

香榧籽油金松酸的分离及其 1,3-甘油二酯的制备研究

孟祥河¹ 杨奇波¹ 肖丹¹ 夏朝盛¹ 樊律廷¹
宋丽丽² 吴家胜²

(浙江工业大学食品科学与工程学院¹ 杭州 310014)

(浙江农林大学亚热带森林培育国家重点实验室² 杭州 311300)

摘要 为实现功能性脂肪酸——金松酸(SCA)的高值化利用,本实验以香榧籽油为原料,富集SCA并用于酯交换反应生产1,3-甘油二酯。温度55℃,醇油比0.25:1,碱催化木榧籽油醇解2h,乙酯转化率可达97.8%。得到的混合脂肪酸乙酯进一步采用尿素包合法富集SCA。结果发现,随着脂脉比增加SCA回收率增加但纯度逐渐降低。当脂脉比为0.3,0.35时,SCA乙酯的纯度分别为73.0%,63.9%,回收率为43.0%,87.1%。不同脂肪酶无溶剂体系中催化SCA乙酯、甘油酯交换反应研究表明,Lipozyme RM IM的位置选择性较佳,1,3-DAG产率最高。当乙酯/甘油摩尔比2:1、酶添加量5%、60℃下反应24h,1,3-DAG的产率为55.5%,其中SCA含量接近60%。化学-酶法两步催化制备富含金松酸的功能性1,3-DAG是可行的。

关键词 金松酸 乙酯 尿素包合 1,3-DAG 固定化脂肪酶

中图分类号:TS255.6 文献标识码:A 文章编号:1003-0174(2020)07-0072-07

网络首发时间:2020-05-18 14:22:18

网络首发地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2864.ts.20200518.1025.020.html>

香榧,作为名贵干坚果有着上千年的食用历史,是国家卫生部首批批准的药食两用的食物之一,具有很高的药用和食用价值^[1-2]。香榧籽仁含油量较高,为40.39%~52.80%,其中不饱和脂肪酸约占总脂肪酸的87%,主要为油酸、亚油酸,以及特殊结构的 Δ^5 -亚甲基间隔不饱和脂肪酸——金松酸(Δ^5 , 11,14-20:3; SCA)^[3-4]。

SCA主要分布在裸子植物种子中,是榧籽油的特征性脂肪酸^[5-6]。研究表明,金松酸具有控制血脂、抗炎等诸多生理功效^[7-11]。目前关于金松酸的研究主要集中在生理活性方面,由于金松酸来源少、含量低,不易获得高含量的产品,因此关于SCA的利用研究鲜有报道。结构脂质通过调整甘油碳骨架上功能性脂肪酸的种类及位置,实现特定的理

化性质与生理活性。典型的结构脂质,甘油二酯有1,2-DAG和1,3-DAG两种异构体,少量地存在于天然油脂中^[12-13]。1,3-DAG由于其结构的特殊性,在体内难以再合成TAG,因而有防止肥胖、降低餐后血脂含量、防治高血脂、高血压、心脑血管病等生理活性和功能^[14-17]。如果结合SCA特殊的生理活性合成富含SCA的1,3-DAG可以兼备二酯与脂肪酸本身的生理功能,对开发新型的功能性脂质、改善人体健康将具有重要而积极的意义^[18]。DAG的制备方法主要有直接酯化法、甘油解法和部分水/醇解法。甘油解法和部分水解法都是从油脂直接出发,特定脂肪酸富集选择性不高。榧籽油中的SCA起始质量分数为9.45%~14.28%,要制备富含SCA的1,3-DAG,预纯化SCA是必要的。

本研究以榧籽油为原料,制备稳定性好、沸点低、易分离的榧籽油混合脂肪酸乙酯(FAEE),同时采用尿素包合法富集FAEE的SCA乙酯。通过高1,3-位选择性的脂肪酶催化高浓度的SCA乙酯与甘油反应生物合成富含SCA的1,3-DAG,并对产物脂肪酸的组

基金项目:国家自然科学基金(31772001,31972109),亚热带森林培育国家重点实验室开放课题,浙江省重点研发项目(2019C02069,2018C02017)

收稿日期:2019-09-20

作者简介:孟祥河,男,1974年出生,教授,粮油与植物蛋白

通信作者:吴家胜,男,1969年出生,教授,经济林产品

成进行表征,初步实现了榧籽油功能性 SCA 的高值化利用。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

正己烷、30~60℃石油醚、37%浓盐酸、甘油、乙醇钠、200~300目硅胶、HPLC级正己烷、异丙醇、甲酸、0.4~0.5mm硅胶板;亚油酸乙酯、甘油酯:标准品。

Agilent 7890A 气相色谱仪, Waters 1525 液相色谱仪, Waters 2414 示差检测器, Agilent Poroshell-120 液相色谱柱。

1.2 实验方法

1.2.1 榧籽油制备

榧籽剥壳,粉碎机进行粉碎后过 40 目筛子后以 1:4 的料液比向榧籽粉末中加入正己烷,在超声中对榧籽粉末进行 20 min 的两次浸提,浸提液真空抽滤后旋转蒸发获得榧籽油。

1.2.2 榧籽油的脂肪酸组成分析

脂肪酸甲酯制备参照 GB/T 17376—2008 标准方法^[19]。取 0.1~0.2 g 榧子油于 50 mL 烧瓶中,加入 2 粒沸石,再加入 4 mL 0.5 mol/L 的氢氧化钠甲醇,于 75℃下水浴回流 15 min 后加入 55% 的三氟化硼甲醇络合物 5 mL,继续回流 2 min,加入 2 mL 色谱纯正己烷,1 min 后加入 15 mL 饱和氯化钠溶液振荡 15 s,转入 50 mL 容量瓶中,加入足够饱和氯化钠至容量瓶分层,加 5 mL 色谱纯正己烷萃取 FAME。取正己烷相经无水硫酸钠干燥,适当稀释,GC 分析。

气相色谱法(GC)条件: sp-2340 色谱柱(60 m × 0.25 mm × 0.2 μm) 载气为高纯 N₂ 流速 20 mL/s 进样口温度 230℃, FID 温度 220℃, 分流比 100:1; 进样量 1 μL; 185℃恒温 40 min。

1.2.3 醇解制备榧籽油混合乙酯

取一定量的香榧油溶解于过量无水乙醇中,加入过量的乙醇钠,55℃下磁力搅拌一定时间后,反应混合物转移至分液漏斗,静置分层。取上相乙酯层,加入占上相体积 20% 的 60℃的蒸馏水洗涤 3 次,最后加入 5% 的 HCl 溶液洗涤以去除乙酯中残留的碱与皂^[20]。

1.2.4 脂肪酸乙酯的含量测定

准确称取约 100 mg 的醇解产物混合物,添加 4 mg 的十九酸甲酯,用石油醚:乙醚 = 95:5 作为展开剂进行 TLC 层析,刮下乙酯条带用正己烷溶解后进

行 GC 分析。脂肪酸乙酯总量用下式计算:

$$M_{\text{总}} = \frac{M_{\text{C19}} \times A_{\text{总}}}{A_{\text{C19}}} - M_{\text{C19}}$$

式中: $M_{\text{总}}$ 为总 FAEE 质量, mg; M_{C19} 为十九酸添加量, mg; A_{C19} 为十九酸甲酯的气相峰面积; $A_{\text{总}}$ 为所有脂肪酸酯的峰面积之和。

1.2.5 HPLC 法分析反应产物甘油酯组成

取约 150 mg 的反应产物,用流动相定容到 10 mL 容量瓶备用。HPLC 法,检测条件如下: Waters 2410 示差折光检测器,流动相为含 0.1% 的甲酸的 正己烷/异丙醇(20:1)混合溶液,流速 1 mL/min,柱箱温度 35℃,进样量 10 μL。各组分通过对比 1,3-二油酸甘油酯, 1,2-二油酸甘油酯以及 TLC 分离得到的纯品的保留时间确定,含量用峰面积归一化法计算。其中 TAG、1,3-DAG、1,2-DAG 和 MAG 纯品通过 TLC 法得到:取反应后产物用正己烷-乙醚-甲酸(70:30:1)在制备硅胶板上分离,以碘显色,各条带刮下后 TAG 以正己烷萃取, 1,3-DAG、1,2-DAG 和 MAG 以乙醚萃取,分别保存。

1.2.6 尿素包合法富集金松酸乙酯

取尿素溶解于 95% 乙醇中至浓度 40%,在 70℃下磁力搅拌回流直至尿素完全溶解。分别按 5:1~1:1 酯脲比添加混合 FAEE,连续回流 2 h,混合物在 25℃的自来水中冷却 30 min,然后 4℃静置 12 h。结晶后的尿素-脂肪酸乙酯混合物趁冷迅速过滤,并用尿素饱和的 95% 乙醇溶液洗涤滤渣,收集滤液转移至分液漏斗,加入 20% 体积分数的 5% HCl 溶液,再加入等体积的正己烷进行萃取。下层水相如上重复萃取 2 次,合并正己烷萃取相,用 20% 的蒸馏水洗涤,旋转蒸发正己烷相得到富集 SCA 的乙酯,称重。取约 50 mg 的包合后乙酯,溶于 10 mL 色谱级正己烷,微滤后 GC 分析,计算金松酸乙酯及回收率。

$$\text{金松酸回收率}/\% = \frac{P_1 \times m_1}{P_0 \times m_0} \times 100\%$$

式中: P_1 为包合后金松酸纯度; m_1 为包合后乙酯质量; P_0 为初始榧籽油金松酸含; m_0 为包合前乙酯质量。

1.2.7 酶促酯交换反应合成 1,3-DAG 的研究

甘油的吸附:将硅胶与甘油 1:1 混合,搅拌直至甘油被硅胶完全吸附,形成“干燥”粉末。

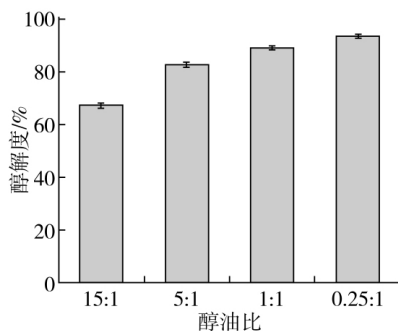
酯交换反应:按 FAEE、甘油摩尔比 2:1 称取 SCA 乙酯混合物、硅胶吸附的甘油,磁力搅拌混合,水浴加热至既定温度,加入乙酯质量 5% 的固定化酶开始酯交换反应。固定间隔时间取样,用于 TLC、

GC、HPLC 分析,计算酯化率,SCA 及 1,3-DAG 含量。

2 结果与讨论

2.1 香榧籽油的醇解

SCA 以甘油三酯的形式存在于榧籽油中,纯化富集前将其转化为游离脂肪酸(FFA)或脂肪酸乙酯(FAEE)是必要的。本研究通过酯交换反应,即乙醇钠催化 TAG 和过量乙醇进行酯交换反应制备 FAEE。与酸催化酯交换反应相比碱催化具有温度低(50~70℃),速度较快(1~3 h)、转化率高(>90%)等优点^[21-23]。55℃条件下乙醇钠催化不同比例醇油比例混合物反应 1 h 产物乙酯含量如图 1 所示。



注:反应温度 55℃、催化剂为乙醇钠,添加量为总混合物重量的 1%,反应时间 1 h。

图 1 香榧籽油在不同乙醇/油比例条件下的醇解度

通常来讲,过量乙醇有助于酯交换反应平衡向乙酯生成方向转化,促进 TAG 醇解更彻底。图 1 显示,醇油体积比为 0.25:1(摩尔比为 4.25:1)时,乙酯浓度最高为 93.8%。然而催化剂浓度不变,随醇油比增加乙酯纯度有所下降。醇油比 15:1 时,乙酯产率仅为 67.3%。这可能是由于过多的乙醇导致香榧油浓度降低,与催化剂分子的碰撞次数减少,因而有限的时间内榧籽油醇解不充分。傅红等富集鱼油时也有类似的发现,其认为要 TAG 充分醇解,醇油摩尔比不高于 4.8 是必要的^[24]。当醇油比固定在 0.25:1,反应 2 h 醇解度从 93.8% 增大到 97.8%,进一步延长至 3 h,5 h,醇解度改变不明显,表明反应达到了动态平衡。因此后续反应采用 0.25:1 的醇油比在 55℃下反应 2 h 制备香榧籽油 FAEE。

2.2 尿素包合富集金松酸乙酯

醇解得到的混合 FAEE,实验采用尿素包合法纯化 SCA。尿素包合过程中尿素浓度、包合温度、包合时间和酯脲比都会对最终目标脂肪酸的纯度有所影

响,其中酯脲比最为重要^[25]。为尽可能地富集并回收香榧籽油 SCA,实验确定尿素浓度为 40%,溶解温度 70℃,包合时间 2 h。不同酯脲比条件下香榧油 FAEE 包合效果如图 2 所示。产物的脂肪酸组成见图 3。

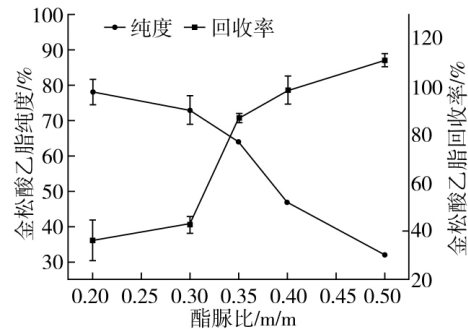
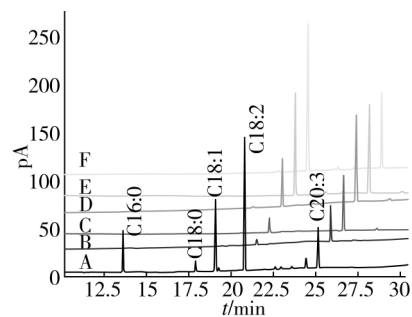


图 2 酯脲比对木榧油金松酸乙酯的包合效果



注:A 包合前混合脂肪酸乙酯,B~F 酯脲比分别为 0.2、0.3、0.35、0.4、0.5。

图 3 不同酯脲比包合香榧油乙酯的 GC 图

显而易见,脂脲比对包合效果影响显著。当脂脲比为 0.2 时,包合产物中金松酸乙酯的纯度最高,达 78%,金松酸乙酯的回收率为 36.4%。脂脲比提高到 0.3、0.35 时,金松酸乙酯的纯度略有下降,分别为 73.0%、63.8%。脂脲比为 0.4 时金松酸乙酯回收率高达 98.6%,但金松酸乙酯纯度却降低至 46.9%。0.3 和 0.35 的酯脲比包合,金松酸乙酯的纯度相差不多,但金松酸乙酯的回收率从 43.0% 显著增加到 87.0%。吕秋楠^[27]和鲁仲辉^[26]等研究尿素包合法富集亚麻酸时亦有类似的发现。因此综合考虑 SCA 纯度、回收率以及经济性,脂脲比 0.35 包合木榧油乙酯是适宜的。

2.3 固定化脂肪酶无溶剂体系中催化 FAEE、甘油合成 1,3-DAG

以纯化的金松酸乙酯和甘油为起始原料,研究探讨了 Lipozyme RM IM、Lipozyme TL IM 及 Novozyme 435 的催化效果。不同温度下的转酯化反应时间进程曲线如图 4 所示。

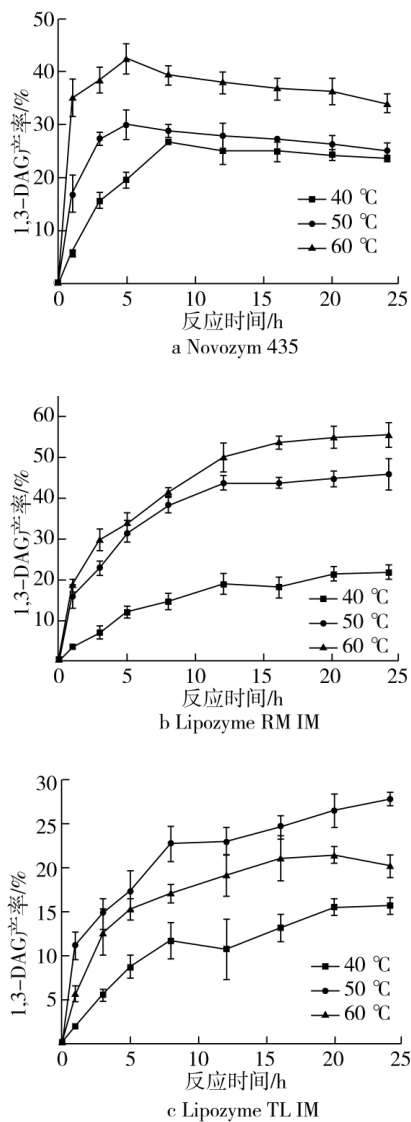


图 4 固定化脂肪酶不同温度下合成 1,3-DAG 的时间进程曲线

与 Lipozyme TL IM 和 Lipozyme RM IM 相比 Novozym 435 催化活性高, 5~8 h 后 1,3-DAG 即达到最大产率。随温度增加, Novozym 435 催化活力明显加快。50 °C 和 60 °C 反应 5 h, 1,3-DAG 产率分别为 30.1% 和 42.5%, 而 40 °C 时, 反应速率较低, 8 h 后 1,3-DAG 产率达到最高 (26.8%)。时间继续延长, 1,3-DAG 产率略有下降, 且反应趋向平衡。Zeng^[28] 等在油酸与甘油合成 1,3-DAG 的研究中也有类似的发现。这可能是随着反应时间的延长, 偏甘酯发生酰基转移进一步与 EE 反应生成了 TAG, 1,3-DAG 的含量从而降低。此外, 也和 Novozym 435 不十分严格的 1,3 位置专一性有关^[29-30]。Lipozyme TL IM 催化选择性可接受, 但活力较低, 而且其热稳定性较差, 最适温度为 50 °C, 反应 24 h 后 1,3-DAG 产率不足 30%。

Lipozyme RM IM 因在各种介质中(无溶剂、有机溶剂、超临界流体等)均表现出良好的活性和稳定性, 因此广泛应用于油脂改性^[31]。与 Novozym 435 类似, 随温度增加 Lipozyme RM IM 活力上升明显, 60 °C 为其最适温度。不同的是, 因其位置选择性高, 随时间延长, 1,3-DAG 产率逐渐增。Luis Vázquez^[32] 等以混合脂肪酸乙酯为原料, 在 65 °C 下与甘油以 2:1 摩尔比反应, DAG 得率为 60.7%, 1,3-DAG 得率为 39.8%。李磊^[30] 等研究米糠油甘油解制备 1,3-DAG 时发现 60 °C 是 Lipozyme RM IM 的最佳温度, 温度高于 60 °C 时, DAG 产量开始下降。Zhong^[33] 采用 Lipozyme RM IM 催化月桂酸、甘油酯化反应合成 1,3-DAG, 当酶添加量为 5%, 月桂酸和甘油摩尔比为 2:1, 50 °C 下反应 3 h, 1,3-二月桂酸酯得率为 80.3%。Watanabe T 等^[34] 也报道了 Lipozyme RM IM 在无溶剂体系中催化混合脂肪酸与甘油合成 DAG 的表现。5% 的酶添加量, 50 °C 下反应 4 h, DAG 产率达 84.0%, 纯度为 90.0%。然而酯化反应所用的游离脂肪酸制备需耗用大量的酸碱, 环境问题突出。本研究采用 5% Lipozyme RM IM 做催化剂, FAEE、甘油摩尔比 2:1, 60 °C 反应 24 h, 产物中 1,3-DAG 产率达 55.5%。

2.4 合成产物中的成分组成

三种脂肪酶不同温度下催化酯交换反应的选择性如图 5 所示。产物的脂肪酸组成见表 1。甘油酯产物中 1,3-DAG 与 1,2-DAG 的比例反应了酶催化位置选择性的强弱。1,3-DAG/1,2-DAG 比例越大, 1,3-DAG 含量越高, 产物生理活性越高。图 5 显示, 温度升高后各脂肪酶合成产物中 1,3-DAG/1,2-DAG 的比例都增大, 这与我们从前的发现接近^[35]。这可能是因为高温促进了 1,2-DAG 的 Sn-2 位脂肪酸向 Sn-3 位酰基转移, 转化为热稳定性更高的 1,3-DAG^[36]。因此在适当范围内提高反应温度不仅能够提高 1,3-DAG 的合成速率和产率, 同时也能够调整并改善二酯的比例。此外, 数据也显示 3 种酶的 1,3-位置选择性由强到弱依次为 Lipozyme TL IM > Lipozyme RM IM > Novozym 435。Novozym 435 的特异性最低, 因此反应后期乙酯与偏甘酯继续反应生成 TAG, 而 Lipozyme RM IM 和 Lipozyme TL IM 具有较高的位置特异性, 脂肪酸因此很少结合在 Sn-2 位上, 很难再合成 TAG。

制备 1,3-DAG 过程中, 原料油、混合 FAEE、包含富集的 SAC 乙酯以及不同脂肪酶最适条件下催化制备得到 1,3-DAG 的脂肪酸组成列于表 1。结果

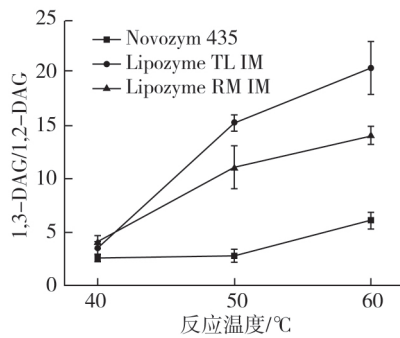


图5 不同温度下脂肪酶催化酯交换
反应产物中的1,3-DAG/1,2-DAG的比例

显示1,3-DAG的脂肪酸组成与包含富集的SAC乙酯原料无显著差别,表明三种脂肪酶没有表现出明显的脂肪酸选择性。1,3-DAG中SCA含量在58.6%~59.8%之间,符合预期。

表1 三种酶合成的1,3-DAG的脂肪酸组成

脂肪酸	香榧油	富集的 金松酸 乙酯	1,3-DAG		
			Novozym 435	Lipozyme RM IM	Lipozyme TL IM
棕榈酸	11.09 ± 0.35	0.19	—	—	—
硬脂酸	3.61 ± 0.13	—	—	—	—
油酸	23.64 ± 1.28	0.67	0.85 ± 0.09	0.93 ± 0.05	0.91 ± 0.09
亚油酸	42.35 ± 1.58	38.05	39.14 ± 1.63	40.24 ± 1.25	39.9 ± 1.33
二十碳 二烯酸	2.84 ± 0.11	0.27	0.21 ± 0.08	0.19 ± 0.01	0.15 ± 0.03
金松酸	12.75 ± 0.15	61.09	59.80 ± 0.40	58.64 ± 0.29	59.04 ± 0.32

注:—为未检出。

3 结论

采用乙醇钠催化香榧油醇解高效、时间短,得到FAEE可方便地采用尿素包合法一步富集得到纯度为60%~73% SCA乙酯。Lipozyme RM IM活力高、1,3-位置选择性强是催化SCA乙酯、甘油酯化反应最适合催化剂。当添加量5%,乙酯、甘油摩尔比2:1,60℃反应24h,1,3-DAG产率达55.5%,其中金松酸质量分数为58.6%。实验开发的化学-酶催化两步制备1,3-DAG的技术路线具有经济、高效、工艺绿色等优点,具有一定的商业化潜力。

参考文献

[1] 陈振德, 陈志良, 侯连兵, 等. 香榧子油对实验性动脉粥样硬化形成的影响[J]. 中药材, 2000, 23(9): 551-553
CHEN Z D, CHEN Z L, HOU L B, et al. The preventive effect of the oil from the seed of *Torreya grandis cv. merrillii* on experimental atherosclerosis in rats[J]. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2000, 23(9): 551-553
[2] DONG D, WANG H, XU F, et al. Supercritical carbon di-

oxide extraction, fatty acid composition, oxidative stability, and antioxidant effect of *Torreya grandis* seed oil[J]. Journal of The American Oil Chemists Society, 2014, 91(5): 817-825

- [3] 毛家辉. 品种、产地和制油工艺对榧籽油成分的影响[D]. 无锡: 江南大学, 2017
MAO J H. Effect of varieties, regions and production process on the component of *Torreya grandis* seed oil[D]. Wuxi: Jiangnan University, 2017
[4] 毛家辉, 赵晨伟, 王建峰, 等. 榧籽油的金松酸结构鉴定及成分分析[J]. 中国油脂, 2017, 42(07): 135-139
MAO J H, ZHAO C W, WANG J F, et al. Structural identification of sciadonic acid and component analysis of *Torreya grandis* seed oil[J]. China Oils and Fats, 2017, 42(07): 135-139
[5] BLAISE P, TROPINI V, FARINES M, et al. Positional distribution of Delta 5-acids in triacylglycerols from conifer seeds as determined by partial chemical cleavage[J]. Journal of The American Oil Chemists Society, 1997, 74(2): 165-168
[6] WOLFF R L. Sources of 5,11,14-20:3 (sciadonic) acid, a structural analog of arachidonic acid[J]. Journal of The American Oil Chemists Society, 1998, 75(12): 1901-1902
[7] TANAKA T, MORISHIGE J, IWAWAKI D, et al. Metabolic pathway that produces essential fatty acids from polymethylene-interrupted polyunsaturated fatty acids in animal cells[J]. The FEBS Journal, 2007, 274(11): 2728-2737
[8] TANAKA T, UOZUMI S, MORITO K, et al. Metabolic conversion of C20 polymethylene-interrupted polyunsaturated fatty acids to essential fatty acids[J]. Lipids, 2014, 49(5): 423-429
[9] ENDO Y, TSUNOKAKE K, IKEDA I. Effects of non-methylene-interrupted polyunsaturated fatty acid, sciadonic (all-cis-5,11,14-eicosatrienoic acid) on lipid metabolism in rats[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2009, 73(3): 577-581
[10] ELLS R, KOCK J L F, ALBERTYN J, et al. Sciadonic acid modulates prostaglandin E-2 production by epithelial cells during infection with *C. albicans* and *C. dubliniensis*[J]. Prostaglandins & Other Lipid Mediators, 2012, 97(1-2): 66-71
[11] CHEN S, HUANG W, YANG T, et al. Incorporation of sciadonic acid into cellular phospholipids reduces pro-inflammatory mediators in murine macrophages through NF-κB and MAPK signaling pathways[J]. Food and Chemical Toxicology, 2012, 50(10): 3687-3695
[12] ABDEL-NABEY A A. Glycerides of cottonseed oils from

- Egyptian and other varieties [J]. Riv. Ital. Sostanze Grasse, 1992, 69: 443-447
- [13] ALONZO R P D, KOZAREK W J, WADE R L. Glyceride composition of processed fats and oils as determined by glass capillary gas chromatography [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1982, 59(7): 292-295
- [14] MENG X, ZOU D, SHI Z, et al. Dietary diacylglycerol prevents high-fat diet-induced lipid accumulation in rat liver and abdominal adipose tissue [J]. Lipids, 2004, 39(1): 37-41
- [15] YANAI H, YOSHIDA H, TOMONO Y, et al. Effects of diacylglycerol on glucose, lipid metabolism, and plasma serotonin levels in lean Japanese. [J]. Obesity, 2012, 16(1): 47-51
- [16] LO S K, TAN C, LONG K, et al. Diacylglycerol oil—properties, processes and products: a review [J]. Food & Bioprocess Technology, 2008, 1(3): 223
- [17] REYES G, YASUNAGA K, ROTHENSTEIN E, et al. Effects of a 1,3-diacylglycerol oil-enriched diet on postprandial lipemia in people with insulin resistance [J]. Journal of Lipid Research, 2008, 49(3): 670-678
- [18] 童记强, 黄惠莉, 汪泳, 等. 利用鱼油制备甘油二酯的研究 [J]. 中国粮油学报, 2017, 32(4): 81-86
- TONG J Q, HUANG H L, WANG Y, et al. The preparation of diacylglycerol from fish oil [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2017, 32(4): 81-86
- [19] GB/T 17376—2008 动植物油脂 脂肪酸甲酯制备 [S]
- GB/T 17376—2008 Animal and vegetable fats and oils—preparation of methyl esters of fatty acid [S]
- [20] MENDOW G, QUERINI C A. High performance purification process of methyl and ethyl esters produced by transesterification [J]. Chemical Engineering Journal, 2013, 228(14): 93-101
- [21] 李琼, 叶勇, 刘华霖. 茶油不饱和脂肪酸乙酯化工艺研究 [J]. 粮食与油脂, 2014(1): 39-41
- LI Q, YE Y, LIU H N. Study on ethyl esterification of unsaturated fatty acids of tea oil [J]. Cereals & Oils, 2014, (1): 39-41
- [22] 边凤霞, 姚世勇, 刘荣, 等. 花椒籽仁油多不饱和脂肪酸乙酯的制备及氧化稳定性研究 [J]. 食品工业科技, 2014, 35(10): 264-268
- BIAN F X, YAO S Y, LIU R, et al. Study on preparation and oxidation stability of polyunsaturated fatty acid ethyl ester from Zanthoxylum seeds kernel oil [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(10): 264-268
- [23] MENDOW G, VEIZAGA N S, QUERINI C A. Ethyl ester production by homogeneous alkaline transesterification: influence of the catalyst [J]. Bioresource Technology, 2011, 102(11): 6385-6391
- [24] 傅红, 裘爱泳. 鱼油脂肪酸乙酯化工艺研究 [J]. 粮食与油脂, 2004(5): 27-30
- FU H, QIU A Y. Study on ethyl esterification of fish oil [J]. Journal of Cereals & Oils, 2004(5): 27-30
- [25] 楼乔明, 丛培旭, 徐杰, 等. 尿素包合法纯化孔石莼不饱和脂肪酸 [J]. 食品工业科技, 2010(12): 160-161
- LOU Q M, CONG P X, XU J, et al. Purification of unsaturated fatty acids from *Ulva pertusa* Kjellm by urea adduction [J]. Science and Technology of Food Industry, 2010(12): 160-161
- [26] 鲁仲辉. 桑蚕蛹中高纯度 α -亚麻酸的分离研究 [D]. 杭州: 浙江工业大学, 2010
- LU Z H. Isolation of Alpha-Linolenic Acid from *Bombyx Mori L. Silkworm* Chrysalis [D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2010
- [27] 吕秋楠, 史高峰, 陈学福, 等. 尿素包合法纯化蚕蛹油中 α -亚麻酸工艺研究 [J]. 中国油脂, 2009, 34(8): 32-35
- LYU Q N, SHI G F, CHEN X F, et al. Purification of α -linolenic acid from silkworm chrysalis oil by urea adduction fractionation [J]. China Oil and Fats, 2009, 34(8): 32-35
- [28] ZENG C X, QI S J, XIN R P, et al. Enzymatic selective synthesis of 1,3-DAG based on deep eutectic solvent acting as substrate and solvent [J]. Bioprocess & Biosystems Engineering, 2015, 38(11): 2053-2061
- [29] 孟祥河, 邹冬芽, 段作营, 等. 无溶剂体系合成 1,3-甘油二酯用脂肪酶的筛选及其酯化性质 [J]. 食品与生物技术学报, 2004, 23(2): 31-35
- MENG X H, ZOU D Y, DUAN Z Y, et al. Screening of lipase for synthesis of 1,3-sn-diacylglycerols and its esterification characteristics in solvent-free system [J]. Journal of Wuxi University of Light Industry, 2004, 23(2): 31-35
- [30] 李磊, 黄健花, 金青哲, 等. 酶法催化制备富含甘油二酯米糠油的研究 [J]. 中国油脂, 2011, 36(7): 36-40
- LI L, HUANG J H, JIN Q Z, et al. Lipase-catalyzed preparation of rice bran oil rich in DAG [J]. China Oils and Fats, 2011, 36(7): 36-40
- [31] RODRIGUES R C, FERNANDEZ-LAFUENTE R. Lipase from *Rhizomucor miehei* as a biocatalyst in fats and oils modification [J]. Journal of Molecular Catalysis B Enzymatic, 2010, 66(1-2): 15-32
- [32] ZHONG N, GUI Z, XU L, et al. Solvent-free enzymatic synthesis of 1,3-Diacylglycerols by direct esterification of glycerol with saturated fatty acids [J]. Lipids in Health and Disease, 2013, 12(1): 65
- [33] WATANABE T, SHIMIZU M, Sugiura M, et al. Optimiza-

- tion of reaction conditions for the production of DAG using immobilized 1,3 - regiospecific lipase Lipozyme RM IM [J]. Journal of The American Oil Chemists Society ,2003 , 80(12) : 1201 - 1207
- [34] VÁZQUEZ L , GONZÁLEZ N , REGLERO G , et al. Solvent - free lipase - catalyzed synthesis of diacylglycerols as low - calorie food ingredients [J]. Frontiers in Bioengineering & Biotechnology. 2016 ,4: 6
- [35] 孟祥河. 功能性甘油二酯的酶促酯化合成及其减肥功能的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2004
- MENG X H. Study on enzymatic synthesis of functional diacylglycerol and its antiobesity characteristics [D]. Wuxi: Jiangnan University ,2004
- [36] LP S , TAN C , LONG K , et al. Diacylglycerol oil - properties , processes and products: A review [J]. Food and Bioprocess Technology ,2008 ,1(3) : 223 - 233.

Separation of Sciadonic Acid from *Torreya grandis* Seed Oil and Preparation Research of 1,3 - Diacylglycerols

Meng Xianghe¹ Yang Qibo¹ Xiao Dan¹ Xia Chaosheng¹
Fan Lüting¹ Song Lili² Wu Jiasheng²

(College of Food Science and Technology , Zhejiang University of Technology¹ , Hangzhou 310014)

(State Key Laboratory of Subtropical Silviculture , Zhejiang A & F University² , Hangzhou 311300)

Abstract In order to realize the value - added utilization of functional fatty acid - sciadonic acid , *Torreya grandis* seed oil was taken as initial material to enrich sciadonic acid which was further reacted with glycerol to produce functional 1,3 - diglyceride. The fatty acid ethyl ester yield of 97.8% was achieved when ethanolysis was catalyzed by sodium ethoxide with the ratio of ethanol to oil 0.25:1 (v/v) at 55 °C for 2 h. The obtained mixed ethyl ester was further purified for concentration of sciadonic acid by urea inclusion. As a result , it was found that the recovery rate of the ethyl sciadonate increased as EE to urea ratio increased , but the purity of SCA gradually decreased. When the ratios of EE to urea of 0.3 , 0.35 were used , the purity of ethyl sciadonate and its recovery rate were 73.0% , 63.8% and 43.0% , 87.1% , respectively. Transesterification reaction catalyzed by immobilized lipase with ethyl sciadonate and glycerol as substrate in a solvent - free system showed that Lipozyme RM IM has better position selectivity and the highest 1,3 - DAG yield with value of 55.5%. When the ethyl ester/glycerol molar ratio was 2:1 , enzyme load was kept at 5% (m/m) , transesterification was performed at 60 °C for 24 h , the SCA content in 1,3 - DAG is close to that of initial ethyl sciadonate , with value of ~60%. Hence , chemical - enzymatic two - step catalytic preparation of functional 1,3 - DG rich in sciadonic acid was feasible.

Key words sciadonic acid , ethyl esters , urea inclusion , 1,3 - DAG , immobilized lipases