.3	85
<i>Thermomyces lanuginosa</i>	鳕鱼肝油 (25.95)	41.76	81
	鳕鱼鱼油 (29)	35.6	86
	鳕鱼鱼油 (29)	38.4	86

^a除非另有说明,指代甘油酯中的 ω -3 多不饱和脂肪酸含量。

在富含 ω -3 多不饱和脂肪酸油脂的醇解反应中,乙醇是首选。与水解反应相比,在不含水的无溶剂环境中进行的浓缩 ω -3 多不饱和脂肪酸的醇解反应大大减小了设备体积,并且可以应用于填充床反应器等连续工艺。此外,与水解反应相比,基质混合得更加均匀,并且通过蒸馏更容易从油相中分离脂肪酸乙酯。近几年的研究表明,乙醇解工艺已应用于生产富含 ω -3 多不饱和脂肪酸的偏甘油酯^[87-88]和乙酯^[89-90]。富含 ω -3 多不饱和脂肪酸的乙酯可作为药物制剂使用。从营养角度来看,偏甘油酯比乙酯更适合作为乙醇解反应的最终产物,因为偏甘油酯具有更好的生物利用率^[91]。此外,偏甘油酯作为“天然”产品被推广。

在醇解反应中,可用甘油代替乙醇,以生产富含 ω -3 多不饱和脂肪酸的偏甘油酯。甘油解反应可以产生不同的甘油酯,且没有脂肪酸损失,之后可以从反应混合物中提取目标脂质。近 5 年的研究表明,作为有前景的食品组分,具有高 ω -3 多不饱和脂肪酸含量的甘油二酯 (Diacylglycerols,

DAG)^[92-93]和甘油一酯 (monoacylglycerols, MAG)^[93-95]可以由脂肪酶催化甘油解反应来制备。甘油酯混合物也可以通过相同的酶法制备^[96],脂肪酸形式的 ω -3 多不饱和脂肪酸与甘油直接酯化可用于制备富含 ω -3 多不饱和脂肪酸的甘油酯^[97-98]。Halldorsson^[99]等通过甘油选择性酯化将 EPA 和 DHA 分离,因为 EPA 与甘油反应的同时 DHA 仍处于游离脂肪酸混合物中。

5 ω -3 多不饱和脂肪酸磷脂

富含 ω -3 多不饱和脂肪酸磷脂 (phospholipids, PL) 的制备受到了关注,因为此类磷脂拥有了除了多不饱和脂肪酸本身功能以外的新功能^[100]。位于磷脂酰胆碱 (phosphatidylcholine, PC) sn-2 位置的 DHA 具有更强的细胞通透性、抗肿瘤活性和细胞毒性。另一方面,含有 EPA 的磷脂可以降低大鼠脂肪组织的重量。催化制备磷脂的酶主要有脂肪酶和磷脂酶。磷脂 sn-1 位脂肪酸的改性可由磷脂的酸解或酯交换反应实现。磷脂酶 A₁

(Phospholipase A₁, PLA₁) 催化卵磷脂与 EPA、DPA 和 DHA 混合物的酸解反应生成富含多不饱和脂肪酸的卵磷脂, 其中 35% 的脂肪酸为多不饱和脂肪酸^[101]。加水可以降低多不饱和脂肪酸的引入量, 尽管结果尚未正式报道, 但体系中的水预计会降低产物得率。即使不加水, 水解反应也不可避免, 产物中溶血磷脂酰胆碱 (lysophosphatidylcholine, LPC) 的含量为 13.7%。不同作者的相似研究得到了同样的结果^[102]。当反应时间超过 6 h 时, 酸解使多不饱和脂肪酸在磷脂酰胆碱中的含量增加, 在 24 h 内从 21% 增加到 28%, 但水解程度的增加导致了磷脂酰胆碱产率显著降低。考虑到磷脂酰胆碱和溶血磷脂酰胆碱水平以及多不饱和脂肪酸的引入, 确定了固定化磷脂酶 A₁ 催化磷脂酰胆碱酸解反应的最佳水活度为 0.65^[103]。除了磷脂酶 A₁, 脂肪酶也可以用于制备富含多不饱和脂肪酸的磷脂。EPA 和 DHA 与溶血磷脂可在脂肪酶的催化下发生区域选择性酯化反应制备磷脂酰胆碱, 产率达 30% 以上^[104]。固定化 *Candida antarctica* 脂肪酶 B 是引入 DHA 的唯一有效酶, 而 EPA 则可以通过固定化 *Candida antarctica* 脂肪酶 B 或者固定化 *Rhizopusarrhizus* 脂肪酶引入。Peng^[105] 等比较了脂肪酶催化酸解反应将不同脂肪酸引入大豆磷脂的结合率。共轭亚油酸和辛酸的结合率相似, 但 EPA 和 DHA 的结合率相对较低。

2016 年, Li 等^[106] 通过固定化磷脂酶 A₁ 在无溶剂体系中催化磷脂酰胆碱与富含 DHA/EPA 的乙酯进行酯交换反应, 成功合成了富含 DHA/EPA 的磷脂酰胆碱。在温度 55.7 °C, 加水量 1.1wt%, 底物质量比 (乙酯/磷脂酰胆碱) 6.8 : 1 的条件下, 最大结合率为 19.09% (24 h)。当加水量大于 0.5wt% 时, 固定化磷脂酶 A₁ 的活性更高。24 h 的真空处理显著增加了 DHA/EPA 的结合率和富含 DHA/EPA 磷脂酰胆碱的含量, 72 h DHA/EPA 的结合率最高 (30.31%), 富含 DHA/EPA 磷脂酰胆碱的产率为 47.2%^[106]。2019 年, Wang 等^[107] 研究表明, 固定化来源于海洋 *Streptomyces sp.* 菌株 W007 的脂肪酶 (MAS1) 可在无溶剂体系中催化富含 ω -3 多不饱和脂肪酸的乙酯与磷脂酰胆碱进行酯交换反应。优化实验条件下, 24 h 内, ω -3

多不饱和脂肪酸最大结合率为 33.5%, 表面固定化 MAS1 脂肪酶是一种具有较高催化活性的磷脂改性生物催化剂^[107]。磷脂酶 A₂ (PLA₂) 专一催化多不饱和脂肪酸酯化至磷脂的 sn-2 位。磷脂酶 A₂ 催化磷脂酰胆碱与 EPA 乙酯在多种有机溶剂中进行酯交换反应^[108], 甲苯中 EPA 的结合率最高, 水通过可逆水解反应形成溶血磷脂酰胆碱而影响反应的产率, 含 EPA 磷脂酰胆碱的最高产率为 14.3%。

6 结语

ω -3 多不饱和脂肪酸对人体的营养价值及其对加工条件的敏感性, 引起了人们对温和加工技术如酶催化工艺的高度关注。对于鱼油或任何其它油脂中 ω -3 多不饱和脂肪酸的富集, 无论水解、酸解、醇解、酯交换还是酯化反应, 所有酶促反应均可在室温、常压和氮气保护下进行。因此, 与传统方法相比, 脂肪酶催化鱼油制备长碳链 ω -3 多不饱和脂肪酸的将更安全、高效。

参考文献:

- [1] GEBAUER S, HARRIS W S, KRIS-ETHERTON P M, et al. In: Akoh CC, Lai O-M, Eds. Dietary n-6:n-3 fatty acid ratio and health[J]. Illinois, AOCS Press. 1999, 221-48.
- [2] SHAHIDI F, WANASUNDARA U N. Omega-3 fatty acid concentrates: nutritional aspects and production technologies[J]. Trends Food Sci Tech 1998, 9: 230-40.
- [3] WARD O P, SINGH A. Omega-3/6 fatty acids: Alternative sources of production[J]. Process Biochem 2005, 40: 3627-52.
- [4] WIJESUNDERA C, CECCATO C, WATKINS P, et al. Docosahexaenoic acid is more stable to oxidation when located at the sn-2 position of triacylglycerol compared to sn-1(3)[J]. J Am Oil Chem Soc 2008, 85: 543-8.
- [5] CHRISTENSEN M S, HØY C E, BECKER C C, et al. Intestinal-absorption and lymphatic transport of eicosapentaenoic (EPA), docosahexaenoic (DHA), and decanoic acids - dependence on intramolecular triacylglycerol structure[J]. Am J Clin Nutr 1995, 61: 56-61.
- [6] HOLM H C, COWAN D. The evolution of enzymatic interesterification in the oils and fats industry[J]. Eur J Lipid Sci Technol 2008, 110: 679-91.
- [7] BANG H O, DYERBERG J, HJORNE N. Composition of food consumed by Greenland Eskimos[J]. Acta Med Scand 1976, 200: 69-73.
- [8] SAMPATH H, NTAMBI J M. Polyunsaturated fatty acid

- regulation of gene expression[J]. *Nutr Rev* 2004, 62: 333-339.
- [9] MAYYAS F, ALSAHEB A, ALZOUBI K H. The role of fish oil in attenuating cardiac oxidative stress, inflammation and fibrosis in rat model of thyrotoxicosis[J]. *Heliyon*, 2019, 5(12): e02976.
- [10] TUMMALA R, GHOSH R K, JAIN V, et al. Fish oil and cardiometabolic diseases: recent updates and controversies[J]. *The American journal of medicine*, 2019, 132(10): 1153-1159.
- [11] BROTAS M S, CARVALHO G A, PEREIRA P A. Determination, through derivatization and GC-MS analysis, of Omega-3 and Omega-6 fatty acids in fish oil capsules sold in salvador, bahia[J]. *Journal of the Brazilian Chemical Society*.2020, 31(3): 447-455.
- [12] PEPPONE L J, INGLIS J E, MUSTIAN K M, et al. Multicenter randomized controlled trial of omega-3 fatty acids versus omega-6 fatty acids for the control of cancer-related fatigue among breast cancer survivors[J]. *JNCI cancer spectrum*.2019, 3(2): pkz005.
- [13] WHITE M N, SHRUBSOLE M J, CAIQ. Effects of fish oil supplementation on eicosanoid production in patients at higher risk for colorectal cancer[J]. *European Journal of Cancer Prevention*, 28(3), 188-195.
- [14] GU Z, SHAN K, CHEN H, et al. n-3 Polyunsaturated fatty acids and their role in cancerchemoprevention[J]. *Curr. Pharmacol. Rep.* 2015, 5: 283-294.
- [15] D'ELISEO D, VELOTTI F. Omega-3 fatty acids and cancer cell cytotoxicity: implications for multi-targeted cancer therapy[J]. *Journal of clinical medicine*, 2016, 5(2): 15.
- [16] SKULAS-RAY A C, WILSON P W, HARRIS W S, et al. Omega-3 fatty acids for the management of hypertriglyceridemia: a science advisory from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 140(12): e673-e691.
- [17] EBBESSON SO, KENNISH J, EBBESSON L, et al. Diabetes is related to fatty acid imbalance in Eskimos[J]. *Int J Circumpolar Health*, 1999,58: 108-19.
- [18] CALDER P C. Omega-3 fatty acids and inflammatory processes: from molecules to man[J]. *Biochemical Society Transactions*, 2017, 45(5): 1105-1115.
- [19] CALDER P C. Marine ω -3 fatty acids and inflammatory processes: effects, mechanisms and clinical relevance[J]. *Biochim. Biophys. Acta, Mol. Cell Biol. Lipids* 1851, 469-484 doi:10.1016/j.bbalip.2014.08.010.
- [20] CALDER P C. n-3 polyunsaturated fatty acids and inflammation: From molecular biology to the clinic[J]. *Lipids*, 2003, 38: 343-52.
- [21] DUDA M K, O'SHEA K M, TINTINU A, et al. Fish oil, but not flaxseed oil, decreases inflammation and prevents pressure overload-induced cardiac dysfunction[J]. *Cardiovasc Res*, 2009, 81: 319-27.
- [22] HODGE L, SALOME C M, PEAT J K, et al. Consumption of oily fish and childhood asthma risk[J]. *Med J Australia*, 1996, 164: 137-40.
- [23] COLUCCIA A, BORRACCI P, RENNA G, et al. Developmental omega-3 supplementation improves motor skills in juvenile-adult rats[J]. *Int J DevNeurosci*, 2009, 27: 599-605.
- [24] INNIS S M. Dietary omega 3 fatty acids and the developing brain[J]. *Brain Res*, 2008, 1237: 35-43.
- [25] LARRIEU T, LAYÉ S. Food for mood: relevance of nutritional omega-3 fatty acids for depression and anxiety[J]. *Frontiers in physiology*, 2018, 9: 1047.
- [26] COULOMBE K, KERDILES O, TREMBLAY C, et al. Impact of DHA intake in a mouse model of synucleinopathy[J]. *Exp. Neurol*, 2017, 301, 39-49. doi: 10.1016/j.expneurol.2017.12.002.
- [27] BOURRE J M. Dietary omega-3 fatty acids for women[J]. *Biomed Pharmacother* 2007, 61: 105-112.
- [28] SONTROP J, CAMPBELL M K. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and depression: A review of the evidence and a methodological critique[J]. *Prev Med*, 2006, 42: 4-13.
- [29] TANSKANEN A, HIBBELN J R, TUOMILEHTO J, et al. Fish consumption and depressive symptoms in the general population in Finland[J]. *PsychiatrServ*, 2001, 52: 529-531.
- [30] CLAYTON E H, HANSTOCK T L, HIRNETH S J, et al. Reduced mania and depression in juvenile bipolar disorder associated with long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation[J]. *Eur J ClinNutr*, 2009, 63: 1037-1040.
- [31] LIU JJ, GALFALVY H C, COOPER T B, et al. Omega-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA) status in major depressive disorder with comorbid anxiety disorders[J]. *J. Clin. Psychiatry*, 2013, 74, 732-738. doi: 10.4088/JCP.12m07970.
- [32] OTOKI Y, HENNEBELLE M, LEVITT A J, et al. Plasma phosphatidylethanolamine and triacylglycerol fatty acid concentrations are altered in major depressive disorder patients with seasonal pattern[J]. *Lipids*, 2017, 52:559-571. doi: 10.1007/s11745-017-4254-1.
- [33] MORI T A, BAO D Q, BURKE V, et al. Dietary fish as a major component of a weight-loss diet: effect on serum lipids, glucose, and insulin metabolism in overweight hypertensive subjects[J]. *Am J ClinNutr*, 1999, 70: 817-825.
- [34] PHILPOTT J D, BOOTSMA N, HAMILTON D L, et al. Influence of fish oil-derived n-3 fatty acid supplementation on changes in body composition and muscle strength during short-term weight loss in resistance-trained men[J]. *Frontiers in nutrition*, 2019, 6: 102.
- [35] UESHIMA H, STAMLER J, ELLIOTT P, et al. Food omega-3 fatty acid intake of individuals (total, linolenic acid, long-chain) and their blood pressure INTERMAP study[J]. *Hypertension*, 2007, 50: 313-319.
- [36] GALARRAGA B, HO M, YOUSSEF H M, et al. Cod liver oil (n-3 fatty acids) as a non-steroidal anti-inflammatory drug sparing agent in rheumatoid arthritis[J]. *Rheumatology*, 2008,

- 47: 665-669.
- [37] UNDA S R, VILLEGAS E A, TOLEDO M E, et al. Beneficial effects of fish oil enriched in omega-3 fatty acids on the development and maintenance of neuropathic pain[J]. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2019, 72(3): 437-447.
- [38] LUCAS M, ASSELIN G, MERETTE C, et al. Effects of ethyl-eicosapentaenoic acid omega-3 fatty acid supplementation on hot flashes and quality of life among middle-aged women: a double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial[J]. *Menopause*, 2009, 16: 357-366.
- [39] YASHODHARA B M, UMAKANTH S, PAPPACHAN J M, et al. Omega-3 fatty acids: a comprehensive review of their role in health and disease. *Postgrad Med J*, 2009, 85: 84-90.
- [40] MU H, PORSGAARD T. The metabolism of structured triacylglycerols[J]. *Prog Lipid Res*, 2005, 44: 430-448.
- [41] XIA Q, AKANBI T O, LI R, et al. Lipase-catalysed synthesis of palm oil-omega-3 structured lipids[J]. *Food & function*, 2019, 10(6): 3142-3149.
- [42] WILLETT S A, AKOH C C. Application of Taguchi method in the enzymatic modification of menhaden oil to incorporate capric acid[J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2018, 95(3): 299-311.
- [43] de ARAÚJO M E M B, CAMPOS P R B, ALBERTO T G, et al. Synthesis of structured triacylglycerols enriched in n-3 fatty acids by immobilized microbial lipase[J]. *Brazilian journal of microbiology*, 2016, 47(4): 1006-1013.
- [44] WILLETT S A, MARTINI S, AKOH C C. Enzymatic modification of menhaden oil to incorporate caprylic and/or stearic acid[J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2019, 96(7): 761-775.
- [45] MORALES-MEDINA R, MUNIO M, GUADIX A, et al. Development of an up-grading process to produce MLM structured lipids from sardine discards[J]. *Food chemistry*, 2017, 228: 634-642.
- [46] HE Y, LI J, GUO Z, et al. Synthesis of novel medium- long-medium type structured lipids from microalgae oil via two-step enzymatic reactions[J]. *Process biochemistry*, 2018, 68: 108-116.
- [47] CASTEJÓN N, SEÑORÁNS F J. Strategies for enzymatic synthesis of Omega-3 structured triacylglycerols from camelina sativa oil enriched in EPA and DHA[J]. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2019, 121(5): 1800412.
- [48] IWASAKI Y, YAMANE T. Enzymatic synthesis of structured lipids[J]. *J Mol Catal B-Enzym*, 2000, 10: 129-140
- [49] KAHVECI D, WEI W, XU X. Enzymatic processing of Omega 3 long chain polyunsaturated fatty acid oils. *Current Nutrition & Food Science*, 2015, 11(3): 167-176.
- [50] HAMAM F, SHAHIDI F. Structured lipids from high-laurate canola oil and long-chain omega-3 fatty acids[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2005, 82: 731-736.
- [51] HAMAM F, SHAHIDI F. Enzymatic incorporation of capric acid into a single cell oil rich in docosahexaenoic acid and docosapentaenoic acid and oxidative stability of the resultant structured lipid[J]. *Food Chem*, 2005, 91: 583-591.
- [52] TANAKA Y, FUNADA T, HIRANO J, et al. Triglyceride specificity of *Candida cylindracea* lipase-effect of docosahexaenoic acid on resistance of triglyceride to lipase[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 1993, 70: 1031-1034.
- [53] TANAKA Y, HIRANO J, FUNADA T. Concentration of docosahexaenoic acid in glyceride by hydrolysis of fish oil with *Candida cylindracea* lipase[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 1992, 69: 1210-1214.
- [54] SENANAYAKE SPJN, SHAHIDI F. Acidolysis of seal blubber oil with lauric acid[J]. *J Food Lipids*, 2007, 14: 78-96.
- [55] MARTIN D, REGLEREO G, SENÑORÁNS F J. Oxidative stability of structured lipids[J]. *Eur Food Res Technol*, 2010, 231: 635-653.
- [56] WILLETT S A, AKOH C C. Encapsulation of menhaden oil structured lipid oleogels in alginate microparticles[J]. *LWT*, 2019, 116: 108566.
- [57] LEE M C, TAN C, ABBASPOURRAD A. Combination of internal structuring and external coating in an oleogel-based delivery system for fish oil stabilization[J]. *Food chemistry*, 2019, 277: 213-221.
- [58] LUO S Z, HU X F, JIA Y J, et al. Camellia oil-based oleogels structuring with tea polyphenol-palmitate particles and citrus pectin by emulsion-templated method: Preparation, characterization and potential application[J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 95: 76-87.
- [59] RYAN A S, ASTWOOD J D, GAUTIER S, et al. Effects of long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation on neurodevelopment in childhood: A review of human studies[J]. *ProstagLeukotrEss* 2010, 82: 305-314.
- [60] FAUSTINO A R, OSÓRIO N M, TECELÃO C, et al. Camelina oil as a source of polyunsaturated fatty acids for the production of human milk fat substitutes catalyzed by a heterologous *Rhizopusoryzae* lipase[J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2016, 118(4): 532-544.
- [61] SPROSTON M J, AKOH C C. Enzymatic modification of anhydrous milkfat with n-3 and 6 fatty acids for potential use in infant formula: comparison of methods[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2016, 93: 251-265.
- [62] ZOU L, PANDE G, AKOH C C. Infant formula fat analogs and human milk fat: new focus on infant developmental needs[J]. *Ann Rev Food Sci Technol*, 2016, 7: 139-165.
- [63] ZOU X, JIN Q, GUO Z, et al. Preparation of human milk fat substitutes from basa catfish oil: Combination of enzymatic acidolysis and modeled blending[J]. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2016, 118(11): 1702-1711.

- [64] KOJIMA Y, SAKURADANI E, SHIMIZU S. Acidolysis and glyceride synthesis reactions using fatty acids with two *Pseudomonas* lipases having different substrate specificities[J]. *J BiosciBioeng*, 2006, 102: 179-183.
- [65] HAMAM F, SHAHIDI F. Enzymatic incorporation of selected long-chain fatty acids into triolein[J]. *J Am Oil ChemSoc*, 2007, 84: 533-541.
- [66] CAN A, ÖZÇELİK B. Enrichment of hazelnut oil with long-chain n-3 PUFA by lipase-catalyzed acidolysis: Optimization by response surface methodology[J]. *J Am Oil ChemSoc*, 2005, 82: 27-32.
- [67] KAHVECI D, CAN A, ÖZÇELİK B. Production of lipase-catalyzed structured lipid from olive oil with omega-3 polyunsaturated fatty acids[J]. *Food SciBiotechnol*, 2009, 18: 79-83.
- [68] AKIMOTO M, IZAWA M, HOSHINO K, et al. Lipase-catalyzed interesterification of soybean oil with an ω -3 polyunsaturated fatty acid concentrate prepared from sardine oil[J]. *ApplBiochem Biotech*, 2003, 104: 105-118.
- [69] FAJARDO A R, AKOH C C, LAI O M. Lipase-catalyzed incorporation of n-3 PUFA into palm oil[J]. *J Am Oil ChemSoc*, 2003, 80: 1197-1200.
- [70] ZAINAL Z, LONGMAN A J, HURST S, et al. Modification of palm oil for anti-inflammatory nutraceutical properties[J]. *Lipids*, 2009, 44: 581-592.
- [71] KIM I-H, HILL Jr. C G. Lipase-catalyzed acidolysis of menhaden oil with pinolenic acid[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2006, 83: 109-115.
- [72] LEE K-T, FOGLIA T A, OH M-J. Lipase-catalyzed synthesis of structured lipids with fatty acids fractionated from saponified chicken fat and menhaden oil[J]. *Eur J Lipid SciTechnol*, 2001, 103: 777-782.
- [73] TORRES C F, BARRIOS E, HILL Jr. C G. Lipase-catalyzed acidolysis of menhaden oil with CLA: Optimization by factorial design[J]. *J Am Oil ChemSoc*, 2002, 5: 457-466.
- [74] ZHANG H, ÖNAL G, WIJESUNDERA C, et al. Practical synthesis of 1,3-oleoyl 2-docosahexaenoylglycerol by lipase-catalyzed reactions: An evaluation of different reaction routes[J]. *Process Biochem*, 2009, 44: 534-539.
- [75] OSÓRIO N M, DUBREUCQ E, da FONSECA M M R, et al. Lipase/acyltransferase-catalysed interesterification of fat blends containing n-3 polyunsaturated fatty acids[J]. *Eur J Lipid SciTechnol*, 2009, 111: 120-134.
- [76] YAMAGUCHI I, AKOH C C, LAI O M. Modification of fish oil by Lipozyme TL IM to produce structured lipid[J]. *J Food Lipids*, 2004, 11: 65-73.
- [77] DOMINGO J L. Omega-3 fatty acids and the benefits of fish consumption: is all that glitters gold?[J]. *Environ Int*, 2007, 33: 993-998.
- [78] FORAN S E, FLOOD J G, LEWANDROWSKI K B. Measurement of mercury levels in concentrated over-the-counter fish oil preparations: Is fish oil healthier than fish?[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2003, 127: 1603-1605.
- [79] RUBIO-RODRÍGUEZ N, BELTRÁN S, JAIME I, et al. Production of omega-3 polyunsaturated fatty acid concentrates: A review[J]. *Innov Food SciEmerg*, 2010, 11: 1-12.
- [80] VERMA M L, RAO N M, TSUZUKI T, et al. Suitability of recombinant lipase immobilised on functionalised magnetic nanoparticles for fish oil hydrolysis[J]. *Catalysts*, 2019, 9(5): 420.
- [81] CHEN Y, CHEONG L Z, ZHAO J, et al. Lipase-catalyzed selective enrichment of omega-3 polyunsaturated fatty acids in acylglycerols of cod liver and linseed oils: Modeling the binding affinity of lipases and fatty acids[J]. *International journal of biological macromolecules*, 2019, 123: 261-268.
- [82] HOSSEINI H, GHORBANI M, JAFARI S M, et al. Investigating the effect of lipase from *Candida rugosa* on the production of EPA and DHA concentrates from *Kilka* fish (*Clupeonellacultiventris* Caspian)[J]. *LWT*, 2018, 93: 534-541.
- [83] SAMPATH C, BELUR P D, IYYASAMI R. Enhancement of n-3 polyunsaturated fatty acid glycerides in Sardine oil by a bioimprinted cross-linked *Candida rugosa* lipase[J]. *Enzyme and microbial technology*, 2018, 110: 20-29.
- [84] ZHANG Z, LIU F, MA X, et al. Two-stage enzymatic preparation of eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) enriched fish oil triacylglycerols[J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2018, 66(1): 218-227.
- [85] AARTHY M, SARAVANAN P, AYYADURAI N, et al. A two step process for production of omega 3-polyunsaturated fatty acid concentrates from sardine oil using *Cryptococcus* sp. MTCC 5455 lipase[J]. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 125: 25-33.
- [86] XIA Q, WANG B, AKANBI T O, et al. Microencapsulation of lipase produced omega-3 concentrates resulted in complex coacervates with unexpectedly high oxidative stability[J]. *Journal of functional foods*, 2017, 35: 499-506.
- [87] LI D, WANG W, QIN X, et al. A novel process for the synthesis of highly pure n-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA)-enriched triglycerides by combined transesterification and ethanolysis[J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2016, 64(34): 6533-6538.
- [88] LI D, WANG W, LI X, et al. Preparation of highly pure n-3 PUFA-enriched triacylglycerols by two-step enzymatic reactions combined with molecular Distillation[J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2017, 94(2): 225-233.
- [89] KUANG D, DAI L, LIU D, et al. A novel clean process for the combined production of fatty acid ethyl esters (FAEEs) and the ethyl ester of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) from

- microalgae oils[J]. *Renewable Energy*, 2019, 143: 772-778.
- [90] MORENO-PEREZ S, TURATI D F M, BORGES J P, et al. Critical role of different immobilized biocatalysts of a given lipase in the selective ethanolysis of sardine oil[J]. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2017, 65(1): 117-122.
- [91] NEUBRONNER J, SCHUCHARDT J P, KRESSEL G, et al. Enhanced increase of omega-3 index in response to long-term n-3 fatty acid supplementation from triacylglycerides versus ethyl esters[J]. *Eur J Clin Nutr*, 2011, 65: 247-254.
- [92] BLANCO S M, SANTOS J S, FELTES M M C, et al. Optimization of diacylglycerol production by glycerolysis of fish oil catalyzed by Lipozyme TL IM with Tween 65[J]. *Bioprocess and biosystems engineering*, 2015, 38(12): 2379-2388.
- [93] REMONATTO D, SANTIN C M T, VALÉRIO A, et al. Lipase-catalyzed glycerolysis of soybean and canola oils in a free organic solvent system assisted by ultrasound[J]. *Applied biochemistry and biotechnology*, 2015, 176(3): 850-862.
- [94] PALACIOS D, ORTEGA N, RUBIO-RODRÍGUEZ N, et al. Lipase-catalyzed glycerolysis of anchovy oil in a solvent-free system: Simultaneous optimization of monoacylglycerol synthesis and end-product oxidative stability[J]. *Food chemistry*, 2019, 271: 372-379.
- [95] GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ M J, RAMOS-BUENO R P, RODRÍGUEZ-GARCÍA I, et al. Purification process for MUFA-and PUFA-based monoacylglycerols from edible oils[J]. *Biochimie*, 2017, 139: 107-114.
- [96] SOLAESA Á G, SANZ M T, MELGOSA R, et al. Substrates emulsification process to improve lipase-catalyzed sardine oil glycerolysis in different systems. Evaluation of lipid oxidation of the reaction products[J]. *Food Research International*, 2017, 100: 572-578.
- [97] WANG X, LI D, QU M, et al. Immobilized MAS1 lipase showed high esterification activity in the production of triacylglycerols with n-3 polyunsaturated fatty acids[J]. *Food chemistry*, 2017, 216: 260-267.
- [98] KIM N H, KIM H, CHOI N, et al. Production of stearidonic acid-rich triacylglycerol via a two-step enzymatic esterification[J]. *Food chemistry*, 2019, 270: 332-337.
- [99] HALLDORSSON A, KRISTINSSON B, GLYNN C, et al. Separation of EPA and DHA in fish oil by lipase-catalyzed esterification with glycerol[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2003, 80: 915-921.
- [100] HOSOKAWA M, TAKAHASHI K. In: Hou CT, Ed. *Handbook of industrial biocatalysis*[J]. Boca Raton, FL CRC Press, 2005, 13: 1-13.
- [101] GARCIA H S, KIM I-H, LOPEZ-HERNANDEZ A, et al. Enrichment of lecithin with n-3 fatty acids by acidolysis using immobilized phospholipase A1[J]. *Grasas Y Aceites*, 2008, 59: 368-374.
- [102] KIM I-H, GARCIA H S, HILL Jr. C G. Phospholipase A1-catalyzed synthesis of phospholipids enriched in n-3 polyunsaturated fatty acid residues[J]. *Enzyme Microb Tech*, 2007, 40: 1130-1135.
- [103] KIM I-H, GARCIA H S, HILL Jr. C G. Synthesis of structured phosphatidylcholine containing n-3 PUFA residues via acidolysis mediated by immobilized phospholipase A1[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2010, 87: 1293-1299.
- [104] LYBERG A-M, ADLERCREUTZ D, ADLERCREUTZ P. Enzymatic and chemical synthesis of phosphatidylcholine regioisomers containing eicosapentaenoic acid or docosahexaenoic acid[J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2005, 107: 279-290.
- [105] PENG L, XU X, MU H, et al. Production of structured phospholipids by lipase-catalyzed acidolysis: optimization using response surface methodology[J]. *Enzyme Microb Technol*, 2002, 31: 523-532.
- [106] LI D, QIN X, WANG W, et al. Synthesis of DHA/EPA-rich phosphatidylcholine by immobilized phospholipase A 1: effect of water addition and vacuum condition[J]. *Bioprocess and biosystems engineering*, 2016, 39(8): 1305-1314.
- [107] WANG X, QIN X, LI X, et al. Insight into the modification of phosphatidylcholine with n-3 polyunsaturated fatty acids-rich ethyl esters by immobilized MAS1 lipase[J]. *Molecules*, 2019, 24(19): 3528.
- [108] PARK C W, KWON S J, HAN J J, et al. Transesterification of phosphatidylcholine with eicosapentaenoic acid ethyl ester using phospholipase A2 in organic solvent[J]. *Biotechnol Lett*, 2000, 22: 147-150. 完

(组稿/审修: 谭洪卓; 英译中: 段章群; 专业校对: 伍松陵)