

# 超临界 CO<sub>2</sub> 提纯鱼油中二十碳五烯酸 组分的试验研究<sup>\*\*\*</sup>

陈 钧  
(江苏理工大学)

铃木启正  
[日本第一化学药品(株)]

阿尻雅文 新井邦夫  
(日本东北大学)

**提 要** 采用附加有精馏柱的间歇式小型超临界 CO<sub>2</sub> 萃取试验装备,试验研究了鱼油中二十碳五烯酸(EPA)组分的分离提纯。为改善气液接触,萃取器内使用了转动不锈钢箔团,精馏柱内充填了 Dixon 环。为获得高纯度 EPA,采用了逐步升高萃取压力,并保持精馏柱自底部至顶部的线性温度梯度的试验方法。

**关键词** 超临界流体 萃取 精馏 鱼油

## Experiment and Research on Purification of Eicosapentaenoic Acid From Fish Oil With Supercritical CO<sub>2</sub>

Chen Jun

Hiromasa Suzuki

(Jiangsu University of Science and Technology, Zhenjiang) (Daiichi Pure Chemicals Co., Ltd., Japan)

Tadafumi Adschiri Kunio Arai

(Tohoku University, Japan)

**Abstract** Purifying eicosapentaenoic acid (EPA) from fish oil with supercritical CO<sub>2</sub> was carried out, using a laboratory apparatus characterized by a rectification column of 9.7 mm internal diameter and 1.1 m effective height. To improve the supercritical fluid-liquid contact, a scourer rotor was used in the extraction cell, and the column was packed with Dixon ring. Also, to level up the separation ability, the extraction pressure was increased step by step, and the column temperature was kept in linear gradient from bottom 35 to top 80 .

**Key words** Supercritical fluid Extraction Rectification Fish oil

### 1 引 言

鱼油中含多种多烯脂肪酸,其中二十碳五烯酸(Eicosapentaenoic acid,简称 EPA),具有降低胆固醇抑制血栓形成等药理作用,而二十二碳六烯酸(Docosahexaenoic acid,简称 DHA),具有健脑等生理作用<sup>[1]</sup>。日本已于 1990 年开发出含 EPA 乙酯 92%的心血管系新药。鱼油中所含的多烯脂肪酸,有的与 EPA 及 DHA 性质极相近,且 EPA 及 DHA 都属热及化学不稳定物质,故将其分离提纯极其困难。国外有真空蒸馏法、制备色谱法等,但都面临

\* 收稿日期:1995-06-29 1996-04-15 修订

\*\* 陈 钧,教授,镇江市 江苏理工大学 25 号信箱,212013

着热破坏或分离大量溶剂的难题<sup>[2]</sup>。超临界 CO<sub>2</sub> 萃取法可望解决这一难题<sup>[3]</sup>。本研究通过增进系统内气液接触传质,探讨采用超临界 CO<sub>2</sub> 精馏技术分离提纯 EPA 的可行性。

## 2 试验方法

### 2.1 试验原料

脂肪酸乙酯通常为液态,在超临界 CO<sub>2</sub> 中的溶解度相对较大,且各成份之间的溶解度之差也相对较大,更适合于超临界 CO<sub>2</sub> 精馏处理<sup>[4]</sup>,故本试验采用以沙丁鱼油脂肪酸乙酯经尿素包接处理后的预浓缩物为试验原料。其脂肪酸乙酯质量百分数组成 C<sub>i</sub> 见表 1。表中 20 4 3 是表示碳链中碳原子数为 20、双键数为 4 且双键起始于自碳链甲基端第三个碳原子的脂肪酸的速记符号,其余符号意义仿此。20 5 3 即 EPA, 22 6 3 即 DHA。

表 1 试料脂肪酸乙酯组成

脂肪酸种类	16 碳以下	16 碳	18 1	18 2	18 3	18 4	20 4 6	20 4 3	20 5 3	21 5	22 5 3	22 6 3
C <sub>i</sub> / %	0.7	18.1	4.1	2.2	1.1	6.3	3.3	1.2	41.5	0.9	2.7	17.3

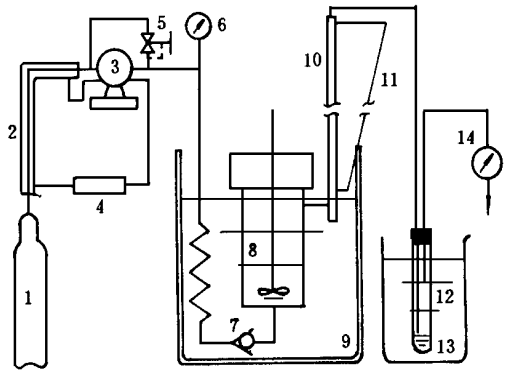
### 2.2 试验装置

试验装置流程见图 1。钢瓶中的 CO<sub>2</sub> 经致冷液化后由泵升压,并经背压调节器稳定在所需压力,之后换热至所需温度而送入萃取器底部。萃取器容积 800 mL,并与内径 9.7 mm、总高 1430 mm 的精馏柱相连接。精馏柱上部 1100 mm 范围内绕有电热带,并埋有热电偶,通过计算机控制在柱上施加某温度分布。由精馏柱流出的超临界流体经流量微调阀节流,常压下将分离物释放在浸于冰水浴中的试管里,CO<sub>2</sub> 气体经累积流量计后排空。

试验中如图 2 所示,在精馏柱与萃取器的连接处设置一抛光反射板,用带有光纤照明的摄像机通过窥视孔直接观察精馏柱中流出的回流液体流动状况。

### 2.3 试验方法

本试验为间歇式操作,萃取器内装料后对全系统抽真空,以清除装置内原有的空气。当萃取压力采用阶梯式升压操作方式时,升压后保压 30 min。试验过程中萃取器的温度恒定为 35℃,CO<sub>2</sub> 标准体积流率恒定为 2 L/min,并定时采集释放在浸于冰水浴中试管里的分离物。采样时,换装图 1 中的件 12 采样试管,称重测出采样量,并立即作成份分析,记录 CO<sub>2</sub>



1. CO<sub>2</sub>
2. 冷却夹套
3. 泵
4. 冷却器
5. 背压阀
6. 压力表
7. 止回阀
8. 萃取器
9. 恒温水槽
10. 精馏柱
11. 温度梯度(示意)
12. 采样试管
13. 冰水浴
14. 累积流量计

图 1 试验装置流程

的消耗量。当每单位标准体积 CO<sub>2</sub> 采样量小于 1 mg/L 时终止试验。其后以乙醇清洗全系统,蒸发乙醇后回收清洗液中的萃余物,进行物料衡算。

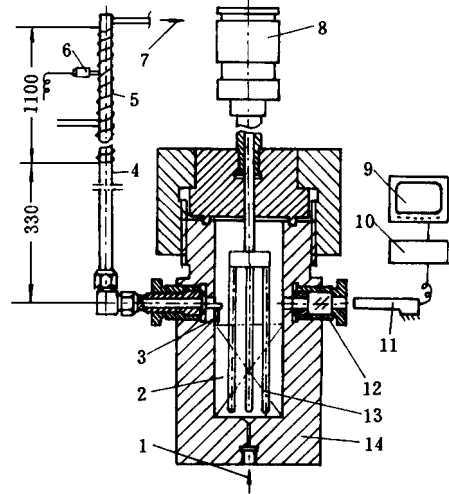
### 2.4 成份分析仪器及条件

成份分析采用日立的 G-3000 气相色谱仪和 J & W 的 DB-WAX 毛细管柱。炉温设定为 200,保温 5 min,然后以 0.3 /min 的速率升温至 209。采用 FID 检测器,并以各组分峰面积的百分率作为被分析样品中各组分的质量百分率,分析误差约在 4% 以内。

### 3 试验结果及分析

压力相同而温度逐步升高时,鱼脂酸酯混合物中碳链较长的组分在超临界 CO<sub>2</sub> 中的溶解度较之于碳链较短的组分降低得更多<sup>[4]</sup>。因此由萃取器进入精馏柱内上升流动的超临界 CO<sub>2</sub> 中所溶解的鱼脂酸酯混合物中的各重质组分因柱温的升高而相继析出,并在柱内流下形成回流液相;而回流液相中的轻质组分又不断转移至超临界 CO<sub>2</sub> 中,沿柱内上升,从而使轻重两大组分得以分开,这是附加有温度梯度的精馏柱的精馏效果的基础。为此,要求进入柱内

的超临界 CO<sub>2</sub> 中所溶解的鱼脂酸酯尽可能接近饱和状态,并要求柱内有良好的气液接触,提高柱内持液量,改善柱内气液传质。试验设计及主要结果见表 2。该表中给出了各轮试验的装料量  $F$ 、萃取压力  $P$ 、萃取器及精馏柱内的填料、精馏柱上所施加的自柱底至柱顶的线性柱温分布  $t_1 t_2$ 、CO<sub>2</sub> 总消耗量  $W_i$  及 EPA 的回收率  $R_E$  和所达最高浓度  $C_E$ 。



1. CO<sub>2</sub> 2. 不锈钢箔团 3. 抛光金属板  
4. 精馏柱 5. 电热丝 6. 热电偶  
7. 去分离器 8. 磁力搅拌器 9. 显示器  
10. 录相机 11. 摄像机 12. 窥视孔  
13. 搅拌叉 14. 萃取器

图 2 回流观察装置

表 2 试验条件及结果

试验序号	$F$ /g	$P$ /MPa	萃取器填料	精馏柱填料	$t_1 t_2$ /	$W_i$ /kg	$R_E$ /%	$C_E$ /%
1	136.1	16	叶片	中空	3560	-	-	43.2
2	21.4	12	叶片	中空	35~60	8.4	-	77.5
3	20.0	16	Dixon 环	中空	3580	6.3	-	66.5
4	2.5	16	不锈钢箔团	中空	35~80	5.1	73.0	71.4
5	26.8	12~14	不锈钢箔团	Dixon 环	35~80	19.4	66.9	89.8
6	20.3	14	不锈钢箔团	Dixon 环	35~80	9.0	68.2	87.9
7	29.9	12~14	不锈钢箔团	Dixon 环	3560	10.6	59.8	87.4
8	29.8	12	不锈钢箔团	Dixon 环	-	1.8	83.0	43.2
9	23.0	14	不锈钢箔团	中空	3560	4.5	77.2	43.2

### 3.1 萃取器内气液接触方式

由于鱼脂酸酯在超临界 CO<sub>2</sub> 中溶解度的绝对值较小,在本试验装备条件下,每轮试验时间较长,即使装料量仅 20 g,也需连续运行约 100 h,而积于萃取器底部的鱼油层仅数毫米厚。为改善萃取器内气液接触,采用各种可转动填料并具有搅拌器的功能。可认为,对于 20 g 左右的鱼油装料量来说,Dixon 环及不锈钢箔团均为合适填料,使鱼油与 CO<sub>2</sub> 间有接触。而当不锈钢箔团转动时,此接触可进一步改善,使得进入精馏柱内的超临界 CO<sub>2</sub> 中所溶解的鱼脂酸酯更接近饱和状态,精馏效果亦进一步提高。

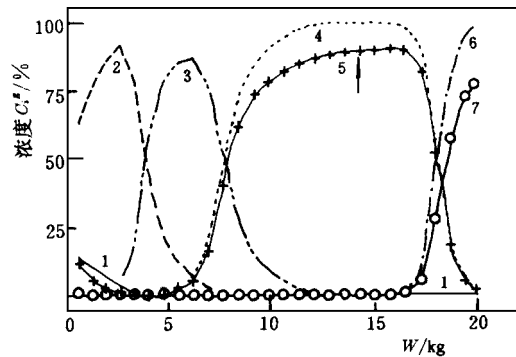
### 3.2 精馏柱内气液接触方式

试验 9 与试验 6 是柱内充填状态的对比试验。试验 9 为中空柱,其经时采样样品的 EPA 浓度基本等同于原料浓度,未能实现 EPA 的浓缩。在本试验条件下,计算得精馏柱内超临界 CO<sub>2</sub> 流速小于 1 cm/s,估算雷诺数  $Re$  约 800,故而柱内超临界 CO<sub>2</sub> 的流动为层流状态。由于层流不利传热,可认为这将导致柱半径方向产生温度不均匀分布。由于在临界点附近温度的稍许变化会导致溶解度的较大变化,故此场合柱断面将产生重质组分的不均匀析出,从而产生返混,并削弱精馏效果。而在对比试验 6 中柱内装有 Dixon 环,EPA 最高浓缩至 87.9%,且试验中可显著观察到,向精馏柱供热的电功率较试验 9 明显增大。可认为,这是由于柱内装入 Dixon 环,增加了柱内的持液量,减低了回流液的流下速度,从而改善了气液两相间传质及柱半径方向的传热,抑制了返混,因此实现了 EPA 的高纯度浓缩。

试验中,用图 2 所示装置观察了回流流动。试验 3 的萃取器内静态放置 Dixon 环,回流难辨认,而 EPA 仅浓缩至 66.5%;试验 4 的精馏柱中空,萃取器内放有经磁力传动的不锈钢箔团,由于搅拌叉的转动妨碍对精馏柱底部所积存的回流液体流入萃取器内的流动状况的观察,故观察时暂停搅拌。这时可观察到积存在精馏柱底部的回流液体呈滴状流出,约数秒后不再滴出,而 EPA 浓缩至 71.4%;试验 5 的精馏柱内装入 Dixon 环,萃取器内状况及观察方法同试验 4,可观察到积存在精馏柱底部的液体呈小瀑布状流出,约数秒后不再明显流出,同时 EPA 浓缩至 89.8%。显示了温度梯度值自然回流及气液接触状况对精馏效果的影响。

### 3.3 萃取压力的影响

如表 2 中试验 1 及 2 所示,萃取压力  $P$  恒定不变时, $P$  越高,其选择性越差。试验 5 的试验设计是先用 12 MPa 的压力将试料中的轻质组分(碳原子数 14~18 的脂肪酸乙酯)尽可能萃取完之后,再升压至 14 MPa 萃取其它各重质组分。试验结果见图 3,图中横坐标为 CO<sub>2</sub> 的经时消耗量  $W$ ,纵坐标为各组分  $i$  在采样样品中的浓度  $C_i^E$ 。由图 3 可见,EPA 乙酯



1. 14 碳及碳原子数少于 14 的脂肪酸乙酯  
2. 16 碳脂肪酸乙酯 3. 18 碳脂肪酸乙酯  
4. 20 碳脂肪酸乙酯 5. EPA 乙酯  
6. 21 碳以上脂肪酸乙酯 7. DHA 乙酯

图 3 试验 5 结果

最高浓缩至 89.8 %。与此相对比,在试验 6 中萃取压力始终固定为 14 MPa,EPA 的最高浓度为 87.9 %。此表明阶梯状升高萃取压力操作方式有利于 EPA 的高纯度浓缩。

### 3.4 精馏柱温度梯度的影响

表 2 的试验 8 中柱上无温度梯度,此时馏出样品中 EPA 的浓度几乎与原料中相等。与此相对,试验 7 中柱上施加 35 (底部)至 60 (顶部)的线性温度梯度,EPA 浓缩至 87.4 %,而在试验 5 中温度梯度改为 35 至 80 ,则 EPA 浓缩至 89.8 %,且如图 3 所示,在该试验条件下鱼脂酸酯中的各成分依其脂肪酸碳链中碳原子数递增的顺序而相继被萃取出,样品中 EPA 浓度在很宽的取样范围内近 90 %,显示了采用超临界 CO<sub>2</sub> 提纯鱼油中 EPA 组分的可能性。试验 5 所得样品的气相色谱一例示于图 4,采样点的位置以箭头示于图 3。如图 4 所示,在该样品中 EPA 组分占 89.3 %,有约 1 % 的诸小峰目前尚未能鉴别,除此而外是结构及性质与 EPA 极为相似的两种二十碳四烯酸组分。

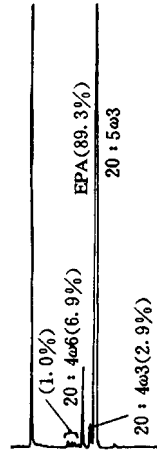


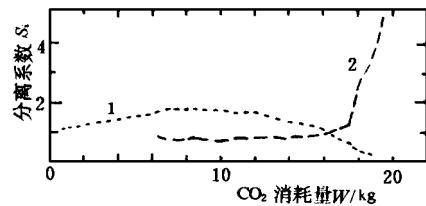
图 4 试验 5 样品气相色谱

### 3.5 进一步提纯的可能性

为获得高纯度 EPA,尚需进一步将与 EPA 的物理化学性质极相似的二十碳四烯酸诸组分(速记式分别为 20 4 3 及 20 4 6)除去,图 5 显示了试验 5 的数据分析结果,其横坐标为 CO<sub>2</sub> 的经时消耗量 W,纵坐标为某组 i 对 EPA 的分离系数 S<sub>i</sub>,其定义如下:

$$S_i(j) = \frac{C_i^E(j) / C_i^R(j)}{C_E^E(j) / C_E^R(j)} \tag{1}$$

上式中分子是第 j 次采样样品中组分 i 的浓度 C<sub>i</sub><sup>E</sup>(j) 与同时刻该组分在萃余相中的浓度 C<sub>i</sub><sup>R</sup>(j) 之比,该比值表示了采样样品中组分 i 因精馏而被浓缩的程度,同样,分母表示了采样样品中 EPA 乙酯组分因精馏而被浓缩的程度。S<sub>i</sub>(j) 值大于 1 表示二者能被分离开的程度较大;若其值为 1 则表示二者同等程度同时被浓缩,即二者很难被分开。为计算式(1)的值,第 k 次采样样品中组分 i 的浓度 C<sub>i</sub><sup>E</sup>(k) 可由气相色谱得,而鉴于各组分 i 在试料中的初始含量 C<sub>i</sub> 为已知,每次采样量 D(k) 及各组分 i 在其中的浓度 C<sub>i</sub><sup>E</sup>(k) 都可测出,故由下式可近似求得第 j 次采样时组分 i 在萃余相中的浓度 C<sub>i</sub><sup>R</sup>(j)。



- 1. 20 4 6 乙酯相对于 EPA 乙酯的分离系数
- 2. 20 4 3 乙酯相对于 EPA 乙酯的分离系数

图 5 二十碳四烯酸组分与 EPA 的分离

$$C_i^R(j) = \frac{C_i \cdot F - \sum_{k=1}^j C_i^E(k) \cdot D(k)}{F - \sum_{k=1}^j D(k)} \quad (2)$$

上式中右侧分子及分母分别为经物料衡算而求得的采样时刻萃取器中剩有的  $i$  组分量及鱼脂酸乙酯量,即右侧表示采样时刻萃取器中的平均质量浓度。考虑到萃取器内超临界相中溶有少量鱼脂酸乙酯,因此(2)式中右侧计算结果并不准确表示萃取器中的液相(即萃余相)浓度,而包含一些误差。但可认为在每轮试验的初期及中期该式较准确成立。由图 5 可见,在试验全过程中花生四烯酸(速记式 20 4 6)乙酯组分相对于 EPA 乙酯组分分离系数值在 1 与 2 之间。这表明,当精馏柱的理论塔板数足够多时,有可能将它与 EPA 乙酯组分分开;而 17,14,11,8 - 二十碳四烯酸(速记式 20 4 3)乙酯组分相对于 EPA 乙酯组分的分离系数约为 1,仅在试验终止前显示了较大值,考虑到试验后期按式(2)的分析计算包含较大的误差,故认为通过超临界 CO<sub>2</sub> 精馏操作将 20 4 3 组分与 EPA 分离开可能相当困难。

#### 4 结 论

- 1) 萃取器及精馏柱内的气液接触方式对 EPA 的高纯度浓缩有极大影响。
- 2) 采用超临界 CO<sub>2</sub> 精馏技术并配合适当的温度压力操作,可连续获得浓度近 90 % 的 EPA 样品。

#### 参 考 文 献

- 1 Suzuki H, Wada S. Metabolism and function of icosapentaenoic and docosahexaenoic acids, *Yukagaku*, 1988,37(10):781787
- 2 Takahashi K. Modern application of fish oil, *Yukagaku*,1991,40(10):931941
- 3 Arne S,Jorgen M. Separation of constituents of fish oil using supercritical fluids: a review of experimental solubility, Extraction and chromatographic data. *Fluid Phase Equilibria*,1993,91:349386
- 4 Suzuki Y,Konno M, Arai K, et al. Fractionation of polyunsaturated fatty acids by urea adduct formation using supercritical CO<sub>2</sub> as solvent. *Kagaku Kogaku Ronbunshu*,1989,15(3):439445