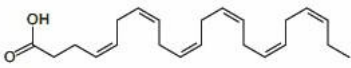
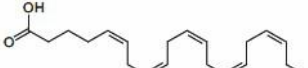


生物技术在“食”方面的应用

——脂肪酶对 DHA 和 EPA 的富集

罗啸 15307130248

1 DHA 与 EPA 简介

 <p>DHA (22:6n-3)</p>	 <p>EPA (20:5n-3)</p>	
DHA	共性	EPA
全顺式-4,7,10,13,16,19-二十二碳六烯酸,22:6n-3	二者均属于 n-3 型多不饱和脂肪酸	全顺式-5,8,11,14,17-二十碳五烯酸,20:5n-3
人类大脑和眼部膜结构的重要组成部分, 并对婴儿大脑和眼睛的正常发育起着关键作用	二者均能预防和治疗冠状动脉疾病、高血压、关节炎、自身免疫病和癌症 ¹	改善人体循环系统功能, 有助于预防动脉硬化和血栓疾病 ²
DHA 和含 DHA 鱼油制品被作为食品添加和保健食品投放市场	二者的生理活性和药理活性均具有广阔的保健和药用前景	EPA 乙酯已经用来治疗动脉硬化和高血脂症



2 技术背景

DHA 与 EPA 主要以甘油酯的形式存在于深海鱼类的脂肪中,, 一般 DHA+EPA 的总量为 14%~30%。

工艺类型及产物	工艺方法	优缺点
传统物化富集方法: 富集产物大多为游离脂肪酸和烷基酯	减压分馏 低温结晶 超临界萃取 尿素包合法 制备型高效液相	高温、高压或不当的 pH 环境致使 DHA 和 EPA 分子部分双键氧化、全顺式构型异构化、双键移位或双键聚合等副反应的发生; 耗能大, 操作成本较高(制备型高效液相

¹ Kinsella, J.E, Food components with potential therapeutic benefits: the n-3 polyunsaturated fatty acids of fish oils[J] Food Technology, 1986,40:89

² Simopoulos AP, Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development[J]. Amer J Clin Nutr, 1991,54:438

	色等	色谱);
生物技术应用方法: 产物为 DHA 和 EPA 甘油酯	脂肪酶富集 DHA 和 EPA 工艺	条件温和、能耗低、操作成本低; DHA 和 EPA 可以富集在甘油酯上, 在 人体消化道的水解速率更快 ³ , 更利于人体 消化吸收 ⁴ ; 市场角度, DHA 和 EPA 的单酰、双酰和 三酰甘油酯更“天然”而畅销;

3 技术原理

从深海鱼雷脂肪组织中提炼的鱼油是含有各种脂肪酰成分的甘油三酸酯, 在脂肪酶的催化下, 很容易的完成水解、醇解、酸解和酯交换反应, 从而使 DHA 和 EPA 较多地以某种形式存在, 再经分离, 便可达到富集和浓缩 DHA 和 EPA 的目的。

3.1 水解反应

脂肪酶具有对甘油酯中不同脂肪酸的专一性; 具有对三甘酯中不同位置的专一性; 通常认为鱼油三甘酯中 2-位上连接着 EPA、DHA 等高度不饱和脂肪酸。利用脂肪酶对鱼油脂肪酸的专一性, 使鱼油中 EPA、DHA 留存在甘油酯中, 切去其他饱和或低不饱和脂肪酸, 使之成为游离酸除去, 从而达到 EPA、DHA 在鱼油甘油酯中的高含量。在 35℃—40℃ 范围内、油水比 1:1、酶浓度 400U/g—700 U/g 油、缓冲溶液 pH6—pH8.5、以异辛烷作溶剂、水解 16 h—20 h、水解率控制在 53% 左右, 经低温脱酸分离, 可制备 EPA 和 DHA 含量大于 50% 以上的鱼油甘油酯型产品。⁵

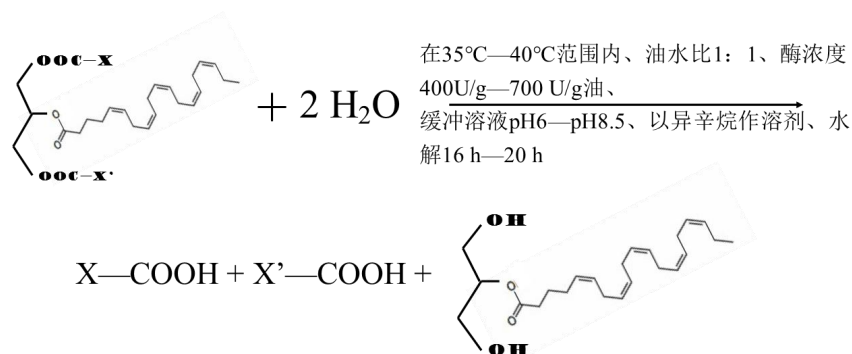


图 1 脂肪酶催化水解反应

3.2 酯交换反应

采用酶促乙酯型和甘油酯型酯交换的方法, 将乙酯型中的 EPA、DHA 富集到甘油酯型当中, 得到高含量 EPA 和 DHA 的甘油三酯。以 K 酶为催化剂, 反应温度 40℃, 加酶量 6%, 反应时间 18h, 底物摩尔比 2.0:1.0; 以 TLIM 酶为催化剂, 反应温度 60℃, 加酶量 6%, 反应时间 18h, 底物摩尔比 2.0:1.0。⁶

³ Yang LY, Kuksis A, Myher JJ. Luminal hydrolysis of menhaden and rapeseed oils and their fatty acid methyl and ethyl esters in the rat[J]. *Biochem Cell Biol.* 1989 Apr-May;67(4-5):192-204.

⁴ Larry D. Lawson, Bronwyn G. Hughes. Human absorption of fish oil fatty acids as triacylglycerols, free acids, or ethyl esters[J]. *Biochem Biophys Res Comm.* 1988.152:328s

⁵ 吴可克. 酶促鱼油选择性水解制备 EPA、DHA 甘油酯的研究[J]. *中国油脂.* 2002(03)

⁶ 李金章, 王玉明, 薛长湖, 孙兆敏, 楼乔明. 脂肪酶催化乙酯甘油酯酯交换制备富含 EPA 和 DHA 的甘油三酯[J]. *中国油脂.* 2011(01)



图 2 含 DHA 或 EPA 单甘酯的酸解⁷

3.3 酯化反应

脂肪酶选择性地催化游离脂肪酸中的饱和脂肪酸和单烯脂肪酸,使之先于 DHA 或 EPA 与醇反应生成酯,而多不饱和脂肪酸较多地以游离态残留在未反应的脂肪酸中⁸;或是选择性地催化游离脂肪酸中的多不饱和脂肪酸,使之先于其它的饱和或单烯脂肪酸与醇反应生成酯,而多不饱和脂肪酸富集在酯分子上,从而将其与其它脂肪酸分离⁹。

4 技术应用

经过脂肪酶的一步或多步富集,可以得到 DHA 和 EPA 含量较高的游离脂肪酸、脂肪酸乙酯或脂肪酸甘油酯,同时还可以结合其它的物理或化学富集方法进一步提高浓缩产品的纯度和多不饱和脂肪酸的含量,使多不饱和脂肪酸浓缩产品更符合消费需求。图 3 是制备不同浓缩产品的两种酶法富集工艺。

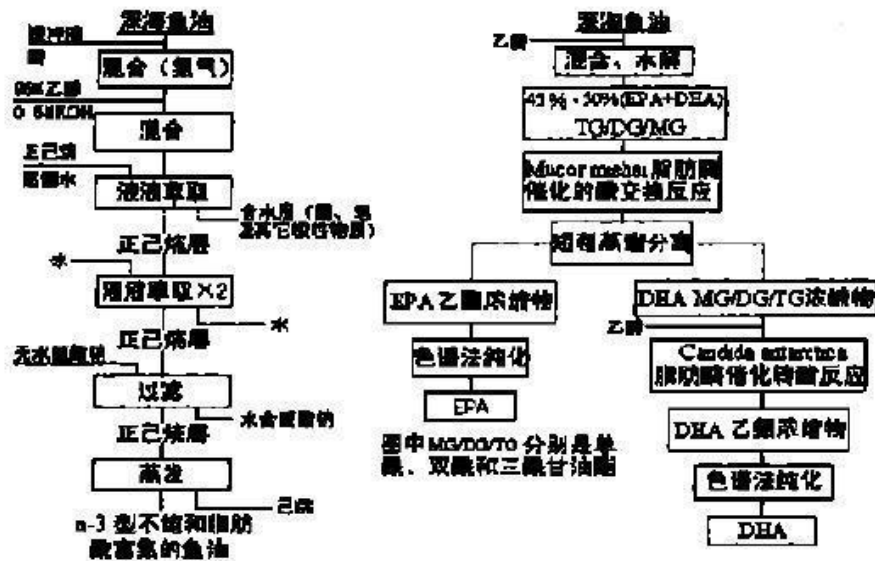


图 3 两种脂肪酶的富集工艺

在工艺 I 中,经 *Candida cylindracea* 脂肪酶水解、两次萃取和一次过滤,最终鱼油中不饱和脂肪酸含量达 45%¹⁰。在工艺 II 中,脂肪酶富集步骤和化学分离方法有效地结合,可以大大的提高富集效率。鱼油经过 *Pseudomonas Sp* 脂肪酶初步富集,可以使 DHA 和 EPA 的含量达到 40%~ 50%,收率达 88%;另外,鱼油上结合的污染物质(环境中的杀虫剂),在脂肪酶的催化作用下先与乙醇生成乙酯而除去,从而使鱼油得以净化。*Mucor-*

⁷ 唐青涛,余若黔,宗敏华,黄祥斌,王艳菊. 脂肪酶富集 DHA 和 EPA 的研究进展[J], 华西药学杂志, 2001 (04).

⁸ Shimada Y, Sugihara A, Nakano H, et al. Purification of docosahexaenoic acid by selective esterification of fatty acids from tuna oil with *Rhizopus delemar* lipase[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 1997, 74: 97

⁹ Cerdan LE, Medina AR, Gimenez AG, et al. Synthesis of polyunsaturated fatty acid-enriched triglycerides by lipase-catalyzed esterification[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 1998, 75: 1329

¹⁰ Wanasundara U, Shahidi F. Lipase-assisted concentration of n-3 polyunsaturated fatty acid in acylglycerols from marine oils[J]. *J Am Oil Chem Soc*, 1998, 75: 945

miehei 脂肪酶选择性催化 EPA 的转酯反应,使 EPA 以 EPA 乙酯的形式富集,而 DHA 存在于鱼油的甘油酯上,经过下步的短程蒸馏分离,可以使 DHA 和 EPA 分离,EPA 乙酯浓缩物经色谱法纯化可以得到纯品;而富集 DHA 的甘油酯在 *Candida antarctica* 脂肪酶催化下与乙醇发生转酯反应,可得到 DHA 乙酯浓缩物,再经色谱纯化可得到 DHA 纯品¹¹。

5 参考文献

- [1] Kinsella, J.E, Food components with potential therapeutic benefits: the n-3 polyunsaturated fatty acids of fish oils[J] Food Technology, 1986,40:89
- [2] Simopoulos AP, Omega-3 fatty acids in health and disease and in growth and development[J]. Amer J Clin Nutr, 1991,54:438
- [3] Yang LY, Kuksis A. Myher JJ. Luminal hydrolysis of menhaden and rapeseed oils and their fatty acid methyl and ethyl esters in the rat[J]. Biochem Cell Biol. 1989 Apr-May;67(4-5):192-204.
- [4] Larry D. Lawson, Bronwyn G. Hughes. Human absorption of fish oil fatty acids as triacylglycerols, free acids, or ethyl esters[J]. Biochem Biophys Res Comm, 1988.152:328s
- [5] 吴可克. 酶促鱼油选择性水解制备 EPA、DHA 甘油酯的研究[J]. 中国油脂. 2002(03)
- [6] 李金章, 王玉明, 薛长湖, 孙兆敏, 楼乔明. 脂肪酶催化乙酯甘油酯酯交换制备富含 EPA 和 DHA 的甘油三酯[J]. 中国油脂. 2011(01)
- [7] 唐青涛,余若黔,宗敏华,黄祥斌,王艳菊. 脂肪酶富集 DHA 和 EPA 的研究进展[J], 华西药 学杂志, 2001 (04).
- [8] Shimada Y,Sugihara A,Nakano H,et al.Purification of docosahexaenoicacid by selective esterification of fatty acids from tuna oil with *Rhizopusdelemar* lipase[J].J Am Oil Chem Soc,1997,74:97
- [9] Cerdan LE,Medina AR,Gimenez AG,et al.Synthesis of polyunsaturatedfatty acid-enriched triglycerides by lipase-catalyzed esterification[J].J Am Oil Chem Soc,1998,75:1329
- [10] Wanasundara U,Shahidi F.Lipase-assisted concentration of n-3 polyun-saturated fatty acid in acylglycerols from marine oils[J].J Am Oil Chem Soc,1998,75:945
- [11] Breivik H,Haraldsson GG,Kristinsson B.PrEPAration of highly purifiedconcentrates of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid[J].J AmOil Chem Soc,1997,74: 1425

¹¹ Breivik H,Haraldsson GG,Kristinsson B.PrEPAration of highly purifiedconcentrates of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid[J].J AmOil Chem Soc,1997,74: 1425