

研究简报

超临界 CO₂ 精制鱼油中 二十二碳六烯酸的研究

STUDIES OF SUPERCRITICAL CO₂ REFINEMENT OF HIGHLY PURE DOCOSAHEXAENOIC ACID

赵亚平 吴守一 陈 钧 李国文

(江苏理工大学农产品加工研究所, 镇江 212013)

ZHAO Ya-Ping, WU Shou-Yi, CHEN Jun, LI Guo-Wen

(Agricultural Process Engineering Institute, Jiangsu University of Science and Technology, Zhenjiang 212013)

关键词 超临界, CO₂, 精制, 二十二碳六烯酸, 鱼油

KEYWORDS Supercritical, CO₂, Refine, Docosahexaenoic acid, Fish oil

鱼油中的二十二碳六烯酸(DHA)属于 $\omega-3$ 型高度不饱和脂肪酸,是人体不能自身合成的脂肪酸。近十余年的药理和营养学研究表明,DHA具有很高的生理活性,不仅有抗炎症、抗过敏、降血脂、抗癌变和预防糖尿病的疗效,而且参与了大脑神经细胞的代谢过程,它在脑细胞分裂、增殖,以及脑细胞的突起、延长、维护和传导方面有重要作用,因而具有改善大脑机能、增强记忆、提高学习能力和防治老年痴呆等提高生命质量的功能。DHA为治疗药品和高级营养品,近来,提取分离高纯度DHA制剂是鱼油深加工的发展方向,已成为发达国家竞相研究开发的热点。但由于DHA与其它组分的理化性质很相似,同时DHA极易发生氧化、热劣化等化学反应,因此采用常规的分离方法很难获得高纯度DHA制剂。虽然高真空度的分子蒸馏可选择性地分离DHA,但是,即便在此情况下,因DHA沸点很高,所使用的温度仍然很高,致使DHA发生热劣化,从而引起异构化、聚合、降解等反应,此外,层析法虽可获得较高纯度的DHA,但因处理量太小难于工业化生产[铃木平光 1989,吴保杰 1994]。所以,高纯度的DHA提取技术至今仍然是国内外学者致力解决的难题。

超临界CO₂萃取(SC-CO₂)是目前正处于开发应用的新型分离技术,在食品、医药、化工等领域得到广泛的重视,尤其在许多高附加值的精细生物活性物质的分离提纯方面具有很大的潜在优势。超临界CO₂兼有气、液双重性的特点,既有与液体相当的密度、溶解能力,又有与气体相近的扩散系数和渗透能力,与传统的分离方法相比,它有良好的过程选择性,集萃取、精馏、分离于一体一步到位,不需反萃,操作简单,运行成本低,产品无毒害物质残留等优点。尤其因CO₂临界温度接近室温,因而特别适于从天然产物中提取和精制难挥发、热敏性的生物活性物质。超临界CO₂提取技术结合其他预处理方法,可望解决从鱼油中制取高纯度DHA的难题[赵亚平等 1996]。

1 材料和方法

1.1 材料

鱼油乙酯:鱼油中的DHA是以甘油三酯的形式存在,将其直接提纯是困难的,为此首先将鱼油乙酯化,然后再进行提纯研究;丙酮:分析纯;AgNO₃:分析纯;CO₂:99.5%;去离子水。

1.2 方法

1.2.1 尿素包合预浓缩

尿素包合法是依据一些分子能被包在尿素形成的开放的管道里并与之形成一种包含化合物,该化合物是一种稳定的晶型固体。在一定的溶剂中,鱼油中饱和的,以及低度不饱和和脂肪酸借助分子间力能与尿素形成稳定的包合物并在低温下结晶析出;而有六个双键的DHA则因空间位阻,很难进入尿素形成的管道中,因而仍留在溶液中。于是,将溶液与沉淀分离就可得到较纯的DHA。本实验用丙酮做溶剂。

1.2.2 AgNO₃ 络合预浓缩

AgNO₃ 水溶性中的Ag⁺能与含有双键的化合物形成Ag⁺-π络合物,双键数多,结合的Ag⁺数就多,亲水性也越强。DHA有六个双键,是鱼脂酸中双键数最多的化合物,因此结合的Ag⁺数最多,亲水性最强。于是,DHA以Ag⁺-π络合物的形式进入水相,而饱和以及低度不饱和和鱼脂酸酯仍留在油相,将油相与水相分离后就得到富含DHA的水相。DHA与Ag⁺络合反应可简写为: $n\text{Ag}^+ + \text{DHA} \rightleftharpoons [\text{Ag}_n(\text{DHA})]^{n+}$ 。该反应为可逆反应,在一定条件下,DHA又可从[Ag_n(DHA)]ⁿ⁺中解离并与水相分离,于是就可得到较纯的DHA。

1.2.3 SC-CO₂ 装置流程

该系统主要由隔膜压缩机、水浴加热、精馏、计量等部分组成(图1)。精馏柱内径为14 mm,总高度为1800 mm,沿柱要施加一个阶梯状逐步升温的温度场,精馏柱内装有不锈三角线圈填料。CO₂自钢瓶经净化器除杂质进入压缩机升压后,再经缓冲器,热交换器后进入精馏柱,待温度、压力达预定条件后,打开节流阀调节流量,CO₂通过浸入冰浴的分离器经计量器计量后排空,馏出物析出于分离器中。

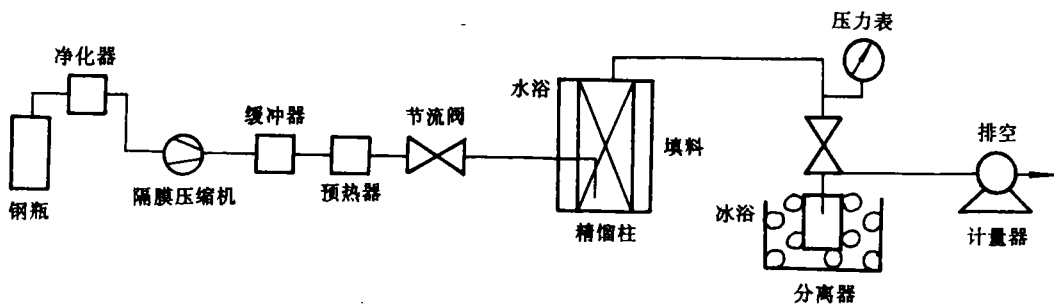


图1 SC-CO₂ 装置流程简图

Fig.1 Schematic diagram of equipment of SC-CO₂

1.2.4 样品分析

用HP5890A气相色谱仪分析样品组成,采用毛细管色谱柱,炉温:215℃,进样温度和检测温度:250℃,FID检测器。HP3395自动积分仪进行面积归一化计算各组分的相对百分含量。

2 结果

2.1 预浓缩 DHA

尿素包合和 AgNO₃ 络合 DHA 的组成分析结果见表 1。得知:经过预浓缩后,DHA 从原料中的 28% 分别上升到 50% 和 70%,其中 AgNO₃ 处理较尿素处理的 DHA 纯度高。

2.2 超临界 CO₂ 精馏分离 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,直到精馏完毕。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,每隔一定时间采集馏出物并称重,同时记录 CO₂ 的消耗量。表 2 列出了部分实验条件和结果,其中,实验 1 的原料经尿素处理,实验 2~5 的原料经 AgNO₃ 处理,实验 6 的原料未经预处理。

表 2 精馏 DHA 的部分实验条件和结果

Table 2 Experimental conditions and results for DHA refining

序号	原料	压力(Mpa)	温度(℃)	流量(L/min)	DHA(%)	回收率(%)
1	5.1	13.0	35.0~80.0	6.0	91.1	19.6
2	4.2	14.0	35.0~75.0	6.0	93.2	18.9
3	4.2	13.0~14.0	35.0~75.0	4.5	95.6	11.7
4	6.2	12.5~13.5	35.0~75.0	5.0	98.1	10.6
5	6.4	12.5~13.5	75.0	4.8	78.1	36.4
6	15.2	14.0	35.0~75.0	4.0	75.0	19.5

由表 2 看出,原料未经预处理,DHA 的纯度只能达到 75%,而经过预处理并通过精馏后,DHA 的纯度可达到 90% 以上,其中经 AgNO₃ 预处理后,DHA 纯度可高达 98.1%。因此,DHA 的纯度主要与原料组成、操作温度、压力有关,进料量对纯度影响不大。

2.3 原料和精馏样品的气相色谱图

图 2 分别示出了原料和实验 4 中样品的气相色谱图,通过比较可看出,经过预浓缩,精制后,除了 DHA 外,原料中的其它组分已基本上被分离,而且在精馏样品中,没有其它新的杂峰出现,这说明在精制过程中,DHA 没有发生异构化,聚合等反应。

表 1 预浓缩后样品的组成分析结果

Table 1 Analytical results of preconcentrated DHA

	DHA(%)	EPA(%)	其它(%)
原料	28.2	8.0	63.8
尿素浓缩样品	50.4	17.6	32.0
AgNO ₃ 浓缩样品	70.3	21.4	8.3

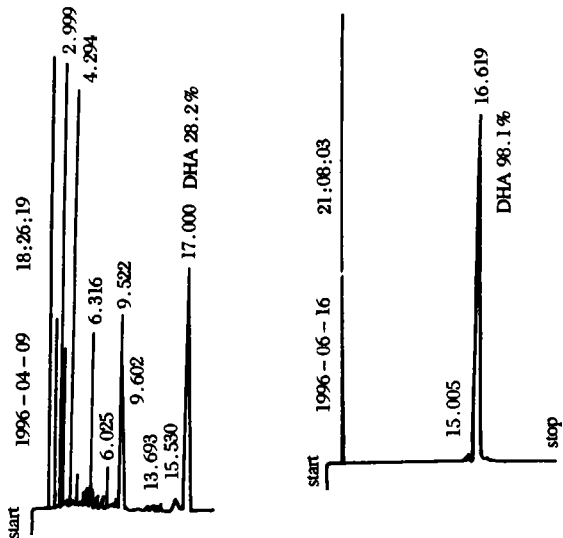


图 2 原料和精馏样品的气相色谱图

Fig.2 Gas chromatograph figures of specimens

3 讨论

因为 SC-CO₂ 可按碳原子数的顺序进行萃取分离,但对碳原子数相同,而双键数不同的鱼脂酸酯混合物则较困难。所以,用 SC-CO₂ 萃取分离高纯度 DHA 时,要配和其它预处理措施,预先将双键数与 DHA 相当的其它鱼脂酸酯除掉。为此,笔者首先研究了尿素和 AgNO₃ 水溶液两种预浓缩方法,实验结果如表 1 所示。AgNO₃ 水溶液络合法浓缩的 DHA 要比尿素法高,这是由于能与 Ag⁺ 络合的绝大部分是含有四个双键的鱼脂酸酯,母液中难免残留鱼脂酸酯,从而降低 DHA 的纯度。

在 SC-CO₂ 精馏分离 DHA 的过程中,精馏柱内形成回流是关键的一个因素。因为只有形成回流时,组分之间才能不断的进行热和质的动态交换,形成多级平衡,从而使目标组分的浓度在柱顶达到最大,而柱内温度场、萃取压力和流量是直接影响柱内能否形成回流的因素。如实验 5 所示,因没有向精馏柱施加温度梯度场,柱内难以形成回流,所以 DHA 含量变化很小。而实验 2~4 均向精馏柱施加温度梯度场,因此 DHA 的纯度大幅度提高。此外,因高压下 SC-CO₂ 溶解能力强,但选择性差,低压下 SC-CO₂ 溶解能力弱,但选择性好,所以,为了综合利用 SC-CO₂ 溶解特点,笔者研究了逐步升高压力的工艺,在低压下,溶解度大的轻组分首先被分离,然后提高压力,萃取目标组分,这样就可提高过程选择性,如实验 2~4 所示。

从图 2 的精馏样品可知道,在精制过程中,DHA 没有发生异构化和聚合等热劣化反应,保证了产品质量,这是因为操作温度较低,以及 CO₂ 本身为化学惰性气体之故。

综上所述,SC-CO₂ 精馏技术与尿素包合和 AgNO₃ 络合两种处理方法相结合,在本文的操作条件下,分别获得了 90% 和 98% 以上的 DHA。这表明该工艺技术可解决从鱼油中提取高纯度 DHA 的难题。

高等学校博士点专项基金资助项目,编号:9529901。赵亚平现在无锡轻工业大学博士后流动站进修。

参 考 文 献

- 吴保杰.1994.人体的必要脂肪酸.全国多糖和脂质类生化药物学术会议论文集.中国药学会.165~171.
- 赵亚平,吴守一,陈 钧等.1996.鱼油中二十碳五稀酸和二十二碳六稀酸提取分离研究现状和进展.江苏理工大学学报,17(4):1~6.
- 铃木平光.1989.EPA 及 DHA 的代谢と机能.油化学,37(10):781~787.