

酶促 DHA 乙酯甘油解制备 DHA 甘三酯的工艺研究

李子睦, 毕艳兰, 程亚鹏

(河南工业大学 粮油食品学院, 郑州 450001)

摘要:采用高纯度 DHA 乙酯(DHA 含量(78.7 ± 0.6)%)为原料,在 Novozym 435 酶的催化作用下甘油解制备 DHA 甘三酯。考察 DHA 乙酯与甘油摩尔比、反应温度、反应时间以及加酶量对反应过程中甘一酯、甘二酯、甘三酯、乙酯含量及乙酯转化率的影响,得到最佳条件为反应温度 100 °C、加酶量为 DHA 乙酯质量的 6%、DHA 乙酯与甘油摩尔比 3:1、反应时间 12 h,在此条件下乙酯转化率为(97.0 ± 0.2)%,产物中甘三酯含量为(95.6 ± 0.1)%,DHA 含量为(76.2 ± 0.0)%。

关键词:DHA 甘三酯;DHA 乙酯;酶促反应;甘油解

中图分类号:TS201.1;Q814.9 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2020)04-0061-06

Preparation of DHA triglyceride by enzymatic glycerolysis of DHA ethyl ester

LI Zimu, BI Yanlan, CHENG Yapeng

(College of Food Science and Technology, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: With high purity DHA ethyl ester (DHA content (78.7 ± 0.6)%) as raw material, DHA triglyceride was prepared by Novozym 435 enzymatic glycerolysis. The effects of molar ratio of DHA ethyl ester to glycerol, reaction temperature, reaction time and dosage of enzyme on the contents of monoglycerides, diglycerides, triglycerides and ethyl ester and conversion rate of ethyl ester in the reaction were investigated. The optimal conditions were obtained as follows: reaction temperature 100 °C, dosage of enzyme 6% of the mass of DHA ethyl ester, molar ratio of DHA ethyl ester to glycerol 3:1, and reaction time 12 h. Under these conditions, the conversion rate of ethyl ester was (97.0 ± 0.2)%, and the contents of triglycerides and DHA in the product were (95.6 ± 0.1)% and (76.2 ± 0.0)% respectively.

Key words: DHA triglyceride; DHA ethyl ester; enzymatic reaction; glycerolysis

二十二碳六烯酸(DHA, C22:6 ω 3)具有许多重要的生理作用,如抑制血液凝聚、降血脂、预防心脑血管疾病及阿尔兹海默病等^[1-5]。目前市场上 DHA 以简单脂质的销售形式主要有脂肪酸型、乙酯型、甘油酯型 3 种。脂肪酸型的 DHA 产品吸收率高但极易氧化,而且适口性差,难以直接食用。乙酯型的 DHA 产品较稳定,但在人体内的消化分解产物有乙醇,可能会对肝脏尤其是婴幼儿肝脏造成损伤。甘三酯型的 DHA 产品在保持其生理和营养功能的

同时,有良好的适口性以及较好的气味,具有最佳的生物利用度^[6],同时具备良好的氧化稳定性^[7],所以生产高纯度的甘三酯型 DHA 产品越来越受到制药公司和保健品公司的重视。

由于 DHA 在高温下易氧化,所以目前生产 DHA 甘三酯多采用反应条件温和的酶法合成,主要有酯化法、酸解法、转酯法及甘油解法。酶促酯化法原料一般为多不饱和脂肪酸。陈小娥等^[8]以 Novozym 435 酶催化 DHA 与甘油在正己烷体系中酯化合成 DHA 甘三酯,在最优条件下酯化率为 94.5%,甘三酯得率为 88.1%,但是该方法所需反应时间较长且均需要进行脱溶处理。酶促酸解法一般为多不饱和脂肪酸与油进行酯交换反应。Akimoto 等^[9]以 Lipozyme IM 催化从沙丁鱼油中制得的富

收稿日期:2019-09-19;修回日期:2019-12-02

基金项目:国家自然科学基金重点项目(31671818)

作者简介:李子睦(1996),男,硕士研究生,研究方向为油脂化学(E-mail)957256010@qq.com。

通信作者:毕艳兰,教授(E-mail)bylzy@126.com。

含 DHA 的脂肪酸与大豆油酯交换制备 DHA 甘三酯,最佳条件下分离后得到的甘三酯纯度极高,但是 DHA 含量仅为 14.2%。酶促转酯法一般为富含 DHA 的乙酯与甘油酯进行酯交换。Zhang 等^[10]以 Novozym 435 酶催化鱼油甘油酯与鱼油乙酯酯交换制备 DHA 甘三酯,最优条件下产物经分子蒸馏后甘三酯含量可以达到 95.9%,但是 DHA 含量仅为 17.4%。酶促单酯甘油解制备 DHA 甘三酯,目前多为 DHA 乙酯甘油解。杨春芳等^[11]以 2% (以总底物质量计)的 Novozym 435 酶催化富含 DHA 的隐甲藻油乙酯甘油解制备 DHA 甘三酯,在 DHA 乙酯与甘油摩尔比 4:1、反应温度 50℃、真空度 100 Pa 条件下反应 24 h 后乙酯转化率达到 80.9%,但其甘三酯含量不高于 80.9%。Moreno - Perez 等^[12]用 16.7% (以乙酯质量计)的 Sepabeads - C18 为载体的 CALB 酶催化 DHA 乙酯甘油解,在 DHA 乙酯与甘油摩尔比 3:0.2、50℃、搅拌速率 200 r/min 的真空条件下反应 6 h,产品中的甘三酯含量为 82%。Sun 等^[13]以 3% (以乙酯质量计)的 Lipzyme 435 酶催化 DHA 乙酯甘油解,在 DHA 乙酯与甘油摩尔比 3:1、反应温度 60℃、真空条件下反应 24 h 后甘三酯含量为 75%,其中 DHA 含量为 82.2%,但是反应时间较长且原料乙酯需经三级分子蒸馏。酶促甘油解法生产 DHA 甘三酯是一种高效的方法,所得产品中甘三酯含量高,可以省略或简化纯化步骤,具有良好的发展前景,但是目前研究中所合成的产物中 DHA 含量与甘三酯含量没有同时处于较高水平的,需进一步进行工艺优化。

藻油是一种极佳的 DHA 来源,其中的 DHA 含量高达 40%,远超过鱼油中的 DHA 含量,所以用藻油为基础原料经过处理生产高纯度 DHA 产品具有可行性。当前商品 DHA 藻油的生产原料一般是藻油经分提得到的液体组分。本研究为了提高藻油的附加值,以未分提的藻油乙酯化后经过尿素包合法纯化得到的高纯度 DHA 乙酯为原料,与甘油在 Novozym 435 酶的催化作用下合成高纯度 DHA 甘三酯。考察反应温度、底物摩尔比、加酶量、反应时间对反应的影响,优化制备高纯度 DHA 甘三酯的条件,为推广工业化生产提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 实验材料

DHA 乙酯,参考王海东^[14]、程亚鹏^[15]的方法,由藻油(DHA 含量 >40%)自制得到。苯、氯仿、正己烷、丙三醇、乙醚、甲酸、冰乙酸、2',7'-二氯荧光素,均为分析纯;薄层层析硅胶,化学纯;乙酯及甘

油酯标准品为自制(纯度均大于 98%);脂肪酸标准品均为 GC 级,购于 Sigma - Aldrich 公司;Novozym 435 固定化脂肪酶,购于丹麦诺维信公司。

DF - 101S 集热式恒温加热磁力搅拌器;BSA224S 分析天平(0.000 1 g);MK - 6S 棒状薄层色谱分析仪;TK - 8 干燥箱,日本雅隆特公司;Agilent 7890B 气相色谱分析仪,美国安捷伦公司;TDL - 80 - 2B 低速台式离心机;CHROMAROD - S III 专用烧结薄层棒。

1.2 实验方法

1.2.1 DHA 甘三酯的制备

称取 2 g DHA 乙酯,加入一定质量的甘油和 Novozym 435 固定化脂肪酶于一定温度的磁力搅拌(400 r/min)油浴中,真空状态(10 Pa)下反应一定的时间,反应完毕后分析其组成。

1.2.2 产物组成分析

产物经溶剂溶解,点样后进行两次展开。第一次展开至刻度线为 70 mm 处,第二次展开至 100 mm 处。第一次展开剂配比为正己烷、乙醚、甲酸体积比 70:30:1,第二次展开剂配比为苯与正己烷体积比 50:50,两次展开结束后放入 100℃干燥箱烘 10 min,进棒状薄层色谱仪检测样品的组成。

TLC - FID 的检测条件参考 Yang 等^[16]方法。

用峰面积归一化法计算产品中甘一酯、甘二酯、甘三酯、乙酯的含量。

$$\text{乙酯转化率} = (1 - B / \sum A_i) \times 100\%$$

式中: B 为乙酯峰面积; $\sum A_i$ 为甘一酯、甘二酯、甘三酯、乙酯及脂肪酸峰面积之和。

1.2.3 脂肪酸组成分析

取 70 mg 样品加 1 mL 正己烷溶解,进行简易碱式甲酯化(具体操作参考文献[17]),然后进气相色谱分析。

气相分析条件参考林虬等^[18]方法。

使用面积归一化法计算各脂肪酸相对含量。

1.2.4 理化指标的测定

酸价的测定参考 GB 5009.229—2016,过氧化值的测定参考 GB 5009.227—2016,水分及挥发物含量的测定参考 GB 5009.236—2016。

1.2.5 数据处理

使用线性拟合软件 Origin 8.5 分析数据之间的线性关系。实验数据以“平均值 ± 标准偏差”形式表示,每组实验都至少有两个平行样,并且进行方差分析。平行样品间的差异用 SPSS 16.0 Duncan 软件进行显著性分析确定, $P < 0.05$ 时则认为是差异显著。

2 结果与讨论

2.1 原料的分析

2.1.1 DHA 乙酯的理化指标

DHA 乙酯的酸价 (KOH) 为 (0.42 ± 0.02) mg/g, 过氧化值为 (3.04 ± 0.04) mmol/kg, 水分及挥发物含量为 $(0.23 \pm 0.01)\%$, 原料各项理化指标良好, 可以用于后续研究。

2.1.2 DHA 乙酯的纯度

采用 DHA 乙酯、甘一酯、甘二酯、甘三酯标准品对不同物质进行定位, 由此得到 DHA 乙酯中乙酯的含量达到了 $(99.6 \pm 0.2)\%$, 原料 DHA 乙酯可以用于后续研究。

2.1.3 DHA 乙酯的脂肪酸组成(见表 1)

表 1 DHA 乙酯的脂肪酸组成

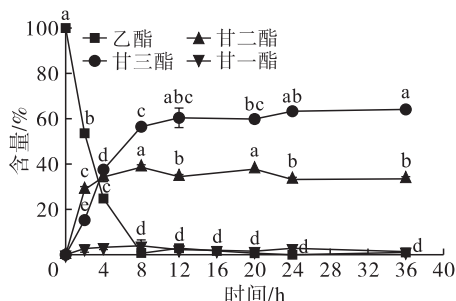
脂肪酸	含量/%
棕榈酸	0.4 ± 0.0
DPA	16.1 ± 0.3
DHA	78.7 ± 0.6
其他	4.9 ± 0.2

由表 1 可知, DHA 乙酯的脂肪酸组成中 DHA 占 78.7%, 多不饱和脂肪酸含量达到了 94.8%, 可以用于后续研究。

2.2 DHA 乙酯甘油解制备 DHA 甘三酯的反应条件优化

2.2.1 底物摩尔比的选择

乙酯与甘油的比例对于合成甘三酯工艺的影响很大, DHA 乙酯甘油解制备 DHA 甘三酯的理论摩尔比为 3:1, 所以选择底物摩尔比分别为 2:1、3:1、4:1, 考察底物摩尔比对反应的影响, 结果见图 1~图 4。

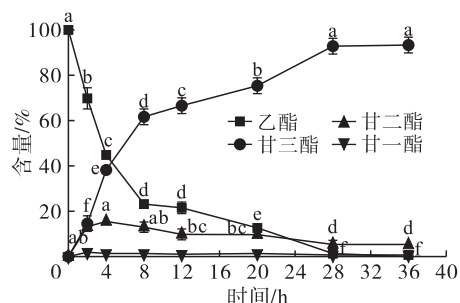


注: 反应温度 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, 加酶量为 DHA 乙酯质量的 8%; 不同的字母代表差异显著 ($P < 0.05$), 下同。

图 1 底物摩尔比为 2:1 时对反应结果的影响

由图 1 可知, 在底物摩尔比为 2:1 时, 反应进行至 24 h 达到平衡。乙酯在 0~8 h 内显著减少, 从 $(100 \pm 0.0)\%$ 降低至 $(0.8 \pm 1.1)\%$ ($P < 0.05$), 8~24 h 内无显著性变化 ($P > 0.05$), 24 h 时乙酯转化率达 $(99.8 \pm 0.2)\%$; 甘一酯在整个反应过程

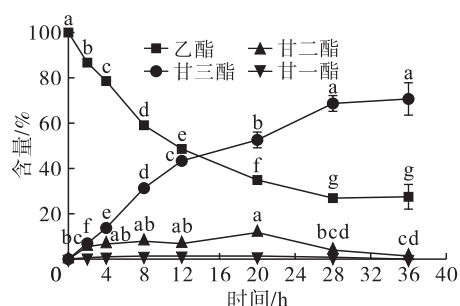
中的生成量均较少, 平衡时所占比为 $(2.8 \pm 1.0)\%$; 甘二酯在 0~8 h 内显著上升至 $(38.7 \pm 1.1)\%$ ($P < 0.05$), 在 8~12 h 显著下降至 $(34.5 \pm 1.0)\%$, 12~20 h 显著上升至 $(37.8 \pm 0.1)\%$, 20~24 h 显著降低至 $(33.3 \pm 0.9)\%$, 此后甘二酯的生成量无显著性变化; 甘三酯的生成量在 0~8 h 内快速增加至 $(56.6 \pm 0.4)\%$ ($P < 0.05$), 之后随着反应时间的延长, 甘三酯含量有小幅波动, 24 h 时甘三酯含量为 $(63.3 \pm 1.0)\%$, 这是由于原料乙酯量不足, 所以有较多的甘二酯未能转化为甘三酯。



注: 反应温度 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, 加酶量为 DHA 乙酯质量的 8%。

图 2 底物摩尔比为 3:1 时对反应结果的影响

由图 2 可知, 在底物摩尔比为 3:1 时, 反应进行到 28 h 时达到平衡状态。乙酯在 0~28 h 内显著减少 ($P < 0.05$), 之后延长反应时间无显著性变化, 28 h 时乙酯转化率达 $(98.7 \pm 0.1)\%$; 甘一酯在整个反应过程中的生成量均较少, 平衡时甘一酯所占比例为 $(0.7 \pm 0.1)\%$; 甘二酯在 0~4 h 内显著上升至 $(15.5 \pm 0.7)\%$ ($P < 0.05$), 在 4~28 h 内甘二酯的生成量由 $(15.5 \pm 0.7)\%$ 降低至 $(5.4 \pm 1.8)\%$; 甘三酯在 0~28 h 内显著增加 ($P < 0.05$), 28 h 时甘三酯含量为 $(92.8 \pm 1.8)\%$ 。

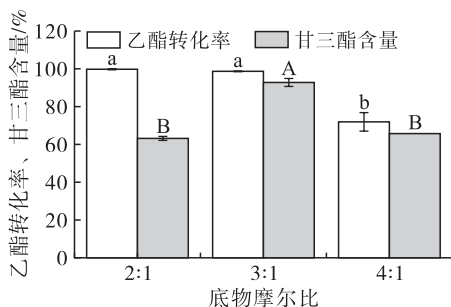


注: 反应温度 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, 加酶量为 DHA 乙酯质量的 8%。

图 3 底物摩尔比为 4:1 时对反应结果的影响

由图 3 可知, 在底物摩尔比为 4:1 时, 反应进行至 28 h 达到平衡。乙酯含量在 0~28 h 内显著减少 ($P < 0.05$), 之后延长反应时间无显著性变化, 28 h 时乙酯转化率为 $(73.1 \pm 1.4)\%$, 由于此时原料乙酯过量所以有较多乙酯未转化; 甘一酯在整个反应过程中的生成量均较少, 平衡时甘一酯所占比例为

(0.2 ± 0.1)%; 甘二酯在 0~20 h 显著上升至(11.7 ± 1.2)% ($P < 0.05$), 在 20~28 h 内显著下降, 28 h 时甘二酯所占比例为(4.1 ± 3.6)%; 甘三酯生成量在 0~28 h 内显著增加($P < 0.05$), 之后延长反应时间无显著性变化, 28 h 时甘三酯含量为(68.7 ± 2.2)%。



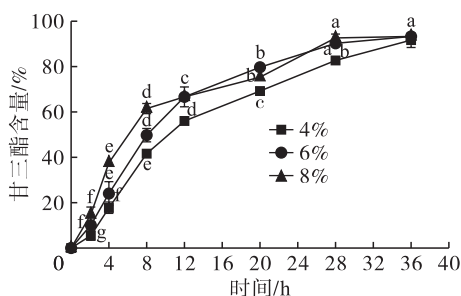
注:反应温度 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, 加酶量为 DHA 乙酯质量的 8%, 底物摩尔比为 2:1、3:1、4:1 时反应达到平衡的时间分别为 24、28、28 h。

图 4 反应达到平衡时底物摩尔比对乙酯转化率和甘三酯含量的影响

由图 4 可知, 反应达到平衡时, 底物摩尔比为 4:1 时的乙酯转化率远低于底物摩尔比为 2:1 和 3:1 时的, 底物比摩尔比为 2:1 和 3:1 时乙酯转化率无显著性差异 ($P > 0.05$), 但是其甘三酯含量有显著性差异 ($P < 0.05$), 平衡时, 底物摩尔比为 3:1 时甘三酯的含量为(92.8 ± 1.8)%, 远大于另外两者。在底物摩尔比从 2:1 增至 4:1 时促进了甘二酯转化为甘三酯, 但是乙酯过量时乙酯转化率显著降低, 这一趋势与刘太宇等^[19]合成甘三酯的趋势一致, 所以选择 3:1 作为最佳底物摩尔比。

2.2.2 加酶量的选择

考虑到生产成本及酶的价格较高, 选择 4%、6%、8% 的加酶量(以 DHA 乙酯质量计), 考察加酶量对反应的影响, 结果见图 5、图 6。

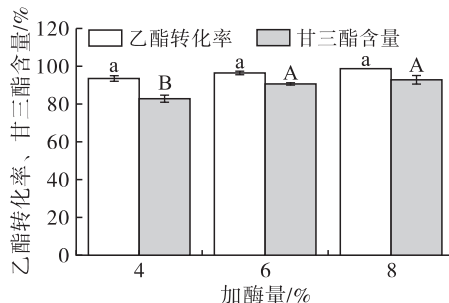


注:反应温度 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, 底物摩尔比 3:1。

图 5 加酶量对甘三酯含量的影响

由图 5 可知, 加酶量为 4%~8% 时, 反应达到平衡的时间不同, 加酶量为 6% 和 8% 时, 反应在 28 h 即可达到平衡, 而在加酶量为 4% 时, 则至少需 36

h 才达到平衡。另外, 无论加酶量多少, 在 0~8 h 内甘三酯的含量均显著性上升, 且加酶量越多, 生成的甘三酯就越多。加酶量多少对于反应达到平衡时的甘三酯含量影响不大。



注:反应温度 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, 底物摩尔比 3:1。

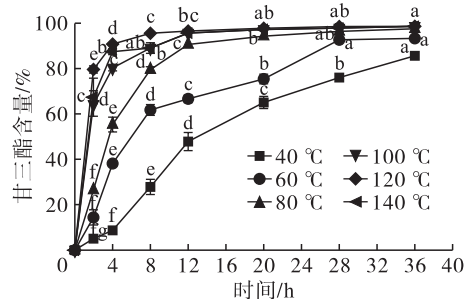
图 6 反应 28 h 时加酶量对乙酯转化率和甘三酯含量的影响

由图 6 可知, 反应 28 h 时, 加酶量不同的乙酯转化率没有显著性差异 ($P > 0.05$), 均在 97% 左右, 甘三酯含量则是在加酶量为 4% 的时候最少, 仅有(82.9 ± 1.6)%, 在加酶量为 6% 和 8% 时无显著性差异 ($P < 0.05$), 为 92% 左右。这是因为当加酶量较少时, 虽然乙酯基本转化完全, 但是仍有部分的甘二酯和甘一酯没有转化成甘三酯, 仍需时间进一步反应。

由图 5 可知加酶量为 4% 时达到平衡的反应时间比其他二者长, 这一现象与 Linder 等^[20]的研究类似, 又因为加酶量 6% 和 8% 时的合成效果均十分良好, 综合考虑反应速率以及酶价格, 选择加酶量 6% 为最优加酶量。

2.2.3 反应温度的选择

温度对于酶活性的影响较大, 选择 40、60、80、100、120、140 $^{\circ}\text{C}$ 研究反应温度对反应的影响, 结果见图 7、图 8。

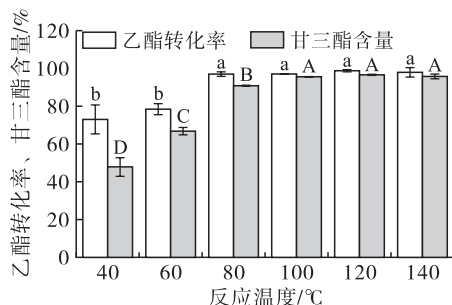


注:底物摩尔比 3:1, 加酶量为 DHA 乙酯质量的 6%。

图 7 反应温度对甘三酯含量的影响

由图 7 可知, 反应温度不同乙酯甘油解制备甘三酯达到平衡的时间不同, 反应温度分别为 40、60、80、100、120、140 $^{\circ}\text{C}$ 时甘三酯含量达到平衡的时间

分别为36、28、20、12、8、12 h。这说明在一定温度范围内适当提高温度可以缩短平衡需要的时间。适当提高温度不仅可以促进反应正向进行,还可以从体系中去除反应的副产物之一即乙醇,避免乙醇降低酶的活性。



注:加酶量为DHA乙酯质量的6%,底物摩尔比3:1。

图8 反应12 h时反应温度对乙酯转化率和甘三酯含量的影响

由图7和图8可知:在40~140℃范围内,0~12 h体系内甘三酯含量均显著上升($P < 0.05$);在12 h时,40、60、80℃下的甘三酯含量与100、120、140℃下的甘三酯含量有显著性差异($P < 0.05$),前三者分别为(47.9 ± 4.0)%、(66.7 ± 1.7)%、(90.8 ± 0.2)%,后三者之间无显著性差异($P > 0.05$),均为96%左右。80℃下的乙酯转化率与100、120、140℃之间无显著性差异($P > 0.05$),但是其仍有部分甘二酯和甘一酯未转化为甘三酯,这可能是由于温度较低造成部分甘二酯很难转化为甘三酯。Kralovec等^[21]研究表明,升高温度可以得到较多的甘三酯。综合考虑,选择100℃为最佳反应温度。

由图7可以看出,当底物摩尔比3:1、加酶量6%(以DHA乙酯质量计)、反应温度在100℃以上时,反应12 h已经达到平衡,乙酯转化完全,甘三酯含量已无显著性变化,所以选择12 h作为最佳反应时间。

单因素优化得到DHA乙酯甘油解制备DHA甘三酯最佳条件为DHA乙酯与甘油摩尔比3:1、加酶量为DHA乙酯质量的6%、反应温度100℃、反应时间12 h,在此条件下乙酯转化率为(97.0 ± 0.2)%。

2.3 产物的组成、脂肪酸组成及理化指标

测定优化条件下得到的终产物组成、理化指标和脂肪酸组成如表2所示。

由表2可知,产物的各项理化指标良好,符合GB 2716—2018规定,且产物中甘三酯纯度为(95.6 ± 0.1)%,DHA含量为(76.2 ± 0.0)%,达到了预期的实验目标。产物中DHA含量与原料中不

一致,可能的原因是产物中除了甘三酯外还有生成的少量的甘一酯、甘二酯以及极少量未反应的乙酯,所以导致有所差异。

表2 产物的组成、理化指标和脂肪酸组成

项目	指标
产物组成	
甘三酯/%	95.6 ± 0.1
甘二酯/%	1.3 ± 0.2
甘一酯/%	0.1 ± 0.1
乙酯/%	3.0 ± 0.2
脂肪酸组成	
棕榈酸/%	0.2 ± 0.0
DPA/%	17.8 ± 0.2
DHA/%	76.2 ± 0.0
其他/%	5.9 ± 0.3
理化指标	
酸价(KOH)/(mg/g)	0.19 ± 0.01
过氧化值/(mmol/kg)	2.08 ± 0.02
水分及挥发物含量/%	0.07 ± 0.02

3 结论

本研究采用高纯度DHA乙酯为原料,以Novozym 435酶催化甘油解制备DHA甘三酯,得到的最佳反应条件为反应温度100℃、加酶量为DHA乙酯质量的6%、DHA乙酯与甘油摩尔比3:1、反应时间12 h,在此条件下甘三酯的含量为(95.6 ± 0.1)%,乙酯转化率为(97.0 ± 0.2)%。通过分析产物的脂肪酸组成发现其中DHA含量为(76.2 ± 0.0)%。由于所用酶的价格较贵,所以后续需要对酶的重复利用进行研究,产物甘三酯中DHA的分布情况也有待进一步研究。

参考文献:

- [1] HONG S I, MA N, NO D S, et al. Enrichment of DHA from tuna oil in a packed bed reactor via lipase catalyzed esterification[J]. J Am Oil Chem Soc, 2014, 91: 1877 - 1884.
- [2] ZHENG J S, XU A, HUANG T, et al. Low docosahexaenoic acid content in plasma phospholipids is associated with increased non-alcoholic fatty liver disease in China[J]. Lipids, 2012, 47(6): 549 - 556.
- [3] CHIU C C, FRANGOU S, CHANG C J, et al. Associations between n-3 PUFA concentrations and cognitive function after recovery from late-life depression[J]. Am J Clin Nutr, 2012, 95(2): 420 - 427.
- [4] STROM M, HALLDORSSON T I, MORTENSEN E L, et al. Fish, n-3 fatty acids, and cardiovascular diseases in women of reproductive age: a prospective study in a large national cohort[J]. Hypertension, 2012, 59(1): 36 - 43.
- [5] FERGUSON L R. Fish-meal diet enriched with omega-3 PUFA and treatment of canine chronic enteropathies[J].

- Eur J Lipid Sci Tech, 2012, 114(4): 372 – 374.
- [6] LI D M, WANG W F, QIN X L, 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]. J Agric Food Chem, 2016, 64(34): 6533 – 6538.
- [7] SHEN Z P, WIJESUNDERA C. Effects of docosahexaenoic acid positional distribution on the oxidative stability of model triacylglycerol in water emulsion [J]. J Food Lipids, 2009, 16(1): 62 – 71.
- [8] 陈小娥, 方旭波, 陈洁, 等. 高纯度 EPA/DHA 甘油三酯的酶法合成[J]. 过程工程学报, 2009, 9(3): 552 – 557.
- [9] AKIMOTO M, IZAWA M, HOSHINO K, et al. Lipase – catalyzed interesterification of soybean oil with an $\omega-3$ polyunsaturated fatty acid concentrate prepared from sardine oil [J]. Appl Biochem Biotech, 2003, 104(2): 105 – 118.
- [10] 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]. J Agric Food Chem, 2017, 66(1): 218 – 227.
- [11] 杨春芳, 王卫飞, 王永华, 等. 以隐甲藻油富集合成高含量 DHA – 甘油酯[J]. 中国油脂, 2012, 37(2): 42 – 45.
- [12] MORENO – PEREZA S, LUNAP, SEÑORANS F J, et al. Enzymatic synthesis of triacylglycerols of docosahexaenoic acid; transesterification of its ethyl esters with glycerol [J]. Food Chem, 2015, 187: 225 – 229.
- [13] SUN Z M, XUE C H, GUO Z X, et al. Preparation of triacylglycerols enriched in DHA from single cell glycerides via molecular distillation and enzymatic glycerolysis [J]. J Aquat Food Prod Technol, 2015, 24(8): 796 – 806.
- [14] 王海东, 丁斌, 郝凤岭, 等. 脂肪酸乙酯合成工艺研究[J]. 化工科技, 2015, 23(1): 35 – 37.
- [15] 程亚鹏, 毕艳兰, 刘伟, 等. 尿素包合法制备高纯度油酸乙酯的工艺条件优化[J]. 中国油脂, 2018, 43(9): 8 – 14.
- [16] YANG B J, ZHENG L, HAN X T, et al. Development of TLC – FID technique for rapid screening of the chemical composition of microalgae diesel and biodiesel blends [J]. Fuel, 2013, 111: 344 – 349.
- [17] 李桂华. 油料油脂检验与分析 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2006.
- [18] 林虬, 宋永康, 苏德森, 等. 气相色谱法分析鱼油胶囊中的脂肪酸组成[J]. 现代科学仪器, 2005(1): 63 – 64.
- [19] 刘太宇, 陈竞男, 毕艳兰, 等. 酶促酯化合成甘油三酯工艺条件的研究[J]. 中国油脂, 2015, 40(5): 34 – 38.
- [20] LINDER M, KOCHANOWSKI N, FANNI J, et al. Response surface optimization of lipase – catalysed esterification of glycerol and $n-3$ polyunsaturated fatty acids from salmon oil [J]. Process Biochem, 2005(40): 273 – 279.
- [21] KRALOVEC J A, WANG W, BARROW C J. Production of $\omega-3$ triacylglycerol concentrates using a new food grade immobilized *Candida antarctica* lipase B [J]. Aust J Chem, 2010, 63(63): 922 – 928.
-
- (上接第 45 页)
- [5] LI J, FU Y J, QU X J, et al. Biodiesel production from yellow horn (*Xanthoceras sorbifolia* Bunge.) seed oil using ion exchange resin as heterogeneous catalyst [J]. Bioresource Technol, 2018, 108: 112 – 118.
- [6] 张祎, 胡珂青, 何梦, 等. 糖效应辅助水剂法提取文冠果籽油工艺优化及其特性分析 [J]. 中国油脂, 2017, 42(1): 1 – 5.
- [7] AZADMARD – DAMIRCHI S, HABIBI – NODEH F, HESARI J, et al. Effect of pretreatment with microwaves on oxidative stability and nutraceuticals content of oil from rapeseed [J]. Food Chem, 2010, 121: 1211 – 1215.
- [8] YU H Y, FAN S Q, BI Q X, et al. Seed morphology, oil content and fatty acid composition variability assessment in yellow horn (*Xanthoceras sorbifolium* Bunge) germplasm for optimum biodiesel production [J]. Ind Crop Prod, 2017, 97: 425 – 430.
- [9] 姜梦婷, 王秋岭, 周鑫, 等. 不同油料作物油脂体氧化稳定性差异的研究 [J]. 中国粮油学报, 2018, 33(10): 63 – 70.
- [10] OOMAH B D, SITTE L. Characteristics of flaxseed hull oil [J]. Food Chem, 2009, 114(2): 623 – 628.
- [11] 马素换, 张苗, 郭萍梅, 等. 微波预处理对山桐子果细胞结构及油脂品质的影响 [J]. 中国油脂, 2018, 43(7): 19 – 22.
- [12] 易志. 亚麻籽油储藏稳定性研究 [D]. 广州: 华南农业大学, 2016.
- [13] GÓMEZ – ALONSO S, MANCEBO – CAMPOS V, SALVADOR D. Evolution of major and minor components and oxidation indices of virgin olive oil during 21 months storage at room temperature [J]. Food Chem, 2007, 100: 36 – 42.
- [14] MIRALIKBARI H, SHAHIDI F. Antioxidant activity of minor components of tree nut oils [J]. Food Chem, 2008, 111: 421 – 427.
- [15] 鞠阳. 微波处理对油料结构及油脂品质和风味的影响 [D]. 郑州: 河南工业大学, 2015.
- [16] 毕艳兰. 油脂化学 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- [17] 张逸. 沙棘油的提质制取及对青紫蓝视网膜光损伤的预防作用研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2016.
- [18] 朱振宝, 刘梦颖, 易建华. 2 种方法测定核桃油脂氧化稳定性相关性 [J]. 中国粮油学报, 2016, 31(4): 85 – 88.
- [19] NIU Y X, ROGIEWICZ A, WAN C Y, et al. Effect of microwave treatment on the efficacy of expeller pressing of *Brassica napus* rapeseed and *Brassica juncea* mustard seeds [J]. Food Chem, 2015, 63: 3078 – 3084.