

УДК 665.1.09

*М.С. ЮР'ЄВА*, аспірант, НТУ “ХП”

### **ФЕРМЕНТАТИВНЕ МОДИФІКУВАННЯ АЦИЛГЛЦЕРИНІВ**

В статті виконано аналіз тенденцій розвитку ферментативних технологій модифікування жирів щодо їх використання як повноцінних продуктів харчування людини. Розглянуто позитивний вплив поліненасичених жирних кислот, що входять до складу структурованих триацилгліцеринів, на здоров'я людини. Визначена роль різноманітних ліпаз у процесі модифікування ацилгліцеринів.

In the article the analysis of basic tendencies towards development of enzymatic fat modification technologies to obtain healthy food products was made. Health-friendly influence of polyunsaturated fatty acids, that structured triglycerides contain, was researched. The role of different lipases in fat modification process was determined.

Як відомо, в останні десятиріччя ХХ століття наука про харчування зробила великий крок у справі розшифрування ролі окремих складових частин жирів у фізіології та патології людського організму. Тепер доведено, що надмірне споживання жирів, особливо тваринних, сприяє розвитку атеросклерозу, а отже, основних його проявів – інфарктів міокарду та інсультів. Тому нормативи споживання жирів в усіх країнах Європи та США були суттєво зменшені.

Структура триацилгліцеринів впливає на засвоєння та поглинання жиру. Доведено, що триацилгліцерини із жирними кислотами з середнім ланцюгом (С) у позиціях 1 та 3 тригліцеридного скелету та довголанцюговими поліненасиченими жирними кислотами (Д) у другій позиції (триацилгліцерини типу СДС) поглинаються швидше, ніж інші триацилгліцерини зі схожим жирнокислотним складом, але з випадковим розподілом жирних кислот. Вони поглинаються швидше, тому що панкреатична ліпаза гідролізує ефірні зв'язки у позиціях 1 та 3 триацилгліцеринів та виявляє вищу активність щодо середньоланцюгових жирних кислот, ніж до жирних кислот із довгим ланцюгом, особливо поліненасичених жирних кислот.

В останній час модифікування ацилгліцеринів із застосуванням специфічних ліпаз все частіше проводиться для одержання триацилгліцеринів типу СДС. Специфічні ліпази пропонують високу каталітичну активність, специфічність і ефективність через включення потрібної ацильної групи до потрібної позиції ацилгліцерину.

Зважаючи на викладене вище, необхідно проводити дослідження щодо винайдення нових ефективних енерго- та ресурсозберігаючих технологій модифікування жирів з метою одержання продуктів харчування, вживання яких позитивно відображається на здоров'ї людини.

**Огляд публікацій за останнє десятиріччя.** В. Camacho Paez, A. Robles Medina, F. Camacho Rubio and others у своїй статті “Production of structured triglycerides rich in n-3 polyunsaturated fatty acids by the acidolysis of cod liver oil and caprylic acid in a packed-bed reactor: equilibrium and kinetics” (“Виробництво структурованих триацилгліцеринів, збагачених омега-3-поліненасиченими жирними кислотами, шляхом ацидолізу жиру тріскової печінки і каприлової кислоти у ферментері із шаром носія: рівновага і кінетика”) розглядають проблему одержання структурованих триацилгліцеринів, збагачених  $\omega$ -3-поліненасиченими жирними кислотами – ейкозапентаеновою та докоза-

гексаеновою кислотами в 2-положенні тригліцеридного скелету, шляхом ацидолізу жиру тріскової печінки і каприлової кислоти. Ацидоліз каталізується 1,3-специфічною ліпазою (Lipozyme IM). Реакція може проводитися трьома способами: (1) в загрузочному реакторі, де вивчався вплив температури на включення каприлової кислоти в триацилгліцерини жиру тріскової печінки; (2) в реакторі, що має насадку з імобілізованою ліпазою, з рециркуляцією реакційної суміші з виходу реактора в субстрактний резервуар (рециркуляція продукта для визначення рівноважного складу); (3) в реакторі, що містить насадку з імобілізованою ліпазою без рециркуляції продукту. Запропонована схема реакції, відповідно якій тільки жирні кислоти в положеннях 1 і 3 гліцеринового скелету обмінюються на каприлову кислоту [1].

Maria E. Carrin, Guillermo H. Crapiste у своїй статті під назвою “Enzymatic acidolysis of sunflower oil with a palmitic-stearic acid mixture” (“Ферментативний ацидоліз соняшникової олії сумішшю пальмітинової і стеаринової кислот”) проаналізували каталізуємий ліпазою ацидоліз соняшникової олії і суміші пальмітинової і стеаринової кислот. Реакція була проведена в реакторі періодичної дії з метою виробництва структурованих триацилгліцеринів. Методологія дрібного факторного експерименту була застосована при виборі між трьома імобілізованими ліпазами. Lipozyme RM IM показав найвищу дієспроможність при включенні кислот до тригліцеридного скелету, тому і був вибраний для подальших досліджень [2].

Nese Sahin, Casimir C. Akoh, Artemis Karaali у статті “Human milk fat substitutes containing omega-3 fatty acids” (“Замінники жіночого молока, що містять омега-3 жирні кислоти”) розглядають виробництво структурованих триацилгліцеринів, що за властивостями відповідають жіночому молоку, збагачених омега-3 жирними кислотами. Ці структуровані триацилгліцерини були одержані шляхом реакцій ферментативного ацидолізу між трипальмітином, жирними кислотами олії фундука та концентратом омега-3 жирних кислот. Була обрана методологія поверхні відгуку для моделювання і оптимізації включення омега-3 жирних кислот і олеїнової кислоти у трипальмітин в присутності гексану, та використовуючи імобілізовану sn-1,3-специфічну ліпазу Lipozyme RM IM [3].

Є.І. Черевач у статті “Состав жирных кислот и фосфолипидов пресервов из молок лососевых рыб” доповідає про важливу роль у здоров’ї людини ліпідів молок лососевих риб, а також есенційних жирних кислот і фосфоліпідів, що входять до їхнього складу. Ліпіди молок лососевих риб відрізня-

ються від ліпідів м'язової тканини риб вищим складом есенційних поліненасичених жирних кислот з п'ятьма і шістьма подвійними зв'язками, головними представниками яких є ейкозапентаєнова і докозагексаєнова жирні кислоти [4].

О.В. Табакаєва, Т.К. Каленік у статті “Обогащенные растительные масла с оптимизированным жирнокислотным составом” розглядають забезпечення організму людини поліненасиченими жирними кислотами і селеном шляхом створення купажованих олій, що містять лляну олію з селеном [5].

В.Н. Грігор'єва, А.Н. Лісіцин у статті “Факторы, определяющие биологическую полноценность жировых продуктов” обговорюють фактори, що визначають можливість створення повноцінних, високоякісних жирових продуктів відповідно до їхніх біологічних властивостей і метаболізму в організмі [6].

Robert Borgdorf у своїй дисертації під назвою “Substratselektivität von Lipasen bei der Veresterung und Umesterung *cis/trans*-isomerer Fettsäuren und Fettsäureester” (“Субстратна селективність ліпаз при етерифікації і переетерифікації *cis/trans*-ізомерів жирних кислот та їхніх ефірів”) розглянув сучасні методи модифікування жирів та олій і важливу роль ліпаз, яку вони відіграють при модифікуванні жирів та олій. Була також розглянута селективність різних ліпаз щодо довголанцюгових моно- і поліненасичених жирних кислот, їхніх *cis/trans*-ізомерів і ефірів жирних кислот. На основі розглянутої вище інформації були проведені дослідження щодо визначення субстратної селективності ліпаз на прикладі проведення реакцій ферментативної етерифікації жирних кислот та переетерифікації ефірів жирних кислот у *n*-бутанолі [7].

Ulrike Schmid у своїй дисертації “Lipase-Katalysierte Synthese strukturierter Triglyceride: Verfahrensoptimierung und Erzeugung selektiver Lipasemutanten durch gerichtete Evolution” (“Каталізуємий ліпазою синтез структурованих триацилгліцеридів: оптимізація досліджень і одержання селективних мутантів ліпаз шляхом направленої еволюції”) розглянув у її першій частині каталізуємий ліпазою синтез структурованих триацилгліцеринів, а саме одержання структурованих триацилгліцеринів з олій, що містять поліненасичені жирні кислоти (лляна олія, риб'ячий жир та виробництво еквівалентів какао-масла). Також було розглянуто кінетику каталізуємих ліпазою реакцій на прикладі алкоголіза триолеїну. У другій частині дисертації була досліджена направлена еволюція синтетичного гена ліпази 1, отриманого з *Candida*-

rugosa [8].

Alexandra J. Richardson у статті “The importance of omega-3 fatty acids for behaviour, cognition and mood” (“Важливість омега-3 жирних кислот для поведінки, когнітивної здатності та настрою”) доповідає про зростаючу кількість доказів того, що в сучасних дієтах спостерігається нестача омега-3 поліненасичених кислот (таких як ейкозапентаєнова та докозагексаєнова кислоти), які є незамінними для повноцінного розвитку та функціонування мозку. Результати проведених досліджень свідчать про те, що вживання ейкозапентаєнної кислоти може зменшити симптоми у дорослих, хворих на розлади настрою, шизофренію, а також хворобу Хантінгтона [9].

Philip C. Calder у статті “Long-chain polyunsaturated fatty acids and inflammation” (“Довголанцюгові поліненасичені жирні кислоти і запалення”) дослідив протизапальну дію та зменшуючу запалення дію родини медіаторів, що мають назву E- і D-протизапальні засоби, які були отримані з ейкозапентаєнної та докозагексаєнної кислоти, відповідно [10].

Ricardo Uauy, Alan Dangour у своїй статті “Dietary lipids and the brain during development and ageing” (“Дієтичні ліпіди і мозок протягом розвитку та старіння”) розглядають вплив довголанцюгових ненасичених жирних кислот на мозок у період розвитку та старіння людини, а також механізми, що можуть пояснити досліджувані ефекти [11].

Nuzul A. Ibrahim, Zheng Guo, Xuebing Xu у статті “Enzymatic Interesterification of Palm Stearin and Coconut Oil by a Dual Lipase System” (“Ензимна переетерифікація пальмового стеарину і кокосової олії системою двох ліпаз”) доповідають про проведення ензимної переетерифікації пальмового стеарину і кокосової олії із застосуванням системи двох ліпаз, паралельно проводячи дослідження окремо з кожною ліпазою. Метою цієї роботи була демонстрація можливості підвищення швидкості реакції або збільшення ступеню перетворення, застосовуючи систему двох ліпаз як біокаталізатори [12].

Jeung Hee Lee, Casimir C. Akoh, Ki-Teak Lee у своїй статті “Physical Properties of trans-Free Bakery Shortening Produced by Lipase-Catalyzed Interesterification” (“Фізичні властивості кондитерських шортенінгов, що не містять транс-ізомерів жирних кислот, отриманих шляхом каталізуємою ліпазою переетерифікацією”) розглядають отримання переетерифікованого із застосуванням ліпази твердого жиру із повністю гідрогенованої соєвої олії (ПГСО), рапсової олії (РО) та пальмового стеарину (ПС) у співвідношеннях (ПГСО : РО : ПС) 15 : 20 : 65, 15 : 40 : 45 і 15 : 50 : 35. На фізичні

властивості переетерифікованих жирів вплинула кількість пальмового стеарину у суміші. Так, суміші 15 : 20 : 65 і 15 : 40 : 45 виявилися твердішими за суміш 15 : 50 : 35 [13].

Mark Bertram Ж Petra Hildebrandt, David P. Weiner Ж Jesal S. Patel, Flash Bartnek, Timothy S. Hitchman Ж Uwe T. Bornscheuer у статті “Characterization of Lipases and Esterases from Metagenomes for Lipid Modification” (“Характеристика ліпаз і естераз із метагеномів для модифікації ліпідів”) досліджують 350 нових ліпаз і естераз, отриманих із зразків навколишніх ДНК, на їхній жирнокислотний склад, використовуючи газову хроматографію. Ці ензими були обрані для подальших досліджень, оснований на їхній активності і специфічності щодо довголанцюгових жирних кислот [14].

M. Guncheva, D. Zhiryakova, N. Radchenkova, M. Kambourova у своїй статті “Acidolysis of Tripalmitin with Oleic Acid Catalyzed by a Newly Isolated Thermostable Lipase” (“Ацидоліз трипальмітіна олеїною кислотою, каталізуемий новою ізольованою термостабільною ліпазою”) оцінили каталітичну ефективність ліпази з *Bacillus stearothermophilus* MC7 (ліпаза MC) в реакції ацидоліза трипальмітину олеїною кислотою. Метою цієї реакції було отримання діолеоїлпальмітоїлгліцеролу, структурованого триацилгліцерину, що використовується у лікувальному харчуванні [15].

G. Mingrone у статті “Dietary fatty acids and insulin secretion” (“Дієтичні жирні кислоти та секреція інсуліну”) доповідає про зв’язок вільних жирних кислот із контролем секреції панкреатичного інсуліну. Він наполягає на тому, що джерело жирних кислот у організмі людини (зовнішнє або внутрішнє) необхідно для підтримки нормальної секреції інсуліну [16].

Об’єктом досліджень Rachel M. Fisher and Per Sjogren у статті “Fatty acid composition in relation to the metabolic syndrome and associated cardiovascular risk factors” (“Жирнокислотний склад і метаболічний синдром та пов’язані з цим ризику серцево-судинних захворювань”) було дослідження взаємозв’язку між жирнокислотним складом і обраними ризиками серцево-судинних захворювань, пов’язаних з метаболічним синдромом, а також оцінити активність  $\Delta^9$ -десатурази на жирову тканину [17].

Richard J. Deckelbaum, Chuchun Chang<sup>1</sup>, Tilla S. Worgall and Toru Seo у статті “Molecular mechanisms for biological endpoints of n-3 fatty acids” (“Молекулярні механізми біологічних закінчень  $\omega$ -3 жирних кислот”) аналізують біоактивні властивості  $\omega$ -3 жирних кислот, що відрізняються від

інших жирних кислот, а також механізми впливу  $\omega$ -3 жирних кислот на експресію генів [18].

William Stillwell у своїй статті “The role of polyunsaturated lipids in membrane raft function” (“Роль поліненасичених ліпідів у функції ліпідного рафту мембран”) розглядає вплив докозагексаєнової кислоти, найдовшої жирної кислоти в організмі людини, на структуру ліпідного рафту мембран [19].

Chakra Wijesundera, Claudio Ceccato, Peter Watkins and others у статті “Docosahexaenoic Acid is More Stable to Oxidation when Located at the sn-2 Position of Triacylglycerol compared to sn-1(3)” (“Докозагексаєнова кислота більш стабільна до окислення, коли вона знаходиться у положенні 2 триацилгліцерину, ніж у положенні 1,3”) проаналізували регіо-ізомерні ефекти окислювальної стабільності двох пар триацилгліцеринів, що містять докозагексаєнову кислоту. В кожному випадку було доведено, що триацилгліцерини окислювалися повільніше, якщо докозагексаєнова кислота знаходилася у 2 позиції тригліцеридного скелету [20].

**Висновки.** Проведено ретроспективний аналіз літератури щодо ферментативного модифікування жирів та олій, а також щодо важливості довголанцюгових поліненасичених жирних кислот, зокрема групи омега-3, у здоров’ї людей. В подальшій роботі з цієї теми планується продовжити дослідження щодо використання ферментних технологій у модифікуванні ацилгліцеринів, пошуку нових технологій модифікування жирів, а також щодо впливу поліненасичених жирних кислот на здоров’я людини.

**Список літератури:** 1. В. *Camacho Paez, A. Robles Medina, F. Camacho Rubio and others.* Production of structured triglycerides rich in n-3 polyunsaturated fatty acids by the acidolysis of cod liver oil and caprylic acid in a packed-bed reactor: equilibrium and kinetics. // *Chemical Engineer Science.* – 2002. – № 57. – P. 1237 – 1249. 2. *Maria E. Carrin, Guillermo H. Crapiste.* Enzymatic acidolysis of sunflower oil with a palmitic-stearic acid mixture. // *PLAPIQUI.* – 2006. 3. *Nese Sahin, Casimir C. Akoh, and Artemis Karaali.* Human Milk fat substitutes containing omega-3 fatty acids. // *J. Agric. Food Chem.* – 2006. – 54. – P. 3717 – 3722. 4. *Е.И. Черевач.* Состав жирных кислот и фосфолипидов пресервов из молок лососевых рыб. // *Масложирная промышленность.* – 2006. – № 5. – С. 38 – 39. 5. *О.В. Табакаева, Т.К. Каленик.* Обогащенные растительные масла с оптимизированным жирнокислотным составом. // *Масложирная промышленность.* – 2007. – № 2. – С. 34 – 35. 6. *В.Н. Григорьева, А.Н. Лисицын.* Факторы, определяющие биологическую полноценность жировых продуктов. // *Масложирная промышленность.* – 2004. – № 4. – С. 14 – 17. 7. *Diplom-Chemiker Robert Borgdorf.* Substratspezifität von Lipasen bei der Veresterung und Umesterung cis/trans-isomerer Fettsäuren und Fettsäureester: Dissertation. – 2005. – 249 s. 8. *Ulrike Schmid.* Lipase-Katalysierte Synthese strukturierter Triglyceride: Verfahrensoptimierung und Erzeugung selektiver Lipasemutanten durch gerichtete Evolution: Dissertation. – 2000. – 148 s. 9. *Alexandra J. Richardson.* The importance of omega-3 fatty acids for

behaviour, cognition and mood. // *Scandinavian Journal of Nutrition*. – 2003. – № 47 (2). – P. 92 – 98.

**10.** *Philip C. Calder*. Long-chain polyunsaturated fatty acids and inflammation. // *Scandinavian Journal of Nutrition*. – 2006. – № 50 (S2). – P. 54 – 61.

**11.** *Ricardo Uauy, Alan Dangour*. Dietary lipids and the brain during development and ageing. // *Scandinavian Journal of Nutrition*. – 2006. – № 50 (S2). – P. 27 – 32.

**12.** *Nuzul A. Ibrahim, Zheng Guo, Xuebing Xu*. Enzymatic Interesterification of Palm Stearin and Coconut Oil by a Dual Lipase System. // *J Am Oil Chem. Soc.* – 2008. – № 85. – P. 37 – 45.

**13.** *Jeung Hee Lee, Casimir C. Akoh, Ki-Teak Lee*. Physical Properties of trans-Free Bakery Shortening Produced by Lipase-Catalyzed Interesterification. // *J Am Oil Chem. Soc.* – 2008. – № 85. – P. 1 – 11.

**14.** *Mark Bertram, Petra Hildebrandt, David P. Weiner and others*. Characterization of Lipases and Esterases from Metagenomes for Lipid Modification. // *J Am Oil Chem. Soc.* – 2008. – № 85. – P. 47 – 53.

**15.** *M. Guncheva, D. Zhiryakova, N. Radchenkova, M. Kambourova*. Acidolysis of Tripalmitin with Oleic Acid Catalyzed by a Newly Isolated Thermostable Lipase. // *J Am Oil Chem. Soc.* – 2008. – № 85. – P. 129 – 132.

**16.** *G. Mingrone*. Dietary fatty acids and insulin secretion. // *Scandinavian Journal of Nutrition*. – 2006. – № 50 (S2). – P. 79 – 84.

**17.** *Rachel M. Fisher and Per Sjogren*. Fatty acid composition in relation to the metabolic syndrome and associated cardiovascular risk factors. // *Scandinavian Journal of Nutrition*. – 2006. – № 50 (S2). – P. 114 – 120.

**18.** *Richard J. Deckelbaum, Chuchun Chang, Tilla S. Worgall and Toru Seo*. Molecular mechanisms for biological endpoints of n-3 fatty acids. // *Scandinavian Journal of Nutrition*. – 2006. – № 50 (S2). – P. 13 – 16.

**19.** *William Stillwell*. The role of polyunsaturated lipids in membrane raft function. // *Scandinavian Journal of Nutrition*. – 2006. – № 50 (S2). – P. 107 – 113.

**20.** *Chakra Wijesundera, Claudio Ceccato, Peter Watkins and others*. Docosahexaenoic Acid is More Stable to Oxidation when Located at the sn-2 Position of Triacylglycerol compared to sn-1(3). // *J Am Oil Chem. Soc.* – 2008. – № 85. – P. 543 – 548.

*Поступила в редколлегию 18.11.08*