



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102802433 A

(43) 申请公布日 2012. 11. 28

(21) 申请号 201180015895. 0

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2011. 01. 26

*A23K 1/14* (2006. 01)

(30) 优先权数据

*C11B 1/10* (2006. 01)

1050486 2010. 01. 26 FR

*C11C 3/00* (2006. 01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

2012. 09. 25

(86) PCT申请的申请数据

PCT/FR2011/050155 2011. 01. 26

(87) PCT申请的公布数据

W02011/092430 FR 2011. 08. 04

(71) 申请人 阿肯马法国公司

地址 法国科隆布

(72) 发明人 J-L. 杜博伊斯 J. 马格内

A. 皮西里利

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司  
72001

代理人 黄念 林森

权利要求书 2 页 说明书 21 页

(54) 发明名称

反应性粉碎麻风树种子的方法

(57) 摘要

本发明涉及反应性粉碎麻风树种子的方法, 所述方法能够在轻质醇和碱性催化剂的存在下从特定处理的麻风树种子开始在单一步骤中进行研磨和存在于该麻风树油中的甘油三酯的酯交换反应, 由此同时制造油饼、甘油和脂肪酸酯。本发明的加工麻风树种子的方法能够以简单的低成本方式使除麻风树毒蛋白之外的佛波醇酯失活, 由此能够无风险地由人处理该种子, 此外能够在动物饲料中使用该蓖麻油饼。特异地, 所述种子通过包括压平种子步骤和使其干燥的步骤的一系列操作进行处理。

1. 处理含有有毒成分,如麻风树毒蛋白、相思豆毒蛋白、巴豆毒蛋白和 / 或佛波醇酯的种子,特别是麻风树种子的方法,所述种子优选具有小于或等于 3 毫克 KOH/ 克的酸度,所述方法包括下列步骤:

i) 种子加工步骤;

ii) 在足以允许萃取植物油并使其酯交换的温度和时间条件下使加工过的种子与无水轻质醇和碱性催化剂接触,并引起获得包含脂肪酸酯与甘油的混合物和油饼的步骤;

其特征在于,步骤 i) 包括种子压平和干燥操作。

2. 如权利要求 1 所要求保护的方法,其中步骤 i) 还包括在小于或等于 100°C 的温度下预热种子,该预热操作在压平之前进行。

3. 如权利要求 1 或 2 所要求保护的方法,其中步骤 i) 的压平种子干燥操作在足以将种子的含水量降低至 2 重量 % 或更低的温度下在压平后,在小于 1 小时内,优选在 5 至 10 分钟后快速进行。

4. 如权利要求 1 至 3 任一项所要求保护的方法,其中步骤 ii) 包括在 30 至 75°C、优选小于或等于 50°C、优选小于 45°C、优选大约等于 40°C 的温度下进行 15 至 60 分钟、优选 20 至 40 分钟的第一反应,接着是以 3 至 9 级且以逆流方式进行的用醇萃取。

5. 如权利要求 1 至 4 任一项所要求保护的方法,其中压平操作借助辊式机械压平机进行,并优选包括在光滑轧辊上的三重压平。

6. 如权利要求 1 至 5 任一项所要求保护的方法,其中步骤 i) 和 ii) 连续进行。

7. 如权利要求 1 至 6 任一项所要求保护的方法,其中该轻质醇是甲醇。

8. 如权利要求 1 至 7 任一项所要求保护的方法,其中该碱性催化剂是氢氧化钠。

9. 如权利要求 1 至 8 任一项所要求保护的方法,其中该催化剂 / 醇 / 种子重量比为 0.001 至 0.01/0.1 至 5/1,优选为 0.005 至 0.01/0.1 至 1/1,再更优选为 0.005 至 0.01/0.1 至 0.5/1。

10. 如权利要求 1 至 9 任一项所要求保护的方法,其中在步骤 ii) 中还添加共溶剂,所述共溶剂选自:己烷、庚烷、苯、双环己烷、环己烷、萘烷、癸烷、汽油、石油醚、煤油、kerdane、柴油、石蜡油、甲基环己烷、石脑油(Texsolve V)、Skellite、十四烷、Texsolve (B、C、H、S、S-2、S-66、S-L0、V)、超临界 CO<sub>2</sub>、加压的丙烷或丁烷、天然溶剂,如萜烯(柠檬烯、 $\alpha$ -和  $\beta$ -蒎烯等等)、醚类,如二甲醚或二乙醚,酮类,如丙酮,以及所有这些溶剂的混合物。

11. 如权利要求 1 至 10 任一项所要求保护的方法,其中对包含脂肪酸酯与甘油的混合物施以滗析步骤,其允许获得主要由脂肪酸的脂肪酯组成的上部相和主要由甘油和水组成的下部相。

12. 如权利要求 11 所要求保护的方法,其中对所述上部相施以一系列化学反应和 / 或分离 / 提纯,引起获得生物柴油。

13. 如权利要求 1 至 12 任一项所要求保护的方法,其中该麻风树种子与大豆种子以 1 至 10 的比例混合。

14. 脂肪酸甲酯的混合物,其能通过权利要求 13 所要求保护的方法获得,包含 15 至 40 重量 % 的油酸甲酯。

15. 如权利要求 14 所要求保护的混合物作为生物燃料的用途。

16. 如权利要求 1 至 12 任一项所要求保护的方法,其中在足以使麻风树毒蛋白失活的

温度和时间条件下对获得的油饼施以干燥步骤。

17. 如权利要求 16 所要求保护的方法,其中油饼的干燥在小于或等于 200℃、优选小于或等于 150℃和再更优选小于或等于 120℃的温度下进行 4 小时。

18. 可借助如权利要求 1 至 12、16 和 17 之一所要求保护的方法获得的脱毒麻风树油饼,其具有:

- 当通过定量测试测量麻风树毒蛋白脱毒比率时,为至少 90% 活性和优选至少 95% 活性的麻风树毒蛋白脱毒比率;

- 小于或等于 0.3 毫克 / 克的佛波醇酯含量。

19. 如权利要求 18 所要求保护的油饼在动物饲料中的用途。

## 反应性粉碎麻风树种子的方法

[0001] 本发明涉及反应性研磨麻风树种子的方法,其在轻质醇和碱性催化剂的存在下从特定处理的麻风树种子开始,能够在单一步骤中进行研磨和存在于该麻风树油中的甘油三酸酯的酯交换反应,以同时引起获得油饼、甘油和脂肪酸酯。所述酯主要用于制造生物柴油。此外,本发明的方法能够获得完全脱毒的油饼。通过本发明的处理麻风树(特别是 *Jatropha curcas L.*)种子的方法获得的油饼保留营养价值并可直接用于动物饲料中,而不构成对于处理它们的个人的健康风险。

[0002] 已知的是以两个步骤由含油植物种子制备脂肪酸酯,即在溶剂存在下萃取油的步骤和这种油在醇与催化剂存在下的酯交换反应的步骤,引起获得酯相和甘油相。

[0003] 麻风树属包括由于它们的种子对人类和动物的刺激性质而已知的几个种类。它们是生长在拉丁美洲、亚洲和非洲的热带植物,并主要用作树篱。它们潜在的营养和技术应用,特别是在控制土壤浸蚀和制备生物柴油方面的应用目前因它们的毒性而受到限制。

[0004] 麻风树种子富含油和蛋白质,但是它们毒性很高并且不可被人类或动物食用。麻风树的有毒和抗营养化合物包括麻风树毒蛋白 (curcine) (一种外源凝集素)、类黄酮、胰蛋白酶抑制剂、皂角苷、肌醇六磷酸酯和佛波醇酯。外源凝集素和胰蛋白酶抑制剂的活性可以通过热处理除去。高浓度的佛波醇酯(其是热稳定的)仍然是萃取自麻风树种子的油以及油饼的毒性的主要来源。事实上,这类化合物因为在人类和动物体内的有害生物效果,特别是在炎症和促癌方面,而已知。佛波醇酯本身不会诱发肿瘤,但是在暴露于认为是非致癌性剂量的致癌性化合物后能促进肿瘤的生长。

[0005] 佛波醇酯含量在不同品种的麻风树中而不同,如 Makkar H. P. S 等人的研究 *J. Agric. Food Chem.* 45:8, 1997, 3152-3157 所显示的那样。表 4 中的数据表明,在大多数受试品种中检测到了这些化合物。有一个品种——生长在墨西哥的麻风树,其中几乎不存在佛波醇酯,但其它品种或多或少富含这些化合物(特别是来自 Kenya 或 Nicaragua 的麻风树)。

[0006] 仅当确保可以除去有毒和抗营养化合物时,麻风树油饼才可确保用于动物饲料。麻风树种子对动物的有毒效果看起来与剂量有关,如在公开文献 S. E. I. Adam, *Toxicol.* 2: 67-76, 1974 中显示的那样。公开文献 *Vet. Pathol.* 16: 476-482, 1979 的表 1 中列出的数据显示,用麻风树种子饲养的动物在数天后死亡,可能是由于有毒化合物的累积效果。

[0007] W. Haas 和 M. Mittelbach 的公开文献, *Ind. Crops Prod.* 12 (2000), 111-118 描述了麻风树油中佛波醇酯的定量方法以及该油的各种处理方法。显示的是,油的常规脱胶和脱臭处理对这些化合物的浓度没什么影响,而脱酸和漂白能够将佛波醇酯含量降低至 55%,这仍是不够的。

[0008] 已经试验了各种麻风树脱毒方法。

[0009] 在 160°C 下加热麻风树种子 30 分钟不能去除佛波醇酯(Aregheore E. M. 等人, *S. Pac. J. Nat. Sci.* 21: 50-56, 2003)。

[0010] 在大约 92°C 下将蒸汽注入由脱脂油饼获得的蛋白质提取物中达 10 分钟能够除

去佛波醇酯(Devappa R.K. 和 Swamylingappa B., *J. Sci. Food Agric.* 88: 911-919, 2008)。但是,这种方法消耗大量能量,并导致蛋白质从油饼中分离,使得油饼中具有营养价值的成分减少。

[0011] 用 90% 乙醇萃取,随后在 121℃ 下用 NaHCO<sub>3</sub> 处理麻风树油饼 20 分钟能够将佛波醇酯含量减少大约 98% (Martinez-Herrera J. 等人, *Food Chem.* 96 (2006), 80-89)。

[0012] 对麻风树油饼进行碱性处理(2% 的氢氧化钠或石灰的水溶液),接着在 121℃ 下热处理 30 分钟,能够将它们的佛波醇酯含量降低 89%,但是该脱毒并不完全(Rakshit KD. 等人, *Food Chem. Toxicol.* 46 (2008): 3621-3625)。

[0013] 其它植物在它们的种子里含有类似的有毒化合物,特别是天然存在于大戟科(Euphorbiaceae) 和瑞香科(Thymelaeaceae) 的许多植物中的佛波醇酯。例如可以提及大戟科的 *Euphorbia lathyris* (鼯鼠植物或大戟) 和 *Croton tiglium* (巴豆),或者 *Bertholletia excelsa* (巴西栗)、*Prunus dulcis* (巴旦杏)、*Gossypium hirsutum* (棉花)、*Linum usitatissimum* (亚麻)、*Ceiba pentandra* (木棉花)、*Sapium indicum*, *S. Japonicum*, *Euphorbia frankiana*, *E. cocrulescence*, *E. ticulli*, *Croton spareiflorus*, *C. ciliatoglandulifer*, *Excoecaria agallocha* 和 *Homalanthus mutans*。作为本发明主题的种子脱毒法可以推广到所有这些植物。

[0014] 因此合意的是具有一种处理麻风树种子,更一般为含有有毒化合物,如佛波醇酯和 / 或麻风树毒蛋白或其它有毒蛋白质,如巴豆毒蛋白(特别存在于巴豆的种子中) 和相思豆毒蛋白(abrine) (在相思豆的种子中)的任何种子的方法,所述方法能够简单和廉价地使这些有毒化合物失活,由此使得首先能够由人类无风险地处理并其次在动物饲料中使用油饼,特别是麻风树油饼。这对于麻风树油主要出产国(印度,马达加斯加,巴西)的经济特别重要,因为虽然麻风树油有多种工业用途,但麻风树油饼不能以工业规模应用,特别是由于上述毒性问题。

[0015] 本发明提出提供处理麻风树种子的方法,其限制种子处理步骤的数量并加工该油饼,其目的为用于制造脂肪酸酯的连续工业应用,并且其能够“从源头上”破坏存在于麻风树种子中的毒素(麻风树毒蛋白)和佛波醇酯,如果可能的话,同时保留油饼的营养价值。与传统方法相比该方法的其它优点在于使用少量的水。例如,精制粗油的操作消耗非常大量的水。在发展中国家,在开发这项技术背景下节水是主要的贡献,而在富裕国家这种贡献程度较低,因为水正在成为越来越昂贵的商品。

[0016] 为此,本发明的主题是处理含有有毒成分,如麻风树毒蛋白、相思豆毒蛋白、巴豆毒蛋白和 / 或佛波醇酯的种子,特别是麻风树种子的方法,所述种子优选具有小于或等于 3 毫克 KOH/ 克的酸度,所述方法包括下列步骤:

i) 种子加工步骤;

ii) 在足以允许同时萃取植物油并使其酯交换的温度和时间条件下令加工过的种子与无水轻质醇和碱性催化剂接触,并制造包含脂肪酸酯与甘油的混合物和油饼的步骤。

[0017] 本发明的方法能够“在植物中(in planta)”令该轻质醇与种子核心处所含油反应。在该方法中,醇既起到溶剂的作用,又起到反应物的作用。

[0018] 特有地,借助包括压平的步骤和干燥所述种子的步骤的一系列操作加工该种子。

[0019] 所述压平步骤优选包括在光滑的轧辊上的三重压平,特别是对最硬的种子,如麻

风树种子。

[0020] 根据采用的条件,本发明的方法可以直接引起获得脱毒油饼。在一种实施方案变体中,在足以使麻风树毒蛋白失活并分解佛波醇酯的温度和时间条件下对该油饼施以附加的干燥步骤。

[0021] 有利地,如此处理的油饼失去其有害性质,并可以无危险地由人进行处理以用于动物饲料中。

[0022] 在本发明背景中,术语“麻风树种子”意在指来自麻风树植物的种子,单独或与来自至少一种其它含油的、含油 / 蛋白质的或含蛋白质的植物的种子混合,该种子或种子混合物产生含有至少 40 重量 % 的油酸的油。如果用于本发明的方法中的种子完全或部分来自于转基因植物,这并不脱离本发明的范围。

[0023] 尤其由于其富含脂肪物质的含油种子或含油果实而栽培含油植物,从含油种子或含油果实可以提取用于食物、能源或工业用途的油。含蛋白质植物属于豆科植物类,其种子富含蛋白质。含油 / 含蛋白质植物是豆科植物,其种子也含有油。

[0024] 按照本发明,“脱毒麻风树油饼”意在指同时具有以下性质的麻风树油饼:

- 在活性方面,当通过定量测试测量麻风树毒蛋白脱毒比率时,为至少 90% 和优选至少 95% 的麻风树毒蛋白脱毒比率,或当通过定性测试测量麻风树毒蛋白脱毒比率时,为 100% 的麻风树毒蛋白脱毒比率;

- 在活性方面,当通过定量测试测量佛波醇酯分解比率时,为至少 95% 和优选至少 99% 的佛波醇酯分解比率,或当通过定性测试测量佛波醇酯分解比率时,为 100% 的佛波醇酯分解比率。

[0025] 考虑到 Makkar H. P. S. 等人的公开文献 *Plant Foods for Human Nutrition* 1998, 第 52 卷, 第 1 期, 第 31-36 页中提出的结果,0.11 毫克 / 克的佛波醇酯含量对应于可食用(无毒)油饼。动物饲料方面的专家通常估计,当油饼的佛波醇酯含量小于或等于 0.3 毫克 / 克时其是脱毒的,并可用于动物饲料中,特别是与其它饲料材料混合。

[0026] 本发明的脱毒油饼因此具有最多 0.3 毫克 / 克处理油饼、优选最多 0.11 毫克 / 克处理油饼的佛波醇酯含量。

[0027] 术语“麻风树毒蛋白脱毒比率”意在指在该油饼中失活的毒素的重量百分数。

[0028] 术语“佛波醇酯分解比率”意在指在该油中被分解的佛波醇酯的重量百分数。

[0029] 由下面对本发明的处理麻风树种子方法的详细描述将显示其它特征和优点。

[0030] 本发明的主题是处理含有有毒化合物,如麻风树毒蛋白、相思豆毒蛋白、巴豆毒蛋白(crotine)和 / 或佛波醇酯的种子,特别是麻风树种子的方法,其单独或与来自至少一种其它含油的、含油 / 含蛋白质的或含蛋白质的植物的种子混合,所述种子优选具有小于或等于 3 毫克 KOH / 克的酸度,所述方法包括下列步骤:

- i) 加工该没预先去皮的种子的步骤;

- ii) 在足以允许同时萃取植物油并使其酯交换的温度和时间条件下令加工过的种子与无水轻质醇和碱性催化剂接触,并引起获得包含脂肪酸酯与甘油的混合物和油饼的步骤,

其特征在于借助包括所述种子的压平步骤和干燥步骤的一系列操作加工该种子。

[0031] 麻风树种子的另一特性与它们的高毒性有关,特别是由于存在麻风树毒蛋白和佛波醇酯。在萃取油后,麻风树毒蛋白富集在油饼中,佛波醇酯浓缩在油中和 / 或在酯中,使

人们处理它们变得有问题,或甚至危险。

[0032] 本发明的方法能够同时解决与麻风树油的酯交换相关的许多问题。这种方法能够有利地由种子直接到脂肪酸酯,同时避免研磨、精炼、提纯步骤以及产生副产物。如上所述,通过本发明的方法获得的脂肪酸酯特别适于制备生物柴油。本发明的方法能够获得缺乏毒性的富含脂肪酸酯的馏分,并因此可以无风险地使用,特别是用于制造生物柴油。此外,该方法引起获得脱毒油饼,其可以无危险地由人处理并可用于动物饲料中而不具有毒害动物的风险。

#### [0033] 种子加工步骤

本发明的方法的第一步在于加工单独或以与其它含油的、含油 / 含蛋白质的或含蛋白质的植物的种子的混合物形式使用的麻风树种子。对完整的种子进行该加工。其包括其中将种子压平的第一操作,接着是其中将压平的种子干燥的操作。

[0034] 加工种子的目的在于使得油尽可能接近醇,但是不会过度改变其机械强度。这防止形成糊状物或细粉——这分别不利于连续工艺的実施和制得的酯产物的最终提纯。而且,加工的种子应允许反应流体(醇 / 碱性催化剂混合物)按照简单的渗滤现象容易地通过。

[0035] 按照一种实施方案变体,新鲜的种子在具有光滑或带槽纹的轧辊的机械压平机上进行压平。

[0036] 例如在调节温度的通风炉中或在连续带式或热空气转鼓式干燥器中将如此压平的种子干燥。选择干燥时间和温度以使得种子的含水量降低至小于或等于 2 重量 % 的值。优选在足以将种子的含水量降低至 2 重量 % 或更低的温度下在压平后(在小于 1 小时内,优选在 5 至 10 分钟后)快速进行干燥。

[0037] 通过热重分析法测定种子的残余含水量。预先将种子研磨,随后将获得的磨碎材料在热天平中在 105°C 下干燥直到重量稳定。水含量以原料的百分比表示。

[0038] 在一种优选的实施方案变体中,加工该种子的步骤 i)还包括在压平操作前进行的种子预热操作。该预热操作赋予种子更大的塑性,并因此在压平过程中更有效地压碎(在接触表面、醇渗滤速率以及因此醇的萃取能力方面的提高)。其优选在小于或等于 100°C 的温度下进行。

#### [0039] 萃取和酯交换步骤

在足以允许萃取植物油并使其酯交换的温度和时间条件下令如上描述的加工过的种子与无水轻质醇和碱性催化剂接触,引起获得包含脂肪酸酯与甘油的混合物和油饼。

[0040] 步骤 ii)中使用的轻质醇是低级脂族醇,如甲醇、乙醇、异丙醇和正丙醇,优选为甲醇。

[0041] 按照一种实施方案变体,还向反应介质中加入与所属轻质醇混溶或不混溶的有机溶剂(共溶剂)。作为共溶剂,可以提及:己烷、庚烷、苯、双环己烷、环己烷、萘烷、癸烷、己烷(Texsolve C)、汽油(essence)、石油醚、煤油、kerdane、柴油、石蜡油(pétrole lampant)、甲基环己烷、Texsolve S 或 S-66、石脑油(Texsolve V)、Skellite、十四烷、Texsolve(B、C、H、S、S-2、S-66、S-L0、V)、超临界 CO<sub>2</sub>、加压的丙烷或丁烷、天然溶剂,如萜烯(柠檬烯、 $\alpha$ -和  $\beta$ -蒎烯等等)、醚类,如二甲醚或二乙醚,酮类,如丙酮,以及所有这些溶剂的混合物。

[0042] 用于该方法的碱性催化剂选自:氢氧化钠、氢氧化钠醇液、固体氢氧化钠、氢氧化钾、氢氧化钾醇液、固体氢氧化钾、甲醇钠或甲醇钾、乙醇钠或乙醇钾、丙醇钠或丙醇钾和异

丙醇钠或和异丙醇钾。

[0043] 在固定床反应器中进行该反应。按照一种实施方案,该固定床反应器是装有栅格的温度调节渗滤塔。泵能够将醇-碱性催化剂混合物送入该塔。因此将醇和催化剂同时加入反应器中,该反应器保持在 30 至 75°C、优选小于或等于 50°C、优选小于 45°C、优选大约等于 40°C 的温度下。催化剂/醇/种子重量比优选在 0.001 至 0.01/0.1 至 5/1 范围内、优选为 0.005 至 0.01/0.1 至 1/1 范围内、甚至更优选为 0.005 至 0.01/0.1 至 0.5/1 范围内。

[0044] 特别地,小于 0.001 或甚至小于 0.005 的催化剂含量不能获得脱毒油饼,相反,大于 0.01 的含量导致皂化和差的酯产率。

[0045] 在该床顶部进行进料;反应液体随后渗滤通过该床并随后在床下方的位于下游的储存器中回收。通过泵送将液体送回到该床的顶部以再次扩散通过该床。醇/催化剂混合物循环周期的持续时间为 15 至 60 分钟,优选 20 至 40 分钟。在该周期结束时,停止液体进料。随后通过简单的沥干回收一部分仍存在于被浸泡的种子中的液体。

[0046] 随后萃取并洗涤该种子。为此,将无水醇送入该塔,其通过渗滤再次扩散而不进行随后的醇循环。优选在 3 至 9 级中进行醇萃取。在给定的一段时间(大约 4 至 10 分钟)期间注入一定量的溶剂,液体随后沥干 10 至 20 分钟。回收的液体可以经历通过添加酸的中和步骤,和随后的蒸发的步骤,以制造由富含酯的较轻质相和富含甘油的较致密相组成的相混合物。这些相均不含麻风树毒蛋白。

[0047] 将相混合物施以滗析步骤(由例如在一个或多个并联或串联的滗析器中的静态滗析、离心滗析、静态或离心滗析的组合构成),能够获得主要由脂肪酸的脂肪酯组成的上部相(酯相)和主要由甘油和水组成的下部相(甘油相)。

[0048] 酯相随后施以旨在回收脂肪酯的化学反应和/或分离/提纯的序列,以已知方式包括用水洗涤的步骤和接下来的在真空中干燥的步骤。

[0049] 如此所得脂肪酸酯特别用于制备生物柴油。

[0050] 由本发明的方法直接获得的其它产品是麻风树油饼。

[0051] 按照一种实施方案变体,例如在通风炉中在小于或等于 200°C、优选小于或等于 150°C 和甚至更优选小于或等于 120°C 的温度下将用醇浸泡的低脂油饼干燥 4 小时。干燥步骤的目的还在于破坏残存在油饼中的麻风树毒蛋白。同时,该干燥步骤能够从油饼中除去萃取过程中所用的溶剂(醇)。

[0052] 按照另一种实施方案变体,本发明的方法不包括在高温(高于 120°C 的温度)下干燥油饼的步骤;根据所用的条件,麻风树毒蛋白可以通过上述加工和萃取/酯交换步骤过程中施放到麻风树种子上物理和/或化学处理来失活,使得在高温下干燥油饼的操作变得多余。在这种情况下,该方法仅包括旨在去除在萃取过程中所用溶剂(醇)的在低于 120°C 的温度下干燥油饼的步骤以便允许所述油饼可用于动物饲料中。

[0053] 测定油饼以及在萃取/酯交换步骤后回收的液相的有毒性质的定量测试是急性经口毒性试验。

[0054] Makkar H.P.S. 等人的公开文献 *J. Agric. Food Chem.* 45: 8, 1997, 3152-3157 描述了麻风树毒蛋白定量试验(血凝试验)以及佛波醇酯的定量化验方法(用二氯甲烷连续萃取,接着通过 HPLC 的分析)。

[0055] 本发明的方法可以没有困难地以工业规模连续实施,例如通过:连续运行的移动

带式反应器 - 萃取器 (De Smet 萃取器类型); 旋转过滤器或离心机。该反应性研磨优选使用甲醇在相对于油饼的逆流方向上经几个连续级进行。醇萃取优选以 3 至 9 个级进行。

[0056] 本发明的反应性研磨法特别适于种子的混合物, 如大豆、蓖麻籽、红花种子或油菜籽。有利地, 麻风树的油饼 (其不能纯净地使用, 而是与其它含蛋白质物混合使用) 随后直接与其它蛋白质源混合。

[0057] 由麻风树种子 (富含油) 和大豆 (富含蛋白质) 以 1:10 的比例组成的起始混合物通过本发明的方法获得特别适合用作生物燃料的含有 15 至 40 重量 % 的油酸甲酯的脂肪酸甲酯的混合物。

[0058] 本发明的反应性研磨种子的方法具有许多优点。

[0059] 借助种子的特定加工步骤, 能够提高接触表面, 以便令醇 - 催化剂混合物更好地渗透, 因而更好地萃取脂质和随后将它们转化为酯。加工过的种子的预先浸渍不是必要的。由包含脂肪酸和甘油的酯的混合物获得的酯部分特别适于制造生物柴油。

[0060] 由完整种子开始的事实能够:

- 首先, 极大地限制了细粉的形成, 使得后继的过滤步骤更容易, 并限制因干燥细粉容易散失 / 分散到环境空气中而引起的有毒风险;
- 和其次, 保持压平种子 (其将形成油饼) 的床的良好机械强度, 如果希望以连续方式进行该反应的话这是非常有利的性质。

[0061] 按照本发明的方法, 由种子直接获得油饼。这些油饼对人类没有毒性, 因此可以无风险地进行处理。此外, 这些油饼保持了它们的物理完整性 (内聚性, 机械强度) 并具有有利的营养价值, 这使它们能用于动物饲料。

[0062] 在阅读下文中纯粹为了举例说明给出的实施例时将更清楚地理解本发明及其优点。

[0063] 反应性研磨麻风树种子

表 1: 受试麻风树种子的表征

特征	麻风树种子 (2009 年 11 月)
含水量, %	7.5
脂肪, % MS	35.0
脂肪的酸度, 毫克 KOH/克	1.8
<i>脂肪酸分布 (相对%)</i>	
棕榈酸(C16:0)	12.8
棕榈油酸(C16:1)	0.7
硬脂酸(C18:0)	6.4
油酸(C18:1)	42.2
亚油酸(C18:2)	37.2
亚麻酸(C18:3)	0.2
花生酸(C20:0)	0.2
二十碳烯酸(C20:1)	0.3
佛波醇酯含量, 毫克/克	3.6

[0064] 在油含量和脂肪酸分布方面, 麻风树种子符合文献 (Biodiesel & Jatropha

Cultivation, S. Lele, 2006)。其小于 2 毫克 KOH/ 克的酸度使其可用于本发明的方法。

[0065] 最后,因其远高于 0.3 毫克 / 克的佛波醇酯含量,麻风树种子属于有毒品种。

[0066] 无共溶剂的反应性研磨试验

具有以 3 级进行的甲醇萃取的麻风树种子的反应性研磨(在固定床反应器中进行的方法)

500 克新鲜的未去皮麻风树种子在装有固定间隙为 0.05 毫米的光滑辊的 Henry 型压平机上处理。压平的种子为 0.2 毫米厚和大约 0.2 毫米直径的花瓣形式。压平的种子在 60°C 下干燥 16 小时。它们最终的水含量为 1.3 重量 %。

[0067] 在温度调节的固定床渗滤塔中,使这些压平并干燥的种子与氢氧化钠和甲醇的混合物接触,所述混合物含有相对于种子 0.5 重量 % 的氢氧化钠并具有 1.15 的醇 / 种子重量比。萃取和酯交换反应在 50°C 的温度下进行 30 分钟。该床沥干 15 分钟。随后用甲醇以三级并逆流地进行萃取并洗涤种子。

[0068] 对获得的液相施以滗析以回收一方面富含酯的较轻质相和富含甘油的较致密相。酯产率为 77.2%。

[0069] 在通风炉中在 120°C 下对获得的油饼施以干燥 4 小时。注意,减脂的油饼是相对充分贫化的,残余脂肪含量为 5.4% (按照标准 NF ISO 659 测定)。

[0070] 为了定量在油饼中有毒化合物而进行的试验表明该油饼是脱毒的。

[0071] 在搅拌床反应器中优化该反应

为了测试麻风树种子的反应性,在封闭的搅拌床反应器中进行试验,其中该反应对研磨的种子进行。更详细地,在下列条件下进行该搅拌床反应:

1. 在 100°C 下干燥完整种子 16 小时。

[0072] 2. 在环境温度下在氢氧化钠甲醇溶液中研磨该种子 5 分钟。

[0073] 3. 在 50°C 下加热的反应器中保持搅拌 30 分钟。

[0074] 4. 在 Büchner 过滤器(模拟旋转式过滤器)上过滤接着用无水甲醇洗涤。

[0075] 表 2:麻风树种子在搅拌床反应器中分馏的质量平衡

	试验 LA10-01	试验 LA10-02
催化剂含量 (vs.种子), 质量%	0.5	1.5
甲醇/种子质量比	1.5	1.5
试验平衡	产率 (%)	产率 (%)
干萃取物产率(1), %	34.0	110.0
甲酯产率, %	零	75.1
酯的损失** (计算值)	100	24.9
粗甘油产率, %	-	453

\*\* 酯的损失 = [ 酯的理论质量 ] - [ 制得的酯的质量 ] - [ 减脂油饼中酯的潜在质量 ]

(1):干萃取物产率是蒸发混合油 (miscella) 后获得的干萃取物对理论酯与理论甘油的总和的比。

[0076] - 在第一试验(LA10-01)中,获得的混合油的干萃取物的量仅为预期的理论量的 34%。此外,这种干萃取物首先不是两相萃取物(不存在甘油),其次具有中性的 pH。因此,在

这些条件下,脂质的可萃取性和反应性并非最佳。

[0077] - 在使用三倍催化剂进行的第二试验(LA10-02)中,油水混合物的干萃取物含量处于最大值,可能含有其它萃取产物(产率=110%)。酯产率为75%,而甘油产率(>>400%)证明形成了皂。因此这清楚地表明催化剂的量仍然过高。催化剂方面的最佳值因此实际上介于0.5和1.5%之间,优选为0.5至1质量%,相对于所用种子的质量。

[0078] - 在定性方面,制得的酯具有合理的甘油酯含量(表3)。

[0079] 表3:麻风树酯的分析平衡

	方法	试验 LA10-02
酸值(毫克 KOH/克)	EN14104	nr*
甘油一酸酯含量(%)	EN14104	0.8
甘油二酸酯含量(%)	EN14104	0.7
甘油三酸酯含量(%)	EN14104	nd**

\* 分析未能进行

\*\* 未检测到。

[0080] 双重压平后在固定床反应器中实施反应

与搅拌床反应器中的试验平行地,在固定床反应器上进行试验。作为提醒,在下列条件下进行固定床反应:

1. 在带槽纹的辊式压平机上将新鲜的麻风树种子压成压片。轧辊首先分开(5.0毫米)以首次压碎该种子。压碎的种子随后再次通过该压平机,轧辊尽最大程度地并拢(0.1毫米)。

[0081] 2. 压片随后在100°C下干燥16小时。

[0082] 3. 将压片送入渗滤塔中。

[0083] 4. 氢氧化钠甲醇溶液随后在50°C下在整个床中循环30分钟。

[0084] 5. 随后抽出混合油,压片床随后在50°C下用甲醇连续洗涤5次(每次洗涤5分钟)。

[0085] 最初,仅在带槽纹的辊式压平机上进行种子的加工。

[0086] 表4:麻风树种子在固定床上分馏的质量平衡

	试验 09-E43	试验 10-E01	试验 10-E02
在具有间隔的带槽纹轧辊的压平机上的第一次压平(预压碎)	是	是	是
用紧密并拢的带槽纹轧辊的第二次压平	是	是	是
压片厚度	0.5-0.7 毫米	0.5-0.7 毫米	0.5-0.7 毫米
催化剂含量(vs.压片), %	0.3	0.6	1.5
甲醇/种子质量比	2	2	2
试验平衡	产率 (%)		量 (克) 产率 (%)
所用种子质量, 克	350	350	350
干萃取物产率(1), %	36.0	49.0	64.0
甲酯产率, %	没有相分离	29.1	没有相分离
油饼中甲酯的损失, %	nr**	56.4	33.0
在甲酯方面的酯其他损失 **(计算值), %	nr**	14.5	66.9
粗甘油产率, %	395	249	699

\* 未进行

\*\* 酯损失 = [ 酯的理论质量 ] - [ 制得的酯的质量 ] - [ 减脂油饼中酯的潜在质量 ]

(1): 干萃取物产率是蒸发混合油 (miscella) 后获得的干萃取物对理论酯与理论甘油的总和的比。

[0087] - 进行的3个试验显示了在混合油中低萃取物质含量(36、49和64%),清楚地显示了压片的加工(形态,厚度)并非最佳。

[0088] - 在0.3%的催化剂的存在下,获得的混合油的pH为中性,此外,没有观察到形成酯。

[0089] - 当催化剂的量翻倍时,很好地形成了酯(产率29%),但是油饼仍然极富含脂质,高甘油产率表明过度产生皂。

[0090] - 当催化剂量为三倍时,混合油碱性极高(pH>12)并且该介质再次为单相,酯被皂化(甘油产率暴涨>>600%)。

[0091] - 在定性方面,在试验10-E01过程中制得的酯具有合理的甘油酯含量(表5)。

[0092] 表5:麻风树酯的分析平衡

	方法	试验 10-E01
酸值(毫克 KOH/ 克)	EN14104	nr
甘油一酸酯含量(%)	ARKEMA	0.8
甘油二酸酯含量(%)	ARKEMA	0.4
甘油三酸酯含量(%)	ARKEMA	nd

\* 未进行分析

\*\* 未检测到。

[0093] 因此设想,通过增加在光滑轧辊上压平的步骤优化该压片的形态以获得更可萃取

的油饼。

[0094] 三重压平后麻风树压片制备的优化

改善压片制备方式以减少油饼中脂肪的损失。在下列条件下进行压片：

1. 在带槽纹的辊式压平机上将新鲜的麻风树种子压平。轧辊首先分开距离以允许第一次压碎该种子(0.5 毫米)。压碎的种子随后再次通过该压平机,轧辊尽最大程度并拢(0.1 毫米)。该压片随后在间隔 0.05 毫米的光滑轧辊上压平。获得的压片的厚度为大约 0.2 至 0.3 毫米。

[0095] 2. 压片随后在 100°C 下干燥 16 小时。

[0096] 3. 随后将压片送入渗滤塔中。

[0097] 4. 氢氧化钠甲醇溶液随后在 50°C 下送回床中持续 30 分钟。

[0098] 5. 随后抽出混合油,压片床随后在 50°C 下用新鲜甲醇连续洗涤 5 次(每次洗涤 5 分钟)。

表 6: 麻风树种子在三重压平后在固定床上分馏的质量平衡

试验	10-E08	10-E11	10-E13	10-E12	10-E14	10-E06
在具有间隔的带槽纹轧辊的压平机上的第一次压平(预压碎)	是	是	是	是	是	是
用紧密并拢的带槽纹轧辊的第二次压平	是	是	是	是	是	是
用紧密并拢的光滑轧辊的第三次压平	是	是	是	是	是	是
在 100°C 下干燥压片 16 小时	是	是	是	是	是	是
压片厚度 (毫米)	0.2-0.3	0.2-0.3	0.2-0.3	0.2-0.3	0.2-0.3	0.2-0.3
催化剂含量 (vs.压片), %	0.3	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0
甲醇/种子质量比	2	2	2	2	2	2
干萃取物产率(1), %	31	77	91	98.9	99.3	97
酯/甘油相分离	否	是	是	是	是	否
甲酯产率, %	nr*	44.4	67.3	71.0	72.5	nr*
粗甘油产率, %	338	405	327	361	366	1067
油饼中甲酯的损失, %	53.9	9.7	16.7	7.5	4.2	6.3
在甲酯方面在酯的其它损失** (计算值), %	46.1	45.9	16.0	21.5	23.3	93.7

(1): 干萃取物产率是蒸发混合油后获得的干萃取物对理论酯与理论甘油的总和的比。  
\*不能进行

\*\*酯的损失=[酯的理论质量]-[制得的酯的质量]-[减脂油饼中酯的潜在质量]

表 7: 麻风树脂的分析平衡

	方法	试验 10-E08	试验 10-E11	试验 10-E13	试验 10-E12	试验 10-E14	试验 10-E06
酸值 (毫克 KOH/克)	EN14104	nd	0.33	0.17	0.15	0.14	nd
甘油一酸酯含量 (%)	ARKEMA	nd	0.77	0.57	1.11	0.68	nd
甘油二酸酯含量 (%)	ARKEMA	nd	0.35	<0.1	<0.1	<0.1	nd
甘油三酸酯含量 (%)	ARKEMA	nd	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	nd

[0099] 评论:

- 三重压平提高了脂质可萃取性,因为在至少 0.8% 的催化剂的存在下,干萃取物的产

率显示大于 96%；

- 观察到的最大酯产率为 71%，即使该可萃取性非常高(98%)。此外，高甘油产率清楚地反映了脂质的仍然大量皂化；

- 另一方面，在定性方面，试验 10-E12 的酯是较不酸性的，并且含有极少的甘油一酸酯，并且基于这些标准符合生物柴油品质。通常，酯的最终酸度随所用碱性催化剂的量而降低。

[0100] - 在试验 10-E12 的条件下，蒸发前的混合油是透明的，但仍是强碱性的。由此，假设在蒸发甲醇后，高浓度的催化剂导致酯的附加皂化(parasitic saponification)。这是为什么在下一试验中在蒸发甲醇之前将中和该混合油的原因。

#### [0101] 甘油中和试验

操作方式：

1. 在带槽纹的辊式压平机上将新鲜的麻风树种子压成压片。轧辊首先分开距离以第一次压碎该种子(0.5 毫米)。压碎的种子随后再次通过该压平机，轧辊最大程度地并拢(0.1 毫米)。该压片随后在间隔 0.05 毫米的光滑轧辊上压平。获得的压片的厚度为大约 0.20 至 0.30 毫米。

[0102] 2. 压片随后在 100°C 下干燥 16 小时。

[0103] 3. 随后将压片送入渗滤塔中。

[0104] 4. 氢氧化钠甲醇溶液随后在 50°C 下送至床中持续 30 分钟。

[0105] 5. 随后抽出混合油，压片床随后在 50°C 下用新鲜甲醇连续洗涤 5 次(每次洗涤 5 分钟)。

[0106] 6. 混合油合并并转移至蒸馏(90°C, 100 毫巴)。

[0107] 7. 一旦甲醇已经蒸发除去，通过滗析分离甘油与酯。

[0108] 8. 将酯洗涤至中性并随后在真空下干燥(90°C, 20 毫巴)。

[0109] 9. 用硫酸的水溶液处理粗甘油，其中酸占粗甘油质量的 5%，水占甘油质量的 100%。混合物在 90°C 下保持搅拌 30 分钟。混合物随后通过滗析分离。脂肪相(脂肪酸)洗涤至中性并在真空下干燥(90°C, 100 毫巴)。

#### [0110] 表 8: 反应温度的影响

试验	10-E20
在具有间隔的带槽纹轧辊的压平机上的第一次压平(预压碎)	是
用紧密并拢的带槽纹轧辊的第二次压平	是
用紧密并拢的光滑轧辊的第三次压平	是
在 100°C 下干燥 16 小时	是
压片厚度(毫米)	0.2-0.3 毫米
催化剂含量(vs. 压片), %	0.8
反应和萃取温度, °C	50
甲醇 / 种子质量比	2
干萃取物产率 (1), %	100
酯 / 甘油相分离	是
甲酯产率, %	67.8
中和前的粗甘油产率, %	421
中和粗甘油得到的脂肪酸的产率, %	25.5
中和后的粗甘油产率, %	143
油饼中甲酯的损失, %	6.7
在甲酯方面在酯的其它损失**(计算值), %	0.0

(1): 干萃取物产率是蒸发混合油后获得的干萃取物对理论酯与理论甘油的总和的比。

\* 无法进行

\*\* 酯的损失 = [ 酯的理论质量 ] - [ 制得的酯的质量 ] - [ 减脂油饼中酯的潜在质量 ]。

[0111] 评论：

- 粗甘油的硫酸处理明显能够提取甘油和 25% 的游离脂肪酸(前皂)并能够令整体甘油产率返回到更常规的水平(143%)。这些脂肪酸可以循环到该方法中,特别是通过在酸催化剂(硫酸)和甲醇的存在下的酯化反应；

- 在酸处理甘油的条件下,要注意的是,酯没有被水解(参考表 9 :来自试验 10-E20 FFA 的酯的分析),但是它们是高度酸性的(IA=19.4,即大约 10% 的游离脂肪酸)并相对载有残余的甘油酯；

- 至于在除去共生产的甘油后回收的来自试验 10 E20 的甲酯相,其仍保持相对载有甘油酯。

[0112] 表 9 :酯的分析平衡

甲酯	方法	试验 10-E20 酯	试验 10-E20 “游离脂肪酸”
酸值 (毫克 KOH/克)	EN14104	0.16	19.4
甘油一酸酯含量 (%)	EN14104	0.95	2.41
甘油二酸酯含量 (%)	EN14104	<0.1	<0.1
甘油三酸酯含量 (%)	EN14104	<0.1	<0.1

[0113] 在乙醇存在下的反应性研磨试验

在表 10 中显示的条件在乙醇的存在下进行反应性研磨法。

[0114] 表 10 :在乙醇存在下反应性研磨方法的条件和质量平衡

试验	10-E26
在具有间隔的带槽纹轧辊的压片机上的第一次压平(预压碎)	是
用紧密并拢的带槽纹轧辊的第二次压平	是
用紧密并拢的光滑轧辊的第三次压平	是
在 100℃ 下干燥 16 小时	是
压片厚度(毫米)	0.2-0.3 毫米
催化剂含量(vs. 压片), %	0.8
反应和萃取温度, °C	50
乙醇 / 种子质量比	2
干萃取物产率 (1), %	94.1
酯 / 甘油相分离	无相分离
乙酯产率, %	nr*
在油饼中乙酯的损失, %	12.1
在乙酯方面的酯其它损失**(计算值), %	100

(1):干萃取物产率是蒸发混合油后获得的干萃取物对理论酯与理论甘油的总和的比。

\* 无法进行

\*\* 酯的损失 = [ 酯的理论质量 ] - [ 制得的酯的质量 ] - [ 在减脂油饼中酯的潜在质量 ]。

[0115] 评论：

- 在该试验的条件下,该介质过度皂化,因为反应介质为不可萃取的糊料形式(皂)；

- 对于油饼中残留酯的藏量(potential),乙醇看来比甲醇萃取较少的脂肪(在试验 10-E12 中 12.1% vs. 7.5%)；

- 不管这些观测结果,分析了“含乙醇”油饼以确定其佛波醇酯含量(表 17)。

[0116] 在共溶剂存在下的反应性研磨试验

采用甲醇 / 己烷(28/72) (m/m) 混合物的试验

在这些试验的情况下,考虑到己烷的高挥发性,反应温度降低至 40℃。

表 11: 甲醇/己烷 (28/72) (m/m) 共溶剂的存在的影响

试验	10-E21	10-E19	10-E18(2)
在具有间隔的带槽纹轧辊的压平机上的第一次压平(预压碎)	是	是	是
用紧密并拢的带槽纹轧辊的第二次压平	是	是	是
用紧密并拢的光滑轧辊的第三次压平	是	是	是
在 100℃ 下干燥压片 16 小时	是	是	是
压片厚度 (毫米)	0.2-0.3 毫米	0.2-0.3 毫米	0.2-0.3 毫米
催化剂含量 (vs.压片), %	0.5	0.7	0.9
反应和萃取温度, °C	40	40	40
溶剂 (己烷+甲醇)/种子质量比	2	2	2
干萃取物产率(1), %	100.1	103.3	101.6
酯/甘油相分离	是	是	是
甲酯产率, %	101.4	98.2	107.4*
粗甘油产率, %	87.8	154	43.9*
在油饼中的甲酯损失, %	3.3	3.5	3.0
在甲酯方面的酯其它损失**(计算值), %	-4.7	-1.7	-10.4

(1): 干萃取物产率是在蒸发混合油后获得的干萃取物对理论酯与理论甘油的总和的比。

(2): 相对于试验 10-E18, 酯产率比理论产率更高, 并且甘油产率反常地低。然而发现, 酯相具有乳化外观, 因此看起来是包含不可溶析的甘油。

\*无法进行

\*\*酯的损失=[酯的理论质量]-[制得的酯的质量]-[减脂油饼中酯的潜在质量]

[0117] 评论：

- 在甲醇 - 己烷混合物的存在下，油饼被正确地榨干。

[0118] - 虽然试验 10-E19 中的酯产率看起来高，已经发现，所述酯负载有甘油酯(表 12)，表明反应介质(取决于甲醇 / 己烷比)不是充分酯交换性的。此外，该结果确认与催化剂含量无关。还要注意的，在非常高的催化剂含量(0.9%)下，该介质甚至变成皂化的。

[0119] 表 12 : 酯的分析平衡

	方法	10-E21	10-E19	10-E18
酸值(毫克 KOH/ 克)	EN14104	0.43	0.17	0.18
甘油一酸酯含量(%)	EN14104	2.29	1.4	2.2
甘油二酸酯含量(%)	EN14104	8.53	2.8	3.9
甘油三酸酯含量(%)	EN14104	<0.1	<0.1	<0.1

[0120] 观点：

因此进行了具有更高甲醇含量的试验：

在富含甲醇的己烷 / 醇混合物的存在下的反应性研磨试验：

表 13: 甲醇含量的影响

试验	10-E24	10-E-25
在具有间隔的带槽纹轧辊的压平机上的第一次压平(预压碎)	是	是
用紧密并拢的带槽纹轧辊的第二次压平	是	是
用紧密并拢的光滑轧辊的第三次压平	是	是
在 100°C 下干燥压片 16 小时	是	是
压片厚度	0.2-0.3 毫米	0.2-0.3 毫米
催化剂含量 (vs. 压片), %	0.7	0.7
反应和萃取温度, °C	40	40
甲醇/己烷质量比	90/10	50/50
溶剂 (甲醇/己烷)/种子质量比	2	2
干萃取物产率(1), %	102.2	104.3
酯/甘油相分离	是	是
甲酯产率, %	74.4	88.3
粗甘油产率, %	379	263
在油饼中的甲酯损失, %	10.9	2.8
在甲酯方面的酯其它损失**(计算值), %	14.7	8.9

(1) : 干萃取物产率是蒸发混合油后获得的干萃取物对理论酯与理论甘油的总和的比。

\*无法进行

\*\*酯的损失=[酯的理论质量]-[制得的酯的质量]-[减脂油饼中酯的潜在质量]

评论:

- 以 90/10 的比例, 添加大量甲醇显著改变了脂质可萃取性(对照油饼酯藏量) 并因此显著改变了甲酯产率。但是在这些条件下, 介质与在甲醇/己烷混合物=28/72 的存在时相

比是更酯交换性(表 14, 对照 % 甘油酯);

- 当增加己烷(50/50 混合物)时, 油饼最终被正确地榨干(在油饼中甲酯的损失为 2.8%)。事实上, 整体甲酯产率得到了极大改善(88.3%), 清楚地表明在这些条件下恢复了酯交换活性;

- 在定性方面(表 14), 制得的甲酯酸性并不是特别高, 即使它们的甘油一酸酯含量仍然很高(可能是由于甲酯反向转化为甘油酯)。

[0121] 表 14: 酯的分析平衡

	方法	10-E24	10-E25
酸值(毫克 KOH/ 克)	EN14104	0.17	0.20
甘油一酸酯含量(%)	EN14104	1.26	1.36
甘油二酸酯含量(%)	EN14104	0.2	0.3
甘油三酸酯含量(%)	EN14104	<0.1	<0.1

[0122] 通过测量佛波醇酯含量的变化来评价该方法的脱毒效果

按照 Makkar 的方法(Makkar HPS, Becker K, Sporer F, Wink M (1997) Studies on nutritive potential and toxic constituents of different provenances of *Jatropha curcas*. J Agric Food Chem 45:3152-3157) 进行样品的制备以及佛波醇酯的定量。

[0123] 3.1 样品制备

液体样品在甲醇中稀释并随后注入。对于固体样品, 首先用研杵和研钵在甲醇的存在下将佛波醇酯全部提取。获得的含醇提取物随后通过高效液相色谱法进行分析。

[0124] 3.2 操作条件:

色谱分析条件:

- 检测器: 二极管阵列(在 280 纳米处峰积分)。

[0125] - 柱: C18 反相(LiChrospher 100, 5 毫米), 250×4 毫米 + 前置柱。

[0126] - 烘箱: 22°C (环境温度)。

[0127] - 洗脱剂:

B= 酸化水(1.75 毫升 H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>(85%) 在 1 升软化水中)。

[0128] A= 乙腈。

[0129] 3.3 结果

用甲醇对三重压平压片的反应性研磨与再处理甘油(试验 10E20)

表 15: 具有甘油再处理 / 试验 10E20 的分馏中的佛波醇酯分布

	质量 克	EP 含量 毫克/克	EP 质量 毫克	EP 分布(以种子的 %EP 为单位)
所用种子	346.5	3.5	1230	-
干燥压片	346.5	2.6	925	75.2
甲酯	82.2	4.7	386	31.4
来自再处理的甘油的酯 (FFA)	30.9	7.6	235	19.1
再处理的甘油	17.3	2.7	47	3.8
油饼	216.1	0.3	65	5.3
总损失	-	-	286	40.4

[0130] 评论:

- 在压片和干燥后佛波醇酯(EP)的损失为大约 25%。EP 看起来对温度的提高相对敏感。总体上,该方法导致 40% 的 EP 损失;
- 发现种子的 EP 的大约 1/3 位于甲酯中,5% 在干燥的油饼中;
- 考虑到直接来自该方法或在酸再处理甘油后的酯中的 EP 含量,该 EP 看起来对亲脂性化合物(甲酯相)相对亲和;
- 油饼中的残余含量为 0.3 毫克/克,即非常接近于无毒的墨西哥品种的值(0.1 毫克/克)。因此本发明的方法明显具有正面的和脱毒的效果。

[0131] 采用共溶剂对三重压平的压片的反应性研磨:

表 16:在具有共溶剂的方法 / 试验 10E25 中的佛波醇酯分布

	质量 克	EP 含量 毫克/克	EP 质量 毫克	EP 分布(以种子的 %EP 为单位)
所用种子	346.5	3.5	1230	-
甲酯	107.1	5.5	589	47.9
甘油	31.8	2.7	86	7.0
油饼	207.6	0.3	62	6.7
损失	-	-	493	38.4

[0132] 评论:

- 在共溶剂(己烷)的存在下,本发明的方法制造具有低 EP 含量(0.3 毫克/克)的油饼,然而甲酯捕集了种子的 EP 的 50%。这结果看起来证实了 EP 的相对脂溶性。

[0133] - 总体而言,该方法在这里再次导致了 40% 的 EP 损失。

[0134] 此外,关于来自该方法的油饼中的低 EP 含量,可以得出结论,所述方法是脱毒特性的。还可以容易地认为,在包括在烤炉中干燥该压片和该油饼的工业水平上,该含量将进一步改善。

[0135] 通过常规方法转化该麻风树种子(压榨+油的半精炼+甲醇分解;对比例)

通过压榨来研磨该麻风树种子以获得粗压榨油和油饼。

[0136] 为此,该种子经受下列步骤:

➤ 研磨:

- 在带槽纹的轧辊式压平机上将种子磨碎。

[0137] - 压片随后输送至不带模头的加热的 Taby 压机。

[0138] - 获得的粗压榨油随后经 11 微米纤维素过滤器过滤。

[0139] 在酯化前,粗油经受半精炼,其包含下列步骤:

- 粘液去除
- 中和

➤ 粘液去除:

- 将油加热至 65°C;
- 当达到 65°C 的温度时,加入由 1.5% 的磷酸和 6% 的水(相对于干燥油质量的质量%)组成的混合物;
- 混合物随后保持搅拌 10 分钟。温度随后提高至 75°C 并保持 30 分钟。混合物随后在 4500rpm 下离心 5 分钟。

## [0140] 中和：

- 脱磷的油用氢氧化钠水溶液中和,所述氢氧化钠水溶液由 6% 的水(相对于油的质量)和中和所有游离脂肪酸并过量 5% 所需的氢氧化钠组成。将该氢氧化钠溶液添加到加热至 75°C 的脱磷油中,混合物维持 10 分钟。该温度随后升高至 90°C 下 30 分钟。混合物随后在 4500rpm 下离心 5 分钟以除去含皂的重质相。随后通过连续加入 20% 水,同时搅拌 5 分钟并在 4500rpm 下离心 5 分钟,由此用软化水将该油洗涤至中性。该油随后在 90°C 下在真空(20 毫巴)中干燥。

[0141] 半精炼的油随后在碱性催化剂的存在下用甲醇进行酯交换反应。

## [0142] 酯的酯交换反应和提纯

- 在第一步骤中,令半精炼的油与无水甲醇以 5/1 的油 / 甲醇质量比接触；
- 随后在搅拌下使混合物升温至甲醇的回流温度(65-70°C)；
- 将甲醇钠(25% 的催化剂的甲醇溶液)随后以 5/1.02/0.03 的油 / 甲醇 / 催化剂质量比逐渐加入(分 3 次加入)；
- 混合物随后在搅拌下回流 2 小时；
- 在令甘油(重质相)滗析 1 小时后,通过从反应器中排出以除去后者；
- 酯相随即用软化水洗涤至中性(每次洗涤在搅拌下在 90°C 下进行 15 分钟)；
- 最后,在真空(20 毫巴)中在 90°C 下将该酯干燥。

## [0143] 表 17 :麻风树种子常规研磨的平衡

试验	10-E27
在具有分开距离的带螺纹轧辊的压平机上预粉碎	是
用紧密并拢的带槽纹轧辊的压平	无
用紧密并拢的光滑轧辊的压平	无
100°C 下干燥 16 小时	无
不具有模头的 Taby 压机	是
压榨油 / 油饼比例(质量)	21/79
压榨产率, %	60.2
半精炼产率	97%
酯交换产率	98%

## [0144] 表 18 :通过常规方法获得的麻风树油和酯的分析平衡

	方法	粗压榨油	半精炼油	甲酯
酸值(毫克 KOH/ 克)	EN14104	2.0	0.20	0.1
磷含量	NFT60-227	>25	<5	<5
甘油一酸酯含量(%)	ARKEMA	-	-	1.31
甘油二酸酯含量(%)	ARKEMA	-	-	0.75
甘油三酸酯含量(%)	ARKEMA	-	-	0.0

## [0145] 表 19 :在采用常规方法 10-E27 的分馏中的佛波醇酯分布

	质量 克	EP 含量 毫克/克	EP 质量 毫克	EP 分布(以种子的 %EP 为单位)
所用种子	100	3.5	350	-
脂肪油饼	73.0	2.4	175.2	50.1
粗压榨油	19.5	11.5	214.5	61.3
半精炼油	19.0	7.4	140.6	40.2
甲酯	18.6	3.1	57.7	16.5
粗甘油	2.3	0.8	1.8	0.5
总损失	-	-	115.3	32.9

[0146] 评论：

- 在压榨油中存在大部分(61.3%)的佛波醇酯,但是所述酯随着半精炼和酯交换步骤而降解；

- 与本发明的方法所得油饼相比,压榨油饼含有非常高的 EP 含量,大约为 12 倍高。顺带要注意的是,关于油饼中和压榨油中的 EP 的平衡是略微过量的(+10%)；

- 该半精炼(中和 + 粘液去除 + 干燥)导致粗油的 EP 的 1/3 损失；

- 甲醇分解导致半精炼油的 EP 的 60% 损失；

- 获得的酯在 EP 方面与获自本发明的方法的酯相同；

- 最后,与本发明的方法的 40% 相比,在常规方法中大约 33% 的佛波醇酯被降解。

[0147] 用乙醇的反应性研磨

表 20 :在乙醇存在下进行的反应性研磨法(E10-E26)所获得的产物中的佛波醇酯分布

产品	质量 克	EP 含量 毫克/克	EP 质量 毫克	EP 分布(以种子的 %EP 为单位)
所用种子	346.5	3.5	1230	-
干燥压片(1)	346.5	2.6	925	75.2
糊料	126.9	NR*	-	-
油饼(2)	233.9	1.0	234	19.0

(1) T=100°C, 16 小时

(2) T=100°C, 16 小时

\* NR= 分析未进行。

[0148] 评论：

- 来自使用乙醇的方法的油饼证明比含甲醇油饼 EP 更浓缩 3 倍,尽管其残余脂肪含量仅为 1.7 倍高。因此,EP 看起来在乙醇中溶解性低于在甲醇中溶解性；

- 如前面观察到的那样,且令人费解地,油饼的更强的干燥导致在油饼中 EP 含量的升高。

[0149] 事实上,本发明的反应性研磨法,特别是使用甲醇,并优选在共溶剂和 / 或通过种子的三重压平制备的压片存在下,能够以大于 70% 或甚至大于 80% 的产率由麻风树种子直接获得脂肪酸酯,并同时获得含有最高 0.03 毫克 / 克的佛波醇酯的脱毒油饼,该含量可以与油饼在动物饲料中的用途相容。