

从鱼油中提取分离高纯度 EPA 和 DHA 的试验研究*

赵亚平 吴守一 陈 钧 李国文

(江苏理工大学)

提 要 进行了硝酸银络合与超临界 CO₂ 精馏相结合的方法,从鱼油中提取高纯度 EPA 和 DHA 的试验研究,结果表明:用该两步法可同时获得纯度为 90% 以上的 EPA 和 DHA。

关键词 超临界 CO₂ 提取 硝酸银 鱼油 EPA DHA

Study on Extraction of High Purity of EPA and DHA From Fish Oils

Zhao Ya-ping Wu Shou-yi Chen Jun Li Guo-wen

(Jiangsu University of Science and Technology, Zhenjiang)

Abstract Two-step method was developed for separation and purification of EPA and DHA from fish oils. EPA and DHA were first enriched by aqueous AgNO₃ complex. As the concentration of aqueous AgNO₃ was more than 4M at 293.2K, most of EPA and DHA were selectively transferred into aqueous phase from oil phase. Then, the preconcentrated EPA and DHA were further refined by rectifying technology of supercritical CO₂. The effects of pressure, temperature gradient of the rectification column, flow rate, quantity and composition of feed were examined. The optimum conditions were given. 90.3% EPA and 91.4% DHA were obtained with the yield of about 40% at the same time.

Key words Fish oil AgNO₃ complex Supercritical CO₂ Extraction EPA DHA

1 引 言

EPA 和 DHA 分别是二十碳五烯酸和二十二碳六烯酸的英文缩写,属于 $\omega-3$ 型高度不饱和脂肪酸。它们是人及动物生长发育所必需的脂肪酸,主要来源于深海鱼油。提取、分离作为药品和高级营养品的高纯度 EPA 和 DHA 制剂已成开发研究的热点,目前采用的分离方法主要有尿素包含、AgNO₃ 层析、分子蒸馏、超临界 CO₂ 萃取等方法,但由于 EPA 和 DHA 的理化性质很相似,且它们极易发生氧化、热分解等化学反应,因此这些方法都很难同时提取高纯度的 EPA 和 DHA 单体。高纯度 EPA 和 DHA 的提取技术是人们致力解决的难题^[1]。

收稿日期: 1996-02-14 1997-01-10 修订

* 国家教委博士点科学基金资助项目

赵亚平, 博士, 江苏省镇江市 江苏理工大学农产品加工工程研究所, 212013

SC- CO₂ 精馏只能按碳原子数选择分离鱼脂酸乙酯, 而不能分离仅双键数不同, 碳原子数相同的组分; 硝酸银络合可按双键数分离鱼脂酸乙酯, 而不能分离仅碳原子数不同, 双键数相同的组分。因此无论单独采用上述哪种方法都很难获得高纯度的 EPA 和DHA。然而把硝酸银络合和 SC- CO₂ 精馏结合起来, 则可发挥各自分离优点。本文进行了两步法提取高纯度 EPA 和DHA 的试验研究。

2 实验原料和方法

2.1 原料

1) 鱼油乙酯 鱼油中的 EPA 和DHA 是以甘油三酯的形式存在, 要将其直接提纯到很高纯度是困难的, 因此, 本文将它们从甘油三酯的形式转化为乙酯形式进行提纯。用从市场购买的鱼油为原料, 进行乙酯化反应制得鱼油乙酯, 其中 EPA 和DHA 的相对含量分别为 80% 和 28.2%; 2) 99.5% 的 CO₂; 3) AgNO₃ 分析纯; 4) 去离子水。

2.2 SC- CO₂ 试验装置流程

试验装置流程如图 1 所示, 主要有高压气体隔膜压缩机加压、水浴加热、精馏、计量等系统组成。精馏柱内径为 14 mm, 总高度为 1800 mm, 沿柱高施加一个阶梯状升温的温度场, 温度精

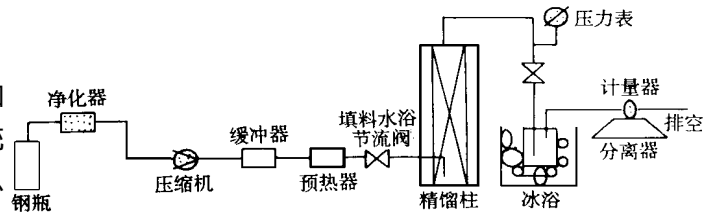
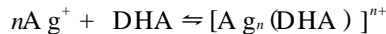


图 1 SC—CO₂ 装置流程图

度为 ± 0.1 。精馏柱内装有填料。CO₂ 自钢瓶经净化器除杂质进入压缩机升压后, 再经缓冲器、热交换器, 进入精馏柱, 待温度、压力达预定值后, 打开节馏阀调节流量, CO₂ 经过浸入冰浴的分离器经计量器计量后排空, 馏出物沉积在分离器中。

2.3 硝酸银水溶液预浓缩原理

硝酸银水溶液中的银离子能与含有双键的化合物形成 $Ag^+ - \pi$ 络合物, 双键数目多, 结合的 Ag^+ 就多, 亲水性也越强。EPA 和DHA 分别含有五个和六个双键, 是鱼油乙酯混合物中双键最多的化合物, 因而较鱼油乙酯混合物中其它组分结合的 Ag^+ 数多, 亲水性也最强。于是, EPA 和DHA 以 $Ag^+ - \pi$ 络合物的形式进入水相, 而饱和以及低度不饱和的组分仍留在油相中。因此, 将油相与水相分离后就得到了含有 EPA 和DHA 的水溶液。以DHA 为例, 其与 Ag^+ 络合反应式为



该反应可逆, 在一定条件下, DHA 又可从 $[Ag_n(DHA)]^{n+}$ 解离, 可得到较纯的DHA。

2.4 样品组成的分析方法

用 HP5890A 气相色谱仪分析样品的纯度, 色谱柱为毛细管柱, 载气为氮气, 炉温为 215、进样温度和检测温度均为 250, FID 检测器, 正己烷作溶剂, 样品浓度为 4%, 每次进样量 1 μ L, 用 HP3395 自动积分进行面积归一化计算各组分的相对含量。

3 结果与讨论

3.1 $Ag^+ - \pi$ 络合物达到形成与分离

将鱼油乙酯 (40 mL) 和 AgNO₃ 水溶液 (80 mL) 放入棕色反应瓶中 (200 mL) 于室温下

充分反应, 反应结束后, 将反应物倒入分液漏斗中, 静置分层, 分别得到油相和水相, 然后测量油相和水相的体积和重量。用 HP5890A 气相色谱仪 (GC) 分析油相组成。被 AgNO_3 转移到水相中的油的组成分别用两种方法测定 一种方法是直接通过计算原料与残余油相的数量和组成得到; 另一种方法是用 SC-CO_2 直接提取 AgNO_3 水溶液, 然后, 用 GC 分析提取物的组成。两种方法的结果有很好的—致性。

表 1 列出油相中 DHA、EPA 等组分与 AgNO_3 浓度的关系。表 1 可看出, 随着 AgNO_3 浓度增加, 提取残余液 DHA、EPA 减少, 而其它酯相对增加, 这表明 DHA、EPA 被转移到了水相, 当 AgNO_3 浓度提高到 5M 时, 原料中的 EPA 和 DHA 绝大部分已转移到水相, 从而与其它组分分离。因此通过 AgNO_3 水溶液预处理后, 可富集到较纯的 EPA 和 DHA。

表 1 残余油相中组分的相对含量与 AgNO_3 浓度的关系

浓度/M	DHA/%	EPA/%	其它/%
0	28.5	9.2	62.3
2	24.6	8.7	66.7
4	10.3	6.4	83.3
5	2.4	1.6	96.0

3.3 超临界 CO_2 精馏分离 EPA 和 DHA

本研究的精馏方式为间歇式操作, 原料定量分批放入精馏柱中, 直至精馏完毕。为避免氧化, 装入原料后首先对系统抽真空, 随后启动加压系统。待压力、温度、流量达预定条件后, 每隔一定时间于常压下采集馏出物并称量, 同时记录 CO_2 的消耗量。每次馏份用 GC 分析组成。本文考察了 CO_2 流量、压力、温度梯度、原料组成以及原料量对 EPA 和 DHA 纯度的影响。表 2 列出了部分实验条件和结果。

表 2 精馏 EPA 和 DHA 的部分实验条件和结果

序号	原料/g	填料	压力/M Pa	温度梯度 /	EPA/%		DHA/%	
					纯度	收率	纯度	收率
1	6	TS	11	35/75	55.7	75.0	97.5	77.4
2	6	TS	13	35/75	42.0	63.0	95.0	57.7
3	6	TS	15	35/75	29.0	66.4	92.2	57.6
4	6	TS	13	35/60	33.5	50.8	94.7	60.4
5	6	TS	13	35/80	46.6	63.3	97.0	62.0
6	12	TS	13	35/75	63.3	36.8	98.0	69.0
7#	6	TS	13	35/75	90.3	39.4	91.4	44.0

实验 7 原料中, EPA/DHA = 0.9; 其它实验中, EPA/DHA = 0.3; 不锈钢三角线圈

3.3.1 CO_2 流量的影响

由预备实验知, CO_2 流量小可在平衡态即最大溶解度下精馏, 但时间相对延长; 流量大, 可提高传质效率、缩短时间提高生产率, 但不能保证在平衡态下精馏, 甚至有时会引起夹带, 降低分离效果。因此, 选择合适的流量是非常重要的。在预备实验的基础上, 本实验流量控制为 6 L/m in。

3.3.2 压力对精馏效果的影响

从图 2 及表 2 中的实验 1~ 实验 3 可看出, 压力对精馏效果有很大的影响: 在一定温度下, 增加压力可增大溶质的溶解度, 即提高

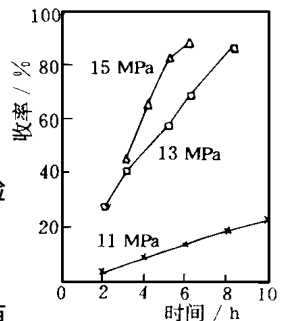


图 2 收率与时间的关系

单位时间的收率,但同时会降低选择性,因而降低 EPA 和DHA 的纯度;降低压力可提高选择性,但同时也减少了单位时间的收率。如图2所示,压力为11 MPa时,虽然选择性好,但溶解度太低,萃取时间太长,已没有实际意义了。所以选择精馏压力时,应综合考虑选择性和产率的关系,在满足分离度的条件下,提高压力是可行的措施。

3.3.3 温度梯度对精馏的影响

表2中实验2、实验4、实验5的结果表明:温度梯度与精馏效果有很大关系,在一定压力下,温度梯度大,有利于溶质在精馏柱中的回流,即增大溶质的回流次数,这样就提高了轻组分与重组分之间的交换、分配频率,从而使得离开精馏柱的馏分都是在接近平衡态下进行的,提高了产品纯度。与传统精馏的温度分布相反,SC—CO₂精馏柱中的温度是沿柱底至柱顶逐渐升高。

3.3.4 原料量对精馏效果的影响

表2中实验2、实验6的结果表明,原料量对EPA和DHA的纯度有影响,进样量多得到的EPA和DHA纯度要比进样量少的EPA和DHA纯度高。这可能是对一定量的填料来说,有一最低持液量,当进样量大到满足这一要求时,填料全部被润湿,精馏柱内从顶部返回的液相与上升溶有溶质的SC—CO₂流体之间的传热与传质效果大大提高,因而提高了产品纯度。精馏柱持液量的测定以及持液量的大小对传质、传热的作用还有待研究。另外,实验7原料中的EPA比实验2高,所得产品的EPA也高,说明产品纯度与进料组成有关。

3.4 原料与精制样品的气相色谱(GC)图分析

图3中分别为原料、精制EPA和DHA的气相色谱(GC)图。从图3看出,经过两步法精制后,除EPA和DHA外,其余部分已基本被分离,精制EPA和DHA峰型与原料中的EPA和DHA峰型基本一致,并且没有杂峰。因此,在该两步法的精制过程中,EPA和DHA没有发生氧化、异构化、聚合等化学反应。

4 结论

- 1) 压力和温度是SC—CO₂精馏最重要的参数,二者的协同作用直接影响产品的纯度和收率,原料中EPA和DHA的相对含量及进料量对产品纯度也有影响。
- 2) 采用AgNO₃络合预浓缩与SC—CO₂精馏相结合的两步法获得了纯度为90%以上的EPA和DHA以及99%的DHA单体。

参 考 文 献

- 1 赵亚平,吴守一,陈 钧等 鱼油中二十二碳五烯酸和二十二碳六烯酸提取分离研究现状和进展 江苏理工大学学报,1996,17(4) 1

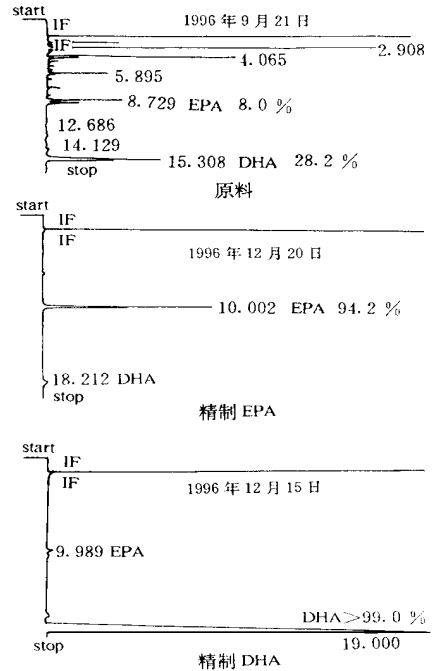


图3 原料和精制样品的气相色谱图

图3 原料和精制样品的气相色谱(GC)图。从图3看出,经过两步法精制后,除EPA和DHA外,其余部分已基本被分离,精制EPA和DHA峰型与原料中的EPA和DHA峰型基本一致,并且没有杂峰。因此,在该两步法的精制过程中,EPA和DHA没有发生氧化、异构化、聚合等化学反应。