

## 菜籽油脂质成分分析及甲酯化研究

仇宏图, 李光春, 吴明根, 张 华\*

(延边大学农学院, 延吉 133002)

**摘 要:** 为发掘改良品种双低(低芥酸、低硫甙)菜籽, 并合理应用菜籽油, 分析了7组菜籽油样品脂质成分, 并优化了制备脂肪酸甲酯的条件。结果表明, 样品4-Yeongsan和样品5-Tammi包含有害脂肪酸芥酸(C22:1), 含量分别为0.44%和2.52%; 样品1-Nehan的甘油三酯提取率与植物甾醇含量显著高于样品7-Mocpo68 ( $P<0.05$ ), 且样品1-Nehan与样品7-Mocpo68生育酚含量无显著性差异 ( $P>0.05$ ), 但显著高于其余样品 ( $P<0.05$ ), 通过优化条件固定化脂肪酶SP435制得的产物得率最高条件为脂肪酶添加量8%, 反应温度45℃, 反应时间6h。

**关键词:** 菜籽油; 脂肪酸; 生育酚; 植物甾醇; 甲酯化

中图分类号: S571.1; TS225.14

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2019)04-0583-06

### The lipids component analysis and methyl esterification of rapeseed oil

QIU Hongtu, LI Guangchun, WU Minggen, ZHANG Hua

(Agricultural College, Yanbian University, Yanji 133002)

**Abstract:** In order to discover the improved double low (low erucic acid, low sulphur) rapeseed and rational application of rapeseed oil, the lipid components of the seven groups of rapeseed oil samples were analyzed, and the conditions for preparing fatty acid methyl ester were optimized. The results showed: 4-Yeongsan and 5-Tammi contained harmful fatty acid erucic acid (C22:1), which was 0.44% and 2.52%, respectively; the extraction rate of 1-Nehan triglyceride and plant sterol content were significantly higher than those of 7-Mocpo68 ( $P<0.05$ ), and there was no significant difference in the content of tocopherol between 1-Nehan and 7-Mocpo68 ( $P>0.05$ ), but which was significantly higher than the other samples ( $P<0.05$ ). The fat was immobilized by optimized conditions, and the highest yield of the product prepared by the enzyme SP435 was adding 8% lipase, reacting at 45℃ for 6 h.

**Key words:** rapeseed oil; fatty acid; tocopherol; phytosterol; esterification

日常生活中, 主要食用的植物油有菜籽油、花生油、芝麻油和大豆油等。植物油中95%以上是甘油三酯, 并含少量类脂物质, 如甘油一脂、甘油二脂、磷脂、脂肪酸及甾醇等<sup>[1-3]</sup>。其中菜籽油富含不饱和脂肪酸含量高, 是人们日常生活中必不可少的一种食用油, 一般菜籽油棕榈酸C16:0的范围是1.5%~6.0%, 高芥酸菜籽油C16:0的范围是2.5%~7.0%<sup>[1-3]</sup>。低芥酸菜籽油可用于食用, 高芥酸菜籽油可制备成脂肪酸甲酯作为生物柴油进行开发, 也可用以合成多种表面活性剂作为绿色环保洗涤剂主要活性成分及高级润滑油的添加剂, 机械加工中的切削油、冷却液等。此外, 脂肪酸甲酯既可用于制取

洗涤剂、乳化剂、发泡剂等表面活性剂, 也可制备纺织助剂、皮革加脂剂等产品<sup>[4-5]</sup>。脂肪酸甲酯化法是将高沸点不易挥发、气化的脂肪酸酯先水解得到脂肪酸和甘油, 再使脂肪酸与甲醇(MeOH)反应生成相应的脂肪酸甲酯<sup>[6]</sup>。目前研究利用植物油制备脂肪酸甲酯的试验较多, 如周汉芬等<sup>[7]</sup>利用樟树籽仁油制备脂肪酸甲酯; 唐芳等<sup>[8]</sup>用山茶油通过酸碱结合法制备脂肪酸甲酯; 李堂<sup>[9]</sup>使用菜籽油乙醇制备脂肪酸乙酯; 何雅静等<sup>[10]</sup>研究了超声波辅助提取菜籽油工艺优化及脂肪酸组成分析。但是前人没有对多种改良品种的菜籽油芥酸范围以及脂质成分进行对比分析, 而判定样品属于低芥酸菜籽油, 或样品是一种

收稿日期: 2018-12-24

基金项目: 吉林省教育厅项目(JJKH20170456KJ)资助。

作者简介: 仇宏图, 硕士研究生。E-mail: 591117186@qq.com

\* 通信作者: 张 华, 博士, 讲师。E-mail: zhanghua@ybu.edu.cn

营养价值比较高的食用油脂还是属于高芥酸菜籽油,可制备脂肪酸甲酯应用于工业生产。因此,本试验为选择抗逆性极强的新型油料作物菜籽,研究7组降低脂肪酸组成中芥酸含量的改良菜籽样品,分析了1-Nehan、2-Tamna、3-Mocpo111、4-Yeongsan、5-Tammi、6-Hanla和7-Mocpo68共7种菜籽油脂肪酸组成、生育酚及植物甾醇含量;其次,以固定化脂肪酶催化菜籽油制备脂肪酸甲酯为研究对象,对脂肪酶添加量、反应温度和反应时间等因素对产物得率的影响进行单因素研究试验及正交试验的研究,利用正交试验分析寻找产率优良,环境友好,操作简便的最佳工艺条件,以期为实现脂肪酸甲酯产业化提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 原料与试剂** 菜籽油是收集了不同品种菜籽7份,利用正己烷提取的产物,固定化脂肪酶 SP435(丹麦诺维信公司),无水硫酸钠,固体碘,海砂,supelco37脂肪酸甲酯混合标准品,三氟化硼(BF<sub>3</sub>)甲醇溶液,异辛烷,异丙醇(IPA),正己烷,甲醇,乙醚,冰醋酸;进样溶剂均使用色谱纯。

**1.1.2 仪器与设备** 分析天平(JA1003J,上海雷

韵试验仪器制造有限公司,上海,中国);自动控温往复水浴摇床(DP-SHA-B,北京亚欧德鹏科技有限公司,北京,中国);涡旋混合器(SI-0246,上海凡劲仪器设备有限公司,上海,中国);高速离心机(TGL-16C,上海安亭科学仪器厂,上海,中国);氮吹仪(杭州市瑞诚仪器有限公司,杭州,中国);液相色谱仪(Yonglin UV830 detector,韩国);气相色谱仪(7890A GC system, Agilent Technologies, 美国)。

### 1.2 方法

**1.2.1 菜籽油提取条件** 称取50 g样品,加入50 mL正己烷,充分混合后在55℃温度,加入转子磁力搅拌反应30 min,冷却,再加入30 mL正己烷,在55℃条件下反应20 min,旋蒸富集称重,减去旋蒸瓶质量,除以初始菜籽质量(50 g),计算菜籽油得率。

**1.2.2 脂肪酸组成分析** 称取30 mg样品,加入1.5 mL 0.5 mol·L<sup>-1</sup>甲醇钠,充分混合后在95℃以上温度反应3 min,冷却,再加入2 mL体积分数14%的BF<sub>3</sub>甲醇溶液继续在95℃条件下反应2 min,冷却后加入1 mL饱和氯化钠和2 mL异辛烷,提取脂肪酸甲酯经过无水硫酸钠干燥后用于气相(GC)分析<sup>[11]</sup>,具体色谱条件见表1。

表1 气相色谱分析条件  
Table 1 Analysis condition of GC

参数 Parameter	分析条件 Analysis condition
检测器 Detector	FID(Hewlett Packard, U.S.A)
柱子 Column	SPTM-2560 capillary column (100 m×0.25 mm 0.20 μm film)
气体流量 Gas flow	He: 0.7 mL·min <sup>-1</sup> ; Air: 300 mL·min <sup>-1</sup> ; H <sub>2</sub> : 30 mL·min <sup>-1</sup>
样品注射量 Sample injection volume	3 μL
温度 Temperature	Injector: 250℃; Detector: 260℃; Column: 150℃ (5 min); 220℃ (4℃·min <sup>-1</sup> , 80 min)

表2 生育酚液相色谱分析条件  
Table 2 Analysis condition of HPLC (Tocopherol)

参数 Parameter	分析条件 Analysis condition
柱子 Column	Diol(5 μm), Sorbent Lot No. HX063602
检测器 Detector	FL detector (E <sub>xλ</sub> = 290 nm, E <sub>mλ</sub> = 330 nm)
流速 Flow rate	1 mL·min <sup>-1</sup>
流动相 Mobile phase	Hexane: IPA = 99.4: 0.6 (V/V)
注射量 Injection volume	20 μL

**1.2.3 生育酚及植物甾醇检测** 生育酚的检测利用了韩国食品药品管理局(Korea Food and Drug Administration, KFDA)的方法<sup>[12]</sup>,色谱分析条件如表2和表3。

表3 植物甾醇气相色谱分析条件  
Table 3 Analysis condition of GC (Phytosterol)

参数 Parameter	分析条件 Analysis condition
检测器 Detector	FID(Hewlett Packard, U.S.A)
柱子 Column	(25 m × 0.25 mm × 0.33 μm film)
分流比 Split ratio	1:100
注射器温度 Injector temperature	300℃
检测器温度 Detector temperature	300℃
烤箱温度 Oven temperature	285℃

**1.2.4 酶法制备脂肪酸甲酯** 5 g菜籽油与5.55 mL甲醇以及5 mL正己烷混匀后,放入自动控温往复水浴摇床中进行反应。加热到一定的温度后,添加一定量的脂肪酶 SP435,反应一定时间后取出,以

4 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 5 min, 取上层液体与等体积蒸馏水混合洗脱, 使用振荡器进行混匀, 静置至乳化层完全消失分层, 重复 3 次, 取上层溶剂富集, 氮气吹干称重, 减去空瓶质量, 除以初始菜籽油质量 (5 g), 计算脂肪酸甲酯得率。原理如图 1。

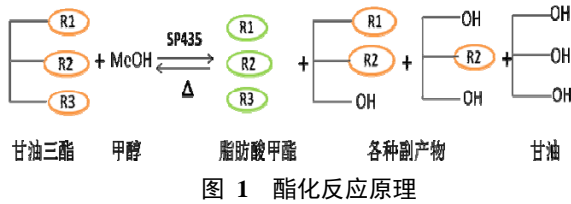


Figure 1 The principle of esterification reaction

**1.2.5 薄层色谱条件** 利用实验室方法, 以大豆油和棕榈酸甲酯为标样与菜籽油、酶法制备的菜籽油甲酯化反应产物进行点板比较, 样品与正己烷以 20:10 (μL·mL<sup>-1</sup>) 的比例混合均匀备用。展开剂正己烷:乙醚:冰乙酸 (90:10:1, V/V/V) 混匀后倒入展

开缸中, 密封备用。在显色用层析缸中铺一层海砂和 5~6 粒固体碘, 密封放置 0.5 h 使碘充分饱和, 备用。待展开剂前沿走至距板上端 1 cm 处取出烘干。将经过层析展开的硅胶板放入碘缸中进行显色。

**1.2.6 统计分析** 采用 *F* 检验法以及 SPSS19.0 软件中的 Duncan 检验对差异显著的数据进行多重比较 ( $P < 0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 7 种菜籽油脂肪酸组成及得率

表 4 为 7 组改良菜籽油面积归一法计算的脂肪酸含量组成及得率, 包括棕榈酸(C16:0)、棕榈油酸(C16:1)、硬脂酸(C18:0)、油酸(C18:1)、亚油酸(C18:2)、花生酸(C20:0)、没食子酸(20:1)、亚麻酸(C18:3)和芥酸(C22:1)等, 其中 C18:1 和 C18:2 为主要脂肪酸。得率最高的样品为 1-Nehan。

表 4 菜籽油脂肪酸组成及得率  
Table 4 Fatty acid composition and yield of rapeseed oil

脂肪酸组成 Fatty acid composition	样品 Sample							%
	1-Nehan	2-Tamna	3-Mocpo111	4-Yeongsan	5-Tammi	6-Hanla	7-Mocpo68	
棕榈酸 C16:0	5.22±0.10 <sup>a</sup>	4.69±0.04 <sup>ab</sup>	4.62±0.24 <sup>ab</sup>	4.60±0.70 <sup>ab</sup>	4.11±0.62 <sup>b</sup>	4.85±0.20 <sup>ab</sup>	4.51±0.39 <sup>ab</sup>	
棕榈油酸 C16:1	-	0.22±0.01	-	-	-	0.26±0.07	-	
硬脂酸 C18:0	2.22±0.15 <sup>ab</sup>	2.11±0.16 <sup>ab</sup>	1.78±0.08 <sup>b</sup>	2.04±0.41 <sup>ab</sup>	1.96±0.28 <sup>ab</sup>	2.45±0.20 <sup>a</sup>	1.83±0.00 <sup>b</sup>	
油酸 C18:1	56.97±1.63 <sup>b</sup>	66.45±2.27 <sup>a</sup>	58.60±3.1 <sup>b</sup>	59.68±0.64 <sup>b</sup>	59.69±0.96 <sup>b</sup>	61.29±2.42 <sup>ab</sup>	57.85±4.32 <sup>b</sup>	
亚油酸 C18:2	23.38±0.04 <sup>b</sup>	16.77±0.09 <sup>c</sup>	25.43±0.43 <sup>a</sup>	22.39±0.32 <sup>b</sup>	22.39±1.01 <sup>b</sup>	23.36±0.18 <sup>b</sup>	24.94±0.27 <sup>a</sup>	
花生酸 C20:0	0.66±0.19 <sup>a</sup>	0.60±0.19 <sup>a</sup>	0.52±0.02 <sup>a</sup>	0.50±0.28 <sup>a</sup>	0.40±0.13 <sup>a</sup>	0.65±0.01 <sup>a</sup>	0.52±0.01 <sup>a</sup>	
没食子酸 C20:1	0.84±0.24 <sup>c</sup>	1.14±0.23 <sup>c</sup>	0.86±0.09 <sup>c</sup>	1.31±0.22 <sup>ab</sup>	1.71±0.35 <sup>a</sup>	0.79±0.18 <sup>c</sup>	0.83±0.13 <sup>c</sup>	
亚麻酸 C18:3	10.61±0.23 <sup>a</sup>	7.51±0.16 <sup>bc</sup>	8.19±0.54 <sup>abc</sup>	8.23±0.79 <sup>abc</sup>	6.73±0.21 <sup>c</sup>	6.34±0.09 <sup>c</sup>	9.51±2.41 <sup>ab</sup>	
芥酸 C22:1	-	-	-	0.44±0.06	2.52±1.02	-	-	
不饱和脂肪酸 ΣUSFA	91.81±0.57 <sup>a</sup>	92.17±0.92 <sup>a</sup>	93.08±0.30 <sup>a</sup>	92.03±2.57 <sup>a</sup>	93.05±1.72 <sup>a</sup>	92.04±0.39 <sup>a</sup>	93.13±0.38 <sup>a</sup>	
饱和脂肪酸 ΣSFA	8.1±0.44 <sup>a</sup>	7.4±0.32 <sup>a</sup>	6.92±0.30 <sup>a</sup>	7.14±1.39 <sup>a</sup>	6.47±1.03 <sup>a</sup>	7.96±0.39 <sup>a</sup>	6.87±0.38 <sup>a</sup>	
得率 Yield	20.00	19.50	19.10	19.20	15.60	16.50	14.50	

注:a~c 分别为在同一行 0.05 水平上的显著性差异; 1~7 分别为样品名。脂肪酸组成为面积归一法得到的相对含量, 得率为菜籽油提取率。

Note: a-c refer to the significance at the 0.05 level, respectively, at the same line; 1-7 are sample names, respectively; ΣUSFA: unsaturated fatty acid; ΣSFA: saturated fatty acid; fatty acid composition is the relative content obtained by area normalization method; the yield is the extraction rate of rapeseed oil.

样品 1~7 中, 棕榈酸(C16:0)含量样品 5-Tammi 显著低于样品 1-Nehan ( $P < 0.05$ ), 样品 2-Tamna 和样品 6-Hanla 包含少量棕榈油酸(C16:1), 硬脂酸(C18:0)含量样品 6-Hanla 显著高于样品 3-Mocpo111 和样品 7-Mocpo68 ( $P < 0.05$ ), 油酸(C18:1)含量样品 2-Tamna 显著高于其他几组 ( $P < 0.05$ ), 亚油酸(C18:2)含量是样品 3-Mocpo111 和样品 7-Mocpo68

显著高于其余 5 组, 花生酸(C20:0)7 组样品无显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 没食子酸(20:1)为样品 4-Yeongsan 和样品 5-Tammi 含量较高, 亚麻酸(C18:3)样品 1-Nehan 含量最高为 10.61%, 其中样品 4-Yeongsan 和样品 5-Tammi 包含有害脂肪酸芥酸(C22:1), 含量分别为 0.44% 和 2.52%。总饱和脂肪酸各品种之间没有显著性差异 ( $P > 0.05$ )。因

此样品 1、2、3、6 和 7 可利用于食用油的生产，样品 4 和 5 可通过酯化反应制备脂肪酸甲酯利用于生物柴油等工业原料。

2.2 7 种菜籽油生育酚含量及植物甾醇含量

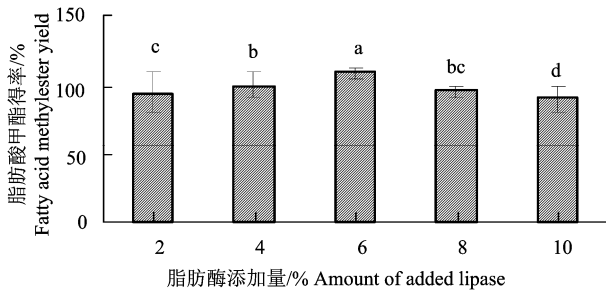
生育酚主要包括  $\alpha$ -tocopherol、 $\beta$ -tocopherol、 $\gamma$ -tocopherol 和  $\delta$ -tocopherol。样品 1 至样品 7 总生育酚含量分别为 75.58、65.02、58.53、49.24、61.04、58.94 和 69.78 mg·100 g<sup>-1</sup>，样品 1-Nehan 总生育酚

含量显著高于其他各组。植物甾醇与胆固醇结构相似，但其功能不同，不能在体内合成，主要包括  $\beta$ -sitosterol、stigmasterol 和 campesterol。7 种样品  $\beta$ -sitosterol 无显著性差异 ( $P > 0.05$ )，样品 7-Mocpo68 的 stigmasterol 显著高于其余样品含量为 16.08 mg·100 g<sup>-1</sup>，但 campesterol 含量显著低于其余样品含量为 223.06 mg·100 g<sup>-1</sup>。

表 5 菜籽油中生育酚及植物甾醇含量  
Table 5 Tocopherol and phytosterol contents in rapeseed oil

组成 Component	样品 Sample							
	1-Nehan	2-Tamna	3-Mocpo111	4-Yeongsan	5-Tammi	6-Hanla	7-Mocpo68	
生育酚	$\alpha$ -Tocopherol	27.58±1.48 <sup>a</sup>	28.4±1.16 <sup>a</sup>	22.25±3.47 <sup>b</sup>	12.91±1.22 <sup>d</sup>	24.65±1.58 <sup>ab</sup>	15.05±0.55 <sup>cd</sup>	18.12±0.16 <sup>c</sup>
	$\beta$ -Tocopherol	10.9±3.01 <sup>a</sup>	7.61±2.69 <sup>a</sup>	9.72±2.07 <sup>a</sup>	8.56±2.09 <sup>a</sup>	9.18±4.08 <sup>a</sup>	8.06±3.44 <sup>a</sup>	10.29±2.07 <sup>a</sup>
	$\gamma$ -Tocopherol	36.29±1.91 <sup>a</sup>	28.5±1.78 <sup>b</sup>	26.34±2.06 <sup>b</sup>	27.39±0.06 <sup>b</sup>	26.63±1.22 <sup>b</sup>	35.34±0.55 <sup>a</sup>	36.01±2.49 <sup>a</sup>
	$\delta$ -Tocopherol	0.81±0.05 <sup>a</sup>	0.51±0.13 <sup>a</sup>	0.21±0.3 <sup>a</sup>	0.38±0.11 <sup>a</sup>	0.59±0.15 <sup>a</sup>	0.50±0.00 <sup>a</sup>	5.36±6.12 <sup>a</sup>
	Total	75.58±3.49 <sup>a</sup>	65.02±3.44 <sup>bc</sup>	58.53±3.78 <sup>c</sup>	49.24±0.93 <sup>d</sup>	61.04±3.88 <sup>bc</sup>	58.94±3.45 <sup>c</sup>	69.78±5.85 <sup>ab</sup>
植物甾醇	$\beta$ -Sitosterol	525.39±68.97 <sup>a</sup>	430.52±119.08 <sup>a</sup>	351.78±68.73 <sup>a</sup>	486.28±50.48 <sup>a</sup>	395.02±75.42 <sup>a</sup>	537.73±169.89 <sup>a</sup>	608.39±125.58 <sup>a</sup>
	Stigmasterol	12.46±1.94 <sup>abc</sup>	5.72±1.60 <sup>d</sup>	10.07±2.20 <sup>bcd</sup>	9.43±2.92 <sup>bcd</sup>	13.37±2.58 <sup>ab</sup>	8.00±1.98 <sup>cd</sup>	16.08±0.99 <sup>a</sup>
	Campesterol	362.72±36.74 <sup>a</sup>	313.46±87.36 <sup>ab</sup>	253.07±34.31 <sup>ab</sup>	317.9±19.94 <sup>ab</sup>	282.2±49.04 <sup>ab</sup>	273.57±76.43 <sup>ab</sup>	223.06±44.44 <sup>b</sup>

注:a~d 分别为在同一行 0.05 水平上的显著性差异；1~7 分别为样品名。  
Note: a-d refer to the significance at the 0.05 level, respectively, at the same line; 1-7 are sample names.



不同字母表示差异性显著 ( $P < 0.05$ )。下同  
Different letters means significantly different ( $P < 0.05$ ). The same below

图 2 脂肪酸甲酯得率随脂肪酶添加量的变化  
Figure 2 Effect of lipase addition on the yield of fatty acid methyl ester

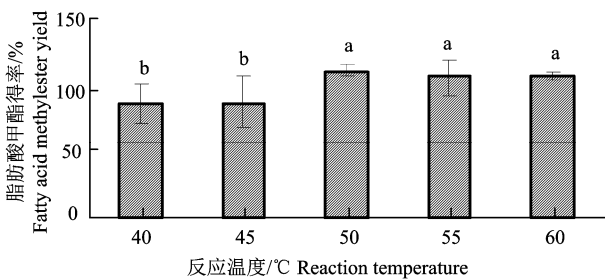


图 3 脂肪酸甲酯得率随反应温度的变化  
Figure 3 Effect of reaction temperature on the yield of fatty acid methyl ester

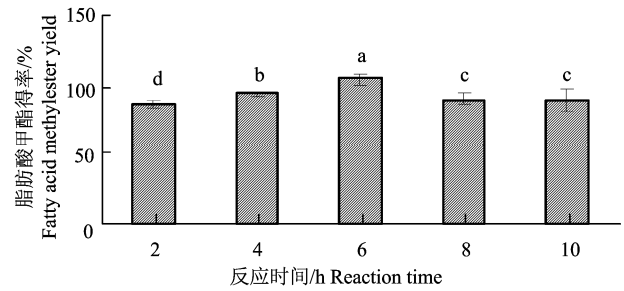


图 4 脂肪酸甲酯得率随反应时间的变化  
Figure 4 Effect of reaction time on the yield of fatty acid methyl ester

2.3 脂肪酶添加量对脂肪酸甲酯得率的影响

实验选用了芥酸含量较高的样品 5-Tammi 制备了脂肪酸甲酯。由图 2 可知，在反应温度 50℃，反应时间 6 h，脂肪酶添加量 6% 时反应产物显著高于其他反应组 ( $P < 0.05$ )，得率为 96.88%；当脂肪酶添加量为 10% 时显著低于其余各组 ( $P < 0.05$ )，脂肪酶添加量 8% 与添加 2% 和 4% 之间得率不存在显著性差异 ( $P > 0.05$ )，但脂肪酶添加量为 2% 与 4% 之间得率存在显著性差异 ( $P < 0.05$ )。这可能是由于脂肪酶添加量在 6% 以下时酶与底物没有完全结合，无法完全催化油脂与甲醇酯化反应，使反应不完全，导致脂肪酸甲酯得率不高。而当脂肪酶添加量大于 6% 时脂肪酸甲酯的得率没有增加，反而呈

现下降趋势, 可能是因为脂肪酶与底物的结合率已经达到饱和, 而且过量的酶导致增加反应过程中的传质阻力<sup>[13]</sup>。

#### 2.4 反应温度对脂肪酸甲酯得率的影响

由图 3 可知, 脂肪酶添加量 6%, 反应时间 6 h 时, 反应温度在 50、55 和 60℃ 得率显著高于 40℃ 和 45℃ ( $P < 0.05$ ), 反应温度 50、55 和 60℃ 之间不存在显著性差异 ( $P > 0.05$ ), 酯化产物得率趋于稳定。这是因为在此反应温度下酯化反应整体趋向正向反应, 正向反应速率大于逆反应速率, 同时随着温度的升高酶活增大, 酯化产物的得率呈缓慢上升趋势。

表 6 菜籽油甲酯化反应研究因素及水平

Table 6 Rapeseed oil solution form factors on the levels of reaction

水平 Level	A 酶用量/% Enzyme dosage	B 反应温度/℃ Reaction temperature	C 反应时间/h Reaction time
1	4	45	4
2	6	50	6
3	8	55	8

表 7 菜籽油甲酯化反应研究 L<sub>9</sub> (3<sup>4</sup>) 试验结果

Table 7 Rapeseed oil methyl esterification of L<sub>9</sub> (3<sup>4</sup>) test results

处理号 No.	因素 Factor				得率/% Yield
	A	B	C	D(空列) Blank	
1	1	1	1	1	84.58
2	1	2	2	2	84.76
3	1	3	3	3	72.9
4	2	1	2	3	84.9
5	2	2	3	1	85.64
6	2	3	1	2	76.74
7	3	1	3	2	96.52
8	3	2	1	3	87.86
9	3	3	2	1	87.72
<i>k1j</i>	242.24	266	249.18	257.94	
<i>k2j</i>	247.28	258.26	257.38	258.02	
<i>k3j</i>	272.1	237.36	255.06	245.66	
<i>k1j</i>	80.75	88.67	83.06	85.98	
<i>k2j</i>	82.43	86.09	85.79	86.01	
<i>k3j</i>	90.7	79.12	85.02	81.89	
<i>Rj</i>	9.95	9.55	2.73	4.12	

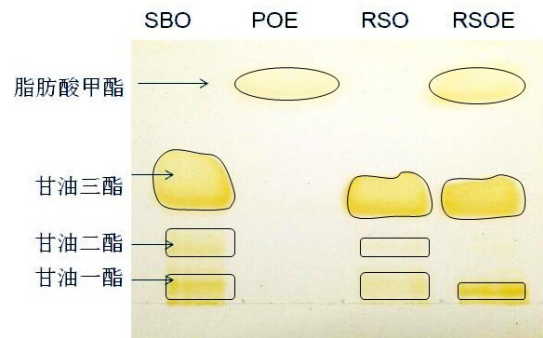
#### 2.5 反应时间对脂肪酸甲酯得率的影响

由图 4 可知, 反应时间为 6 h 时酯化产物得率显著高于其他反应组, 整体为先上升后下降趋势。这可能是因为反应时间在 2、4 和 6 h 时反应物浓度

大于生成物浓度, 反应整体趋向正方向, 使得酯化产物的得率持续增加, 而从 6 h 之后开始下降, 是因为随着反应时间的延长, 酯化反应开始向负反应方向进行, 使得酯化产物得率降低。

#### 2.6 正交试验结果

菜籽油甲酯化反应研究的因素水平见表 6, 即通过对脂肪酶添加量 4%、6% 和 8%, 反应温度 45、50 和 55℃, 反应时间 4、6 及 8 h 进行 L<sub>9</sub> (3<sup>4</sup>) 试验, 试验结果如表 7。从 R 值可以看出脂肪酶添加量、反应温度、反应时间对脂肪酸甲酯得率的影响主次顺序为 A>B>C, 即最主要的影响因素为脂肪酶添加量, 其次是反应温度, 反应时间影响最小, 由 K 值可以确定各因素和水平间最佳组合为 A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>2</sub>, 而试验最佳结果组合为 A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>3</sub>, 由于 D (空列) R 值大于 C 列 R 值, 说明试验时间对脂肪酸甲酯得率影响差异不大, 故从反应时间及生产效率考虑, 确定 A<sub>3</sub>B<sub>1</sub>C<sub>2</sub> 为最佳组合, 即脂肪酶添加量 8%, 反应温度 45℃, 反应时间 6 h。



SBO: soybean oil; POE: palm oil methyl ester; RSO: rapeseed oil; RSOE: rapeseed oil methyl ester

图 5 菜籽油酯化反应产物薄层色谱图

Figure 5 Thin-layer chromatogram of the rapeseed oil methyl ester(product of rapeseed oil methyl esterification)

#### 2.7 薄层层析结果

图 5 中从左到右分别为大豆油 (SBO)、棕榈酸甲酯 (POE)、菜籽油 (RSO) 和菜籽油甲酯化产物 (RSOE)。由图 5 可知, 利用固定化脂肪酶 SP435 制得的产物中, 除脂肪酸甲酯以外还含有未反应完全的甘油三酯及其他副产物如甘油二酯、甘油一酯等。

### 3 结论

分析 7 组菜籽油样品脂质成分及优化脂肪酸甲酯制备条件, 可知样品 4-Yeongsan 和样品 5-Tammi 包含有害脂肪酸芥酸 (C22:1), 甘油三酯得率样品 1-Nehan 最高为 20%, 样品 7-Mocpo68 最低为

14.5%；由薄层色谱点样得知，固定化脂肪酶 SP435 制得的产物中除脂肪酸甲酯以外还含有未反应完全的甘油三酯及其他副产物如甘油二酯、甘油一酯等。实验分析结果可为菜籽油用于化妆品的原材料，应用于食品、医药、工业以及生物柴油的制备奠定理论基础。

### 参考文献：

- [1] 姜显光. 植物油脂中脂肪酸的分析研究[D]. 大连: 辽宁师范大学, 2008.
- [2] YANG M, ZHENG C, ZHOU Q, et al. Minor components and oxidative stability of cold-pressed oil from rapeseed cultivars in China[J]. *J Food Compos Anal*, 2013, 29(1): 1-9.
- [3] SZYDŁOWSKA-CZERNIAK A, KARLOVITS G, HELLNER G, et al. Effect of enzymatic and hydrothermal treatments of rapeseeds on quality of the pressed rapeseed oils: part II. Oil yield and oxidative stability[J]. *Process Biochem*, 2010, 45(2): 247-258.
- [4] 李琦, 刘勇, 刘坚, 等. 菜籽油脂肪酸组成特征指标及大豆油掺伪后不合格判定的研究[J]. *中国粮油学报*, 2014, 29(8): 117-123.
- [5] 刘帅, 王爱武, 李美艳, 等. 脂肪酸甲酯化方法的研究进展[J]. *中国药房*, 2014, 25(37): 3535-3537.
- [6] 李俊妮. 酶法合成脂肪酸甲酯的研究进展[J]. *精细与专用化学品*, 2012, 20(3): 44-47.
- [7] 周汉芬, 韦一良, 胡健华. 樟树籽仁油醇解工艺研究[J]. *中国油脂*, 2005, 30(8): 53-56.
- [8] 唐芳, 李小元, 吴卫国, 等. 山茶油脂肪酸甲酯化条件研究[J]. *粮食与油脂*, 2010, 23(8): 36-39.
- [9] 李堂. 脂肪酶催化菜籽油乙醇解制备生物柴油[D]. 湘潭: 湖南科技大学, 2007.
- [10] 何雅静, 苏志豪, 宁晓强, 等. 超声波辅助提取菜籽油工艺优化及脂肪酸组成分析[J]. *食品工业*, 2018, 39(7): 75-79.
- [11] 朱雪梅, 阮霞, 胡蒋宁, 等.  $\alpha$ -生育酚、VC 硬脂酸酯和槲皮素在含松籽油酸结构脂中抗氧化作用的研究[J]. *食品科学*, 2013, 34(1): 88-92.
- [12] Korea Food and Drug Administration(KFDA). *Food Standards Codex. Korean Foods Industry Association*[S], Seoul Korea, 2009.
- [13] 徐炜枫. 固定化脂肪酶 Lipozyme TLIM 酶催化菜籽油醇解反应制备生物柴油的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2007.