

海洋生物中 ω -3 多不饱和脂肪酸研究进展

郑飞洋¹, 戴志远^{1,2*}, 崔益玮¹

(¹ 浙江工商大学海洋食品研究院 杭州 310012

² 浙江省水产品加工技术研究联合重点实验室 杭州 310012)

摘要 海洋生物体内含有丰富的 ω -3 多不饱和脂肪酸(PUFAs),特别是二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA),在预防心血管疾病,抑制癌症、抗炎,促进大脑发育等方面发挥重要作用,故而在保健品、医药行业潜力巨大。本文首先简述 ω -3 PUFAs 的膳食结构及其在海洋中不同的生物来源,其次详细对比不同结构的 ω -3 PUFAs 体内代谢差异,最后总结 ω -3 PUFAs 分离纯化方法,以期在 ω -3 PUFAs 在功能食品、医药领域的进一步探索与开发提供理论参考。

关键词 ω -3 多不饱和脂肪酸;膳食结构;海洋来源;生物利用率;分离纯化

文章编号 1009-7848(2022)07-0345-15 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.07.035

根据有无双键以及双键的数目,可将脂肪酸分为饱和脂肪酸(Saturated fatty acids, SFAs)、单不饱和脂肪酸(Monounsaturated fatty acids, MUFAs)和多不饱和脂肪酸(Polyunsaturated fatty acids, PUFAs),其中又以双键位置的差异,将 PUFAs 主要分为 ω -3 和 ω -6 型,如图 1 所示。多年来 ω -3 PUFAs,尤其是 EPA 和 DHA 的健康益处一直是各机构组织以及各国研究的热点。大量研究证实, ω -3 PUFAs 具有广泛的生理作用,主要包括抗炎,抑制癌症,预防心血管疾病,促进神经和视觉系统的发育等^[1-4]。海洋生物含有丰富的 ω -3 PUFAs,是人类获取 EPA 和 DHA 最主要的膳食来源。本文从膳食结构、来源、体内代谢和分离纯化方法 4 个方面综述海洋生物中 ω -3 PUFAs 的研究进展,旨在为 ω -3 PUFAs 的进一步探索提供理论参考。

1 ω -3 PUFAs 的膳食结构

近几十年来,随着我国工业化快速推进和经济高速发展,人们日常饮食中 ω -3 PUFAs 与 ω -6 PUFAs 的比例发生了巨大变化, ω -6 PUFAs 的比例相对较高,而 ω -3 PUFAs 比例相对降低^[5]。据报道,西方高脂肪饮食习惯导致其居民 ω -3/ ω -6 摄

入比例为 1/15~20,印度的 ω -3/ ω -6 摄入量甚至仅为 1/30~70,远低于 1/4 的推荐值^[6-7]。由于 ω -6 PUFAs 产生炎症介质,而 ω -3 PUFAs 产生中性或抗炎信号分子, ω -3/ ω -6 失衡不仅会导致慢性炎症的出现,而且增加了关节炎、心血管疾病、痴呆症等疾病的患病率^[6]。由此可见,体内 ω -3/ ω -6 的平衡对维持人体正常新陈代谢具有重要的生理意义。

一般人体获取 ω -3 PUFAs 有 2 条途径:自身合成和膳食摄入。然而,人体内大部分的 ALA 通过 β -氧化为机体供能,只有少部分能够转化为 EPA 和 DHA^[8]。研究表明,从 ALA 转化而来的 EPA 只有 5%~10%,而由 ALA 转化为 DHA 的转化率不足 1%^[9]。由此可见,人体低 EPA 和 DHA 合成量并不能满足人体正常所需。并且如图 2 所示,相较于植物 ω -3 和 ω -6 PUFAs 代谢途径,由于动物体内缺乏 Δ 12 脂肪酸脱饱和酶(Δ 12 Fatty acid desaturase, FADS12)和 Δ 15 脂肪酸脱饱和酶(FADS15),导致其 LA 与 ALA 合成途径均受到阻碍。此生理差异导致使人体内的 ω -6 PUFAs 无法转化为 ω -3 PUFAs,同时也意味着食物中 ω -3/ ω -6 PUFAs 的摄入量最终将影响人体内 ω -3/ ω -6 PUFAs 之比。因此,人们日常饮食中需合理补充 ω -3 PUFAs,特别是 EPA 和 DHA。如图 2 所示,每日 EPA 和 DHA 的摄入量应不少于 0.1 g,以此将 ω -3/ ω -6 PUFAs 之比维持在正常范围。

收稿日期: 2021-07-05

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC0311204)

作者简介: 郑飞洋(1996—),男,硕士生

通信作者: 戴志远 E-mail: dzy@zjgsu.edu.cn

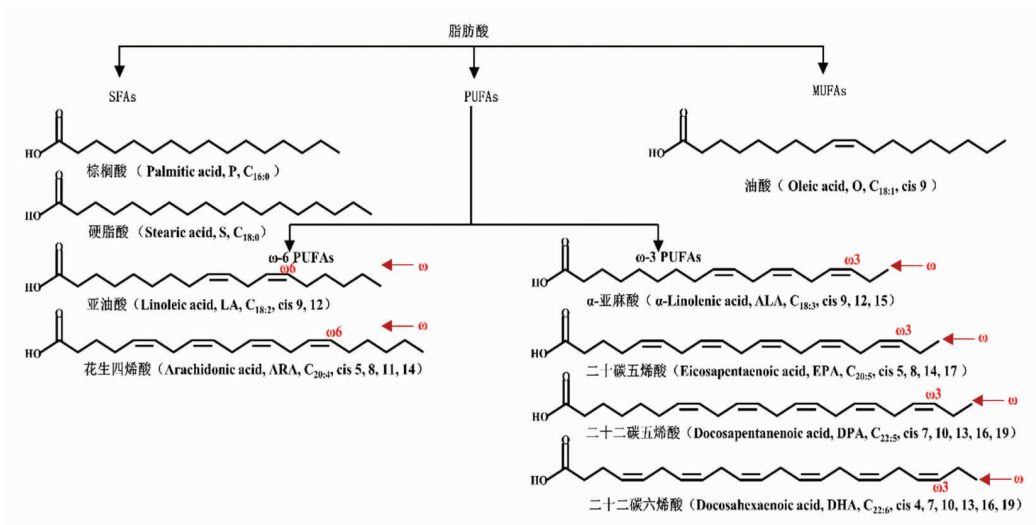


图1 植物和动物性饮食中发现的主要脂肪酸的结构

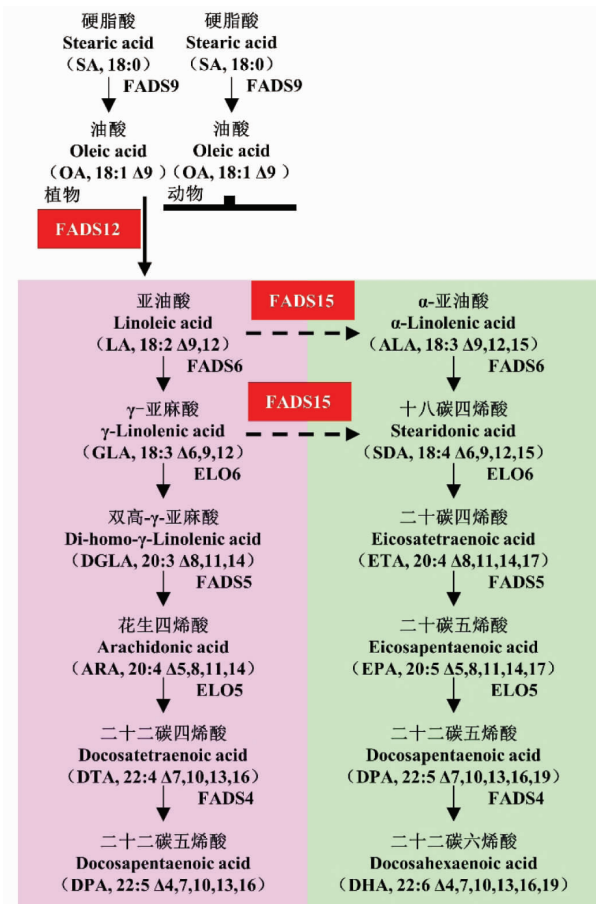
Fig.1 Structures of major fatty acids found in plant and animal based diet

表1 各组织与协会 EPA 和 DHA 推荐摄入量
Table 1 Recommended intake of EPA and DHA by organizations and associations

组织	EPA 和 DHA 推荐摄入量/g·d ⁻¹
粮农组织 ^[10]	0.1~0.25
世界卫生组织 ^[11]	0.3~0.5
国际脂肪酸协会 ^[12]	0.5
欧洲食品安全局 ^[13]	0.25
美国农业部 ^[13]	0.25
美国营养与饮食协会 ^[13]	0.5
比利时高级卫生委员会 ^[13]	0.68
英国营养科学咨询委员会 ^[14]	0.45
加拿大营养协会 ^[14]	0.3~0.45

2 海洋中 ω-3 PUFAs 的生物来源

海洋中含有丰富的自然资源,是人类获取 ω-3 PUFAs 最主要的来源。如表 2 所示,藻类、鱼类、甲壳类、贝类、海洋哺乳类都富含 ω-3 PUFAs,因此日常饮食中增加鱼、虾、蟹类海产品的摄入是预防或调节机体 ω-3/ω-6 PUFAs 失衡的重要途径。海洋中的鱼类种类繁多,分布海域广,不仅是人们获取 EPA 和 DHA 的主要途径,而且还是补充脂溶性维生素 A 和维生素 D 的理想来源,通常以食品或鱼油形式的保健食品进行补充^[16]。于是,在营养价值和商业价值的驱动下,如金枪鱼、鲱鱼、鳕



注:FADS表示去饱和和脱氢酶,ELO表示碳链延长酶。

图2 ω-3 和 ω-6 脂肪酸代谢途径^[8,15]

Fig.2 ω-3 and ω-6 fatty acid metabolism pathway^[8,15]

鱼、三文鱼等含有丰富的 EPA 和 DHA 的鱼类逐渐成为热门的经济鱼类^[6]。相较于鱼类,虾、蟹、贝类等海洋生物含有较高的磷脂(Phospholipids, PLs)^[10]。研究表明, ω -3 PUFAs 只能以 PLs 形式穿过血脑屏障,进而在大脑中参加各种生化反应^[17]。南极磷虾油作为一种可替代鱼油的新型海洋功能性油脂,不仅生物贮藏量大,同时还富含多种生物活性物质,如虾青素、生育酚、维生素 A 等,已成为近年来海洋脂质的研究热点^[18-19]。虽然南极磷虾油具有多种生理功效,但在食品、医药行业的应用仍受到一定限制,因此还需研究者进一步探索、改良与创新磷虾油提取加工工艺,从而实现工业化生产品质稳定的磷虾油。

从海洋藻类中提取 ω -3 PUFAs 以及通过基因工程培育产 EPA 和 DHA 的陆生植物同样具有广阔的应用前景。传统含有高纯度 EPA 和 DHA 的功能食品主要源自鱼油,而鱼类合成此类 ω -3 PUFAs 的能力有限,需要通过捕食海洋藻类或虾类来积累 EPA 和 DHA^[20]。藻类作为海洋生态系统

最主要的生产者,其体内合成与积累的 ω -3 PUFAs 会通过食物链传递并储存于甲壳类、鱼类、海洋哺乳类等海洋生物体内^[21]。并且由于藻类处于海洋生态系统的底层,故通过食物链逐级积累的脂溶性污染物在藻类中浓度通常最低,并且藻油中没有鱼油特有的鱼腥味,制成的营养强化剂适合鱼油过敏的亚健康人群食用^[6,22]。现如今,通过微藻技术可以大规模生产藻油,不仅藻油的产量较高,同时 EPA 和 DHA 的含量也高^[20]。基于海洋藻类的各种优点确认以及 EPA 和 DHA 生物合成积累所需要基因的识别,研究者从微藻中选取特定基因,通过转基因技术定向培育产 EPA 和 DHA 的陆生植物^[23]。据报道,利用转基因技术成功培育出的茶花籽油中含有 26% 的 EPA、大豆油中含有 20% 的 EPA、芥菜油中含有 15% 的 DHA^[21]。然而,此项研究仍面临许多困难和瓶颈亟待解决,例如:藻类基因合适载体的寻找,大规模种植转基因作物的许可,“新型鱼油”加工工艺改良与优化。

表 2 不同海洋生物脂肪酸概况

Table 2 Fatty acid profile of different marine organisms

种类	分布	EPA+DPA+DHA 含量/%	ω -3/ ω -6 PUFAs/%
藻类 ^[6,24-25]	主要集中于海洋中光合作用带	6.32~56.52	0.21~5.38
虾类 ^[10,19,26]	主要生活在浅海层	12.49~29.06	1.82~10.00
贝类 ^[10,27]	大多生活在潮间带以及浅海区	5.80~44.30	0.50~25.00
蟹类 ^[10,28]	主要栖息于潮间带的岩礁或石缝中	18.38~50.45	1.52~10.30
中小型鱼类 ^[6,24,29]	海洋中的上、中、深层都有分布	14.00~37.2	1.97~6.52
海豹 ^[30-31]	主要分布在高纬度寒冷区域,往返于海岸和浅海层	18.29~22.05	3.42~4.92

3 不同结构的 ω -3 PUFAs 体内代谢

ω -3 PUFAs 主要形式可分为乙酯(Ethyl esters, EEs)、游离脂肪酸(Free fatty acids, FFAs)、甘油三酯(Triacylglycerols, TAGs)和 PLs 型。4 种不同结构的 ω -3 PUFAs 在体内消化吸收差异如图 3 所示。脂质消化分解始于胃部, TAGs、PLs、FFAs、胆酸盐(Bile salt, BS)、胆固醇(Cholesterol, CL)在胃的收缩下,不断分散、重组进而乳化形成以 TAGs 分子为疏水中心,周围环绕一些 FFAs、CL、两亲性 PLs 分子的球形脂滴。在此过程中,胃脂酶可水解一部分的 TAGs,生成甘油二酯(Diacylglycerols, DAGs)和 FFAs^[32]。研究表明,虽然在

胃中只有 10%~30% 的 TAGs 分解,但脂质在胃中的预消化却是人体代谢脂质至关重要的一步。期间产生的 FFAs 将有助于小肠内脂质的乳化,并且还能提高脂肪酶的活性^[33]。当各组分进入十二指肠后,脂质组分在胃脂酶和胰腺酶的协同作用下开始最终的消化反应^[32-33]。胰脂酶是人体胰腺分泌的一种 Sn-1,3 位特异性脂肪酶,能将 TAGs 水解成 2-甘油一酯(Monoacylglycerols, MAGs)和 FFAs^[32]。对于甘油骨架上 Sn-1,3 位连有不同饱和度的脂肪酸,胰脂酶会展现出不同的水解效率。当 PUFAs 连接在 Sn-1 或 Sn-3 位时,由于双键靠近羧基形成空间位阻,胰脂酶的活性被降低,消化速率变慢^[34]。

故 PUFAs 多位于 Sn-1,3 的海豹、鲸鱼等海洋哺乳类 TAGs 的生物利用率, 低于 PUFAs 多位于 Sn-2 位的鱼类^[35]。PLs 被磷脂酶分解为溶血磷脂酸(Lysophosphatidic acid, LPAs)和 FFAs。EE 型 ω -3 PUFAs 则被胰腺分泌的羧基酯脂肪酶(Carboxylester lipase, CEL)分解, 生成乙醇和 FFAs, 而产物乙醇不仅会增加肝脏的负担, 而且对于乙醇不耐受人群可能会产生不良反应。与 EEs 相比, FFA 型 ω -3 PUFAs 无需酶解就能被小肠上皮细胞直接吸收, 故 FFA 型 ω -3 PUFAs 的生物利用率要高于 EEs 型。

TAGs、PLs、EEs 酶解后的各种产物在 BS、CL 的作用下, 高度乳化形成混合微团, 这将有助于各脂质成分在含水肠腔内溶解, 供小肠上皮细胞吸收。在肠道不断蠕动下, 各脂质分子通过小肠细胞质膜的磷脂双层被动扩散, 或通过小肠细胞刷状缘膜中特定蛋白质的主动转运吸收进入小肠上皮细胞^[33]。2-MAG 在小肠上皮细胞的内质网中利用甘油一酯酰基转移酶(Monoacylglycerol acyltransferase, MGAT)与甘油二酯酰基转移酶(Diacylglycerol acyltransferase, DGAT)重新酯化生成 TAG; LPA 先由 1-酰基甘油-3-磷酸酰基转移酶(1-Acyl-glycerol-3-phosphate acyltransferase, AGPAT)酰基化生成磷脂酸(Phosphatidic acid, PA), 进而转化为 DAG, 最终也酯化为 TAG; CL 在酰基辅酶 A: 胆固醇酰基转移酶(Acyl-CoA: cholesterol acyltransferase, ACAT)催化下生成胆固醇酯(Cholesterol esters, CE), 并在微粒体甘油三酯转运蛋白(Microsomal triglyceride transfer protein, MTP)的促进下, TAG 连接 CE 和载脂蛋白 B(Apolipoprotein B, ApoB)形成乳糜微粒, 最终通过淋巴进入循环。

脂质分子体内代谢是一个复杂的物理化学过程, 受多种因素影响, 主要包括脂质分子结构、人体代谢能力、食物的基质效应等, 这些因素最终会导致 ω -3 PUFAs 产生不同的生物利用率和临床疗效^[36]。针对不同结构的 ω -3 PUFAs 研究者开展了一系列体内实验, 按照实验对象和周期可将研究分别划分为人体、动物实验和长期、短期实验, 如表 3 所示。大量实验结果显示, FFA 形式的 ω -3 PUFAs 生物利用率最高, 并且生物耐受性

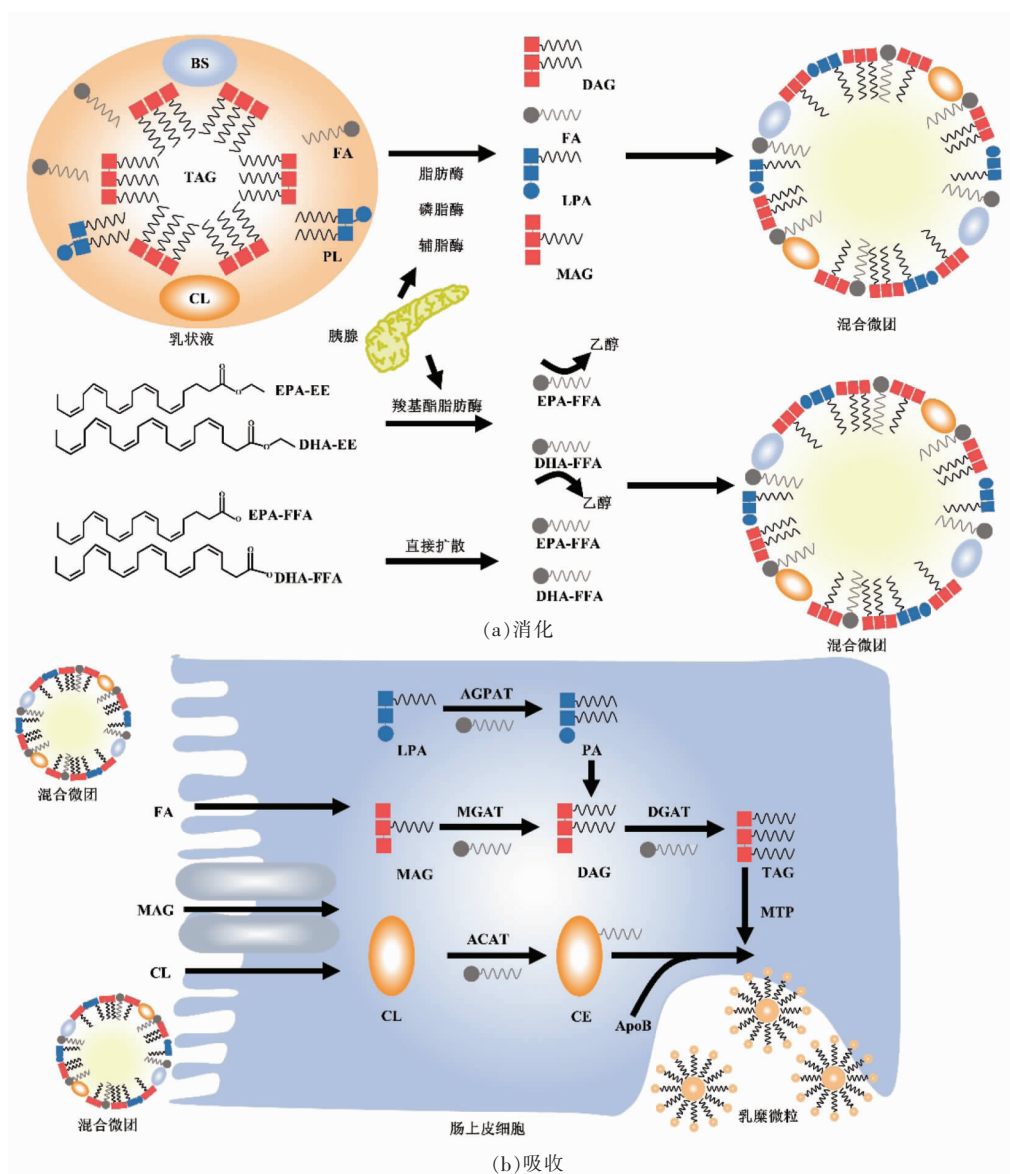
好, 然而长期服用可能会引起常见的胃肠道副作用, 如恶心、腹痛、腹泻^[37-40]。EE 型 PUFAs 化学稳定性优于 FFAs 型, 然而其在体内充分的吸收依赖 CEL 的辅助, 尤其是在禁食或低脂肪摄入的情况下^[41]。Beckermann 等^[38]、Lawson 等^[39]和 Reis 等^[42]都证实了 EE 型 PUFAs 在人体内的生物利用率是最低的。此外, 在 24 名健康受试者的低脂肪膳食摄入下, 通过分析 24 h 内血浆中 EPA 和 DHA 变化, Cuenoud 等^[36]发现直接服用 MAG 型 PUFAs 的受试者对 EPA 和 DHA 的生物利用率显著高于 EE 型。此结论与 Chevalier 等^[43]一致, 并且 Chevalier 在实验中还发现女受试者对 EE 型 PUFAs 展现了更强的消化吸收能力。由表 3 中大鼠、人体的体内实验可知, TAGs 与 PLs 的生物利用率高、低并无明确结论。主要是由于磷虾油中 PLs 含量会对其生物利用率产生较大影响。通常磷虾油中 PLs 的含量在 19%~81%, 当以低含量 PLs 的磷虾油作为受试者的膳食补充剂, 可能会导致 PLs 与 TAGs 之间生物利用率的差异性减小, 甚至消失^[44]。研究者可先考虑选择合适的分离纯化方法提纯磷虾油中的 PLs, 在保证鱼油和磷虾油 ω -3 PUFAs 相同或接近的前提下, 以高纯度的 PLs 和 TAGs 进行体内实验。

4 ω -3 PUFAs 的分离纯化方法

海洋生物中含有丰富的 ω -3 PUFAs, 尤其是 EPA 和 DHA。日常生活中通过膳食补充一定量的海产品将有益身体健康, 然而由于多数海洋生物体内 ω -3 PUFAs 的含量普遍不高, 想要通过膳食摄入从而达到对心脑血管疾病、炎症、癌症、老年痴呆症等疾病的防治效果, 往往需要补充大量的海产品。因此, 优化和创新制备高纯度 ω -3 PUFAs 的方法一直是现代食品、药品领域中重要的研究课题。

4.1 低温结晶法

低温结晶法(Low temperature crystallization)富集 ω -3 PUFAs 的原理是根据不同饱和度的脂肪酸在不同温度和溶剂中溶解度的差异进行分离。随着温度降低, 高熔点的 SFAs 以及部分 MUFAs 先结晶析出, 而 PUFAs 则保留在液相中。如表 4 所示, 低温结晶法不仅能有效富集 FFA、

图 3 膳食脂类消化和吸收过程^[32,45]Fig.3 The process of dietary lipid digestion and absorption^[32,45]

TAG 型 EPA 和 DHA, 而且对 MAG 型 PUFAs 的提纯也具有一定效果。正己烷、丙酮、乙腈、乙醇、甲醇等都是低温结晶法常用的溶剂, 然而对于富集不同类型的脂肪酸, 各溶剂展现出较大差异^[29,49]。Zhang 等^[50]采用低温结晶法富集 FFA 型 PUFAs 时, 结果显示乙腈的富集效果最佳, 当 2 组试验于最优条件下进行, EPA 和 DHA 总纯度分别上升了 35.2% 和 18.5%。相较于单链脂肪酸, 甘油骨架上连有 3 个脂肪酸的 TAGs 极性较小。因此, 当 TAGs 与甲醇、乙腈等极性较大的溶剂混溶时, 难以形成均匀的混合层。在前人的研究中, 丙酮不仅

对 TAGs 有较强的溶解能力, 而且还具有较低熔点、低黏度等优点, 是富集植物油中 TAG 型 ω -3 PUFAs 的理想溶剂^[51]。Mu 等^[49]采用低温结晶法富集藻油中的 DHA, 在最优反应条件下, 丙酮作为低温结晶溶剂, 油溶质量比为 1:8, 结晶温度 -80°C , 结晶时间 4 h, DHA 含量达到了 53.87%, 得率为 62.46%。对比表 4 中不同脂肪酸类型的裂壶藻、长尾鳕富集后 EPA、DHA 增量可知, 富集 TAG 型 EPA、DHA 的难度大于 FFA 型。原因在于原料鱼油或藻油的 TAGs 分子连接的 3 个脂肪酸饱和程度可能不同, 并且低温结晶法并不能改变 TAG

表3 不同结构的 ω -3 PUFAs生物利用率Table 3 Bioavailability of ω -3 PUFAs with different structures

EPA+DHA 剂量	实验对象	检测指标	实验周期	结果
TAG,FFA,EE:1 000 mg EPA, 670 mg DHA ^[39]	8名健康男性	血浆中EPA和DHA含量	8 h	FFA>TAG>EE
MAG:1 655 mg EPA,1 275 mg DHA;FFA:1 700 mg EPA,1 380 mg DHA;EE:1 748 mg EPA, 1 516 mg DHA ^[36]	9名健康男性,15名健康女性	血浆中EPA和DHA含量	24 h	MAG/FFA>EE
MAG,EE:1 800 mg EPA,1 200 mg DHA ^[43]	10名健康男性,10名健康女性	血浆中EPA和DHA的含量	24 h	MAG>EE
FO EE,FO TAG,KO:816 mg EPA,522 mg DHA ^[44]	66名健康受试者	血浆、红细胞中EPA和DHA的含量	4周	血浆、红细胞EPA和DHA变化:FO EE、FO TAG、KO无显著性差异
FO:216 mg EPA,90 mg DHA; KO:212 mg EPA,178 mg DHA ^[46]	76名肥胖的受试者	血浆EPA和DHA含量	1个月	FO、KO无显著性差异
FO:760 mg EPA,420 mg DHA; KO:790 mg EPA,470 mg DHA ^[47]	11名健康女性	血浆中EPA和DHA的含量	1个月	血浆EPA变化:KO>FO 血浆DHA变化:KO、FO无显著性差异
TAG:147 mg DHA; MAG:171 mg DHA; PL:208 mg DHA ^[48]	80只雄性大鼠	血浆、红细胞、视网膜、脑组织中DHA的含量	2个月	血浆DHA变化:PL>MAG/TAG 红细胞DHA变化:PL>MAG>TAG 视网膜、脑组织DHA变化:PL、MAG、TAG无显著性差异
MAG:249 mg EPA, 161 mg DHA;TAG:258 mg EPA, 188 mg DHA (4~10岁) MAG:498 mg EPA, 322 mg DHA;TAG:516 mg EPA, 376 mg DH(11~18岁) ^[36]	16名囊性纤维化患者	肠道、血浆中EPA和DHA含量	84 d	肠道EPA和DHA变化:MAG、TAG无显著性差异;血浆中EPA和DHA变化:MAG、TAG无显著性差异
TAG:3 700 mg EPA,2 500 mg DHA EE:3 400 mg EPA,1 400 mg DHA ^[42]	89名冠心病患者	血浆中PL型EPA和DHA的含量	6个月	无显著性差异

注:FO. 鱼油;KO. 磷虾油。

表4 低温结晶法富集不同结构的EPA和DHA

Table 4 Enrichment of EPA and DHA with different structures by low temperature crystallization

脂肪酸来源	脂肪酸类型	溶剂体系	富集后EPA增量/%	富集后DHA增量/%
裂壶藻 ^[49]	FFA	乙腈	-	27.3
裂壶藻 ^[49]	TAG	丙酮	-	15.2
金枪鱼 ^[50]	FFA	乙腈	7.2	28.0
沙丁鱼 ^[52]	FFA	正己烷	17.1	8.0
鳕鱼 ^[53]	TAG	丙酮	10.6	10.2
长尾鳕 ^[54]	TAG	正己烷	1.4	3.5
金枪鱼 ^[55]	MAG	乙腈	富集后PUFA增量16.9	

注:.-表示原文献中未提及具体数值。

分子结构。因此在富集 EPA 和 DHA 时, TAGs 甘油骨架上会保留一部分 SFAs 或 MUFAs。

低温结晶法有操作简便, 对设备要求低, 有效成分不易变性等优点, 常用于 ω -3 PUFAs 初步富集。然而此法需要使用大量的有机试剂, 可能存在溶剂残留的问题, 而且目标产物的分离效率与得率都较低, 因此难以实现工业化大规模生产。

4.2 尿素包合法

尿素晶体是直径为 5.5~5.8 Å 的六面体结构, 碳原子数目大于 6 个的线性脂肪酸能与尿素形成稳定的包合物, 在低温下结晶析出^[56]。而如 EPA、DPA、DHA 等脂肪酸中含有多个双键, 导致其碳链弯曲, 线性变差, 难以与尿素形成稳定的包合物, 基于此原理尿包法能有效富集分离鱼油或海豹油中的 ω -3 PUFAs。对于包合物的形成, 常用甲醇或乙醇来提高尿素与脂肪酸的接触。研究发现, 采用尿包法富集 PUFAs 时, 甲醇或乙醇可能会与尿素反应, 产生有遗传毒性且潜在致癌的氨基甲酸甲酯 (Methyl carbamate, MC) 或氨基甲酸乙酯 (Ethyl carbamate, EC)^[57]。Vazquez 等^[57]对比不同的环境和反应条件下, 以尿包法富集向日葵油、蓝蓟油、鱼油中 PUFAs 后, 非尿包相 (Non-urea complexation fraction, NUCF) 中 EC 的含量。结果表

明, 在高温和室温环境下, 3 种油脂的 NUCF 中都检测到了 EC, 其中各组在高温环境下 EC 的含量均高于室温, 尤其是在鱼油组中两者之间差距达到了近 17 倍。然而, 研究者发现通过 40% (体积分数) 酸性水 (含 1% H_2SO_4) 和 40% (体积分数) 蒸馏水 2 次清洗后, 各组 NUCF 中 EC 均未被检出。由此可见, 充分水洗不仅可以去除尿素和其它极性物质, 还有助于除去 EC。因此, 以尿包法富集的 EPA 和 DHA 等 ω -3 PUFAs 作为动物实验的口服试剂时, 为防止高含量 EC 对动物体质造成潜在影响, 研究者应对尿包后的产物进行充分的清洗^[58]。

如表 5 所示, 尿脂比、结晶温度、结晶时间是尿包法最主要的试验参数, 研究者通过优化上述反应条件从而获得高含量 ω -3 PUFAs。通常富集后 ω -3 PUFAs 的纯度在 60%~80%, 具体差距因原料和反应条件而异。虽然, 尿包法只能分离饱和或部分单不饱和的单链脂肪酸, 并且难以将长碳链、高不饱和度的 PUFAs 进一步分离, 然而由于其工艺成熟, 反应条件温和, 操作简单, 生产成本低等优点, 现被广泛应用于 ω -3 PUFAs 的初步富集。

表 5 尿素包合法富集 ω -3 PUFAs

Table 5 Enrichment of ω -3 PUFAs by urea complexation

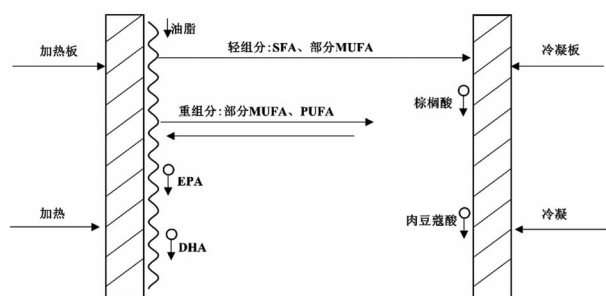
脂肪酸来源及其类型	尿脂比 (质量比)	结晶温度/ °C	结晶时间/ h	起始 ω -3 PUFA/ %	尿包后 ω -3 PUFA/ %	得率/ %
鳕鱼 EE ^[59]	4:1	4	-	24.8	96.2	SDA+EPA+DHA 82.1
沙丁鱼 EE ^[60]	1.9:1	-1	18	30.0	65.6	EPA+DHA 46.8
金枪鱼 FFA ^[56]	1.6:1	-8	16	36.3	73.1	EPA 91.6 DPA 86.9 DHA 91.9
鲱鱼 EE ^[57]	15:1	21	20	32.5	62.6	ω -3 PUFA 68.7
海豹 EE ^[61]	2.38:1	15	2.5	21.9	71.4	HUFA 82.3
海豹 FFA ^[30]	3.7:1	1.3	17.5	18.3	79.6	DPA 48.5
三文鱼 FFA ^[62]	6:1	-18	14.8	20.5	87.2	-

注: HUFA=EPA+DPA+DHA; - 表示原文献中未提及具体数值。

4.3 分子蒸馏法

分子蒸馏 (Molecular distillation) 又称短程蒸馏 (Short-path distillation), 是一种在高真空下利用不同物质分子平均自由程差异进行液液分离的技术, 由于其操作温度低、真空度高、受热时间短, 特别适合分离黏度大、沸点高、热敏性物质^[63]。分

子蒸馏原理如图 4 所示, 在一定温度和真空度下, 由于混合液中 SFA 和 MUFA 自由程较小, 可以到达冷凝管从轻相凝结而出, 而 EPA、DPA、DHA 自由程较大, 则会沿着加热板从重相流出。张红燕等^[64]探究了多级分子蒸馏对脂肪酸富集效果的影响, 结果表明随着分子蒸馏级数的上升, EPA 和

图4 分子蒸馏原理示意图^[63]Fig.4 Schematic diagram of molecular distillation principle^[63]

DHA的富集效果呈先上升后下降的趋势,其中二级分子蒸馏效果最佳,EPA和DHA总含量达到了84.26%。分子蒸馏不仅可以实现对EPA和DHA的有效富集,而且在粗鱼油精制过程中发挥重要作用。研究表明,粗鱼油经过分子蒸馏处理后,酸值、过氧化值、茴香胺值以及非皂化物含量均显著减小^[65]。然而,分子蒸馏并不能完全取代鱼油的精制,因为粗鱼油经分子蒸馏后可能还存在大量的非皂化物、色素和重金属,此时的鱼油还需进一步脱胶和脱色,使其各项理化指标达到水产行业标准。此外,为进一步提高产物中EPA和DHA的含量,研究者通常将分子蒸馏与尿包法结合。Lin等^[60]通过联合尿包法与分子蒸馏法,并利用响应面法优化反应条件,最终将EPA和DHA的含量由30%提升至83.6%。分子蒸馏法还可以将酶法反应后的混合产物中甘油酯型 ω -3 PUFAs进一步纯化,Li等^[66]利用两步酶法富集得到TAG和EE混合产物,在140℃下分子蒸馏,重相中TAG的纯度达到了98.75%,其中甘油酯型 ω -3 PUFAs达到了88.44%。

分子蒸馏法设备简单,操作温度低,自动化程度高,分离过程绿色环保且无毒害气体排放。然而,分子蒸馏法并不能用于富集TAGs或PLs型 ω -3 PUFAs,并且对EEs型EPA和DHA进一步分离还存在较大难度。因此,为获得高纯度EPA、DPA、DHA单体还需要将分子蒸馏与其它分离纯化方法结合。

4.4 脂肪酶法

脂肪酶法制备结构脂质(Structured lipids, SLs)是近些年的研究热点,其催化反应原理是基

于脂肪酶对甘油酯位置和脂肪酸酰基选择性的差异,主要分为3种方法:水解法、酯化法、酯交换法。富集高含量 ω -3 SLs的首要条件是选择合适的脂肪酶。如表6所示,Lipozyme RM IM、Novozym 435、Lipozyme 435和Lipozyme TL IM都是较为成熟的固定化酶,广泛应用于富集SLs,其中Novozym 435是学术界和工业界使用最广泛的商业脂肪酶^[67]。Wang等^[68]发现一种源于海洋链霉菌属菌株W007的热稳定脂肪酶(MAS1),以树脂XAD1180作为固定化MAS1酶的载体,并比较了固定化MAS1酶与Novozym 435酶的催化效率。结果显示,固定化MAS1酶的酯化率与TAGs合成率均高于Novozym 435。此后,研究者以同种固定化酶催化EEs与磷脂酰胆碱酯化,在最优条件下, ω -3 PUFAs结合率为43.55%^[69]。如表6所示,上述3种酶法富集后的产物均为混合物,通常需要采用多步酶法或联合其它方法如分子蒸馏法、液-液溶剂提取法,进一步分离出高纯度的目标产物。He等^[70]先以Lipozyme TL IM酶催化醇解TAGs得到EEs、甘油酯混合物,随后以150℃的分子蒸馏将EEs与甘油酯分离,最终得到甘油酯型DPA和DHA分别为17.9%和70.3%。而分子蒸馏法难以将MAGs、DAGs、TAGs完全分离,过高蒸馏温度会使油脂发生碳化。Zhang等^[55]醇解金枪鱼油后得EEs和甘油酯混合物,将其先后溶于10 mL正己烷和10 mL 85%乙醇溶液中,由于极性的差异MAG会富集在含水的乙醇层,经过3次提取,2-MAG含量在94%以上。

与传统方法相比,脂肪酶法反应条件温和,选择性高,可富集更易被人体吸收的甘油酯型或磷脂型EPA和DHA,而此法存在脂肪酶种类少,易失活,反应产物难以分离等问题,未来还需研究者进一步探索和总结。

4.5 色谱法

色谱法是分离天然产物中高纯单体或同分异构体中广泛使用的方法,其分离原理是基于各组分在固定相和流动相之间的分配差异。如表7所示,色谱法在分离EPA-EE和DHA-EE高纯单体的试验中效果显著。Oh等^[73]先以固定相为C18的半制备型高效液相色谱(High performance liquid chromatography, HPLC)分离纯化DHA,选择

表 6 酶法富集结构脂质

Table 6 Enzymatic enrichment of structural lipids

反应类型	底物	酶	结果
酯化 ^[71]	甘油和沙丁鱼油 (FFA 型含 16.8%EPA 和 12.3%DHA)	Lipozyme RM IM	FFA:13.2%EPA 和 50.0%DHA 甘油酯:80.0%酯化率, 其中含 20.1% EPA 和 3.5%DHA
酯交换和水解 ^[69]	TAG 和 EPA/DHA-EE (39.6% EPA 和 43.2%DHA)	Novozym 435 和 固定化 SMG1-F278N	98.8%TAG, 其中含 88.4% ω -3 PUFA
酯化 ^[68]	甘油和 EPA/DHA-FFA (38.8% EPA 和 45.2%DHA)	Novozym 435 和 固定化 MAS1	酯化率: 固定化 MAS1 (99.3%) > Novozym 435 (82.2%) TAG 含量: 固定化 MAS1 (92.3%) > Novozym 435 (47.3%), 前者含 38.8% EPA 和 45.0%DHA
水解和酯交换 ^[72]	鱼油 (TAG 型含 19.3%EPA 和 13.1%DHA)	AY “Amano” 400SD 和 Novozym 435	路线一:97.6%TAG, 其中含 28.2%EPA 和 21.4%DHA 路线二:95.9%TAG, 其中含 25.6%EPA 和 17.4%DHA
水解 ^[55]	金枪鱼油 (TAG 型含 7.1% EPA 和 26.9%DHA)	Lipozyme 435	94.2% 2-MAG, 其中含 6.0% EPA, 53.2%DHA
水解 ^[70]	藻油 (TAG 型含 45.9%DHA)	Lipozyme TL IM	6.6% MAG, 45.8% DAG 和 47.6% TAG, 其中含 17.9%DPA 和 70.3%DHA

甲醇:水(体积比 96:4)作为流动相,分离出纯度为 98.5%的 DHA-EE。随后逐步放大至进样量为 1 200 mg 的制备型 HPLC, 最终得到 DHA-EE 的纯度和得率分别为 99.0%和 79.8%。由于 EPA 或 DHA 存在多个双键,易与银离子形成可逆的极性络合物,因而银离子硅胶色谱可用于分离脂肪酸甲酯或乙酯。然而,由于银离子与硅胶表面的静电作用力较弱,易被流动相中极性溶剂洗脱至样品中,从而导致样品受污染、实验重现性降低并且可能导致分析型检测器出现问题,故此项技术仍停留在实验室阶段。研究表明,将银离子固载于疏丙基硅胶上,同时选择低极性的流动相,会极大提高银离子在固定相上的稳定性^[74]。Dillon 等^[74]选用以 AgTCM 为固定相,正庚烷:丙酮(体积比 95:5)为流动相的 HPLC,5~10 min 就可分离出纯度均超过 95%的 EPA 和 DHA。

高速逆流色谱 (High-Speed countercurrent chromatography, HSCCC)作为一种新型的液-液分配色谱,无需固态载体,因此有效避免了分离组分被固定相不可逆吸附。吴兵兵^[75]报道了以 HSCCC 从裂壶藻中分离纯化 DHA 的工艺,通过单因素和

响应面法优化试验参数,在最优条件下,分两步纯化,得到纯度超过 99%的 DHA。近年来,模拟移动床 (Simulated moving bed, SMB) 色谱开始运用于脂肪酸的分离纯化。研究表明, SMB 色谱不仅可以实现 EPA 和 DHA 高效分离,而且有效避免流动相溶剂的大量使用。Wei 等^[76]利用三区域 SMB 工艺,将原料中纯度为 50.9%的 EPA 和 39.8%的 DHA 分别提升至 97.6%和 94.5%。Li 等^[77]串联 8 根 C18 柱 (10 μ m, 120 \AA) 形成 SBM 系统,以纯甲醇为流动相,最终将 EPA 和 DHA 的相对纯度提升超过 99%。然而,无论是银离子正相色谱、HPLC、HSCCC,还是 SMB 色谱都存在使用一种或多种有机溶剂的情况。作为兼顾气相色谱和液相色谱优点的超临界流体色谱 (Supercritical fluid chromatography, SFC),通常是以 CO₂ 作为流动相,在提纯分离 EPA 和 DHA 过程中减少甚至消除了有机溶剂的使用。Montanes 等^[78]采用一步式 SFC 提纯分离藻油和鱼油中的 EPA 和 DHA,并探究压力、温度、进样量、助溶剂、CO₂ 流速、色谱柱对纯化效果的影响。结果显示,色谱柱填料粒径是影响试验结果最显著的参数,并且在最优条件下,藻油

和鱼油中 EPA 的纯度都超过 95%。由此可见,SFC 不仅可以富集出高纯度 EPA 或 DHA,而且其工艺条件温和且环保,因此在未来制备高纯度的 ω -3 PUFAs 方面拥有广阔的应用空间。

上述色谱方法均可以分离纯化出高纯度 EPA-EE 或 DHA-EE,然而对于结构复杂且含有

大量同分异构体的 TAG 或 PL 却难以实现有效分离。色谱法联用质谱或核磁共振是检测与鉴定 TAG 或 PL 结构常用的方法,未来研究者可以探索基于液质联用或核磁共振,对已知结构富含 ω -3 PUFAs 的 TAG 或 PL 色谱分离的方法。

表 7 色谱法制备高纯度 EPA-EE 或 DHA-EE

Table 7 Preparation of high purity EPA-EE or DHA-EE by chromatography

方法	固定相	流动相及其体积比	纯度/%
银离子色谱 ^[56]	硝酸银和硅胶	丙酮:正己烷(梯度洗脱)	EPA 91.9,DHA 99.5
高效液相色谱 ^[74]	AgTCM	正庚烷:丙酮(95:5)	EPA>95,DHA>99
高效液相色谱 ^[73]	ODS	甲醇:水(96:4)	DHA 99.0
高速逆流色谱 ^[75]	-	第一步:正庚烷-乙酸乙酯-甲醇-水(15:1:15:1) 第二步:正庚烷-甲醇-水(5:6:1)	DHA 99.6
模拟移动床色谱 ^[76]	ODS	甲醇:水(6:4)	EPA 97.6,DHA 94.5
超临界流体色谱 ^[78]	硅胶	CO ₂	EPA>95

注:ODS. 十八烷基硅烷键合硅胶;AgTCM. 硫醇银色谱材料。

5 展望

ω -3 PUFAs 具有多种生理功效,广泛应用于炎症、癌症、心血管疾病以及糖尿病预防方面,并且对视觉系统发育和大脑机能的提升效果显著。海洋生物含有丰富的 ω -3 PUFAs,是人类膳食补充最主要的来源。海洋藻类养殖受季节因素影响小、藻油中 ω -3 PUFAs 含量高并且无不良气味,逐渐替代鱼油作为膳食补充剂、营养强化剂和婴幼儿配方食品。南极磷虾油生物贮藏量大,含有 PL 型 ω -3 PUFAs、虾青素、脂溶性维生素等多种有益成分,如今已成为海洋功能性脂质的研究热点。探究不同化学结构的 ω -3 PUFAs 在人体内代谢差异,对海洋功能食品的研究与开发意义深远。然而,现阶段各种体内代谢研究还存在诸多缺陷亟待解决。例如:在未来研究中各试验组提供的 EPA 和 DHA 剂量应保持一致,顺式和反式的 EPA 和 DHA 代谢差异性还需继续探索,受试者基数和检测指标应进一步增加。

现如今,提纯分离 EE 型 ω -3 PUFAs 的技术已经很成熟,联合多种方法即可得到纯度大于 99% 的 EPA 或 DHA,其中符合绿色环保理念的 SFC 是未来大规模生产高纯 ω -3 PUFAs 的理想技术。然而,对于富集拥有复杂分子结构的 TAG 或 PL 型 ω -3 PUFAs 仍面临许多困难和瓶颈。传

统方法如尿素包合法、分子蒸馏法等都无法达到富集的目的;低温结晶法往往需要使用大量有机试剂,而且富集分离后 EPA 和 DHA 的含量和产量都较低;酶法作为一种高效富集 SLs 的方法,反应条件温和,选择性强,具有广阔的应用前景。然而酶法面临脂肪酶易失活,种类单一,反应后产物难以分离等问题。在未来研究者需将酶法与其它脂肪酸分离纯化的方法结合起来,在此基础上开发绿色溶剂、探索新型酶源以及优化各步骤试验参数,以期获得高纯度的 TAG 或 PL 型 ω -3 PUFAs。

参 考 文 献

- [1] CALDER P C. Marine omega-3 fatty acids and inflammatory processes: Effects, mechanisms and clinical relevance [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*, 2015, 1851(4): 469-484.
- [2] FREITAS R D S, CAMPOS M M. Protective effects of omega-3 fatty acids in cancer-related complications[J]. *Nutrients*, 2019, 11(5): 23.
- [3] WATANABE Y, TATSUNO I. Omega-3 polyunsaturated fatty acids for cardiovascular diseases: Present, past and future[J]. *Expert Rev Clin Pharmacol*, 2017, 10(8): 865-873.

- [4] ZIRPOLI H, CHANG C L, CARPENTIER Y A, et al. Novel approaches for omega-3 fatty acid therapeutics: Chronic versus acute administration to protect heart, brain, and spinal cord[J]. Annual review of nutrition, 2020, 40: 161-187.
- [5] 刘志国, 王丽梅, 王华林, 等. 多不饱和脂肪酸对大脑功能影响研究进展[J]. 食品科学, 2015, 36(21): 284-290.
- LIU Z G, WANG L M, WANG H L, et al. Recent advances in understanding the effects of polyunsaturated fatty acids on brain function[J]. Food Science, 2015, 36(21): 284-290.
- [6] HARWOOD J L. Algae: Critical sources of very long-chain polyunsaturated fatty acids[J]. Biomolecules, 2019, 9(11): 14.
- [7] ACHARYA P, UPPIN V, ZAREI M, et al. Role of n-3 fatty acids on bile acid metabolism and transport in dyslipidemia: A review[J]. Lipids, 2020, 56(2): 125-139.
- [8] VENEGAS-CALERON M, SAYANOVA O, NAPIER J A. An alternative to fish oils: Metabolic engineering of oil-seed crops to produce omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids[J]. Progress in Lipid Research, 2010, 49(2): 108-119.
- [9] WILLIAMS C M, BURDGE G. Long-chain n-3 PUFA: Plant v. marine sources[J]. The Proceedings of the Nutrition Society, 2006, 65(1): 42-50.
- [10] RINCON-CERVERA M A, GONZALEZ-BARRIGA V, ROMERO J, et al. Quantification and distribution of omega-3 fatty acids in south pacific fish and shellfish species[J]. Foods, 2020, 9(2): 16.
- [11] DURMUS M. Fish oil for human health: Omega-3 fatty acid profiles of marine seafood species[J]. Food Sci Technol, 2019, 39(6): 454-461.
- [12] MAULVAULT A L, CARDOSO C, NUNES M L, et al. Risk-benefit assessment of cooked seafood: Black scabbard fish (*Aphanopus carbo*) and edible crab (*Cancer pagurus*) as case studies[J]. Food Control, 2013, 32(2): 518-524.
- [13] FLOCK M R, HARRIS W S, KRIS-ETHERTON P M. Long-chain omega-3 fatty acids: Time to establish a dietary reference intake[J]. Nutrition reviews, 2013, 71(10): 692-707.
- [14] KRIS-ETHERTON P M, GRIEGER J A, ETHERTON T D. Dietary reference intakes for DHA and EPA [J]. Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 2009, 81(2/3): 99-104.
- [15] 吴琛, 姜楠, 田文雪, 等. Δ 12/ Δ 15 脂肪酸脱饱和酶在发酵食品中应用的研究进展[J]. 食品科学, 2021, 42(3): 296-310.
- WU C, JIANG N, TIAN W X, et al. Advances in the application of Δ 12/ Δ 15 fatty acid desaturases in fermented foods[J]. Food Science, 2021, 42(3): 296-310.
- [16] SHAHIDI F, AMBIGAIPALAN P. Omega-3 polyunsaturated fatty acids and their health benefits[M]// DOYLE M P, KLAENHAMMER T R. Annual Review of Food Science and Technology, Vol 9. Palo Alto; Annual Reviews. 2018: 345-381.
- [17] AHMMED M K, AHMMED F, TIAN H, et al. Marine omega-3 (n-3) phospholipids: A comprehensive review of their properties, sources, bioavailability, and relation to brain health[J]. Compr Rev Food Sci Food Saf, 2020, 19(1): 64-123.
- [18] ZHANG T T, XU J, WANG Y M, et al. Health benefits of dietary marine DHA/EPA-enriched glycerophospholipids [J]. Progress in Lipid Research, 2019, 75: 24.
- [19] GULZAR S, RAJU N, NAGARAJARAO R C, et al. Oil and pigments from shrimp processing by-products: Extraction, composition, bioactivities and its application- A review[J]. Trends Food Sci Technol, 2020, 100: 307-319.
- [20] WANG J, WANG X D, ZHAO X Y, et al. From microalgae oil to produce novel structured triacylglycerols enriched with unsaturated fatty acids[J]. Bioresour Technol, 2015, 184(9): 405-414.
- [21] KHAN W A, HU C M, KHAN N, et al. Bioengineered plants can be a useful source of omega-3 fatty acids[J]. Biomed Res Int, 2017, 2017: 9.
- [22] PELTOMAA E, JOHNSON M D, TAIPALE S J. Marine cryptophytes are great sources of EPA and DHA[J]. Mar Drugs, 2018, 16(1): 11.
- [23] NAPIER J A, USHER S, HASLAM R P, et al. Transgenic plants as a sustainable, terrestrial source of fish oils[J]. Eur J Lipid Sci Technol, 2015, 117(9): 1317-1324.
- [24] HE Y J, LI J B, KODALI S, et al. The near-ideal catalytic property of *Candida antarctica* lipase A to highly concentrate n-3 polyunsaturated fatty acids in monoacylglycerols via one-step ethanolysis of triacylglycerols[J]. Bioresour Technol, 2016, 219(21):

- 466–478.
- [25] MU H Y, ZHANG H J, LI Y, et al. Enrichment of DPAn-6 and DHA from *Schizochytrium* sp. oil by low-temperature solvent crystallization[J]. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2016, 55 (3): 737–746.
- [26] SCURRIA A, TIXIER A S F, LINO C, et al. High yields of shrimp oil rich in omega-3 and natural astaxanthin from shrimp waste [J]. *ACS Omega*, 2020, 5(28): 17500–17505.
- [27] SURH J, RYU J S, KWON H. Seasonal variations of fatty acid compositions in various Korean shellfish [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(6): 1617–1622.
- [28] LATYSHEV N A, KASYANOV S P, KHARLAMENKO V I, et al. Lipids and of fatty acids of edible crabs of the north-western Pacific[J]. *Food Chem*, 2009, 116(3): 657–661.
- [29] ZHANG Y, WANG X S, XIE D, et al. One-step concentration of highly unsaturated fatty acids from tuna oil by low-temperature crystallization[J]. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 2017, 94 (3): 475–483.
- [30] MU H Y, LI X D, JIN Q Z, et al. Preparation of highly purified omega-3 docosapentaenoic acid from seal oil via urea complexation combined with preparative high performance liquid chromatography [J]. *Sep Sci Technol*, 2021, 56(10): 1769–1778.
- [31] ZHENG Z X, DAI Z Y, CAO Y L. Isolation, purification of DPAn-3 from the seal oil ethyl ester[J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2018, 120(11): 8.
- [32] SHI Y, BURN P. Lipid metabolic enzymes: Emerging drug targets for the treatment of obesity[J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2004, 3(8): 695–710.
- [33] FAVE G, COSTE T C, ARMAND M. Physicochemical properties of lipids: New strategies to manage fatty acid bioavailability [J]. *Cellular and Molecular Biology (Noisy-le-Grand, France)*, 2004, 50(7): 815–831.
- [34] MICHALSKI M C, GENOT C, GAYET C, et al. Multiscale structures of lipids in foods as parameters affecting fatty acid bioavailability and lipid metabolism[J]. *Progress in Lipid Research*, 2013, 52 (4): 354–373.
- [35] 张瑜. DHA 和 2-DHA-单甘酯的制备纯化及调节 HepG2 细胞脂质代谢的比较研究[D]. 无锡: 江南大学, 2019.
- ZHANG Y. Preparation and purification of DHA and 2-DHA-MAG and their regulation of lipid metabolism in HepG2 cells [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019.
- [36] CUENOUD B, ROCHAT I, GOSONI M L, et al. Monoacylglycerol form of omega-3s improves its bioavailability in humans compared to other forms[J]. *Nutrients*, 2020, 12(4): 1014.
- [37] GHASEMIFARD S, TURCHINI G M, SINCLAIR A J. Omega-3 long chain fatty acid "bioavailability": A review of evidence and methodological considerations[J]. *Progress in Lipid Research*, 2014, 56(4): 92–108.
- [38] BECKERMANN B, BENEKE M, SEITZ I. Comparative bioavailability of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid from triglycerides, free fatty acids and ethyl esters in volunteers[J]. *Arzneimittel-Forschung*, 1990, 40(6): 700–704.
- [39] LAWSON L D, HUGHES B G. Human absorption of fish oil fatty acids as triacylglycerols, free acids, or ethyl esters[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1988, 152(1): 328–335.
- [40] ZHAO A, LAM S. Omega-3-carboxylic acid (epanova) for hypertriglyceridemia[J]. *Cardiology in Review*, 2015, 23(3): 148–152.
- [41] BREMMELL K E, BRISKEY D, MEOLA T R, et al. A self-emulsifying omega-3 ethyl ester formulation (AquaCelle) significantly improves eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid bioavailability in healthy adults[J]. *Eur J Nutr*, 2020, 59(6): 2729–2737.
- [42] REIS G J, SILVERMAN D I, BOUCHER T M, et al. Effects of two types of fish oil supplements on serum lipids and plasma phospholipid fatty acids in coronary artery disease[J]. *The American Journal of Cardiology*, 1990, 66(17): 1171–1175.
- [43] CHEVALIER L, PLOURDE M. Comparison of pharmacokinetics of omega-3 fatty acid supplements in monoacylglycerol or ethyl ester in humans: A randomized controlled trial[J]. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2020, 75(4): 680–688.
- [44] YURKO-MAURO K, KRALOVEC J, BAILEY-HALL E, et al. Similar eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid plasma levels achieved with fish oil or krill oil in a randomized double-blind four-week

- bioavailability study[J]. *Lipids Health Dis*, 2015, 14(1): 1-9.
- [45] DAVIDSON M H, JOHNSON J, ROONEY M W, et al. A novel omega-3 free fatty acid formulation has dramatically improved bioavailability during a low-fat diet compared with omega-3-acid ethyl esters: The ECLIPSE (Epanova (R) compared to Lovaza (R) in a pharmacokinetic single-dose evaluation) study[J]. *J Clin Lipidol*, 2012, 6(6): 573-584.
- [46] MAKI K C, REEVES M S, FARMER M, et al. Krill oil supplementation increases plasma concentrations of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in overweight and obese men and women[J]. *Nutrition Research*, 2009, 29(9): 609-615.
- [47] SUNG H H, SINCLAIR A J, HUYNH K, et al. Krill oil has different effects on the plasma lipidome compared with fish oil following 30 days of supplementation in healthy women: A randomized controlled and crossover study[J]. *Nutrients*, 2020, 12(9): 2804.
- [48] DESTAILLATS F, OLIVEIRA M, SCHMID V B, et al. Comparison of the incorporation of DHA in circulatory and neural tissue when provided as triacylglycerol (TAG), monoacylglycerol (MAG) or phospholipids (PL) provides new insight into fatty acid bioavailability[J]. *Nutrients*, 2018, 10(5): 12.
- [49] MU H, ZHANG H, LI Y, et al. Enrichment of DPA ω -6 and DHA from *Schizochytrium* sp. oil by low-temperature solvent crystallization[J]. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 2016, 55(3): 737-746.
- [50] ZHANG Y, WANG X, XIE D, et al. One-step concentration of highly unsaturated fatty acids from tuna oil by low-temperature crystallization[J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2017, 94(3): 475-483.
- [51] VÁZQUEZ L, AKOCH C C. Enrichment of stearidonic acid in modified soybean oil by low temperature crystallisation[J]. *Food Chem*, 2012, 130(1): 147-155.
- [52] MORALESMEDINA R, DE LEON G, MUNIO M M, et al. Mass transfer modeling of sardine oil polyunsaturated fatty acid (PUFA) concentration by low temperature crystallization[J]. *Journal of Food Engineering*, 2016, 183: 16-23.
- [53] LEI Q, BA S, ZHANG H, et al. Enrichment of omega-3 fatty acids in cod liver oil via alternate solvent winterization and enzymatic interesterification[J]. *Food Chem*, 2016, 199(3): 364-371.
- [54] TENGKU-ROZAINA T M, BIRCH E J. Enrichment of omega-3 fatty acids of refined hoki oil[J]. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 2013, 90(8): 1111-1119.
- [55] ZHANG Y, WANG X S, XIE D, et al. Synthesis and concentration of 2-monoacylglycerols rich in polyunsaturated fatty acids[J]. *Food Chem*, 2018, 250(3): 60-66.
- [56] MU H Y, JIN J, XIE D, et al. Combined urea complexation and argentated silica gel column chromatography for concentration and separation of PUFAs from tuna oil: Based on improved DPA level[J]. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 2016, 93(8): 1157-1167.
- [57] VAZQUEZ L, PRADOS I M, REGLERO G, et al. Identification and quantification of ethyl carbamate occurring in urea complexation processes commonly utilized for polyunsaturated fatty acid concentration[J]. *Food Chem*, 2017, 229(4): 28-34.
- [58] ESPINOSA A, ROSS A, DOVALE-ROSABAL G, et al. EPA/DHA concentrate by urea complexation decreases hyperinsulinemia and increases Plin5 in the liver of mice fed a high-fat diet[J]. *Molecules*, 2020, 25(14): 16.
- [59] MEDINA A R, GIMÉNEZ A G, CAMACHO F G, et al. Concentration and purification of stearidonic, eicosapentaenoic, and docosahexaenoic acids from cod liver oil and the marine microalga *Isochrysis galbana*[J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 1995, 72(5): 575-583.
- [60] LIN W, WU F W, YUE L, et al. Combination of urea complexation and molecular distillation to purify DHA and EPA from sardine oil ethyl esters[J]. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 2014, 91(4): 687-695.
- [61] ZHENG Z X, DAI Z Y, SHEN Q. Enrichment of polyunsaturated fatty acids from seal oil through urea adduction and the fatty acids change rules during the process[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2018, 42(5): 8.
- [62] DOVALE-ROSABAL G, RODRIGUEZ A, CONTRERAS E, et al. Concentration of EPA and DHA

- from refined salmon oil by optimizing the urea-fatty acid adduction reaction conditions using response surface methodology[J]. *Molecules*, 2019, 24(9): 12.
- [63] 饶华俊. 鳕鱼油皂脚中 EPA 和 DHA 分离富集工艺的研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2015.
- RAO H J. Separation and enrichment technologies for EPA and DHA from anchovy oil's soapstock[D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2015.
- [64] 张红燕, 崔晨茜, 袁贝, 等. 乙酯型金枪鱼油不同级分子蒸馏过程中脂肪酸含量及挥发性物质变化[J]. *食品科学*, 2017, 38(10): 208-214.
- ZHANG H Y, CUI C X, YUAN B, et al. Changes in fatty acid content and volatile substances in ethyl ester type tuna oil during distillation[J]. *Food Chemistry*, 2017, 38(10): 208-214.
- [65] OLIVEIRA A C M, MILLER M R. Purification of alaskan walleye pollock (*Gadus chalcogrammus*) and new zealand hoki (*Macruronus novaezelandiae*) liver oil using short path distillation[J]. *Nutrients*, 2014, 6(5): 2059-2076.
- [66] LI D M, WANG W F, QIN X L, et al. A novel process for the synthesis of highly pure n-3 polyunsaturated fatty acid (PUFA)-enriched triglycerides by combined transesterification and ethanolysis[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(34): 6533-6538.
- [67] ORTIZ C, FERREIRA M L, BARBOSA O, et al. Novozym 435: the "perfect" lipase immobilized biocatalyst? [J]. *Catal Sci Technol*, 2019, 9(10): 2380-2420.
- [68] WANG X M, LI D M, QU M, et al. Immobilized MAS1 lipase showed high esterification activity in the production of triacylglycerols with n-3 polyunsaturated fatty acids [J]. *Food Chem*, 2017, 216: 260-267.
- [69] WANG X M, QIN X L, LI X T, et al. Insight into the modification of phosphatidylcholine with n-3 polyunsaturated fatty acids-rich ethyl esters by immobilized MAS1 lipase [J]. *Molecules*, 2019, 24(19): 10.
- [70] HE J L, HONG B H, LU R, et al. Separation of saturated fatty acids from docosahexaenoic acid-rich algal oil by enzymatic ethanolysis in tandem with molecular distillation [J]. *Food Sci Nutr*, 2020, 8(5): 2234-2241.
- [71] HALLDORSSON A, KRISTINSSON B, GLYNN C, et al. Separation of EPA and DHA in fish oil by lipase-catalyzed esterification with glycerol [J]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 2003, 80(9): 915-921.
- [72] ZHANG Z, LIU F, MA X, et al. Two-stage enzymatic preparation of eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) enriched fish oil triacylglycerols [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(1): 218-227.
- [73] OH C E, KIM G J, PARK S J, et al. Purification of high purity docosahexaenoic acid from *Schizochytrium* sp. SH103 using preparative-scale HPLC [J]. *Applied Biological Chemistry*, 2020, 63(1): 1-8.
- [74] DILLON J T, APONTE J C, TAROZO R, et al. Purification of omega-3 polyunsaturated fatty acids from fish oil using silver-thiolate chromatographic material and high performance liquid chromatography [J]. *Journal of Chromatography A*, 2013, 1312(40): 18-25.
- [75] 吴兵兵. 裂壶藻油脂提取及其 DHA 的分离纯化的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2018.
- WU B B. The research of oil extraction from *Schizochytrium* sp. and docosahexaenoic acid separation and purification from *Schizochytrium* sp. Oil[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2018.
- [76] WEI B, WANG S. Separation of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid by three-zone simulated moving bed chromatography [J]. *Journal of Chromatography A*, 2020, 1625(32): 461326.
- [77] LI M, BAO Z, XING H, et al. Simulated moving bed chromatography for the separation of ethyl esters of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid under nonlinear conditions [J]. *Journal of Chromatography A*, 2015, 1425(48): 189-197.
- [78] MONTANES F, CATCHPOLE O J, TALLON S, et al. Semi-preparative supercritical chromatography scale plant for polyunsaturated fatty acids purification [J]. *Journal of Supercritical Fluids*, 2013, 79(7): 46-54.

Research Progress on ω -3 Polyunsaturated Fatty Acids in Marine Organisms

Zheng Feiyang¹, Dai Zhiyuan^{1,2*}, Cui Yiwei¹

(¹Institute of Seafood, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310012

²Key Laboratory of Aquatic Products Processing of Zhejiang Province, Hangzhou 310012)

Abstract Marine organisms are rich in ω -3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs), especially Eicosapentaenoic acid (EPA) and Docosahexaenoic acid (DHA). It plays an important role in preventing cardiovascular diseases, inhibiting cancer, anti-inflammatory, and promoting brain development, so it has great potential in the health care products and pharmaceutical industries. This article first briefly describes the dietary structure of ω -3 PUFAs and their different biological sources in the ocean, and then compares the differences in metabolism of ω -3 PUFAs with different structures in detail, and finally summarizes the isolation and purification methods of ω -3 PUFAs, with a view to ω -3 PUFAs provide theoretical support for further exploration and development in the fields of functional food and medicine.

Keywords ω -3 PUFAs; dietary structure; ocean source; bioavailability; separation and purification