

油脂深加工

Omega-3 脂肪酸磷脂制备方法综述

王 俊,王淑娜,许新德,彭永健

(浙江医药股份有限公司 新昌制药厂,浙江 新昌 312500)

摘要: Omega-3 脂肪酸磷脂生理功能明确,生物利用度高,在医药、保健品领域具有巨大的市场潜力,其制备方法是全球磷脂研究开发的新动向。综述了目前 Omega-3 脂肪酸磷脂的制备方法,包括天然提取法、酶促转化法、化学合成法及微生物发酵法。天然提取法是最早获得 Omega-3 脂肪酸磷脂产品的方法,主要包括溶剂萃取法、膜分离法、柱层析法和盐沉淀法;酶促转化法主要包括酶促酯交换法和酶促酯化法,是目前 Omega-3 脂肪酸磷脂合成效率最高、最常用的方法;化学合成法及微生物发酵法处于初步研究阶段,为 Omega-3 脂肪酸磷脂的制备提供了新的思路。

关键词: Omega-3 脂肪酸;磷脂;制备

中图分类号:TQ645.6;TS229

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2018)08-0047-05

Review on preparation methods of Omega-3 fatty acids phospholipids

WANG Jun, WANG Shuna, XU Xinde, PENG Yongjian

(Xinchang Pharmaceutical Factory, Zhejiang Medicine Co., Ltd., Xinchang 312500, Zhejiang, China)

Abstract: Omega-3 fatty acids phospholipids have clear physiological function and high bioavailability, its market potential is huge in the fields of medicine and nutritional products, and more and more researches are focusing on the preparation methods of Omega-3 fatty acids phospholipids. The preparation methods of Omega-3 fatty acids phospholipids were reviewed, including natural extraction, enzymatic catalysis conversion, chemical synthesis and microbial fermentation. Omega-3 fatty acids phospholipids products were firstly prepared by natural extraction method, including solvent extraction, membrane separation, column chromatography and salt precipitation. Enzymatic catalysis conversion was the most common method with the highest efficiency currently, including enzymatic transesterification and enzymatic esterification. Chemical synthesis and microbial fermentation provided new preparation ways to obtain Omega-3 fatty acids phospholipids which were in preliminary study stage and required further research.

Key words: Omega-3 fatty acid; phospholipids; preparation

磷脂(Phospholipids)即磷酸甘油酯,是含磷酸根甘油酯的总称,包括一个具有两个脂肪酸链的中心甘油部分以及一个可进一步被衍生的磷酸基团,其分子结构通式如图1所示^[1]。其中 R₁ 和 R₂ 为脂肪酸酰基,当 R₁ 或 R₂ 为 Omega-3 脂肪酸时即为 Omega-3 脂肪酸磷脂;X 基团不同,对应磷脂的种类也不同,常见 X 基团及对应磷脂种类如表1所示^[2]。

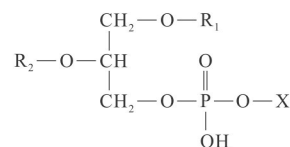


图1 磷脂的结构通式

磷脂是细胞膜的基本组成成分,具有调节血脂、改善记忆、延缓衰老等生理活性,目前在欧、美、日市场,磷脂占营养、功能、疗效食品销售的第3位,销售额达百亿美元。磷脂的生理活性与其脂肪酸、极性末端的组成密切相关^[3]。Omega-3 脂肪酸包括 α-亚麻酸(ALA)、十八碳四烯酸(SDA)、二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA),Omega-3 脂肪酸已被证实具有提高机体免疫力、改善心脏健

收稿日期:2017-12-12;修回日期:2018-01-11

作者简介:王 俊(1990),男,助理工程师,研究方向为化工医药生产及过程装备控制(E-mail) wangj@xcpharma.com。

通信作者:彭永健,工程师(E-mail) pengyj@xcpharma.com。

康、降低心血管疾病的发病概率等生理功能,甘油酯型和磷脂型是其主要天然构型^[4-5]。

表1 常见甘油磷脂 X 基团及名称

X 基团	中文名称
—H	磷脂酸(PA)
—CH ₂ CH ₂ NH ₂	磷脂酰乙醇胺(PE)
—CH ₂ CH ₂ N(CH ₃) ₃	磷脂酰胆碱(PC)
—CH ₂ CH(NH ₂)COOH	磷脂酰丝氨酸(PS)
—C ₆ H ₈ (OH) ₅	磷脂酰肌醇(PI)
—CH ₂ CH(OH)CH ₂ OH	磷脂酰甘油(PG)

磷脂型的 *Omega*-3 脂肪酸相对于甘油酯型具有诸多优势。*Omega*-3 脂肪酸磷脂在体内代谢成磷脂和 *Omega*-3 脂肪酸,两者的生理功能具有协同效应;磷脂在体内是一种主动吸收方式,吸收率接近于 100%,远远高于被动吸收方式的甘油酯和乙酯;此外 *Omega*-3 脂肪酸磷脂稳定性更好,特别是磷脂型的 DHA 和 EPA 没有腥味,感官品质更优。有研究表明当 DHA 结合到磷脂甘油骨架上时,其脑部细胞吸收效率是非酯化 DHA 的 10 倍,并且稳定性更高,更易通过血脑屏障,对神经细胞的保护功能更强,磷脂型 DHA 已被世界医学和营养界公认为最好的脑供体^[6-7]。

随着磷脂型 *Omega*-3 脂肪酸的生理功能得到行业的普遍认可,在保健品和医药领域的商业价值也逐渐显现,其制备方法的研究成为近几年的研究热点,磷脂的主要生产商均在欧美和日本,我国对 *Omega*-3 脂肪酸磷脂的制备还处于起步阶段,工艺技术还不够成熟,所得 *Omega*-3 脂肪酸磷脂产品无论是产量还是含量尚不能完全满足市场需求,有很大的提升空间。因此,本文对目前国内外 *Omega*-3 脂肪酸磷脂的制备方法进行综述,以期对磷脂型 *Omega*-3 脂肪酸的开发提供一定理论基础。综合来看,*Omega*-3 脂肪酸磷脂的制备方法主要有天然提取法、酶促转化法、化学合成法及微生物发酵法。

1 天然提取法

1.1 天然来源

最初的磷脂是从自然界中分离提取所得,如大豆、花生、动物大脑或内脏中均有磷脂存在,天然存在的 *Omega*-3 脂肪酸磷脂按来源可分为动物来源、植物来源和微生物来源。

动物来源的磷脂有蛋黄,动物脑部组织、肝脏、其他部位组织及水产类等,其中蛋黄是目前已经商业化的动物磷脂来源,但其 *Omega*-3 脂肪酸含量偏低,不是理想的 *Omega*-3 脂肪酸磷脂的来源,相

对而言,海洋生物中 *Omega*-3 脂肪酸磷脂的含量最为丰富。一些鱼贝类油脂中含有丰富的 *Omega*-3 脂肪酸磷脂,有研究对贻贝干粉及各部位的油脂组成进行了研究,发现扇贝卵磷脂占总脂肪的 18%~30%,其脂肪酸中 EPA 占 15% 左右, DHA 占 20% 左右,扇贝生殖腺、肠腺、闭壳肌等边料中都含有丰富的 EPA/DHA 磷脂;从牡蛎的油脂中发现磷脂占总脂的 30%,磷脂中主要的 *Omega*-3 脂肪酸为 EPA 和 DHA^[8];一些海洋鱼类中也含有丰富的 *Omega*-3 脂肪酸磷脂,鲑鱼表皮的脂肪中磷脂含量高达 80%~85%,主要为富含 DHA 的磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺,马面鲷油脂中含磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺 30% 左右,其脂肪酸主要为 EPA 和 DHA,鸚乌贼也含有丰富的 *Omega*-3 脂肪酸磷脂^[9]。不过相对来说,目前报道海洋生物中磷虾油 *Omega*-3 脂肪酸磷脂的含量最为突出,已被欧盟批准为一种新的特殊功能营养食品,其磷脂含量为 38~50 g/100 g,其中 *Omega*-3 脂肪酸以 EPA 和 DHA 为主,可达 40% 以上^[10]。鱼油与磷虾油的组成对比如表 2 所示。

表2 鱼油和磷虾油的组成 %

项目	鱼油(18:12)	磷虾油
<i>Omega</i> -3 含量	30	30~35
磷脂含量	微量	40~45
EPA	18	15~19
DHA	12	7~16

植物磷脂有大豆磷脂、玉米磷脂等,大豆磷脂是商业上最常用的植物性磷脂,但大豆磷脂中脂肪酸主要是油酸、亚油酸等,*Omega*-3 脂肪酸含量极低。相对来说海藻磷脂中 *Omega*-3 脂肪酸含量较高,如裂殖壶藻油中磷脂型 DHA 占 3.5%~4.3%^[11]。

1.2 分离方法

天然来源的 *Omega*-3 脂肪酸磷脂的成分复杂,需要经过分离纯化后才能得到一定含量的产品,已报道的分离纯化 *Omega*-3 脂肪酸磷脂的方法有溶剂萃取法、膜分离法、柱层析法、盐沉淀法等。

1.2.1 溶剂萃取法

溶剂萃取法是根据不同物质在有机溶剂中溶解度的不同将 *Omega*-3 脂肪酸磷脂与其他物质分离的方法,磷脂在己烷、石油醚、乙醚等有机溶剂中有很好的溶解性,在低级醇中则部分溶解,不溶于丙酮和水。近些年来,超声波、超高压、微波、超临界等辅助技术促进了萃取技术的发展,可以提高萃取效率,

缩短萃取时间,降低溶剂消耗。孙甜甜等^[12]考察了氯仿甲醇、正己烷和95%乙醇3种不同溶剂以及超临界CO₂提取的南极磷虾脂质成分差异,结果表明95%乙醇提取的脂质磷脂含量最高,为35.59% ± 2.69%,不饱和脂肪酸中EPA和DHA含量是最高的,占总脂肪酸含量的41.13%,适合大规模工业化生产,研究同时表明超临界CO₂萃取技术作为脂质的一种温和提取手段,得到的脂质基本成分与氯仿甲醇近似。溶剂萃取法工艺过程简单,易于操作,但所得产品Omega-3脂肪酸磷脂含量偏低,适用于初步分离。

1.2.2 膜分离法

磷脂在一定的溶剂中可以形成反胶束,体积变大,通过膜的阻隔作用可以实现与其他物质的分离。Manjula等^[13]利用正己烷溶胀磷脂,然后利用无孔疏水聚合膜纯化,可以将丙酮不溶物从63.3%增加到81.0%;李翔宇等^[14]采用低温脱胶法和膜分离技术提取DHA藻油中磷脂型DHA,在单因素试验的基础上,利用响应面法优化磷脂型DHA提取工艺,得到了最佳提取工艺条件为过膜压力0.29 MPa、膜孔径1.0 μm、溶料比6:1、过膜温度50℃,在最佳提取工艺条件下,制备的磷脂型DHA产品丙酮不溶物含量可达到61.3%,磷脂型DHA产品得率为80.8%,且磷脂中DHA含量在44%以上。膜分离法无大量有机溶剂的使用,但渗透量和膜的寿命制约着该工艺的工业化生产。

1.2.3 柱层析法

柱层析法是利用各组分在固定相和流动相之间分配系数的不同,经过反复分配,实现Omega-3脂肪酸磷脂的提纯。硅胶是常用的分离Omega-3脂肪酸磷脂的固定相,崔洁等^[15]采用硅胶柱层析法对从鸕鸟贼卵中提取的粗脂质进行纯化,磷脂纯度可达90%,脂肪酸组成中EPA占11.78%,DHA占32.99%。柱层析分离效率高,所得产品纯度高,但所用溶剂量较大,溶剂回收压力较大。

1.2.4 盐沉淀法

无机盐可以与磷脂结合形成沉淀,分离得到高含量的磷脂,镁盐、锌盐、钙盐都是常用的分离磷脂的无机盐,有研究利用10%的ZnCl₂纯化磷脂,最高可以得到含量94.25%的磷脂产品^[16]。

综合来看,天然提取法能够显著提高磷脂的含量,但所得产品中Omega-3脂肪酸的含量很难得到提高,并且含有Omega-3脂肪酸磷脂的原料资源少,纯化成本高,虽已有工业化生产实例,但产量

远远不能满足人们的需求。

2 酶促转化法

磷脂酶具有很高的应用价值,广泛存在于哺乳动物的细胞和体液以及毒蛇、毒蜂、微生物中,是一种重要的代谢和调节酶类,但酶源狭窄,主要从动物内脏中提取,不利于大量生产和利用,随着酶技术的进步,目前有研究利用特定微生物表达可产生磷脂酶的基因片段,得到了产高活力磷脂酶的重组菌株,适用于制备磷脂酶的工业化生产^[17]。

酶技术的发展使得酶催化法开始应用于Omega-3脂肪酸磷脂的制备,该方法是在磷脂酶的作用下,催化富含EPA和DHA的油脂与磷脂反应,生成Omega-3脂肪酸磷脂,所用的磷脂酶包括磷脂酶A₁、A₂、C、D,分别水解磷脂不同部位的酯键,得到不同的酶解磷脂产品,不同酶的作用位点如图2所示^[18]。酶促转化法是目前报道效率最高、最常用的方法,根据反应机理不同,酶促转化法可分为酶促酯交换法和酶促酯化法。

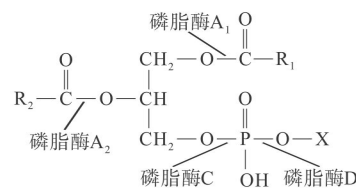


图2 磷脂酶的作用位点

2.1 酶促酯交换法

酶促酯交换法是利用磷脂酶催化Omega-3脂肪酸替换磷脂中的原有非Omega-3脂肪酸,得到Omega-3脂肪酸磷脂。所用磷脂一般为大豆磷脂或蛋黄磷脂,而Omega-3脂肪酸供体可以是脂肪酸酯或游离脂肪酸。

2.1.1 Omega-3脂肪酸酯为供体

在酶的催化下,利用Omega-3脂肪酸甲酯、乙酯等短链醇酯与磷脂反应,生成Omega-3脂肪酸磷脂及非Omega-3脂肪酸的短链醇酯,该工艺中反应体系对转化率的影响较大。Chang等^[19]利用EPA乙酯与磷脂进行酯交换反应制备EPA磷脂,对甲苯、正己烷、正庚烷、异辛烷、石油醚、氯仿、环己胺等溶剂进行了考察,结果表明甲苯溶剂体系里,反应转化率最高,在该体系下考察了最优反应条件,即在磷脂酰胆碱与EPA乙酯的摩尔比1:10、温度50~65℃下反应48h,该条件下转化率最高,可达14.3%。

孙兆敏等^[20]研究了无溶剂体系中固定化磷脂酶A₁催化大豆磷脂与乙酯型鱼油进行酯交换反应

制备 *Omega*-3 脂肪酸磷脂的工艺,通过考察不同的反应条件对转化率的影响,得到最佳的工艺条件为鱼油与磷脂的质量比 8:1、加酶量为大豆磷脂质量的 20%、55℃ 反应 12 h,该条件下所得磷脂产品中 EPA 和 DHA 的含量分别为 8.0% 和 17.8%。

2.1.2 游离型 *Omega*-3 脂肪酸为供体

由于磷脂极性较大,多不饱和脂肪酸酯的反应效率较低,游离型 *Omega*-3 脂肪酸与磷脂极性更加相近,反应效率会大幅增加。由于市场上 *Omega*-3 脂肪酸产品均是以酯的形式存在,因此该工艺反应时一般是向反应体系中加入一定量的水,在酶的催化下先将脂肪酸酯水解为游离脂肪酸,然后在酶的催化下游离脂肪酸与磷脂发生酸解反应,替换磷脂中的原有脂肪酸^[21-22]。潘丽等^[23]以 Novozym 435 为工具酶,在正己烷体系里,使大豆粉末磷脂和 *Omega*-3 多不饱和脂肪酸 EPA 与 DHA 发生酸解反应,制备了结构化磷脂,得出较优的制备条件为温度 50℃、时间 60 h、加酶量 15%、底物浓度 20%、加水量 3%、底物摩尔比 5:1,在此条件下接到磷脂上的 EPA 和 DHA 的含量之和可达 21.56%。

酶促酯交换法在反应过程中替换掉的非 *Omega*-3 脂肪酸混在体系中会影响 *Omega*-3 脂肪酸的纯度,难以得到高含量的 *Omega*-3 脂肪酸磷脂。

2.2 酶促酯化法

溶血磷脂即磷脂上 sn-1 或 sn-2 位上的脂肪酸被—OH 所替代的产物,可由相应磷脂酶催化水解磷脂得到。研究表明采用溶血磷脂为原料,与 *Omega*-3 脂肪酸酯化的效率比采用磷脂高。此外,溶血磷脂是由磷脂去除部分非 *Omega*-3 脂肪酸获得的,与 *Omega*-3 脂肪酸酯化时,由于反应体系中非 *Omega*-3 脂肪酸的比例低,更多的 *Omega*-3 脂肪酸结合到溶血磷脂的分子中,所得磷脂产品中 *Omega*-3 脂肪酸的含量更高^[24-26]。Na 等^[27]研究了 *Omega*-3 脂肪酸磷脂的制备工艺,首先利用磷脂酶 A₂ 催化水解磷脂制备溶血磷脂,然后以 EPA 含量 41%、DHA 含量 30% 的脂肪酸为 *Omega*-3 脂肪酸供体,在磷脂酶的继续催化下与溶血磷脂反应,得到 *Omega*-3 脂肪酸磷脂,所得磷脂中 EPA 含量 16%,DHA 含量 11%;如果以 90% 的 *Omega*-3 脂肪酸为原料,所得磷脂中 *Omega*-3 脂肪酸含量可达 35%。该工艺中水分活度既影响酶的催化活力,也会影响水解程度,因此水分活度是一个关键影响因素。

生物酶法制备富含 *Omega*-3 的磷脂具有成本

低、污染小、条件温和等优势,有利于规模化生产。但其工业化应用依赖于酶产量与活力稳定性的提高,对产磷脂酶微生物育种和对酶本身结构与功能的研究是未来的研究方向。

3 化学合成法

利用化学催化剂,催化磷脂与特定不饱和脂肪酸进行酯交换或者酯化反应,得到相应磷脂型脂肪酸。有研究利用特定脂肪酸乙酯和大豆磷脂为原料,在碱性催化剂的催化下高温、真空反应,反应完成后丙酮混合冷藏结晶,过滤,除去未反应的乙酯,得到终产品中目标脂肪酸的含量可达 50% 左右^[28]。

化学法因催化剂非专一性和试剂毒性,反应条件剧烈,会造成副产物多且影响产品安全性,目前该方法的研究较少,方法不够成熟。

4 微生物发酵法

筛选能代谢产生特定脂肪酸磷脂的菌株,经培养后提取纯化,得到特定的磷脂型脂肪酸。目前微生物发酵法制备 *Omega*-3 脂肪酸磷脂选择性不够高,产物组成复杂,难以得到特定脂肪酸组成的磷脂,另外反应周期长,该方法还处于试验研究阶段,未来微生物发酵技术的优化及高产菌株的筛选将成为该方法的主要研究方向。Okuyama 等^[29]选用特定的微生物,在碳源充足的条件下发酵产生 *Omega*-3 脂肪酸,然后在完全无碳源的条件下继续发酵产生富含 *Omega*-3 脂肪酸的磷脂,一批发酵过程需要 20 d 左右,得到的脂肪酸中 DHA 占 40%,磷脂占总脂质的 12%~13%。

5 展望

Omega-3 脂肪酸磷脂具有双重生理功能,应用前景广阔。随着医药、保健品对 *Omega*-3 脂肪酸磷脂产品需求的增大,必将促使其制备方法的进步。天然提取法受到原料资源限制,难以满足市场的需求,数量众多而又无法获得充分利用的海产品很有可能是未来开发 *Omega*-3 脂肪酸磷脂的良好来源;酶促转化法由于其选择性高、条件温和的特性,是未来高含量 *Omega*-3 脂肪酸磷脂制备很有潜力的方法,高选择性磷脂酶的生产技术的进步将会促进酶促转化法的发展;化学合成法反应条件剧烈,工艺尚需考察优化;微生物发酵法为 *Omega*-3 脂肪酸磷脂提供了一个新的来源,对高产菌株的筛选和发酵技术的进步将会成为该方法的主要研究方向。相信随着技术的进步以及更多技术人员的共同努力,未来 *Omega*-3 脂肪酸磷脂将更好地为人类健康服务。

参考文献:

- [1] 吴时敏. 功能性油脂[M]. 北京:中国轻工业出版社, 2001:446-449.
- [2] 李红,孙东弦,刘延奇. 大豆磷脂改性研究进展[J]. 中国油脂,2012,37(9):70-75.
- [3] 王琦. 海产动物来源 $n-3$ PUFA 磷脂的提取及生物活性研究[D]. 山东 青岛:中国海洋大学,2008.
- [4] FERNANDES G, VENKATRAMAN J T. Role of $\omega-3$ fatty acids in health and disease[J]. Nutr Res, 1993, 13(1):19-45.
- [5] LAWSON L D, HUGHES B G. Human absorption of fish oil fatty acids triacylglycerols, free acids, or ethyl esters[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1988, 152(1):328-335.
- [6] LEMAITRE - DELAUNAY D, PACHIAUDI C, LAVILLE M, et al. Blood compartmental metabolism of docosahexaenoic acid(DHA) in humans after ingestion of a single dose of [^{13}C] DHA in phosphatidylcholine[J]. J Lipid Res, 1999, 40(10):1867-1874.
- [7] TURNER M R, LEGGETT S L, LUMB R H. Distribution of $\omega-3$ and $\omega-6$ fatty acids in the ether - and ester - linked phosphoglycerides from tissues of the rainbow trout, *Salmo gairdneri*[J]. Comp Biochem Physiol B Comp Biochem, 1989, 94(3):575-579.
- [8] 赵静,姜国良,田丹. 常见海产动物磷脂研究进展[J]. 食品工业, 2011(10):86-89.
- [9] PHILLIPS K L, NICHOLS P D, JACKSON G D. Lipid and fatty acid composition of the mantle and digestive gland of four southern ocean squid species: implications for food - web studies[J]. Antarctic Sci, 2002, 14(3):212-220.
- [10] 赵传凯,姜国良,赵静,等. 南极大磷虾油脂的提取及其脂肪酸组成分析[J]. 食品工业科技,2012,33(3):207-209.
- [11] 孙丽娜. 不同发酵状态下裂殖壶菌生理性状的研究[D]. 南京:南京工业大学,2014.
- [12] 孙甜甜,薛长湖,薛勇,等. 南极磷虾脂质提取方法的比较[J]. 食品工业科技,2012,33(160):115-117.
- [13] MANJULA S, SUBRAMANIAN R. Laboratory studies on membrane deoiling of lecithin[J]. J Am Oil Chem Soc, 2008, 85(6):573-580.
- [14] 李翔宇,田勇,陆妹欢,等. 响应面试验优化藻类来源磷脂型 DHA 的提取工艺[J]. 中国油脂,2017,42(4):118-122.
- [15] 崔洁,刘小芳,董喆,等. DHA - 磷脂对肥胖小鼠脂质代谢的影响[J]. 中国油脂,2014,39(1):27-31.
- [16] FOLCH J, LEES M, SLANE - STANLEY G H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues[J]. J Biol Chem,1957,226:497-506.
- [17] SUGIYAMA M, OHTANI K, IZUHARA M, et al. A novel prokaryotic phospholipase A_2 . Characterization, gene cloning, and solution structure[J]. J Biol Chem, 2002, 277(22):20051-20058.
- [18] SHRESTHA S, PARK Y, STANLEY D, et al. Genes encoding phospholipases A_2 mediate insect nodulation reactions to bacterial challenge [J]. J Insect Physiol, 2010, 56(3):324-332.
- [19] CHANG W P, KWON S J, HAN H, et al. Transesterification of phosphatidylcholine with eicosapentaenoic acid etherester using phospholipase A_2 in organic solvent[J]. Biotechnol Lett, 2000, 22(2):147-150.
- [20] 孙兆敏,李金章,丛海花,等. 酶法制备 $n-3$ 多不饱和脂肪酸型磷脂的工艺[J]. 中国油脂,2010,35(4):33-36.
- [21] GARCIA S H, KIM I H, LOPEZ - HERNANDEZ A, et al. Enrichment of lecithin with $n-3$ fatty acid by acidolysis using immobilized phospholipase A_1 [J]. Grasas Y Aceites, 2008, 59(4):368-374.
- [22] KIM I H, GARCIA H S, HILL C G. Synthesis of structured phosphatidylcholine containing $n-3$ PUFA residues via acidolysis mediated by immobilized phospholipase A_1 [J]. J Am Oil Chem Soc, 2010, 87(11):1293-1299.
- [23] 潘丽,谷克仁,杨壮,等. 制备富含 $n-3$ 多不饱和脂肪酸的磷脂[J]. 粮油加工,2006(12):57-60,68.
- [24] HARALDSSON G G, THORARENSEN A. Preparation of phospholipids highly enriched with $n-3$ polyunsaturated fatty acids by lipase[J]. J Am Oil Chem Soc, 1999, 76(10):1143-1149.
- [25] WANG Y H, LIANG S H, YANG B, et al. Transesterification of phosphatidylcholine with fish oil by lipase[J]. J South China Univ Technol, 2000, 28:71-75.
- [26] PENG L F, XU X B, MU H L, et al. Production of structured phospholipids by lipase - catalyzed acidolysis: optimization using response surface methodology [J]. Enzyme Microb Technol, 2002, 31(4):523-532.
- [27] NA A, ERIKSSON C, ERIKSON S. Synthesis of phosphatidylcholine with $n-3$ fatty acids by phospholipase A_2 in microemulsion [J]. J Am Oil Chem Soc, 1990, 67:766-770.
- [28] 赵传景,李江,刘发义. 一种富含共轭亚油酸的磷脂及其制备方法: CN 105585591 [P]. 2016-05-18.
- [29] OKUYAMA H, ORIKASA Y, NISHIDA T. Method for production of DHA - containing phospholipid through microbial fermentation: US 8652814 [P]. 2014-02-18.