

文章编号 :1009-038X(2003)01-0086-04

罗非鱼油的制取工艺及其氧化防止方法

吴燕燕, 李来好, 李刘冬, 陈培基, 杨贤庆, 刁石强
(南海水产研究所营养与食品工程研究室, 广东 广州 510300)

摘 要 :以罗非鱼的鱼内脏为研究对象,采用钾盐蒸煮法从罗非鱼内脏中提取鱼油的工艺条件和纯化不饱和脂肪酸(PUFA)的方法,对精制鱼油的氧化性及人工合成抗氧化剂(TBHQ)、VE、茶多酚 3 种抗氧化剂对鱼油的抗氧化性能进行了研究.通过正交试验及对比试验,结果表明,从罗非鱼内脏中制取鱼油的最佳工艺条件:水解温度 70~80℃,水解时间 40 min, KNO₃ 用量 6 g/dL,盐析时间 10 min.采用低温-钾盐乙醇法纯化鱼油 PUFA 的效果比尿素包埋法好;TBHQ、VE、茶多酚 3 种抗氧化剂对鱼油抗氧化作用以茶多酚效果最好.

关键词 :罗非鱼;内脏;鱼油;提取;精制;PUFA;抗氧化
中图分类号 :TS 225.2 **文献标识码 :**A

Studies on Extracting Technology and Preventing Oxidization of Fish Oil from Tilapia Viscera

WU Yan-yan, LI Lai-hao, LI Liu-dong, CHEN Pei-ji, YANG Xian-qing, DIAO Shi-qiang
(Nutrition and Food Technology Division of South China Sea Fisheries Research Institute, Guangzhou 510300, China)

Abstract : In this paper, the processing procedure of waste materials-fish viscera was investigated. The technical conditions of extracting fish oil from tilapia viscera by sylvite boiling method and the methods of purifying PUFA of fish oil were studied. Oxidative activity of the refined fish oil and the antioxidation functions of three antioxidants, TBHQ, VE, and tea-polyphenol were also studied. Through orthogonal and contrast experimentats, it was showed that the optimal technical conditions of extracting fish oil could be summarized as follows: hydrolysis at temperature 70~80℃ for 40 min, with 6 g/dL of KNO₃ added, and then salting out for 10 min. The effect of fish oil PUFA purifying by low temperature-sylvite ethanol was better than by urea cover. The fish oil is very easy oxidized at room temperature. Tea-polyphenol was of the strongest antioxidative agent in tilapia oil.

Key words : Tilapia; viscera; fish oil; extracting; refining; PUFA; antioxidative activity

罗非鱼具有生长快、易繁殖、肉质好、产量高等优点,引起各国养殖者的重视,依 FAO 的资料,目前全世界共有 85 个国家生产罗非鱼,在整个鱼类产品中,罗非鱼成为一个重要的产品.我国自 1957 年开始养殖罗非鱼,至今已有 40 多年的历史.目

前,我国罗非鱼产量居世界第一,尤其是在南方,罗非鱼的养殖发展最快,广东省淡水罗非鱼产量高达 85.8 万 t^[1].罗非鱼在加工过程中,产生了大量的加工废弃物.经测定,商品规格的淡水罗非鱼,其肝脏占总质量的 2.17%,其它内脏总和占总质量的

8.58%,内脏脂肪含量高,约占总质量20%左右.如何将这些加工废弃物加以综合利用,变废为宝,对合理利用资源、发展可持续渔业来说,无疑至关重要.

鱼油中含有的高不饱和脂肪酸比一般陆生动物高,特别是高不饱和脂肪酸中的二十碳五烯酸(EPA)和二十二碳六烯酸(DHA)具有很高的医药价值,对于缺油症、心血管病、炎症、癌症、增强免疫力、健脑益智、保护视网膜等有疗效^[2,3].开展从罗非鱼加工废弃物中提取鱼油的工艺研究很有必要.但鱼油受光照、温度等影响,在贮藏过程中易氧化变质,所以必须首先对鱼油进行抗氧化、防异味的研究.除了真空、充氮,采用抗氧化剂是防止脂肪氧化、保持食品品质的重要手段.作者研究了从罗非鱼内脏中制取鱼油的工艺条件,并对人工合成抗氧化剂(TBHQ)和天然抗氧化剂(VE、茶多酚)在鱼油中的抗氧化效果进行了研究.

1 材料与方法

1.1 材料

罗非鱼内脏 无锡下渡肉菜市场收集;试剂:氢氧化钠、氢氧化钾、体积分数95%乙醇、无水乙醇、硫酸、盐酸、磷酸、尿素、石油醚、硫代巴比妥酸、TEP标准溶液、TBHQ、VE、茶多酚等.

1.2 鱼油提取和精制

取罗非鱼内脏,用组织捣碎机捣碎,放于容器内,加入1 mL的水,通入氮气,于水浴锅中水浴升温至45~50℃,用40 g/dL的KOH水溶液调pH 8.按正交设计中设定的水解温度、时间、加盐量和盐析时间进行水解,水解过程中需搅拌;冷却至室温时分离上层油层,离心(3 000~4 000 r/min)除去杂质得粗鱼油.粗鱼油经磷酸脱胶后,根据鱼油的酸价,升温至40~60℃,加入体积分数为2%的70 g/dL的NaOH溶液,搅拌15 min,静置分层,吸取上清层,然后水洗至中性,加入混合脱色剂(高岭土:活性炭为1:1),在60℃下脱色30 min,经抽滤得精制罗非鱼内脏油.

1.3 高度不饱和脂肪酸(PUFA)的纯化

采用低温-钾盐乙醇法和尿素包埋法来纯化提取鱼油中的高度不饱和脂肪酸^[4].

鱼油混合脂肪酸制备:取一份罗非鱼粗鱼油,加入1.5倍体积的乙醇和体积分数5%的水,加2.5 g/dL KOH,在沸水浴中充氮气回流皂化30 min,冷却至室温后,加入适量水和石油醚,除去胆固醇和非皂化物,分除去石油醚层,用体积分数为30%的硫酸溶液酸化, pH 为2~3,搅拌,静置分层,取上层

油液,水洗几次,即得鱼油混合脂肪酸.

低温-钾盐乙醇法 将氢氧化钾溶于体积分数为95%的乙醇中,加入鱼油混合脂肪酸,充分搅拌20 min,静置.溶液中析出饱和脂肪酸钾盐结晶,过滤,滤液放在低温冰箱(-20℃)中24 h,过滤,滤液在旋转式薄膜蒸发器上减压回收部分乙醇,浓缩液加入体积1倍量的水,然后用硫酸溶液进行酸化,分离上层油液,即为纯化的高度不饱和脂肪酸.

尿素包合法:300 g 尿素加入甲醇1 200 g,加热,搅拌使溶解;另取混合脂肪酸100 g与甲醇100 g混合,在不断搅拌下加入尿素甲醇溶液,加热至溶液澄清,置室温持续搅拌3 h,于-20℃静置24 h,抽滤以除去尿素包合物结晶.抽滤时以少量饱和尿素甲醇溶液洗包合物,滤出的尿素包合物分别加入以盐酸酸化的水中,搅拌以石油醚萃取2次,合并萃取液,水洗后除去石油醚,以无水硫酸钠干燥得脂肪酸.最终滤液加水及盐酸搅拌,静置后收集上层液,水洗,干燥得PUFA.

1.4 鱼油指标测定

1.4.1 含油量 氯仿-甲醇快速提油法,参见文献^[5].

1.4.2 出油率 每份鱼油质量÷每份废弃物质量

1.4.3 感官评价 试验者对罗非鱼内脏提取的鱼油进行色泽和气味的简单评价,并与植物油相比较.

1.4.4 碘价 按GB/T 5532-1995测定^[6].

1.4.5 酸价的测定 按GB/T 5009.37-1996测定.

1.4.6 过氧化值的测定 参见文献^[7].

1.4.7 硫代巴比妥酸反应值(TBARS)的测定 分光光度法,参见文献^[7].

1.5 鱼油氧化试验

将精制鱼油分成等量的几份,分别按不添加抗氧化剂和添加TBHQ、VE、茶多酚抗氧化剂,添加到等份鱼油中.抗氧化剂先用无水乙醇溶解,再加入鱼油中,混匀;15 min后,将样品放进有利于氧化的条件下(60~70℃的有氧烘箱中168 h),每隔一段时间取出样品进行氧化性分析.

2 结果与讨论

2.1 罗非鱼内脏提取鱼油的工艺试验

从罗非鱼内脏中提取鱼油的方法有冷冻法、乙醇溶剂萃取法和蒸煮法等几种方法^[8,9],我国鱼油厂普遍采用淡碱水解法,但提取过程产生的废液中钠盐含量高,不能进一步利用,而形成新的废弃物.

作者借鉴蒸煮法,采用加钾盐盐析的蒸煮方法提取粗鱼油.经过初步试验,表明水解温度、水解时间、钾盐用量、盐析时间等在提油过程中起主要作用,所以选用正交试验 $L_9(3)^4$ 正交表^[10] (见表 1).以鱼油提取率,感官性状为测定指标进行测定.

表 1 正交试验因素与水平

Tab.1 Factors and levels of orthogonal experimentation				
水平	因 素			
	水解温度/℃	水解时间/min	加盐量 $KNO_3/(g/dL)$	盐析时间/min
1	60~70	25	4	10
2	70~80	40	5	15
3	80~90	55	6	20

经数理统计方差分析及各因素趋势图得知,在此工艺中,温度为主要影响因素,水解时间、加盐

量、盐析时间为次要因素.当水解温度为 70~80℃时,出油率最高,而温度再高时出油率反而下降.水解时间以 35~40 min 时出油率最高; KNO_3 用量以 6 g/dL 时效果较好.盐析时间越短则出油率越高.在感官上,罗非鱼内脏油色泽都为浅黄色,与一般的植物油颜色相近,有新鲜的淡鱼腥味,符合食用油的要求.故综合考虑,确定最佳提取罗非鱼内脏油的工艺条件为:水解温度 70~80℃,水解时间 40 min, KNO_3 为 6 g/dL,盐析时间 10 min.

在选定的最佳工艺条件下进行验证实验,结果及有关指标见表 2.所得鱼油的各项指标均达到鱼油质量标准,且质量较好,工艺稳定.工艺中所用的盐为钾盐,是传统农业肥料,而提取鱼油后的废水,废渣含有大量的氨基酸、蛋白质,所以内脏制取鱼油后的废弃物,经处理就可以作为优质绿色肥料的原料进一步利用,达到了废弃物综合利用的目的.

表 2 正交试验条件下罗非鱼内脏鱼油指标分析结果

Tab.2 Analysis results of the tilapia viscera oil index under orthogonal experimentation conditions						
试验号	提取率/%	酸价/(mg/g)	过氧化值/(meq/kg)	100 g 鱼油含碘价/g	Σ FA	Σ PUFA
1	21.2	1.21	2.86	123.21	83.5	30.5
2	21.4	1.25	2.79	121.35	84.7	30.9
标准指标	—	$\leq 15, 8, 2.0, 1.0$	$\leq 10, 6, 5$	≥ 120	—	—

注:FA 为脂肪酸.

2.2 鱼油 PUFA 的纯化

本工艺采用低温-钾盐乙醇法和尿素包埋法进行罗非鱼油高不饱和脂肪酸(PUFA)的纯化,限于实验室条件,同时考虑到实际生产应用中低温冷库的温度,选用-20℃作为低温处理温度,这与工厂低温冷库温度相适应.从鱼油 PUFA 的纯化得率上来讲,低温-钾盐乙醇法不如尿素包埋法;低温-钾盐乙醇法得到的浓缩 PUFA 总和得率为 58.9%,而 EPA 和 DHA 之和从粗鱼油的得率 16.0% 提高到 31.6%;尿素包埋法得到的浓缩 PUFA 总和为 60.6,而 EPA 和 DHA 之和从粗鱼油的得率为 16.0% 提高为 32.3%.所以,从试验结果来看,以尿素包埋法对鱼油 PUFA 的纯化略为佳.但是,在试验操作中发现,尿素包合法的抽滤、除石油醚、干燥等操作十分麻烦、费时,而低温-钾盐乙醇法具有工艺简单易行、成本低、易于分离等优点.在生产应用中要综合考虑产品得率、人力、物力、回收等方面的因素,所以采用低温-钾盐乙醇法进行纯化 PUFA.

2.3 抗氧化剂对罗非鱼油氧化效果的影响

鱼油含有较多的不饱和脂肪酸,在贮藏过程更容易受到光照、空气、温度等影响而氧化变质.根据

Abou-Gharbia H. A 等人研究表明,将油脂放置在 65℃的恒温炉中 24 h,相当于在室温下放置 1 个月^[11,12].研究罗非鱼油在贮藏过程中的氧化性及不同抗氧化剂对鱼油的抗氧化效果,将鱼油贮藏在 65℃下,并每隔一段时间检测样品的过氧化值(POV)及硫代巴比妥酸反应物值(TBARS)的变化,结果见表 3.

由表 3 可见,当罗非鱼油在 65℃贮藏时,若不添加抗氧化剂,鱼油的过氧化值(POV)和硫代巴比妥酸反应物值(TBARS)随贮藏时间的延长而增加,而放置 60 h 后就达不到鱼油的食用标准.通过在鱼油中分别添加 3 种不同类型的抗氧化剂(TBHQ、VE、茶多酚),添加量均为质量分数 0.02%,结果添加 VE 的鱼油,在 65℃贮藏时,其 POV 值和 TBARS 值随时间的延长而增大.在 120 h 时,不加抗氧化剂的鱼油 POV 值为 123.34 meq/kg, TBARS 值为 18.9 μ mol/g,而添加了 VE 鱼油,其 POV 值为 95.56 meq/kg, TBARS 值为 13.86 μ mol/g,抗氧化效果较差. TBHQ 和茶多酚在鱼油中的抗氧化效果较好,在 60 h,添加 TBHQ 的鱼油 POV 值为 8.84 meq/kg, TBARS 值为 5.55 μ mol/g,而添加

茶多酚的鱼油 POV 值为 8.97 meq/kg, TBARS 值为 6.04 $\mu\text{mol/g}$, 鱼油仍新鲜, 此时不加抗氧化剂的鱼油已氧化了, 远远超过食用油标准. TBHQ 和茶多酚在鱼油中的抗氧化效果相差不多, TBHQ 略为好点, TBHQ 为合成抗氧化剂, 茶多酚为天然抗氧

化剂, TBHQ 仍未被欧洲、日本、加拿大等国批准在食品上应用, 而且价格也较贵, 所以从这些方面考虑, 采用茶多酚作为鱼油的抗氧化剂, 抗氧化效果是最好的.

表 3 65 ℃时不同抗氧化剂对鱼油 POV 和 TBARS 的影响
Tab.3 Effect of different antioxidants on the peroxide value (POV) and 2-thiobarbituric acid-reactive substances value (TBARS) of Tilapia oil stored at 65 ℃

贮藏 时间/ h	POV/(meq/ kg)				TBARS/($\mu\text{mol/g}$)			
	不加抗 氧化剂	TBHQ 质量分数 0.02%	VE 质量分数 0.02%	茶多酚 质量分数 0.02%	不加抗 氧化剂	TBHQ 质量分数 0.02%	VE 质量分数 0.02%	茶多酚 质量分数 0.02%
0	2.82	2.81	2.82	2.82	4.11	4.12	4.14	4.16
24	19.21	7.25	16.40	7.23	7.84	4.14	6.88	4.23
60	67.43	8.84	36.87	8.97	12.3	5.55	10.20	6.04
120	123.34	28.51	95.56	30.70	18.9	7.13	13.86	8.85
168	251.22	58.20	187.58	64.21	24.7	10.20	22.14	13.56

3 结 论

1) 采用钾盐蒸煮法从罗非鱼内脏中制取鱼油, 通过正交试验, 确定了最佳的工艺条件: 水解温度 70 ~ 80 ℃, 水解时间 40 min, KNO₃ 用量为 6 g/dL, 盐析时间 10 min. 采用低温钾盐乙醇法进行高不饱和脂肪酸(PUFA)的纯化, 结果精制鱼油中的高不饱和脂肪酸总和得率为 58.9%. 此法所得鱼油容易分离, 条件温和, 质量较好, 操作简便, 不易产生新

的废弃物, 达到了综合利用的目的, 而且该法优于传统的淡碱水解提油法.

2) 精制鱼油在贮藏时由于不饱和脂肪酸含量较高, 极易受光照、温度、空气等的影响而发生氧化, 从而产生致癌物质, 所以防止鱼油氧化十分重要. 试验表明, 采用茶多酚添加到鱼油中, 具有良好的抗氧化效果.

致谢 湛江海洋大学食品科学与工程系蒋仲恺、黄世健同学参加了部分试验工作, 特此表示感谢.

参考文献：

[1] 常平, 梁振昌. 罗非鱼的养殖概况及其发展前景[J]. 水产科技, 1994, (4) :10 - 11.
[2] 乔庆林, 李集成. 鱼油研究进展[J]. 海洋渔业, 1991, 13(3) :137 - 140.
[3] 藤田孝夫. 高度不饱和脂肪酸と健康-水产食品と营养餐[M]. 东京: 恒星社厚生阁刊, 1981. 12.
[4] 李来好, 吴燕燕, 李刘冬. 特种水产品加工技术[M]. 广州: 广东科技出版社, 2002.
[5] Bligh E G, Dyer W J. A method of total lipid extraction and purification[J]. Can J Bioch phys, 1959, (37) :911 - 917.
[6] 国家技术监督局. 食品卫生检验方法(理化部分)[M]. 北京: 中国标准出版社, 1997.
[7] 刘福岭, 戴行钧. 食品物理与化学分析方法[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1987. 744 - 756.
[8] 黄志斌, 李淡秋, 蒋静娟. 加工工艺条件对水产品脂肪酸的影响[J]. 海洋渔业, 1989, 11(6) :251 - 253.
[9] 王学文, 李秀杰, 冯朝阳. 蒸煮温度和时间对鲢头部油脂提取率的影响[J]. 水利渔业, 1999, 19(3) :39.
[10] 中国科学院数学研究所统计组. 常用数理统计方法[M]. 北京: 科学出版社, 1979.
[11] Udaya N Wanasundara, Fereidoon Shahidi. Antioxidant and pro-oxidant activity of green tea extracts in marine oils[J]. Food Chemistary, 1998, 63 :335 - 342.
[12] Abou-Gharbia H A, Shehata A A Y, Youssef M, et al. Oxidative stability of sesame paste[J]. Journal of Food Lipids, 1996, (3) :129 - 137.

(责任编辑 杨 萌)