

植物甾醇酯合成工艺研究进展

赵岩¹, 唐国胜¹, 侯莹莹¹, 牛淑静², 郜玉钢¹, 韩雪¹, 张悦怡¹, 沈彦龙¹, 张连学^{1*}

(1. 吉林农业大学中药材学院, 长春 130118; 2. 吉林省食品药品审评中心, 长春 130062)

摘要: 植物甾醇为植物油中的一种天然组分, 植物甾醇中主要包括 β -谷甾醇、豆甾醇等一类以环戊烷全氢菲为骨架的天然生理活性物质, 能够有效抑制肠道对外源性胆固醇的吸收, 从而降低血清中总胆固醇的水平。而植物甾醇酯(PE)是它的酯化产物, 与植物甾醇相比具有更佳的脂溶性和更优的降血清胆固醇功效, 可作为一类具有降低血清胆固醇、预防心血管疾病等功效的新型功能食品添加剂。而植物甾醇酯与植物甾醇相比, 能比较方便地添加到油脂或含油脂的食品中。本文介绍了植物甾醇酯合成的研究概况, 并阐述了化学法、酶法、离子液体法、无溶剂直接酯化法合成植物甾醇酯, 为研发高效、环保、可靠、安全的植物甾醇酯提供参考, 同时也为进一步的研究植物甾醇酯的合成技术提供参考意见。

关键词: 植物甾醇酯; 合成工艺; 化学法; 酶法; 离子液体法; 无溶剂直接酯化法

Research on synthesis technology of phytosterol esters

ZHAO Yan¹, TANG Guo-Sheng¹, HOU Ying-Ying¹, NIU Shu-Jing², GAO Yu-Gang¹, HAN Xue¹, ZHANG Yue-Yi¹, SHEN Yan-Long¹, ZHANG Lian-Xue^{1*}

(1. College of Chinese Medicine Material, Jilin Agriculture University, Changchun 130118, China;
2. Jilin Food & Drug Estimate Center, Changchun 130062, China)

ABSTRACT: Phytosterol is a kind of natural components of the vegetable oil including stigmasterol and β -sitosterol, etc. Phytosterol can inhibit intestinal exogenous cholesterol absorption and reduce serum total cholesterol levels and so on. Phytosterol esters have better lipid solubility and cholesterol lowering effect than Phytosterol, furthermore, it is a new functional food additive to reduce serum cholesterol and prevent cardiovascular disease. Phytosterol esters can be more easily added to the grease or greasy foods than phytosterol. This article described the synthesis of phytosterol esters overview and introduced the chemical method, enzymatic method, ionic liquid method and solvent-free direct esterification synthesis about synthesis of phytosterol esters to develop an efficient, environmentally friendly, reliable and safe phytosterol esters synthesis technology and provide a reference for people to further study the synthesis of phytosterol esters.

KEY WORDS: phytosterol esters; synthesis process; chemical method; enzyme method; ionic liquid; solvent-free direct esterification method

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2011BAI03B01)、国家公益性行业科研专项(201303111)、科技部科技人员服务企业项目(2009GJB10031)、吉林省科技发展计划项(20130303094, 20140204013YY, YYZX201258, 20140311050YY)

Fund: Supported by the National Key Technology R&D Program (2011BAI03B01), the National Public Scientific Research (201303111), the Ministry of Science and Technology Personnel Services Business Project (2009GJB10031) and the Technology Development Projects in Jilin Province (20130303094, 20140204013YY, YYZX201258, 20140311050YY)

*通讯作者: 张连学, 博士, 教授, 主要研究方向为药用植物栽培与加工。E-mail: zlx863@163.com

*Corresponding author: ZHANG Lian-Xue, Professor, College of Chinese Medicinal Materials, Jilin Agriculture University, No. 2888, Xincheng Street, Changchun 130118, China. E-mail: zlx863@163.com

1 引言

植物甾醇是天然存在于植物中的一类微量活性成分,被誉为“生命的钥匙”。主要包括豆甾醇、 β -谷甾醇、麦角甾醇等。植物甾醇与胆固醇有着相似的甾核结构,具有多样的药理作用,能降低血清胆固醇与低密度脂蛋白胆固醇,具有抗肿瘤、抗炎、抗氧化等生物活性^[1-8]。植物甾醇有着多方面的应用,如用于生产固醇类的药品^[9],通过植物甾醇降低胆固醇等特性开发营养和功能食品^[10,14-20],用于化妆品、口红等作为表面活性剂^[11]等。但游离型植物甾醇熔点高,且脂溶性和水溶性都很差,导致小肠的吸收率很低^[21],如胆固醇进入肠腔50%可被吸收,而菜油甾醇、谷甾醇及甾烷醇的吸收率则分别为4%~7%^[22,23]和1%以下^[24],从而限制甾醇的实际应用范围。植物甾醇的C-3羟基是非常重要的化学反应活性基团,能与脂肪酸形成脂肪酸甾醇酯,相关报道表明,脂肪酸植物甾醇酯的脂溶性更好,且同样可以抑制胆固醇的吸收^[12,13],国家卫生部已于2010年3月9日批准植物甾醇以及植物甾醇酯可作为新资源食品,这也意味着植物甾醇及植物甾醇酯具有较好的安全性和更广阔的应用开发空间。本文介绍了近年来植物甾醇的合成研究概况,并分析了不同合成方法的利弊,展望其开发前景,为研发环保、高效、可靠、安全的植物甾醇酯合成技术提供思路,也为相关科研人员进一步的研究提供参考。

我国目前对植物甾醇的提取和精制技术研究较多,而对植物甾醇酯的合成方法和工艺研究报道相对很少,由于植物甾醇与不同化学结构的各种羧酸进行酯化反应的难易程度存在较大差别,故而在研究中采用了不同的合成方法和工艺路线。本文对化学法、离子液体催化法、无溶剂直接酯化法和生物酶催化法等合成方法进行了归纳总结,并深入探讨各类植物甾醇酯合成方法的原理、应用范围、特点和主要工艺条件,为植物甾醇酯的相关基础研究和进一步开发利用提供参考。

2 化学法

化学法是目前用于制备植物甾醇酯最广泛的合成方法,其关键在于催化剂的选择。化学法常用的催化剂有十二烷基硫酸钠系列催化剂、氧化钙、氧化铝等,而脱水剂也是促进反应非常重要的因素,常用的脱水剂有二甲苯、4A分子筛等。董涛等^[25]筛选出了能够高效催化合成植物甾醇酯的催化剂—十二烷基硫酸钠系列催化剂,以十二烷基硫酸铜为催化剂合成植物甾醇脂肪酸酯,并优化了合成条件,最终酯化率可达到92.1%,经验证催化剂回收利用五次活性仍然很好。郭涛等^[26]对氧化钙、氧化铝、氧化锌、硅胶、4A分子筛的催化效果进行比较,实验采用上述催化剂用植物甾醇与脂肪酸直接酯化的方法合成植物甾醇酯,实验探索了不同反应物摩尔比、反应温度及时间对酯化率

的影响,实验筛选出最优的催化剂为氧化铝,在氧化铝用量0.8%、酸醇摩尔比1.4:1,反应温度190℃下反应10h,酯化率最高,可达99.5%。能否有效除水是合成反应的关键,所以在反应过程中选择合适的脱水剂也是非常重要的,4A分子筛的作用就是及时除去反应生成的水。二甲苯也可用作脱水剂,陈茂彬等^[27]采用二甲苯为脱水剂及时除去反应生成的水,以植物甾醇与油酸为原料直接合成植物甾醇油酸酯。

有很多脂肪酸与植物甾醇很难直接反应生成植物甾醇酯,这就需要两步法来合成植物甾醇烟酸酯。施光宗等^[28]采用两步法制备植物甾醇烟酸酯,实验在干燥条件下,将18 mL SOCl_2 缓缓倒入三口瓶中,置于冰浴冷却,同时搅拌加入10g烟酸。油浴慢慢升温,温度达到80℃,回流5h,实验结束后减压蒸除 SOCl_2 ,并用适量重蒸无水乙醚回流1h左右,可抽滤得到白色固体烟酰氯盐酸盐,产率可达到95.0%。在冰盐浴条件下,向盛有20 mL 氯仿的三口瓶中加入10g烟酰氯盐酸盐,并注入6 mL 重蒸无水三乙胺,不断搅拌使烟酰氯盐酸盐分散于氯仿,之后加入30g植物甾醇。待油浴升温至70℃固体全部溶解,在此温度下反应10h,用减压方式蒸掉氯仿,并反复水洗固体沉淀多次,抽滤除三乙胺,最终得到植物甾醇烟酸酯产品,产率可达到92.3%。笔者在引用其他文献的条件下,做了大量的植物甾醇和烟酸反应的实验,通过硅胶板来确定反应进展,结果发现基本没有反应的发生。因此,在植物甾醇酯的合成中,针对不同种类的酸来确定反应条件是非常必要的。

综上所述,化学法制备植物甾醇酯的最大特点是工艺操作简单,原料价格低廉易得,合成产率较高;但需要选择合适的催化剂和脱水剂,而且由于植物甾醇与不同的酸反应,没有固定规律,所以针对不同的酸与植物甾醇反应的条件需适当调整或更改。同时化学法还具有实验易于控制和适宜工业化生产等优点,但反应过程温度较高,且有碱性催化剂参与,易导致副反应的发生、产品的褐变,还会导致不饱和脂肪酸氧化、植物甾醇脱水等现象^[29]。因此,如何控制反应温度减少副反应发生并兼顾合成效率是我们需要面临的问题。

3 酶法

酶作为生物催化剂,与化学催化剂相比,具有显著优势:无毒、安全,适合在食品工业中使用,具有高效和专一的催化性能。在传统酶学研究中,酶是在水介质中催化反应的。近年来,在非水相中的酶催化反应无论是在理论上还是在应用上都取得了很大的进步,为酶催化反应提供了新的发展机遇和应用前景^[30]。酶的催化反应过程大都较为温和,反应无污染,不但可以大大节省能耗,同时还可以避免发生副反应^[31],在农业、医药、环保、精细化工和食品工业等众多领域都有着广泛的应用^[32]。脂肪酶又称为三

酰基甘油酰基水解酶, 是指分解或合成高级脂肪酸与甘油形成的三酰基甘油酯键的酶^[33]。酶法制备植物甾醇酯可以通过两种方式, 一是催化甾醇与脂肪酸直接酯化, 二是利用脂肪酸甲酯的酯交换等方法来实现^[34]。

3.1 直接酯化法合成植物甾醇酯

直接酯化法是以酶作为生物催化剂, 植物甾醇与脂肪酸等直接反应生成植物甾醇酯的反应。Vu 等^[35]对共轭亚油酸、月桂酸、辛酸、己酸、癸酸等中碳链脂肪酸与植物甾醇在 AS、AYS、AK 等 6 种不同的脂肪酶催化条件下的反应进行了研究, 实验表明反应条件在 55 °C、磁力搅拌为 175 r/min、CLA 与甾醇的物质的量比为 3:1, 反应达到 48 h 时, AYS 脂肪酶在水和己烷的反应介质中酯化率分别可达 26.8% 和 28.3%, 结果显示 6 种脂肪酶在非极性溶剂中的催化效果要大于在极性溶剂中。李瑞等^[36]是在固定化脂肪酶 Chirazyme L-2 存在的条件下催化共轭亚油酸与 β -谷甾醇的合成, 最佳反应条件为: 以正己烷为溶剂, 醇酸物质的量比 1:1, β -谷甾醇 0.05 mmol/mL, 并以 60 mg/mL 的添加量添加 4 A 分子筛, 酶 20 mg/mL, 50 °C 条件下水浴振荡反应 72 h, 酯化率可达 72.6%。毛勇^[37]采用脂肪酶 Lipase RMIM、Lipase PPL 和 Novozyme 435 脂肪酶, 催化棕榈酸与植物甾醇合成棕榈酸甾醇酯。优化实验后确定最佳反应条件: 用正己烷作溶剂, 酶的加入量为底物混合物质量的 10%, 反应温度设为 55 °C, 底物摩尔配比为 1:4(植物甾醇:棕榈酸), 反应时间为 72 h, 最终酯化率可以达到 39.4%。

Villeneuve 等^[38]首先对酶种类进行了筛选, 在 *Ricinus communis*、*Carica papaya* 和 *Rhizomucormie-hei*、*Candida rugosa*、*Candida antarctica* B 脂肪酶中, 筛选出了脂肪酶 *C. rugosa*, 并对油酸和植物甾醇的酯化反应进行催化研究。Kim 等^[39]也对脂肪酶 *C. rugosa* 进行了研究, 采用响应面法对催化合成油酸植物甾醇酯的最佳反应条件进行了研究, 对底物量比、酶添加量、温度和时间等因素对实验的影响做了系统地考察分析, 并最终确定最佳工艺条件为: 以正己烷为反应溶剂, 在不添加除水剂或使用减压设备的情况下, 酶加入量 7.2%, 反应温度控制在 51.3 °C, 植物甾醇与油酸物质的量比为 1:2.1, 实验时间设为 17 h, 酯化率达到 97.0%。截止目前已有很多关于油酸和植物甾醇酯化反应的相关研究。对油酸而言, 它属于长碳链单不饱和脂肪酸, 本身就具有降低血液中胆固醇的作用, 并能够预防及治疗动脉粥样硬化和高脂血症。反应得到的油酸植物甾醇酯的熔点相对较低, 性状为液体或半固体, 更有利于在食品加工中的应用^[40]。利用其与植物甾醇酯化共同增强药活性是我们非常期待的, 这也在植物甾醇酯的合成上提供了很好的思路。

Worawan P^[41]等在南极假丝酵母脂肪酶的条件下, 用植物甾醇与脂肪酸反应(2~18 碳的脂肪酸), 结果显示大于

8 个碳的脂肪酸反应效果非常好, 合成率可达到 90% 以上, 远高于大多数其他脂肪酶。之前的研究发现大多数脂肪酶的合成率普遍偏低, 虽然近年来已有研究证明一部分脂肪酶具有较高的催化效率, 但选择更合适的脂肪酶来提高合成效率还需要进一步的研究。

3.2 转酯化法合成植物甾醇酯

三酰基甘油或脂肪酸甲酯与甾醇进行酯交换反应即称为转酯化法。采用转酯化法合成植物甾醇酯具有诸多优势^[42]。在甘油三酯与甾醇转酯化反应中, 通常需要较高的温度, 高温能够更好地保证底物与酶相互溶解混合, 可以大大提高酯化反应的酯化率。

Weber 等^[34]采用豆甾醇、谷甾醇和麦角甾醇及甾烷醇等在脂肪酶催化下与棕榈酸、亚油酸、油酸、硬脂酸直接酯化或与月桂酸甲酯、三丁酸甘油酯、油酸甲酯、三丙酸甘油酯合成相应的长链酰基酯, 在酯化反应过程中不添加有机溶剂和水, 真空条件下酯化率可以得到很好的改善。从 *C. rugosa*、*Rhizopus arrhizus*、*P. pancreas* 和 *Chromobacterium Vi-sosum* 等 4 种不同的脂肪酶中筛选出 *C. rugosa* 脂肪酶作酯化反应的催化剂, 反应温度为 40 °C, 真空度为 2~4 kPa, 脂肪酶的加入量为 50 mg, 原料物质的量比在 3:1 的条件下, 油酸与谷甾醇反应 48 h, 转化率可达 73.0%; 相同条件下油酸与豆甾醇反应 16 h, 转化率达 98.8%; 油酸与麦角甾醇反应 16 h, 转化率达 98.6%。Negishi 等^[43]以脂肪酶为催化剂, 在高温条件下, 研究了含有丰富的三油酸甘油酯的葵花籽油与植物甾醇的转酯化反应, 当酶添加量为 0.1% (v:v), 甾醇浓度为 10% (v:v), 且反应期间不加入任何溶剂, 温度控制在 100 °C, 反应 7 h 后转化率可高达 97.1%。在 90 °C 条件下, 脂肪酶 Lipase QLM 的酶活性半衰期为 260 h, 完全可以保证反应的顺利完成, 而且本实验已证明只要温度能达到甾醇熔点, 在脂肪酶催化条件下, 甾醇与葵花籽油的转酯化反应完全可以在没有任何溶剂的条件下进行。这也给我们提供了参考, 是否可以在其他催化剂存在的条件下, 不使用溶剂和水, 通过温度的调节来提高合成的效率。

植物甾醇酯的酶法合成成本相对较高, 难于实现工业化, 国内外研究者也正在进行大量的酶催化合成工艺研究, 酶法研究旨在寻找高效绿色的催化剂, 以建立有效合成植物甾醇脂肪酸酯的方法。

4 离子液体法

离子液体在化学领域应用非常广泛, 离子液体通常是指在室温或接近室温下呈现液态的、完全由阴阳离子所组成的盐, 也可称为低温熔融盐^[44]。离子液体在有机合成、萃取分离、电化学、纳米材料、清洁燃料、环境科学等方面均有应用, 而在有机合成方面的应用也极为广泛, 离子

液体可以和大量有机物质形成两相,同时具有催化剂和溶剂的双重功能,可以作为许多化学反应的溶剂或催化活性载体。此外,由于离子液体具有重复使用仍能保持高效性的特点,它与超临界 CO_2 双水相一起被认为是三大绿色溶剂,具有广阔的应用前景^[45],所以离子液体法在有机合成中起着重要的作用。而目前,以离子液体作为催化剂来催化合成植物甾醇酯的相关报道相对较少,李静静^[46]以离子液体为催化剂,研究了在有机溶剂中催化合成柠檬酸植物甾醇酯,并分析了该体系反应的最优条件,通过植物甾醇酯化率的对比,确定最佳反应条件为:离子液体 $[\text{pmim}][\text{HSO}_4]$ 的用量为植物甾醇质量的 7%,醇酸摩尔比 1:3,植物甾醇的浓度为 0.15 mmol/mL,带水剂为甲苯,反应温度 110 $^\circ\text{C}$,反应时间 5 h,实验测得平均酯化率大于 91%。并验证了离子液体 $[\text{pmim}][\text{HSO}_4]$ 在循环使用 6 次后仍有较高的催化活性。杨叶波等^[47]在不同的离子液体添加量和反应时间的条件下,考察了 6 种离子液体在植物甾醇酯合成中的催化性能强弱。最终筛选出了具有较高催化活性的离子液体 $\text{ChCl}\cdot 2\text{SnCl}_2$,且与反应物分离较容易。在多次使用后, $\text{ChCl}\cdot 2\text{SnCl}_2$ 仍具有高效的催化活性,经红外鉴定,确定 $\text{ChCl}\cdot 2\text{SnCl}_2$ 的结构仍保持完整未被破坏。甾醇酯化的催化效率与离子液体的 Lewis 酸性大小呈正相关,所以在反应中需注意调节离子液体的 Lewis 酸性。对于离子液体 $\text{ChCl}\cdot 2\text{SnCl}_2$ 应用于饱和脂肪酸与植物甾醇的合成,杨叶波等^[48]经研究发现:植物甾醇的酯化率随着脂肪酸碳链长度的增加而降低,随着离子液体加入量的增加先增后降;当反应温度低于 150 $^\circ\text{C}$ 时,植物甾醇的酯化率会随着温度的升高而显著增加,但继续升温,酯化率就不再增加;反应 4 h 后,该反应即趋于热力学反应平衡。

杨叶波等^[48]也采用响应面法对月桂酸甾醇酯的合成工艺进行了优化,最终得到反应的最优条件即反应底物摩尔比 1:2.9 (植物甾醇:月桂酸),反应温度 148 $^\circ\text{C}$,离子液体加入量为 6.6%,反应 4.3 h,在该条件下酯化率可高达 92.30%。

离子法应用于植物甾醇合成的报道还相对较少,研究也不够深入,国外相关报道也较少。离子液体最大的特点就是具有重复使用且能保持高效性,在有机合成中起着重要作用,离子液体在植物甾醇合成的工业化生产上也可以起到很大的作用,尚有待于进一步深入研究。

5 无溶剂直接酯化法

无溶剂直接酯化法是一种绿色、安全、高效的植物甾醇酯合成工艺,但应用比较受限,只针对常温下为液态的酸。马媛等^[49]利用甾醇与亚油酸,在无溶剂条件下采用直接酯化法合成亚油酸甾醇酯,以酯化率和体系氧化程度为考察指标,单因素考察筛选利于合成的底物酸醇摩尔比、催化剂添加量、反应温度和反应时间,并采用 $L_9(3^4)$

正交实验进一步优化得出最佳合成工艺:亚油酸与甾醇的摩尔比 3:1,催化剂用量 3%,反应时间 5 h,反应温度 150 $^\circ\text{C}$,在此条件下,亚油酸甾醇酯的酯化率可达到 81.23%。张品等^[50,51]对植物甾醇与 α -亚麻酸无溶剂直接酯化法进行了研究,通过单因素实验对 α -亚麻酸和植物甾醇不同质量比、催化剂添加量、反应温度及反应时间对 α -亚麻酸植物甾醇酯化率的影响进行了考察,最终得到合成 α -亚麻酸植物甾醇酯的最佳工艺条件:即真空度为 0.03~0.04 MPa, α -亚麻酸与植物甾醇的质量比 4:1,催化剂量为 2.5%,反应时间为 8 h,反应温度 140 $^\circ\text{C}$,在此条件下, α -亚麻酸植物甾醇酯的酯化率可达到(98.88 \pm 0.984)%。而对于一些熔点、沸点较低的不饱和脂肪酸与植物甾醇是否可以考虑在高温、无溶剂的条件下反应生成植物甾醇酯,还有待于进一步研究和探索。

6 结语

化学法制备植物甾醇酯具有易于控制、工艺条件简单和易实现工业化生产的特点,但反应温度相对较高,而且有碱性催化剂参与,易产生产品褐变、副反应等,从而导致植物甾醇脱水和饱和脂肪酸氧化等。相比化学催化剂,酶作为生物催化剂具有很大的优势^[52]:催化反应过程温和且环境友好,可大大节省能耗,还可避免副反应的发生,同时还具有安全无毒等特点,适用于食品工业,但植物甾醇酯的酶法合成成本较高,难于实现工业化。离子法的应用很广泛,离子液体具有反复使用仍能保持高效性的特点,所以在有机合成中应用很广泛,但在植物甾醇的合成上报道还相对较少,研究也不够深入,国外报道也相对较少,离子液体在植物甾醇合成上的应用尚有待于进一步的深入研究。无溶剂直接酯化法应用范围受限,只适用于液体,用于植物甾醇的合成也还有待于进一步研究。

在合成反应中,溶剂的选择和脱水剂、催化剂的选择同等重要,首先考察植物甾醇和不饱和脂肪酸的溶解性,选择合适的溶剂是合成甾醇酯成功与否的重要条件。而且在合成过程中,还需要考虑到最终目的是要把植物甾醇酯应用在食品中,所以在合成过程中尽量不使用有机试剂或尽量除尽有机试剂,以保证合成的植物甾醇酯顺利应用于食品中。

近些年来,国内外对甾醇酯功效的研究逐步深入,人们对植物甾醇酯的认识也逐步加深,对植物甾醇酯的开发和利用已然成为了当下的研究热点。笔者正在尝试利用植物甾醇与氨基酸进行合成,并已取得了一定的进展,对氨基酸植物甾醇酯新的药理活性充满了期待。我国植物甾醇资源极其丰富,因此植物甾醇酯的市场与前景非常广阔,开发适于工业化生产的新型绿色、经济、环保、高效的合成方法是大家迫切希望解决的问题。

参考文献

- [1] Sam Sun, 翟鹏贵, 彭启辉, 等. 新资源食品原料植物甾醇和植物甾醇酯的安全与应用[J]. 中国卫生监督杂志, 2011, 18(1): 51-55.
Sam S, Zhai PG, Peng QH, *et al.* Safety and application of new resources of food raw materials of phytosterols and phytosterol esters [J]. Chin J Heal Insp, 2011, 18(1): 51-55.
- [2] Okoli CO, Akah PA. Mechanisms of the anti-inflammatory activity of the leaf extracts of *Culcasiascandens* P. *Beauv* (Araceae) [J]. Pharmacol BiochemBehav, 2004, 79(3): 473-481.
- [3] Beger A, Jones PJH, Abumweis SS. Plant sterols: factors affecting their efficacy and safety as functional food ingredients [J]. Lipid Health Dis, 2004, 3(5): 907-919.
- [4] 赵雁武, 王宪伟, 黄滢璋, 等. 苹果籽油中植物甾醇抗氧化活性研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2012, (40)09: 221-226.
Zhao YW, Wang XW, Huang YZ, *et al.* Antioxidant activity of phytosterols from apple seed oil [J]. J N AF Univ (Nat Sci Edit), 2012, 40(09): 221-226.
- [5] 贾代汉, 周岩民, 王恬. 植物甾醇对肉鸡血清胆固醇、蛋白质水平和抗氧化酶活性的影响[J]. 中国粮油学报, 2007, 22(02): 88-93.
Jia HD, Zhou HY, Wang T. Effects of phytosterol on cholesterol and protein level and antioxidation enzyme activity in serum of broilers [J]. J ChinCer Oils Assoc, 2007, 22(02): 88-93.
- [6] 郭咪咪, 王瑛瑶, 栾霞, 等. 植物甾醇的提取、生理功能及在食品中的应用综述[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(09): 2771-2775.
Guo MM, Wang YY, Ruan X, *et al.* Review of the extraction, physiological function and application in food of phytosterol [J]. J Food Saf Qual, 2014, 5(09): 2771-2775.
- [7] 曲刚. 植物甾醇抑制 SGC-7901 胃癌细胞生长和诱导胃癌细胞凋亡的研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2008.
Qu G. Effect of phytosterol on proliferation and apoptosis of sgc-7901 stomach cancer cells [D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2008.
- [8] 张强, 赵新淮. 植物甾醇及其抗癌作用[J]. 中国油脂, 2006, 10: 57-60.
Zhang Q, Zhao XZ. Phytosterols and its anticancer effect [J]. China Oils Fats, 2006, 10: 57-60.
- [9] Fernandes P, Cabral JMS. Phytosterols: applications and recovery methods [J]. Bioresour Technol, 2007, (98): 2335-2350.
- [10] Marangoni F, Poli A. Review: phytosterols and cardiovascular health [J]. Pharmacol Res, 2010, (61): 193-199.
- [11] Weber N, Weitkamp P, Mukherjee KD. Cholesterol-lower in Additives: lipase catalysed preparation of phytosterol and phytostanol esters [J]. Food Res Int, 2002, 35(2): 177-181.
- [12] Nestel P, Cehun M, Pomeroy S. Cholesterol-lowering effects of plant sterol esters and non-esterified stanols in margarine, butter and low-fat foods [J]. Eur Clin Nutr, 2001, 55(12): 1084-1090
- [13] 黄琴. 植物甾醇酯的合成及活性研究[D]. 武汉: 湖北工业大学, 2006.
Huang Q. Studies on preparation and bioactivities of phytosterol ester [D]. Wuhan: Hubei University of Technology, 2006.
- [14] Mensink RP, Ebbing S, Lindhout M, *et al.* Effects of plant Stanol-esters supplied in low-fat yoghurt on serum lipids and lipoproteins, non-cholesterolsterols and fat soluble antioxidant concentrations [J]. Atherosclerosis, 2002, 160(1): 205-213.
- [15] Abumweis SS, Vanstone CA, Ebine N, *et al.* Intake of a single morning dose of standard and novel plant sterol preparations for 4 weeks does not dramatically affect plasma lipid concentrations in humans [J]. Nutr, 2006, 136(4): 1012-1016.
- [16] Noarkes M, Clifton PM, Doombos AM, *et al.* Plant sterol ester-enriched milk and yoghurt effectively reduce serum cholesterol in moderately hypercholesterolemic subjects [J]. Eur Clin Nutr, 2005, 44(4): 214-222.
- [17] Volpe R, Niittynen L, Korpela R, *et al.* Effects of yoghurt enriched with plant sterols on serum lipids in patients with moderate hypercholesterolaemia [J]. Br J Nutr, 2001, 86(2): 233-239.
- [18] Shin M, Rim S, Jang Y, *et al.* The cholesterol-lowering effect of plant sterol-containing beverage in hypercholesterolemic subjects with low cholesterol intake [J]. Nutr Res, 2003, 23(4): 489-496.
- [19] Folmer BM. Sterol surfactant: from synthesis to applications [J]. Adv Colloid Interface Sci, 2003, 103(2): 99-119.
- [20] Ostlund JRE. Phytosterols cholesterol absorption and healthy diets [J]. Lipids, 2007, 42(1): 41-45.
- [21] Heinemann T, Axtmann G, Bergmann K. Comparison of intestinal absorption of cholesterol with different plant sterols in man [J]. Eur Clin Invest, 1993, 23(12): 823-831.
- [22] Lütjohann D, Björkhem I, Beil UF, *et al.* Sterol absorption and sterol balance in phytosterolemia evaluated by deuterium-labeled sterols: effect of sitostanol treatment [J]. Lipid Res, 1995, 36(8): 1763-1773.
- [23] Czubyko F, Beumers B, Lammfuss S, *et al.* A Simplified micro-method for this quantification of fecal excretion of neutral and acidic sterols for outpatient studies in humans [J]. Lipid Res, 1991, 32(11): 1861-1867.
- [24] Mattson FH, Volepein RA, Erickson BA. Effect of plant sterol esters on the absorption of dietary cholesterol [J]. J Nutr, 1977, 107(7): 1139-1146.
- [25] 董涛. 植物甾醇酯的化学合成及其抗氧化研究[D]. 无锡: 江南大学, 2008.
Dong T. Chemical synthesis and antioxidant activity of phytosterols ester [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2008.
- [26] 郭涛, 姜元荣, 王勇, 等. 植物甾醇酯制备方法的研究[J]. 中国油脂, 2011, 36(1): 53-56.
Guo T, Jiang YR, Wang Y, *et al.* Study on phytosterol esters preparation method [J]. China Oils Fats, 2011, 36(1): 53-56.
- [27] 陈茂彬, 黄琴, 吴谋成. 植物甾醇油酸酯产品的合成工艺研究[J]. 中国油脂, 2005, 30(6): 63-65.
Chen MB, Huang Q, Wu MC. Study on synthesis technology of phytosteroleate product [J]. China Oils Fats, 2005, 30(6): 63-65.
- [28] 施光宗, 洪挺, 陆豫. 植物甾醇烟酸酯的合成及 HPLC 法的测定[J]. 南昌大学学报(理科版), 2011, 35(4): 357-359.
Shi GZ, Hong T, Lu Y. Synthesis of phytosterols nicotinate and HPLC determination [J]. J Nanchang Univ(Nar Sci Edit), 2011, 35(4): 357-359.
- [29] 张品, 邓乾春, 黄庆德, 等. 饱和脂肪酸植物甾醇酯的合成工艺研究进展[J]. 中国油脂, 2009, 34(07): 37-41.
Zhang P, Deng QC, Huang QD, *et al.* Advance in synthesis of phytosterol esters of unsaturated fatty acids [J]. China Oils Fats, 2009, 34(07): 37-41.
- [30] 陈茂彬, 黄琴, 吴谋成. 植物甾醇酯产品的制备方法[J]. 食品工业科技, 2004, 25(12): 130-133.
Chen MB, Huang Q, Wu MC. Preparation method of plant sterol ester products [J]. Sci Technol Food Ind, 2004, 25(12): 130-133.

- [31] Villeneuve P, Miderjwa JW, Graille EJ, *et al.* Customizing lipases for biocatalysis: a survey of chemical, physical and molecular biological approaches [J]. *J Mol Catal B-Enzym*, 2000, 9(4): 138-148 .
- [32] 董玲, 郑明明, 郭萍梅, 等. 酶法合成植物甾醇酯工艺的研究进展[J]. *中国油脂*, 2012, 37(06): 58-62.
Dong L, Zheng MM, Guo PM, *et al.* Advance in lipase-catalyzed synthesis of phytosterol esters [J]. *China Oils Fats*, 2012, 37(06): 58-62.
- [33] Davis BG, Boyer V. Biocatalysis and enzymes in organic Synthesis [J]. *Nat Prod Rep*, 2001, (18): 618-640 .
- [34] Weber N, Weitkamp P, Mukherjee KD. Fatty acid steryl, stanyl, and steroid esters by esterification and transesterification in vacuo using *Candida rugosa* lipase as catalyst [J]. *J Agric Food Chem*, 2001, 49(1): 67-71.
- [35] Vu PL, Shin JA, Lim CH, *et al.* Lipase-catalyzed production of phytosteryl esters and their crystallization behavior in corn oil [J]. *Food Res Int*, 2004, 37(2): 175-18-0.
- [36] 李瑞, 张晓鸣. 有机相脂肪酶催化合成共轭亚油酸 β -谷甾醇酯的研究[J]. *中国油脂*, 2006, 31(2): 56-59.
Li R, Zhang XM. Study on synthesis of organic conjugated linoleic acid by lipase catalyzed β -sitosterolesters[J]. *China Oils Fats*, 2006, 31(2): 56-59.
- [37] 毛勇. 棕榈酸植物甾醇酯的酶合成法: 分离纯化与性质研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2012.
Mao Y. Resrarch on enzymatic synthesis and purification of phytosterlspalmitate and its physicochemical properties [D]. Guanzhou: South China University of Technology, 2012.
- [38] Villeneuve P, Turon F, Caro Y, *et al.* Lipase-catalyzed synthesis of canola phytosterolsolate esters as cholesterol lowering agents [J]. *Enzym Micro Tech*, 2005, 37(1): 150-155 .
- [39] Kim BH, Akoh C. Modeling and optimization of lipase-catalyzed synthesis of phytosteryl esters of oleic acid by response surface methodology [J]. *Food Chem*, 2007, 102(1): 336-342 .
- [40] 张丽霞. 植物甾醇酯的制备研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2006.
Zhang LX. Study on the preparation of plant sterol ester system [D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2006.
- [41] Worawan P, Xuebing X, Zheng G. Improved acylation of phytosterols catalyzed by *Candida Antarctica* lipase A with superior catalytic activity [J]. *Biochem Eng J*, 2013, (70): 55-62.
- [42] Hellner G, Toke ER, Nagy V, *et al.* Integrated enzymatic production of specific structured lipid and phytosterol ester compositions [J]. *ProcBiochem*, 2010, 48(8): 1245-1250.
- [43] Negishi S, Hidaka I, Takahashi I, *et al.* Transesterification of phytosterol and edible oil by lipase powder at high temperature [J]. *Am Oil Chem Soc*, 2003, 80(9): 905-907.
- [44] 王风彦, 邵光杰. 离子液体应用研究进展[J]. *化学试剂*, 2009, 31(01): 25-30.
Wang FY, Shao GJ. Research progress in application of ionic liquids [J]. *ChemReag*, 2009, 31(01): 25-30.
- [45] 葛跃, 杨连珍. 离子液体的研究进展[J]. *广东化工*, 2012, 39(03): 72-73.
Ge Y, Yang SZ. The research progress of ionic liquid [J]. *Guangdong Chem*, 2012, 39(03): 72-73.
- [46] 李静静, 何文森, 潘晓霞, 等. 离子液体催化合成柠檬酸植物甾醇酯的研究[J]. *中国油脂*, 2013, 38(4): 34-38.
Li JJ, He WS, Pan XX, *et al.* Synthesis of citrate phytoster esters in the presence of ionic liquid [J]. *China Oils Fats*, 2013, 38(4): 34-38.
- [47] 杨叶波, 何文森, 贾承胜, 等. 离子液体催化合成亚油酸植物甾醇酯[J]. *中国油脂*, 2011, 36(12): 28-32.
Yang YB, He WS, Jia CS, *et al.* Synthesis of phytosteryllinolenate using ionic liquid [J]. *China Oils Fats*, 2011, 36(12): 28-32.
- [48] 杨叶波. 离子液体催化合成植物甾醇及其分离工艺[D]. 无锡: 江南大学, 2012.
Yang YB. Study on the synthesis of phytosteryl esters using ionic liquids and the separation process [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2012.
- [49] 马媛, 贾承胜, 张晓鸣, 等. 无溶剂直接酯化法合成亚油酸植物甾醇酯的研究[J]. *食品工业科技*, 2012, 06(33): 285-289.
Ma Y, Jia CS, Zhang XM, *et al.* Synthesis of phytostanyl esters of linolic acid by direct esterification without solvent [J]. *Sci Technol Food Ind*, 2012, 06(33): 285-289.
- [50] 张品, 邓乾春, 黄庆德, 等. 无溶剂直接酯化法合成 α -亚麻酸植物甾醇酯工艺研究[J]. *粮油学报*, 2010, 25(1): 55-59.
Zhang P, Deng QC, Huang QD, *et al.* Synthesis of phytostanyl esters of α -linolic acid by direct esterification without solvent [J]. *J Chin Cere Oils Associ*, 2010, 25(1): 55-59.
- [51] 张品. α -亚麻酸甾醇酯的合成及品质特性研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2009.
Zhang P. Study on synthesis and quality characteristics of α -linolenic acid cholesterol esters [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2009.
- [52] 王腾宇, 王铭义, 宋玉卿, 等. 响应面法优化生物酶法合成植物甾醇酯[J]. *食品科学*, 2011, 32(4): 59-63.
Wang TY, Wang MY, Song YQ, *et al.* Applying response surface methodology to optimize the lipase-catalyzed synthesis of phytosterol ester [J]. *Food Sci*, 2011, 32(4): 59-63.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



赵岩, 博士, 副教授, 主要研究方向为天然药物化学成分与生物活性。
E-mail: zhyjlu79@163.com



张连学, 博士, 教授, 主要研究方向为药用植物栽培与加工。
E-mail: zlx863@163.com