

鲢鱼鱼油不饱和脂肪酸乙酯化工艺优化

何娜¹,涂宗财^{1,2*},王凡¹,石燕¹,王辉¹,沙小梅²,黄涛¹

1(南昌大学 食品科学与技术国家重点实验室,江西 南昌,330047)

2(江西师范大学 生命科学学院,江西 南昌,330022)

摘 要 以鲢鱼鱼油为原料,采用碱催化法对鱼油进行乙酯化,通过单因素实验和正交试验优化条件,确定鱼油乙酯化反应的最佳工艺参数组合为:催化剂 NaOH 添加量为鱼油质量的 0.2%、醇油摩尔比为 8:1、反应温度为 75℃、反应时间为 1.5 h,该工艺下脂肪酸乙酯得率为 97.47%。

关键词 鲢鱼鱼油;不饱和脂肪酸;乙酯化;碱催化法

鲢鱼,为四大家鱼之一,具有生长快、疾病少、产量高、价格低等特点,已成为淡水鱼加工的主要原料之一。鲢鱼的脂肪含量达 25% 左右,富含亚油酸、亚麻酸等多不饱和脂肪酸^[1-2]。因此鲢鱼鱼油是一种附加值较高的功能性油脂。

鱼油中富含二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA),具有降血脂、预防动脉硬化和老年痴呆等功效,被广泛应用于保健品和医药品领域^[3-5]。鱼油产品按 EPA 和 DHA 的存在形式分为甘油三酯型和非甘油三酯型(乙酯型和游离脂肪酸型)。甘油三酯型性质稳定,易吸收,但天然鱼油中甘油三酯型的含量较少不足以满足消费者的需求。因此,将甘油三酯型鱼油转换成乙酯型,通过不同的富集方法得到高含量不饱和脂肪酸乙酯型鱼油,再将它转换成甘油三酯型,已成为当今研究热点之一^[6-7]。国内外对深海鱼油乙酯化的研究较多^[8-11],鲜见对淡水鱼油乙酯化的研究。然而,我国是淡水鱼养殖大国,对淡水鱼油进行乙酯化研究,并对其进行富集,有利于提高我国淡水鱼油的综合利用价值。

油脂乙酯化工艺按催化剂的不同主要分为 3 种:酸催化法、碱催化法以及酶催化法^[12]。酸催化法催化速率较慢且多用于酸值高的甘油酯^[13],酶催化法乙酯得率不理想且价格昂贵,难以规模化生产^[16];碱

催化法催化速率较快且温度较低,避免多不饱和脂肪酸的氧化分解^[14-15]。因此,本研究以鲢鱼鱼油为原料,采用碱催化法对鲢鱼鱼油进行乙酯化,研究催化剂添加量、醇油比、反应温度和反应时间对乙酯得率的影响,确定最佳乙酯化工艺参数。

1 材料和方法

1.1 实验材料

鲢鱼鱼油(实验室自制);无水乙醇,正戊烷(分析纯,天津市永大化学试剂有限公司);NaOH(分析纯,西陇化工股份有限公司);NaCl,无水 Na₂SO₄(分析纯,天津大茂化学试剂厂)。

1.2 仪器与设备

DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器,上海予正仪器设备有限公司;SHB-III 循环水式多用真空泵,河南省予华仪器有限公司;HH-4 数显恒温磁力搅拌水浴锅,常州爱华仪器制造有限公司;N-1001 旋转蒸发仪,上海爱郎仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 鱼油乙酯化

如图 1 所示,精确称取一定量的鲢鱼鱼油(记为 m_0)于 250 mL 三口烧瓶中,先置于恒温水浴锅中,机械搅拌下预热 30 min 至鱼油达到反应温度,按一定比例加入无水乙醇及 NaOH 固体,控制在反应温度下加热回流。反应结束后,将反应液倒入分液漏斗,趁热用饱和 NaCl 洗涤 3 次,静置分层。回收上层油相,减压旋转蒸发除去过量的乙醇,然后加入无水 Na₂SO₄,静置过夜去除多余的水分。减压过滤除去 Na₂SO₄ 晶体,得到粗乙酯产品,称量(记为 m_1);将粗乙酯产品与同等体积的正戊烷混合,待液体完全互溶

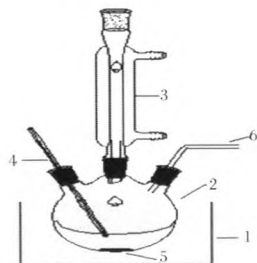
第一作者:硕士研究生(涂宗财为通讯作者,E-mail:tuzc_mail@aliyun.com)。

基金项目:国家高技术研究发展计划专项经费资助(863 项目)(No.2011AA100803);江西省重大生态安全问题监控协同创新中心资助项目(No.JSX-EW-00);江西省现代农业产业技术体系建设专项资金资助(JXARS-04)

收稿日期:2015-10-11,改回日期:2015-11-17

后,放置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中 12 h ;减压抽滤去除未反应的甘油三酯,滤液通过旋转蒸发除去正戊烷,得到脂肪酸乙酯产品,称量(记为 m_2)。

$$\text{鱼油乙酯得率}/\% = \frac{m_2}{m_0} \times 100 \quad (1)$$



1. 恒温磁力搅拌器;2. 三口烧瓶;3. 冷凝管;4. 温度计;
5. 磁力搅拌子;6. N_2 导管

图1 乙酯化反应装置图

Fig. 1 Schematic diagram of esterification reactor

1.3.2 鱼油乙酯化工艺条件的选择

1.3.2.1 乙酯化单因素实验

以醇油比、催化剂添加量、反应时间、反应温度为单因素,以乙酯得率为指标,通过单因素实验选出鱼油乙酯化的最佳工艺范围。参考其他乙酯化试验^[9-10],各因素试验范围设定如下:醇油比(无水乙醇与鱼油的摩尔比)为 $4:1$ 、 $5:1$ 、 $6:1$ 、 $7:1$ 、 $8:1$,催化剂 NaOH 添加量(占鱼油的质量)为: 0.10% 、 0.20% 、 0.30% 、 0.40% 、 0.50% ;反应时间为 1.0 、 1.5 、 2.0 、 2.5 、 3.0 h ;反应温度为 65 、 70 、 75 、 80 、 $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

1.3.2.2 鱼油乙酯化工艺正交试验设计

根据上述单因素实验,选取催化剂添加量、醇油比、反应温度、反应时间这4个因素,每个因素取3个水平,制定 $L_9(3^4)$ 正交实验表进行正交试验分析,以乙酯得率为指标,确定最佳反应条件。

表1 $L_9(3^4)$ 正交实验因素水平表

Table 1 $L_9(3^4)$ arrangement of orthogonal test

水平	因素			
	A (催化剂添加量)/%	B (醇油比)	C (反应温度)/ $^{\circ}\text{C}$	D (反应时间)/h
1	0.1	6	70	1.5
2	0.2	7	75	2.0
3	0.3	8	80	2.5

1.3.3 数据处理

数据采用 SPSS 17.0 软件进行分析。Origin 7.5

软件作图。

2 结论与讨论

2.1 单因素实验结果与讨论

2.1.1 醇油比对鱼油乙酯化反应的影响

如图2所示,随着醇油比的增大,乙酯得率也随之增大;之后继续增加醇油比,乙酯得率无明显增加并趋于平缓。在 $7:1$ 之前都没有明显的分层,这是因为反应未完全产生的甘油一酯和甘油二酯导致乳化现象使得分层不明显。 $7:1$ 之后过量的乙醇则造成浪费,且甘油极性溶解使得后期产物分离困难。因此,确定最佳醇油比为 $7:1$ 。

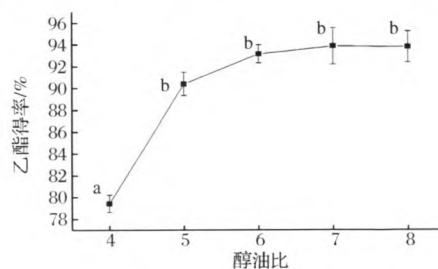


图2 醇油比对乙酯得率的影响

Fig. 2 Effect of alcohol oil ratio on the yield of ethyl

2.1.2 催化剂添加量对鱼油乙酯化反应的影响

如图3所示,随着催化剂添加量增加,乙酯得率先增加后降低;当催化剂添加量达到鱼油质量的 0.2% 时,乙酯得率达到最大值;继续增加反而会使得 NaOH 和甘油三酯脂肪酸发生皂化反应,从而降低乙酯得率。因此,确定催化剂的最佳添加量为 0.2% 。

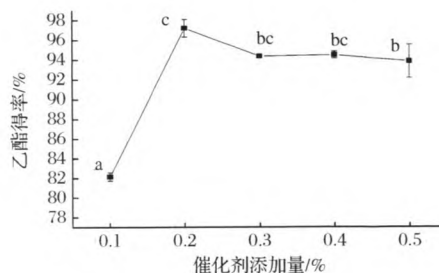


图3 催化剂添加量对乙酯得率的影响

Fig. 3 Effects of catalyst concentration on the yield of ethyl

2.1.3 反应时间对鱼油乙酯化反应的影响

如图4所示,随着反应时间的增加,乙酯得率先增加后降低,在 2.0 h 时乙酯得率达到最高;继续延长反应时间,使得部分乙酯型鱼油被皂化,乙酯得率反而呈下降趋势。考虑到时间的延长对乙酯得率的

影响,因此本实验选择 2.0 h 作为鱼油乙酯化反应的最优时间。

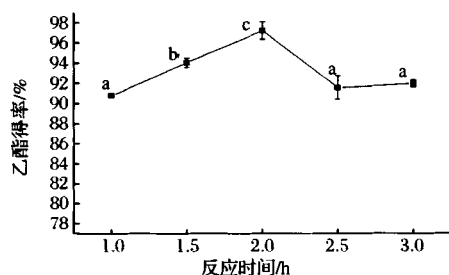


图4 反应时间对乙酯得率的影响

Fig. 4 Effects of reaction time on the yield of ethyl

2.1.4 反应温度对鱼油乙酯化反应的影响

如图 5 所示,随着反应温度的升高,乙醇在反应过程中以气液两相状态存在,使得无水乙醇与鱼油接触充分,乙酯得率呈上升趋势;当温度达到 75 ℃ 时,乙酯得率达到最大;然而继续升高温度,无水乙醇挥发速度加快,造成反应不完全,同时会加剧皂化反应速率,乙酯得率反而降低。因此,本实验确定最佳的反应温度为 75 ℃。

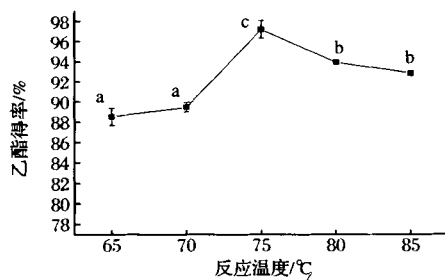


图5 反应温度对乙酯得率的影响

Fig. 5 Effects of reaction temperature on the yield of ethyl

2.2 正交试验分析优化鲢鱼鱼油乙酯化反应

对表 2 进行分析,结果显示,这 4 个因素对鱼油乙酯得率的影响大小依次为,醇油比 > 反应时间 > 催化剂添加量 > 反应温度。由表 3 方差分析结果可知,醇油比和反应时间对鱼油乙酯得率的影响有极显著差异 ($P < 0.01$),而催化剂浓添加量和反应温度对乙酯得率的影响不显著 ($P > 0.05$)。综合表 2、表 3 分析结果,显示出最佳工艺组合为 $A_2B_3C_2D_1$,即催化剂添加量为鱼油质量的 0.2%,醇油比为 8:1,反应温度为 75 ℃,反应时间为 1.5 h。

2.3 最佳工艺验证

根据上面的分析,得到最佳工艺 $A_2B_3C_2D_1$ 组合。按照优化的鱼油乙酯化的工艺条件,经行 3 次验证实验,结果得到鱼油乙酯得率平均值为 97.47%,高于

正交试验结果中的最优值,表明正交设计实验可行。

表 2 正交试验结果

Table 2 The results of orthogonal test

水平	A	B	C	D	乙酯得率/%
1	1	1	1	1	93.08
2	1	2	2	2	90.36
3	1	3	3	3	93.68
4	2	1	2	3	94.33
5	2	2	3	1	92.78
6	2	3	1	2	93.59
7	3	1	3	2	90.83
8	3	2	1	3	92.14
9	3	3	2	1	96.05
K_1	277.12	278.24	278.81	281.91	
K_2	280.70	275.28	280.74	274.78	
K_3	279.02	283.32	277.29	280.15	
k_1	92.37	92.75	92.94	93.97	
k_2	93.57	91.76	93.58	91.59	
k_3	93.01	94.44	92.43	93.38	
R	1.19	2.68	1.15	2.38	

表 3 方差分析结果

Table 3 The results of analysis of variance

方差来源	偏差平方和	自由度	均方	F 比值	P 值
A	4.278	2	2.139	1.927	0.201
B	22.047	2	11.023	9.930	0.005
C	3.986	2	1.993	1.796	0.221
D	18.394	2	9.197	8.285	0.009
误差	9.990	9	1.110		

3 结论

本实验对鲢鱼鱼油预处理工艺——鱼油乙酯化制备工艺条件进行优化,通过单因素实验和正交试验研究催化剂添加量、醇油比、反应温度、反应时间 4 个因素对乙酯得率的影响,得到最佳工艺条件是 $A_2B_3C_2D_1$,即催化剂添加量为鲢鱼鱼油含量的 0.2%,醇油摩尔比为 8:1,反应温度为 75 ℃,反应时间为 1.5 h,鱼油乙酯化得率可以达到 97.47%。本实验结果可以用于富集鲢鱼鱼油中的多不饱和脂肪酸,以提高鲢鱼鱼油的产品附加值。

参 考 文 献

- [1] 罗永康. 7 种淡水鱼肌肉和内脏脂肪酸组成的分析[J]. 中国农业大学学报,2001,6(4):108-111.
- [2] 张立坚,杨会邦,蔡春. 3 种淡水鱼油脂脂肪酸的含量分析[J]. 食品研究与开发,2011,32(4):115-117.

- [3] 朱路英,张学成,宋晓金,等. $n-3$ 多不饱和脂肪酸 DHA、EPA 研究进展[J]. 海洋科学, 2007, 31(11): 78–85.
- [4] VON S C, HARRIS W S. Cardiovascular benefits of omega-3 fatty acids[J]. Cardiovascular Research, 2007, 73(2): 310–315.
- [5] WALKER C G, JEBB S A, CALDER P C. Stearidonic acid as a supplemental source of $\omega-3$ polyunsaturated fatty acids to enhance status for improved human health[J]. Nutrition, 2013, 29(2): 363–369.
- [6] 马永钧,杨博. 海洋鱼油深加工技术研究进展[J]. 中国油脂, 2011, 36(4): 1–6.
- [7] FRASER B H, PERLMUTTER P, WIJESUNDERA C, et al. Practical syntheses of triacylglycerol regioisomers containing long-chain polyunsaturated fatty acids[J]. J Am Oil Chem Soc, 2007, 84(1): 11–21.
- [8] ARMENTA R E, VINATORU M, BURJA A M, et al. Transesterification of fish oil to produce fatty acid ethyl esters using ultrasonic energy[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2007, 84(11): 1 045–1 052.
- [9] FADHIL A B, AHMED A I. Ethanolysis of fish oil via optimized protocol and purification by dry washing of crude ethyl esters[J]. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2016(58): 71–83.
- [10] FADHIL A B, ALI L H. Alkaline-catalyzed transesterification of *Silurus triostegus* Heckel fish oil: Optimization of transesterification parameters[J]. Renewable Energy, 2013(60): 481–488.
- [11] 傅红,裘爱泳. 鱼油脂肪酸乙酯化工艺研究[J]. 粮食与油脂, 2004(5): 27–30.
- [12] 张金廷. 脂肪酸及其深加工手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002.
- [13] 傅红,史学懿,蒋琦霞,等. 高酸值鱼油酸法催化乙酯化工艺的研究[J]. 中国油脂, 2003, 28(11): 50–52.
- [14] 程楠. 鱼油脂肪酸乙酯制备及分离纯化研究[D]. 天津: 天津大学, 2013.
- [15] 刘润哲,毕艳兰,杨国龙,等. 红花籽油醇解法制备脂肪酸乙酯[J]. 中国油脂, 2009, 34(1): 50–53.
- [16] WENDY M W, ALEJANDRO G M. Food lipids. Enzymatic interesterification[M]. USA: Mamel Dekker INC, 2000.

Ethyl esterification for unsaturated fatty acids of fish oil from Silve Carp

HE Na¹, TU Zong-cai^{1,2*}, WANG Fan¹, SHI Yan¹,
WANG Hui¹, SHA Xiao-mei¹, HUANG Tao¹

1(State Key Laboratory of Food Science and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047, China)

2(College of Life Science, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China)

ABSTRACT In this study, fish oil from Silver Carp was used as the raw material to study unsaturated acid esterification catalyzed by sodium hydroxide. By the single factor experiments and the orthogonal experiments, the best conditions for fish oil ethyl ester were obtained as following. The addition amount of sodium hydroxide was 0.2% (w/w) of fish oil weight. The molar ratio of methanol to oil was 8:1. The reaction temperature was 75 °C, and the reaction time was 1.5h. The yield of ethyl ester was 97.47%.

Key words fish oil from Silve Carp; unsaturated fatty acid; ethyl esterification; alkali catalysis