

虾加工废弃物油中磷脂研究进展

柯炳涵

浙江师范大学生命科学学院, 浙江 金华

收稿日期: 2023年11月2日; 录用日期: 2024年1月26日; 发布日期: 2024年2月1日

摘要

虾作为一类可食用的甲壳动物, 在虾养殖和加工行业会产生大量废弃物, 而虾油中富含的DHA/EPA-PL存在极高的营养及应用价值。本文讨论目前虾油中高价值的DHA/EPA-PL的营养功能及提取的主要方法, 并重点讨论超临界CO₂在虾油磷脂提取过程中的应用, 为超临界CO₂提取磷脂提供理论依据, 对发展虾废弃物的综合利用增加产品附加值及维护生态环境具有重要意义。

关键词

虾废弃物, 磷脂, 超临界二氧化碳, 应用

Research Progress on the Extraction of Phospholipids from Shrimp Processing Waste Oil

Binghan Ke

School of Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua Zhejiang

Received: Nov. 2nd, 2023; accepted: Jan. 26th, 2024; published: Feb. 1st, 2024

Abstract

As a kind of edible crustacean, shrimp will produce a lot of waste in shrimp breeding and processing industry, and shrimp oil is rich in DHA/EPA-PL, which has high nutritional and application value. This paper discusses the nutritional function of DHA/EPA-PL in shrimp oil and the main extraction methods, and focuses on the application of supercritical CO₂ in the extraction process of phospholipid in shrimp oil, which provides a theoretical basis for the extraction of phospholipid by supercritical CO₂, and is of great significance for the development of comprehensive utilization of shrimp waste to increase the added value of products and maintain the ecological environment.

Keywords

Shrimp Waste, Phospholipids, Supercritical CO₂, Application

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

虾作为一类可食用的甲壳动物，在过去的几十年里，由于其独特的风味及丰富的营养成分，成为全球粮食以及经济的重要来源[1]。据联合国粮食与农业组织(FAO)统计 2021 年其全球年产量约 1300 万吨，其中根据消费需求的不同，虾养殖和加工行业产生了大量的虾类废弃物，如头胸、甲壳和尾巴等占总重量的 45%~60% [2]。其中大部分以填埋、焚烧或简单地丢弃处理，而仅有部分虾废料进行简单加工用于动物饲料或几丁质的生产，鉴于这种粗放型的处理方式，在造成废弃物资源浪费的同时也增加了环境污染的风险[3]。因此近年来，随着世界各国对绿色经济的倡导和研究，发现虾类废弃物中存在着有价值的生物活性物质，包括油脂[4]、虾青素[5]、甲壳素[6]等引起了人们的极大兴趣。而由于虾油中含有丰富的 ω -3 多不饱和脂肪酸，尤其是二十碳五烯酸(Eicosapentaenoic Acid, EPA)和二十二碳六烯酸(Docosahexaenoic Acid, DHA)具有极高的营养价值而备受关注。值得注意的是其中大部分更是以磷脂型 DHA/EPA (DHA/EPA-enriched glycerophospholipids, DHA/EPA-PL)存在。Zhang 等[7]对这种特殊的磷脂进行详细综述，认为磷脂和 DHA 的共同作用，不仅能够改变大脑中的脂质成分，调节血浆及肝脏中的磷脂种类，降低炎症及细胞凋亡，而且在改善记忆能力、促进大脑发育及调节脂质代谢中具有重要作用[8] [9]，并且相较于甘油酯型 DHA/EPA (DHA/EPA-enriched triacylglycerol, DHA/EPA-TAG)，磷脂型具有更强的健康益处及更高的生物利用度，目前已广泛用于食品补充剂及药物中[10]。此外虾青素也是虾油中的重要组成部分，在增强油脂的稳定性的同时还能丰富其营养价值[11]，因此从虾类废弃物中回收富含 DHA/EPA-PL 的油脂及虾青素不仅有利于虾类产业的增值与升级，也将有助于减少带来的环境问题。

本文将从虾废弃物油脂中的磷脂出发，总结目前虾油中高价值的 DHA/EPA-PL 的营养功能及提取的主要方法并重点讨论超临界 CO₂ 在虾油磷脂提取过程中的应用，为超临界 CO₂ 提取磷脂提供理论依据，对发展虾废弃物的综合利用增加产品附加值及维护生态环境具有重要意义。

2. 磷脂结构

磷脂由一种甘油、两种脂肪酸和一种磷酸盐组成基团，还有一个极性头基，它们是结构和功能所有细胞膜的组成部分。甘油含有三个碳是磷脂分子的主要碳骨架，甘油中 *sn* - 1 和 *sn* - 2 位置的羟基通常与脂肪酸连接[12]。值得注意的是 DHA 和 EPA 通常存在于 *sn* - 2 位置；而磷酸几乎总是与甘油的 *sn* - 3 位相连，在此基础上磷酸头基则可与不同极性头基如胆碱、丝氨酸、乙醇胺或肌醇进行酯化反应，得到磷脂酰胆碱(Phosphatidylcholine, PC)、磷脂酰乙醇胺(Phosphatidylethanolamine, PE)、磷脂酰丝氨酸(Phosphatidylserine, PS)、磷脂酰甘油(Phosphatidylglycerol, PG)、磷脂酸(Phosphatidic acid, PA)、溶血磷脂酰胆碱(Lysophosphatidylcholine, LPC)、溶血磷脂酰乙醇胺(Lysophosphatidylethanolamine, LPE)和磷脂酰肌醇(Phosphatidylinositol, PI)等[13]。值得注意的是饱和脂肪酸主要位于 *sn* - 1 位点，而不饱和脂肪酸则主要位于 *sn* - 1 位点脂肪酸位于 *sn* - 2 位。

3. 虾废弃物中磷脂提取方法

3.1. 有机溶剂提取法

由于 PL 的结构特殊性，因此其本质上是两亲性化合物，即它们具有疏水尾巴(由于含有两种脂肪酸)和亲水头部(由于含有磷酸基团)，这使得它们与中性脂质的提取原理不同[14]。传统上，使用极性溶剂(例如甲醇，乙醇，丙酮，乙酸乙酯等)或非极性溶剂(例如氯仿，苯，己烷，乙醚，甲苯等)从样品基质中提取中性脂质。商业磷脂提取过程中采用非极性和极性混合溶剂对虾油中油脂进行提取，而后通过水脱胶过程分离，最后通过物理，化学和酶水解对 PL 进行工业改性[15]。然而，粗 PL 用有机溶剂如己烷，丙酮，乙醚和氯仿处理，但由于对健康和环境的负面影响，其中一些溶剂被认为是有害的。合适的提取技术可确保不同应用的 PL 的质量和安全性[16]。近年来，人们特别关注用于从不同植物和动物来源提取各种化合物的非常规新型提取技术以代替传统有机溶剂提取。

3.2. 超声波辅助提取法

超声波辅助提取法(Ultrasonic-assisted extraction, UAE)是一种物理提取过程，通过改变超声功率、强度、温度和溶剂配比，致使基质细胞坍塌，破坏含有目标化合物的材料细胞，从而增强目标化合物的传质，以增强有机溶剂的提取效果[17]。具有提高提取产量，降低溶剂消耗，更快的提取，更好的重现性，易于放大和更高的最终产品纯度等优点。目前以成功地用于太平洋白虾头胸将脂质和类胡萝卜素的提取，将其产量提高了近两倍，Gulzar 团队[18]在研究确定混合溶剂正己烷:异丙醇(1:1)为最佳提取溶剂后，进一步采用超声波处理太平洋虾虾头废弃物以增强有机溶剂提取，由于超声波的空化作用及机械剪切，能够破坏细胞结构，造成蛋白质与脂质之间结构的分解，促进其中的脂质及虾青素的释放，显著提高油脂及虾青素的得率。另外其进一步在在超声波前进行真空微波预处理，不仅显著增加了油脂提取效率也显著降低了油脂及虾青素的氧化与水解[19]。但关于使用这种方法提取海洋 PL 的报道很少。Peng 等[20]使用乙醇作为溶剂，从大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)卵中提取 PLs。他们报告说，超声波功率，超声波温度，乙醇中的水分含量，超声波时间等影响提取产量。超声功率、超声波温度、乙醇中水含量、超声波时间的最佳条件分别为 210 W、42°C、7% 和 20 min，以获得最大 PLs 产率。

3.3. 超临界二氧化碳提取法

然而，上述方法中均采用大量的有机溶剂，近年来，随着全球温度不断攀升和极端气候更加频繁的出现，大量有机溶剂的使用，不仅不利于人体健康同时还会造成全球的碳排放增加，进一步加剧环境的恶化，严重威胁到地球的生存环境[21]。因此迫切需要寻求一种绿色的提取方法以代替传统有机溶剂的提取以达到增加提取效率的同时能够消除或减少化学溶剂的使用[22] [23]。超临界流体具有类似气体的粘度和扩散系数液体般的密度，可以很容易地分离由降压得到产物。如超临界 CO₂ (SC-CO₂)通常用于回收高纯度的耐热性化合物。比如类胡萝卜素和脂类。SC-CO₂ 的临界条件是在相对温和的温度下(30°C以上)和压力 7.38 MPa。SC-CO₂ 具有高溶剂性功率大，可提取非极性、低分子量微极性化合物[23]。

考虑到 SC-CO₂ 是一种非极性溶剂，对非极性脂质具有高度选择性，而对极性的 PL 的溶解能力十分有限。因此基于热力学及食品安全考虑，通常向 SC-CO₂ 中添加乙醇为极性助溶剂以对 PL 进行回收[24]。Savoire 等[25]在 45°C，25 Mpa，CO₂ 流速为 6.4 ± 0.5 g/min 的条件下探究不同乙醇含量对扇贝副产物提取的影响，发现随着乙醇含量从 7% 增加至 30%，对其磷脂提取率也从 15.9% 增加至 81.2%。进一步采用两步法选择性对磷脂进行富集，首先用 CO₂ + 7% 乙醇进行萃取以去除中性脂质，然后采用 CO₂ + 27% 乙醇进行二次萃取，有效回收近 90% 的 PL。赵等人[26]也采用类似的两步提取法，首先采用 25 MPa, 35°C

条件下采用纯 SC-CO₂对磷虾粉萃取 150 min, 获得含有 80% 甘油三酯的油脂, 随后在相同条件下进一步加入夹带乙醇提取 50 min 以对磷脂进行富集, 其虾油中磷脂含量高达 80%, 显著获得了 PUFA 含量为 37.65% 的富含磷脂的油脂。

4. 磷脂功能与应用

海洋 PL 独特的生物功能活性和物理化学特性为广泛而多样的工业应用开辟了新的视野。海洋 PL 可用于药物输送, 作为膳食补充剂, 食品加工等。

4.1. 药物输送

PL 已被广泛用于制备局部, 口服和亲本药物递送系统的脂质体、纳米制剂等, 能够提高生物利用度, 降低毒性和增强膜通透性。脂质体是类似于细胞膜的囊泡状结构, 主要由富含 PC 的 PL 组成, 可能含有具有表面活性剂性质的混合 PLs 链。从大西洋鲑鱼框架骨中提取的 PLs 显示出约 85% 的 PC [24], 这表明脂质体在药物输送应用中形成前景良好。不仅能够捕获、递送和释放水溶性和脂溶性物质, 还能够捕获、递送和释放两亲性化合物。此外, 脂质体保护生物活性化合物免受胃中的消化, 并改善吸收, 生物利用度和生物活性。基于海洋 PLs 的脂质体可以作为抗癌药物, 抗真菌药物, 基因治疗剂, 镇痛药和疫苗的载体[27]。无论天然海洋 PLs 能否以低廉的价格获得并适用于基于脂质体的药物递送工业应用, 合成 PL 都是昂贵的。

4.2. 膳食补充

虾油中含有的丰富的 DHA/EPA-PL 不仅有益于神经功能, 增强婴儿和老年人的记忆力, 同时在神经信号传导和减少年龄相关疾病的影响中发挥重要作用[28]。一些动物研究表明, 补充 PLs 可以改善脑细胞膜中 PUFAs 的组成, 因为大脑中 DHA 的提供对神经系统发育至关重要[8]。随着人们年龄的增长, 他们在记忆和认知的更高水平的大脑功能中失去了敏锐度, 称为年龄相关认知衰退(ARCD)。与年龄相关的认知能力下降可能会影响大多数人, 从成年早期逐渐发展, 随着记忆任务的下降, 个人可能会在工作和个人生活中遭受痛苦。许多关于动物模型和人类补充 PLs 对大脑发育的研究已经成功完成[29]。因此, 补充 PLs 可能是增强子宫内婴儿, 婴儿和老年人记忆力和认知功能的重要解决方案[9], 剧烈的肌肉收缩是由信号分子诱导的, 由胆碱合成的乙酰胆碱沿着胆碱能神经携带到肌纤维。胆碱的浓度决定了乙酰胆碱合成和释放的速率。因此, 在剧烈的体力活动中游离胆碱水平的降低可能会降低乙酰胆碱的释放和性能的耐力。许多研究表明, 补充胆碱能够显著提高血液胆碱水平, 并最终提高运动表现[10]。

4.3. 食品工业

用于食品应用的乳化剂的理想特性包括基本的物理化学性质和经济因素。乳化剂在乳液产品开发中起着两个关键作用: 乳液形成和乳液稳定性。目前, 不同的植物和动物基 PLs 和缺乏 ω -3 多不饱和脂肪酸的蛋白质物质被用作食品中的乳化剂[30]。乳化剂的基本特性是能够吸收到均质过程中产生的液滴表面, 能够将界面张力降低相当可观的量以帮助液滴破碎, 以及在液滴周围形成保护涂层的能力, 通过产生强大的作用力(例如静电或空间位阻力)来抑制其积累[31]。因此, 虾油 PLs 作为食品工业中用于配制各种食品的乳化剂具有巨大的潜力。

5. 展望

富含 ω -3 PUFAs 的虾废弃物 PLs 的生物功能作用研究取得了重大进展。然而, 由于海洋 PLs 在工业配方中的应用非常罕见, 因此未来应全面说明环保绿色萃取和工业应用。与传统/传统溶剂萃取相比, PL

的绿色萃取被证明具有更好的物理化学性质。相当程度的建议表明，与 TAG/EE 形式的 ω -3 多不饱和脂肪酸相比，甚至与陆地 PL 相比，富含 ω -3 多不饱和脂肪酸的海洋 PLs 对健康方面更有益。海洋 PL 的一个重要来源可能是鱼类副产品，这可以减少利用陆地资源提取和利用 PL 的竞争。PL 的制药，食品和化妆品工业应用的主要证据是基于陆地来源的，但未来的方向可能意味着用 ω -3 PUFAs 丰富的海洋 PL 取代陆地 PL。因此，富含 ω -3 PUFAs 的海洋 PLs 的全部健康优势可以在我们的日常应用中得到最大化。

参考文献

- [1] Gulzar, S., Raju, N., Chandragiri Nagarajarao, R., et al. (2020) Oil and Pigments from Shrimp Processing By-Products: Extraction, Composition, Bioactivities and Its Application—A Review. *Trends in Food Science & Technology*, **100**, 307-319. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.04.005>
- [2] FAO (2022) The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. FAO, Rome.
- [3] Mathew, G.M., Mathew, D.C., Sukumaran, R.K., et al. (2020) Sustainable and Eco-Friendly Strategies for Shrimp Shell Valorization. *Environmental Pollution*, **267**, Article ID: 115656. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115656>
- [4] Ozogul, F., Cagalj, M., Šimat, V., et al. (2021) Recent Developments in Valorisation of Bioactive Ingredients in Discard/Seafood Processing By-Products. *Trends in Food Science & Technology*, **116**, 559-582. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.08.007>
- [5] Nirmal, N.P., Santivarangkna, C., Rajput, M.S., et al. (2020) Trends in Shrimp Processing Waste Utilization: An Industrial Prospective. *Trends in Food Science & Technology*, **103**, 20-35. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.07.001>
- [6] Aneesh, P.A., Ajeechkumar, K.K., Lekshmi, R.G.K., et al. (2022) Bioactivities of Astaxanthin from Natural Sources, Augmenting Its Biomedical Potential: A Review. *Trends in Food Science & Technology*, **125**, 81-90. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.05.004>
- [7] Zhang, T.-T., Xu, J., Wang, Y.-M., et al. (2019) Health Benefits of Dietary Marine DHA/EPA-Enriched Glycerophospholipids. *Progress in Lipid Research*, **75**, Article ID: 100997. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2019.100997>
- [8] Kroupova, P., Van, Schothorst, E.M., Keijer, J., et al. (2020) Omega-3 Phospholipids from Krill Oil Enhance Intestinal Fatty Acid Oxidation More Effectively than Omega-3 Triacylglycerols in High-Fat Diet-Fed Obese Mice. *Nutrients*, **12**, Article No. 2037. <https://doi.org/10.3390/nu12072037>
- [9] Wen, M., Zhao, Y., Shi, H., et al. (2021) Short-Term Supplementation of DHA as Phospholipids Rather than Triglycerides Improve Cognitive Deficits Induced by Maternal Omega-3 PUFA Deficiency during the Late Postnatal Stage. *Food & Function*, **12**, 564-572. <https://doi.org/10.1039/DFO02552F>
- [10] Zhang, Y., Wu, G., Zhang, Y., et al. (2020) Advances in Exogenous Docosahexaenoic Acid-Containing Phospholipids: Sources, Positional Isomerism, Biological Activities, and Advantages. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, **19**, 1420-1448. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12543>
- [11] Haq, M., Suraiya, S., Ahmed, S., et al. (2021) Phospholipids from Marine Source: Extractions and Forthcoming Industrial Applications. *Journal of Functional Foods*, **80**, Article ID: 104448. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104448>
- [12] Bogojevic, O., Nygaard, J.V., Wiking, L., Arevång, C. and Guo, Z. (2022) Designer Phospholipids—Structural Retrieval, Chemo-/Bio-Synthesis and Isotopic Labeling. *Biotechnology Advances*, **60**, Article ID: 108025. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2022.108025>
- [13] Sun, N., Chen, J., Wang, D., et al. (2018) Advance in Food-Derived Phospholipids: Sources, Molecular Species and Structure as Well as Their Biological Activities. *Trends in Food Science & Technology*, **80**, 199-211. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.08.010>
- [14] Pascual-Silva, C., Aleman, A., Pilar Montero, M., et al. (2022) Extraction and Characterization of Argentine Red Shrimp (*Pleoticus muelleri*) Phospholipids as Raw Material for Liposome Production. *Food Chemistry*, **374**, Article ID: 131766. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131766>
- [15] Ang, X., Chen, H., Xiang, J.-Q., et al. (2019) Preparation and Functionality of Lipase-Catalysed Structured Phospholipid—A Review. *Trends in Food Science & Technology*, **88**, 373-383. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.04.005>
- [16] Van Nieuwenhuyzen, W. (2015) 9—Production and Utilization of Natural Phospholipids. In: Ahmad, M.U. and Xu, X., Eds., *Polar Lipids*, Elsevier, Amsterdam, 245-276. <https://doi.org/10.1016/B978-1-63067-044-3.50013-3>
- [17] Hoo, D.Y., Low, Z.L., Low, D.Y.S., et al. (2022) Ultrasonic Cavitation: An Effective Cleaner and Greener Intensification Technology in the Extraction and Surface Modification of Nanocellulose. *Ultrasonics Sonochemistry*, **90**, Article ID: 106176. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106176>
- [18] Gulzar, S. and Benjakul, S. (2018) Ultrasound Waves Increase the Yield and Carotenoid Content of Lipid Extracted

- from Cephalothorax of Pacific White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *European Journal of Lipid Science and Technology*, **120**, Article ID: 1700495. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201700495>
- [19] Gulzar, S. and Benjakul, S. (2020) Impact of Pretreatment and Atmosphere on Quality of Lipids Extracted from Cephalothorax of Pacific White Shrimp by Ultrasonic Assisted Process. *Food Chemistry*, **309**, Article ID: 125732. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125732>
- [20] Liang, P., Li, R., Sun, H., et al. (2018) Phospholipids Composition and Molecular Species of Large Yellow Croaker (*Pseudosciaena crocea*) Roe. *Food Chemistry*, **245**, 806-811. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.108>
- [21] More, P.R., Jambrak, A.R. and Arya, S.S. (2022) Green, Environment-Friendly and Sustainable Techniques for Extraction of Food Bioactive Compounds and Waste Valorization. *Trends in Food Science & Technology*, **128**, 296-315. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.08.016>
- [22] Melgosa, R., Sanz, M.T., Benito-Roman, Ó., et al. (2019) Supercritical CO₂ Assisted Synthesis and Concentration of Monoacylglycerides Rich in Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids. *Journal of CO₂ Utilization*, **31**, 65-74. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2019.02.015>
- [23] Ahangari, H., King, J.W., Ehsani, A., et al. (2021) Supercritical Fluid Extraction of Seed Oils—A Short Review of Current Trends. *Trends in Food Science & Technology*, **111**, 249-260. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.066>
- [24] Haq, M. and Chun, B.-S. (2018) Characterization of Phospholipids Extracted from Atlantic Salmon By-Product Using Supercritical CO₂ With Ethanol as Co-Solvent. *Journal of Cleaner Production*, **178**, 186-195. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.01.024>
- [25] Savoire, R., Subra-Paternault, P., Bardeau, T., et al. (2020) Selective Extraction of Phospholipids from Food By-Products by Supercritical Carbon Dioxide and Ethanol and Formulating Ability of Extracts. *Separation and Purification Technology*, **238**, Article ID: 116394. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2019.116394>
- [26] 赵泓博. 南极磷虾油分级制备及其品质分析[D]: [硕士学位论文]. 大连: 大连工业大学, 2019.
- [27] Zheng, L., Fleith, M., Giuffrida, F., et al. (2019) Dietary Polar Lipids and Cognitive Development: A Narrative Review. *Advances in Nutrition*, **10**, 1163-1176. <https://doi.org/10.1093/advances/nmz051>
- [28] Lordan, R., Redfern, S., Tsoupras, A., et al. (2020) Inflammation and Cardiovascular Disease: Are Marine Phospholipids the Answer? *Food & Function*, **11**, 2861-2885. <https://doi.org/10.1039/C9FO01742A>
- [29] Liu, F., Smith, A.D., Solano-Aguilar, G., et al. (2020) Mechanistic Insights into the Attenuation of Intestinal Inflammation and Modulation of the Gut Microbiome by Krill Oil Using *in Vitro* and *in Vivo* Models. *Microbiome*, **8**, Article No. 83. <https://doi.org/10.1186/s40168-020-00843-8>
- [30] Molino, A., Mehariya, S., Di Sanzo, G., et al. (2020) Recent Developments in Supercritical Fluid Extraction of Bioactive Compounds from Microalgae: Role of Key Parameters, Technological Achievements and Challenges. *Journal of CO₂ Utilization*, **36**, 196-209. <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2019.11.014>
- [31] Rathnakumar, K., Ortega-Anaya, J., Jimenez-Flores, R., et al. (2021) Understanding the Switchable Solvent Extraction of Phospholipids from Dairy Byproducts. *Food and Bioproducts Processing*, **126**, 175-183. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2021.01.003>