

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.<sup>7</sup>  
C07C 57/12  
C07C 51/487



## [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200410012933.9

[43] 公开日 2005年1月12日

[11] 公开号 CN 1562943A

[22] 申请日 2004.3.27

[21] 申请号 200410012933.9

[71] 申请人 中国科学院水生生物研究所

地址 430072 湖北省武汉市武昌珞珈山

[72] 发明人 刘永定 沈银武 胡章立 谢作明

[74] 专利代理机构 武汉宇晨专利事务所

代理人 王敏锋

权利要求书1页 说明书3页

[54] 发明名称 一种水华蓝藻提取  $\gamma$ -亚油酸的方法

[57] 摘要

本发明公开了一种水华蓝藻提取  $\gamma$ -亚油酸的方法，首先从用富营养化水体中收获的水华蓝藻，经浓缩、脱水、干燥、粉碎，得到的蓝藻粉；其次是称取蓝藻粉加入石油醚溶剂，常温浸泡，破碎细胞，继续浸泡过夜，在水浴中回流后抽滤或离心除去藻细胞残渣，得含  $\gamma$ -亚麻酸混合酯；第三是向混合酯中加入皂化液，混和均匀，于水浴中皂化，冷却到室温；第四往盛皂化后溶液的容器中充入氮气，加入盐酸：水(1:4)溶液调 pH 至 3-4，得到黄色混合脂肪酸；最后是将黄色混合脂肪酸经甲酯化处理和尿素包合反应，分离后得到  $\gamma$ -亚麻酸产品。本发明方法简便，提取效率高，原料来源方便，成本低，具有社会、环境和经济效益。

ISSN 1008-4274

1、一种水华蓝藻提取  $\gamma$ -亚油酸的方法，包括下列步骤：

A、从富营养化水体中收获水华蓝藻，经浓缩、脱水、干燥、粉碎后得到的蓝藻粉；

B、称取蓝藻粉，加入两倍体积的石油醚溶剂，室温浸泡90—150分钟，破碎细胞，继续浸泡过夜，在55—65℃水浴中回流90—150分钟，抽滤或离心除去藻细胞残渣，得含  $\gamma$ -亚麻酸混合酯；

C、 $\gamma$ -亚麻酸混合酯中加入皂化液于混合酯中，混和均匀，于50-60℃水浴中皂化至油珠消失，冷却到室温；

D、 $\gamma$ -亚麻酸的游离析出，往盛皂化后溶液的密闭容器中充入氮气，加入盐酸:水为 1:4 溶液调 pH 至 3-4，得到黄色混合脂肪酸；

E、称取尿素并加入甲醇经搅拌加热至尿素全部溶解，温度控制在 65-70℃，待溶解后缓慢加入混合脂肪酸，温度控制在 8-12℃，静置包埋 10 小时；

F、将上述溶液进行真空抽滤，温度 60-65℃，真空度 0.4-0.5 Mpa，分离滤液和滤饼，滤液移至水浴加热，蒸出甲醇，剩余物加 10%盐酸和蒸馏水溶解至 pH2-3，转移至分液漏斗中，经热水、温饱和食盐水洗至中性，去除其中的水分得到  $\gamma$ -亚麻酸。

2、根据权利要求 1 所述的一种水华蓝藻提取  $\gamma$ -亚油酸的方法其特征在于皂化液为氢氧化钾:乙醇:水=2:15:5。

## 一种水华蓝藻提取 $\gamma$ -亚油酸的方法

### 技术领域

本发明涉及用水华蓝藻提取 $\gamma$ -亚油酸,更具体涉及一种水华蓝藻提取 $\gamma$ -亚油酸的方法,适用于医疗、保健等行业。

### 背景技术

近几年来,由于工业迅速发展,人口剧增,城市化加重,环境严重污染,我国许多水体的富营养化程度加剧,引起藻类、特别是蓝藻的大量繁殖,某些水体甚至发生严重的蓝藻水华,直接影响了水体的质量和可利用度,并危害着牲畜和人类的健康。在长江中下游地区湖泊蓝藻水华的大量发生在4—10月,尤其在7—9月的高温季节蓝藻水华的产生量最大。湖泊大量发生的水华蓝藻一方面严重污染环境、危害饮水水源,另一方面给旅游业带来了极大的影响。为减轻湖泊的污染,消除蓝藻异味,有必要对大量堆积的蓝藻水华进行有效地清除。采样机械方法清除蓝藻水华,是一种能直接大量清除湖面蓝藻水华。但是,对收获的水华蓝藻如何有效地加以利用,提高利用价值,达到既能有效地改善环境又可提高经济效益的目的是十分必要的。水华蓝藻中含有丰富 $\gamma$ -亚油酸( $\gamma$ -linolenic acid, GLA),其含量达细胞干重的0.8—1%。 $\gamma$ -亚油酸是人体必须的脂肪酸之一,在医学上有消除心血管障碍、防治糖尿病综合症、辅助治疗癌症、调节生理功能紊乱、预防皮肤病、抗病毒感染、抗衰老等作用。目前生产天然 $\gamma$ -亚油酸除了利用微生物发酵生产外,最主要的途径是从月见草等植物材料中提取,但材料的来源是主要的限制因素。富营养化湖泊以微囊藻为主要优势种的水华蓝藻大量繁殖,造成严重的水体污染。

### 发明内容

本发明的目的在于提供一种水华蓝藻提取 $\gamma$ -亚油酸的方法,原料来源广泛,成本低廉,方法易行,操作简便,解决了水华蓝藻资源化利用的问题。

为了达到上述目的,本发明采用以下技术措施:如何有效地利用这些蓝藻资源,使之变废为宝,本发明的新思路就是利用富营养化水体中大量暴发的水华

蓝藻生产  $\gamma$ -亚油酸，既解决了  $\gamma$ -亚油酸的原料来源，又清除了水体中的蓝藻水华，从而达到经济、社会与环境效益。其构思为：采用从富营养化湖泊或水库、河道等富营养化水体中收获的水华蓝藻，经浓缩、脱水、干燥、粉碎后得到的蓝藻粉，加入一定体积的石油醚溶剂，室温(20-30℃)浸泡 90-150 分钟，破碎细胞，继续浸泡过夜，在 55-65℃水浴中回流 90-120 分钟，抽滤或离心除去藻细胞残渣，得含  $\gamma$ -亚油酸混合酯。加入 1-3 倍体积的皂化液[氢氧化钾：乙醇：水=2:15:5]于混合酯中，混和均匀，于 50-60℃水浴中皂化至油珠消失，冷却到室温(20-30℃)。往盛皂化后溶液的容器中充入氮气，加入盐酸：水(1:4)溶液调 pH 至 3-4，得到黄色混合脂肪酸。再经甲酯化处理和尿素包合反应等分离后得到  $\gamma$ -亚油酸产品。

其具体步骤如下：

1、从富营养化水体中收获水华蓝藻，经浓缩、脱水、干燥、粉碎后得到的蓝藻粉（常规方法）。

2、GLA混合酯的制备：称取蓝藻粉，加入1-2倍（w/v）的石油醚溶剂，1-10至-20℃冰冻，浸泡90-150分钟，破碎细胞，继续浸泡过夜，在55-65℃水浴中回流90-120分钟，抽滤或离心除去藻细胞残渣，得  $\gamma$ -亚油酸混合酯。

3、向  $\gamma$ -亚油酸混合酯中加入1-3倍体积的皂化液[氢氧化钾：乙醇：水=2:15:5]，混和均匀，于50-60℃水浴中皂化至油珠消失，冷却到室温(20-30℃)。

4、 $\gamma$ -亚油酸的游离析出，往盛皂化后溶液的密闭容器中充入氮气，加入盐酸：水(1:4)溶液调 pH 至 3-4，得到黄色混合脂肪酸。

5、称取尿素并加入甲醇经搅拌加热至尿素全部溶解(温度控制在 65-70℃)，待溶解后缓慢加入混合脂肪酸。温度控制在 8-12℃，静置包埋 10 小时。

6、将上述溶液进行真空抽滤，温度 60-65℃，真空度 0.4-0.5 Mpa，分离滤液和滤饼，滤液移至水浴 60-80℃加热，蒸出甲醇，剩余物加 10%盐酸和蒸馏水溶解至 pH2-3，转移至分液漏斗中，经热水、温饱和食盐水洗至中性，去除其中的水分得到  $\gamma$ -亚麻酸。

本发明与现有技术相比，具有以下优点和效果：方法简便，原料来源比

利用微生物发酵和从月见草等植物的价格低，投资小，具有社会、环境和经济效益。

### 具体实施方式

提取  $\gamma$ -亚油酸的具体实施步骤如下：

1、原料制备：从富营养化水体中收获水华蓝藻，经浓缩、脱水、干燥、粉碎后得到的蓝藻粉。

2、GLA混合酯的制备：在2Kg蓝藻粉中加入2升的石油醚溶剂，冰冻浸泡120分钟，使用超声波仪破碎细胞9-10分钟，继续浸泡过夜。在60℃水浴中回流90-120分钟，抽滤除去藻细胞残渣，得含1.5升左右  $\gamma$ -亚油酸混合酯。

3、向  $\gamma$ -亚油酸混合物酯中加入 1-3 倍体积的皂化液： $\gamma$ -亚麻酸混合酯的皂化，3 升皂化液[氢氧化钾:乙醇:水=2:15:5] 加入 1.5 升混合酯中，混和均匀，于 60℃水浴中皂化至油珠消失，冷却到室温(20-30℃)。

4、 $\gamma$ -亚麻酸的游离析出：往盛 4.5 升皂化后溶液的密闭容器中填充氮气(作保护气)，加入盐酸:水(1:4)溶液调溶液 pH 至 3-4，得到 1 升油状黄色混合脂肪酸。

5、称取尿素 200 克并加入甲醇(350 毫升)经搅拌加热至尿素全部溶解，温度控制在 68℃，待溶解后缓慢加入混合脂肪酸。温度控制在 10℃，静置包埋 10 小时。

6、将上述溶液进行真空抽滤，温度 62℃，真空度 0.4-0.5 Mpa，分离滤液和滤饼，滤液移至水浴加热，蒸出甲醇，剩余物加 10%盐酸和蒸馏水溶解至 pH2-3，转移至分液漏斗中，经热水、温饱和食盐水洗至中性，去除其中的水分得到  $\gamma$ -亚麻酸 2.8 克。