

# 脂肪酶水解菜籽油脚料工艺条件的优化

杨欣, 徐尔尼\*, 胡冰彬 (南昌大学生命科学与食品工程学院食品科学与技术国家重点实验室, 江西南昌 330047)

**摘要** [目的] 优化脂肪酶水解菜籽油脚料的工艺, 提高菜籽油脚料水解率。[方法] 以菜籽油脚料为原料, 选用黑曲霉脂肪酶水解菜籽油脚料, 通过单因素试验、Box-Behnken 中心组合设计和响应面法对该脂肪酶水解油脂的工艺条件进行优化分析。[结果] 单因素试验得出, 黑曲霉脂肪酶水解菜籽油脚料的最适酶添加量为 200 U/ml, 底物浓度 75 mg/ml, 酶解 pH 7.0, 酶解温度 40 ℃, 酶解时间 45 min 以及摇床转速 150 r/min, 此时菜籽油脚料水解率为 16.4%。利用 Box-Behnken 中心组合设计和响应面法确定了最优工艺条件是: 酶添加量 245 U/ml, 底物浓度为 75 mg/ml, 酶解 pH 7.0, 酶解温度是 41 ℃, 优化后的菜籽油脚料水解率达 (26.92 ± 0.86)%。[结论] 研究可为菜籽油脚料的进一步开发利用提供参考依据。

**关键词** 菜籽油脚料; 黑曲霉脂肪酶; 水解反应; 水解率

**中图分类号** S509.9 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2014)05-01526-04

## Optimization of Process Conditions of Hydrolysis from Rapeseed Oil Sediment by Lipase

YANG Xin, XU Er-ni et al (State key Laboratory of Food Science and Technology, School of Life Science and Food Engineering Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330047)

**Abstract** [Objective] To optimize process conditions of hydrolysis from rapeseed oil sediment by lipase. [Method] With rapeseed oil sediment as raw material, through single-factor experiment, Box-Behnken compound design and response surface method, the technique conditions were optimized. [Result] The optimal condition are enzyme concentration 200 U/ml, substrate concentration 75 mg/ml, reaction system's pH 7.0, reaction temperature 40 ℃, reaction time 45 min and table of revolution 150 r/min, the hydrolysis of rapeseed oil sediment is 16.4%. On this base, the four major factors were optimized by using Box-Behnken central composite-orthogonal design and response surface methodology. The optimum conditions were determined as follows factors: enzyme concentration 245 U/ml, substrate concentration 75 mg/ml, pH 7.0, temperature 41 ℃, after optimization of rapeseed oil sediment to hydrolysis rate is (26.92 ± 0.86)%. [Conclusion] The study can provide reference basis for further development and utilization of rapeseed oil sediment.

**Key words** Rapeseed oil sediment; *Aspergillus niger* lipase; Hydrolysis reaction; Hydrolysis rate

我国是世界上最大的油菜籽生产国, 年产量早已突破 1 000 万 t, 在菜籽油加工过程中, 油脚料每年排放量高达 20 万 t。油脚料极易发酵变质、酸败发臭, 是我国城镇油厂环境污染的重要源头<sup>[1]</sup>。菜籽油脚料中含有 25% ~ 30% 的中性油, 25% ~ 35% 的磷脂<sup>[2]</sup>, 其余为蛋白质、氨基酸、糖等碳水化合物, 矿物质元素及色素等物质。目前菜籽油脚料主要用来制备生物柴油、饲料、农业肥料等<sup>[3]</sup>, 而从中提取不饱和脂肪酸、甘油、磷脂等, 并进一步生产获得附加值高的产品却极为少见, 所以油脚料的开发利用成为环境治理和生物资源再利用的重要研究课题。

脂肪酶能催化天然油脂的水解, 生成脂肪酸、甘油二酯、甘油一酯和甘油。其中的不饱和脂肪酸是人体必需的营养物质, 具有重要的生理功能, 不仅能促进身体发育和智力增长, 还可调节血脂、提高免疫力等<sup>[4]</sup>。菜籽油脚料中天然脂肪酸一般以甘油三酯形式存在, 水解甘油三酯的主要方法有: 硫酸法, 操作过程复杂, 脂肪酸质量不稳定<sup>[5]</sup>; 碱皂化法, 大量使用无机酸碱, 残留物影响产品质量, 产生的大量废液对环境造成污染; 酶催化水解法, 因高效、专一性强, 反应条件温和, 不污染环境而逐渐成为当今研究的热点之一<sup>[6]</sup>。

笔者通过黑曲霉脂肪酶对菜籽油脚料的水解作用, 对黑曲霉脂肪酶<sup>[7-8]</sup> 添加量、底物浓度、pH、温度、时间以及摇床转速等对水解菜籽油脚料的影响进行单因素优化, 利用 Box-

Behnken 中心组合设计和响应面法对该酶的添加量、底物浓度、pH、温度进行工艺参数的优化分析研究, 以达到提高菜籽油脚料水解率的目的。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 菜籽油脚料(酸价 38.15, 皂化值 182.64), 来自江西南昌。主要试剂: 黑曲霉脂肪酶(酶活 ≥ 12 000 U/g), Sigma 公司; 其他试剂均为国产分析纯。主要仪器: THZ-C 恒温振荡器, 江苏太仓市实验设备厂; SK-1 快速混匀器, 常州国华电器有限公司; 集热式恒温加热磁力搅拌器, 巩义市英峪予华仪器厂; 手提式压力蒸汽灭菌器, 上海华线医用核子仪器有限公司。

## 1.2 试验方法

**1.2.1 菜籽油脚料的乳化液制备。** 因为菜籽油脚料不同于水, 所以需要乳化剂来乳化菜籽油脚料形成水包油型(O/W), 将底物均匀分散在反应体系中。按照菜籽油脚料: 乳化剂 = 1.2: 1.0<sup>[9]</sup> 配制菜籽油脚料乳化液, 按比例依次加吐温 80、司班 80 和菜籽油脚料于 50 ml 三角烧瓶中, 放入水浴锅 75 ℃ 加热 10 min, 然后在混匀器上混匀 8 min, 之后在混匀器上边混匀边加入蒸馏水, 混匀 8 min 后, 在水浴锅中加热 10 min, 这样反复加热混匀数次, 至菜籽油与水充分混匀为止。再置 121 ℃, 30 min 水解处理, 备用。

**1.2.2 脂肪酶水解菜籽油脚料的方法及水解率的测定。** 因为脂肪酶水解菜籽油脚料反应为可逆反应, 脂肪酶在酯水解和酯化反应中做催化剂用。一般在含百分之几十水的反应体系中进行水解反应, 若含水量控制在 20% 以内则优先进行酯化反应; 反应混合物中含水量为 70% ~ 90% 时, 则脂肪酶

**基金项目** 江西省科技厅科技支撑项目(20111BBF60024)。

**作者简介** 杨欣(1988 - ), 女, 湖北广水人, 硕士研究生, 研究方向: 应用微生物学。\* 通讯作者, 教授, 从事应用微生物学研究。

**收稿日期** 2014-01-15

进行的几乎全为水解反应<sup>[10]</sup>。

取一定量的菜籽油脚料乳化液于 150 ml 的锥形瓶中,加入适量的黑曲霉脂肪酶,然后加入柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液,置于摇床培养箱中,在一定温度下,经一段时间酶解后,立刻加入 50 ml 醇醚混合溶液终止反应,用碱滴定法滴定,测得酸价,并做空白对照<sup>[11]</sup>。根据公式计算酸值:

$$AV(\text{mgKOH/g}) = \frac{56.1 \times C_{\text{KOH}} \times V^{[12]}}{m}$$

式中, $C_{\text{KOH}}$ ,滴定时用 KOH 浓度(0.01 mol/L); $V$ ,滴定时所用 KOH 体积(ml); $m$ ,菜籽油脚料的取样量(g)。

由以下公式测得菜籽油脚料的水解率:

$$X\% = \frac{AV_t - AV_0}{SV - AV} \times 100\%^{[13]}$$

式中, $AV_0$ 为 0 时水解体系的酸值; $AV_t$ 为  $t$  时水解体系的酸值; $SV$ 为菜籽油脚料的皂化值; $AV$ 为菜籽油脚料的酸值。

### 1.2.3 黑曲霉脂肪酶水解菜籽油脚料条件的优化。

**1.2.3.1 温度对酶水解油脂的影响。**取 75 mg/ml 的菜籽油乳化液 3 ml 于 150 ml 的锥形瓶中,加入 pH 为 7.0 的缓冲液,添加黑曲霉脂肪酶 200 U/ml,分别在 25、30、35、40、45、50、55 °C 下,150 r/min 摇床 30 min 后,取出,加入 50 ml 醇醚混合溶液,用碱滴定法滴定,比较不同酶解温度对菜籽油脚料水解率的影响。

**1.2.3.2 pH 对酶水解油脂的影响。**取 75 mg/ml 的菜籽油乳化液 3 ml 于 150 ml 的锥形瓶中,各加入 pH 为 5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液,添加 200 U/ml 的黑曲霉脂肪酶,40 °C,100 r/min 摇床 30 min 后,取出,加入 50 ml 醇醚混合溶液,用碱滴定法滴定,比较不同酶解 pH 对菜籽油脚料水解率的影响。

**1.2.3.3 底物浓度对酶水解油脂的影响。**分别加入 25、50、75、100、125、150 mg/ml 的菜籽油脚料乳化液 3 ml 于 150 ml 的锥形瓶中,按  $m(\text{菜籽油脚料}):V(\text{缓冲液})=4\%$  加入 pH 为 7.0 的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液,加入黑曲霉脂肪酶 200 U/ml,40 °C,100 r/min 摇床 30 min 后,取出,加入 50 ml 醇醚混合溶液,用碱滴定法滴定,比较不同底物浓度对菜籽油脚料水解率的影响。

**1.2.3.4 黑曲霉脂肪酶添加量对水解油脂的影响。**取 75 mg/ml 的菜籽油乳化液 3 ml 于 150 ml 的锥形瓶中加入 pH 为 7.0 的缓冲液,分别加入黑曲霉脂肪酶 50、100、150、200、250、300,40 °C,100 r/min 摇床 30 min 后,取出,加入 50 ml 醇醚混合溶液,用碱滴定法滴定,比较不同酶添加量对菜籽油脚料水解率的影响。

**1.2.3.5 酶解时间对酶水解油脂的影响。**取 75 mg/ml 的菜籽油乳化液 3 ml 于 150 ml 的锥形瓶中加入 pH 为 7.0 的缓冲液,加入黑曲霉脂肪酶 200 U/ml,40 °C,100 r/min 分别摇床 0、30、45、60、120、240、360 min 后,取出,加入 50 ml 醇醚混合溶液,用碱滴定法滴定,比较不同酶解时间对菜籽油脚料水解率的影响。

**1.2.3.6 不同摇床转数对酶水解油脂的影响。**取 75 mg/ml

的菜籽油乳化液 3 ml 于 150 ml 的锥形瓶中加入 pH 为 7.0 的缓冲液,加入黑曲霉脂肪酶为 200 U/ml,40 °C,分别在转数为 80、100、120、150、200 r/min 摇床 45 min 后,取出,加入 50 ml 醇醚混合溶液,用碱滴定法滴定,比较不同振荡转数对酶促菜籽油脚料水解率的影响。

**1.2.4 响应面法优化水解工艺。**根据各单因素试验的结果,采用 Box-Behnken 设计数学模型<sup>[14]</sup>,选择对黑曲霉脂肪酶水解菜籽油脚料有显著影响的 4 个因素,即 pH、温度、底物浓度、酶添加量为自变量,以菜籽油脚料水解率为响应值,设计出 4 因素 3 水平的试验设计方案,如表 1。

表 1 响应面分析因素水平设计

编码水平	因素			
	pH(A)	酶解温度 (B)//°C	底物浓度 (C)//mg/ml	酶添加量 (D)//U/ml
-1	6.0	35	50	100
0	7.0	40	75	200
1	8.0	45	100	300

## 2 结果与分析

**2.1 温度对酶水解油脂的影响** 从图 1 中可以看出,40 °C 时,黑曲霉脂肪酶活性最大,而且反应速度增快,催化菜籽油脚料水解率最高,达到 15.8%;45 °C 以后酶活性下降速度大于反应速度,从而使水解率降低。

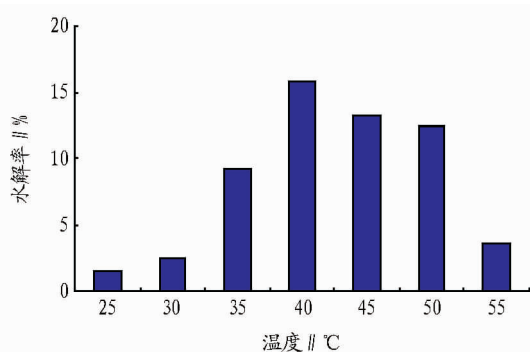


图 1 温度对酶水解油脂的影响

**2.2 pH 对酶水解油脂的影响** pH 是决定酶催化活性的重要因素之一,酶只有在一定的 pH 范围内才能保持较高的活性,这主要是因为酶分子活性部位与可解离基团的解离状态随溶液 pH 的变化而改变,从而影响酶与底物的结合,使酶的催化活力增高或者降低<sup>[15]</sup>。从图 2 可以看出,pH 在 7.0 时,菜籽油脚料水解率最高,达到 15.5%,因为黑曲霉脂肪酶在此 pH 范围内的活性最高,酶与底物充分结合发生催化作用。

**2.3 底物浓度对酶水解油脂的影响** 由图 3 可看出,在酶水解油脂过程中,当菜籽油脚料浓度较低时,油脂水解率随菜籽油脚料浓度增加而增加,在菜籽油脚料浓度到 75 mg/ml,水解率达到最高 16.1%;浓度大于 75 mg/ml 之后,水解率就渐渐下降,这是因为高浓度的底物对反应有抑制作用,导致水解不再进行。

**2.4 黑曲霉脂肪酶添加量对酶水解油脂的影响** 在酶催化油脂水解过程中,酶的添加量直接影响反应速率和油脂水解率。从图 4 可以看出,黑曲霉脂肪酶添加量在 50~200 U/ml

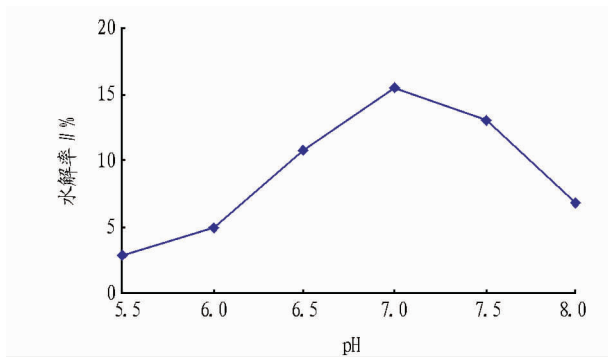


图2 pH对酶水解油脂的影响

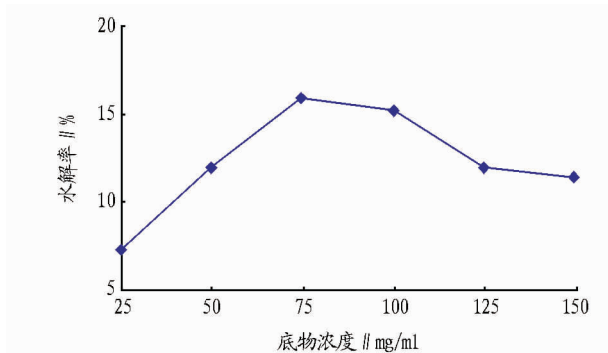


图3 底物浓度对酶水解油脂的影响

时,菜籽油脚料的水解率随着酶加入量增大而提高,在200 U/ml时,水解率达到16.9%;随着的酶添加量的继续增加,油水界面被饱和,影响传质效果,导致水解率略微下降。所以酶的最适添加量是200 U/ml。

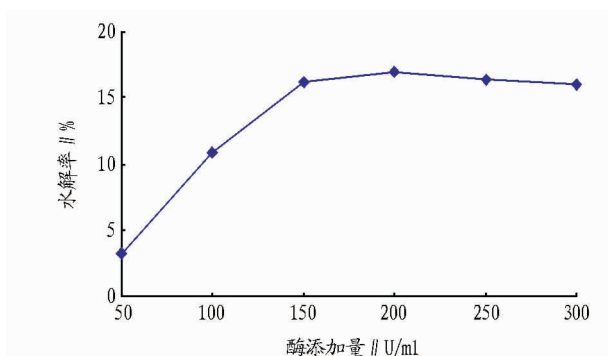


图4 酶添加量对酶水解油脂的影响

**2.5 酶解时间对酶水解油脂的影响** 从图5可以看出,酶解时间在45 min时,黑曲霉脂肪酶水解菜籽油脚料的水解率最高,达到16.85%;当水解时间超过45 min后,菜籽油脚料的水解率却开始下降。分析原因:酶解反应一段时间后反应体系中产物对酶的反馈抑制,阻止了酶促反应的进行,从而导致水解率下降。

**2.6 不同振荡转数对酶水解油脂的影响** 从图6可以看出,在摇床转数在150和200 r/min时,菜籽油脚料水解率相对较高,达到16.4%。在此条件下,酶与底物充分结合,使酶促体系混合均匀。而在超过200 r/min的时候,水解率陡然下降,可能是摇床转数太高,影响了酶与底物的有效结合,导致水解率降低。据试验实际操作,选择摇床150 r/min比较适合。

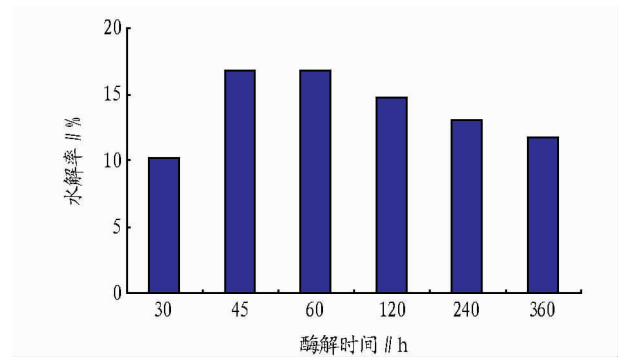


图5 酶解时间对酶水解油脂的影响

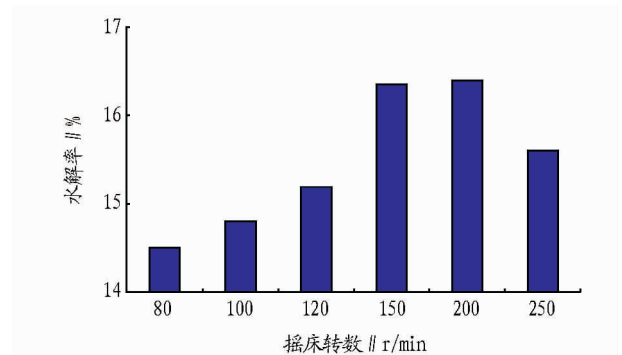


图6 不同摇床转数对酶水解油脂的影响

**2.7 响应面法优化酶水解菜油脚料的工艺条件** 试验设计与结果如表2所示。以菜油脚料水解率(Y)为响应值,运用Design-Expert 8.0.6对试验数据进行多项式回归分析,得到如下二次多项式: $Y = 26.16 + 0.40A + 0.24B - 0.67C + 2.42D + 0.44AB - 0.5AC + 0.89AD - 0.48BC + 3.80BD + 0.36CD -$

表2 响应面试验设计与结果

编号	因素				水解率 / %
	pH	温度	底物浓度	酶添加量	
1	1	0	-1	0	18.41
2	0	1	0	-1	12.21
3	-1	0	-1	0	15.50
4	-1	0	0	-1	15.55
5	0	0	0	0	25.30
6	0	1	0	1	24.10
7	0	0	0	0	25.63
8	0	0	-1	-1	17.52
9	-1	1	0	0	16.17
10	0	-1	1	0	15.10
11	0	0	1	1	19.26
12	-1	0	0	1	19.59
13	0	0	-1	1	21.24
14	1	0	1	0	15.89
15	0	-1	0	-1	18.53
16	0	-1	0	1	15.22
17	-1	-1	0	0	17.06
18	0	0	1	-1	14.12
19	1	1	0	0	17.86
20	-1	0	1	0	16.16
21	0	1	1	0	14.30
22	0	-1	-1	0	15.10
23	1	0	0	1	22.25
24	1	0	0	-1	14.67
25	0	0	0	0	25.89
26	1	-1	0	0	16.98
27	1	0	-1	0	17.23
28	0	0	0	0	26.07
29	0	0	0	0	25.33

$4.46A^2 - 5.21B^2 - 5.37C^2 - 3.29D^2$ 。回归模型的差异显著性分析表如 3 所示。

由回归方程和回归模型方差分析可以看出,此模型的  $F$  值是 44.89,“ $Prob > F$ ”的  $P$  值小于 0.000 1,表明该模型是显著性意义的,能较好地解释菜籽油脚料水解的变化。失拟项在 0.05 水平上不显著( $P = 0.362 5 > 0.05$ )。所以在所选的因素内,对菜油脚料水解率的影响顺序是:酶添加量 > 底物浓度 > 酶解 pH > 酶解温度。交互项 BD 是极显著性因子,AC、BC 项无显著性差异,说明温度和底物浓度,pH 和底物浓度无交互影响。数学模型统计得出,标准偏差 0.82,校正拟合度 0.956 4,预测拟合度 0.893 4,拟合度 0.978 2,信噪比 22.324,press 为 55.72。由此可以看出,预测拟合度十分接近矫正拟合度,说明模型是合理的,信噪比大于 4 为理想值,而此模型信噪比是 22.324,说明比值理想,该模型方程能够用来解释设计方案。响应曲面分析见图 7。

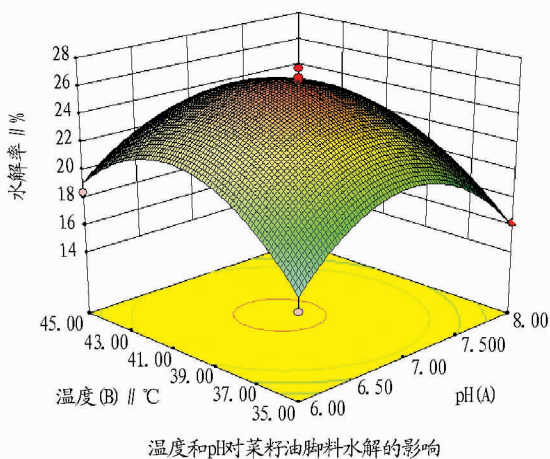


表 3 回归模型的差异显著性分析

来源	$F$ 值	$Prob > F$	显著性
A	2.41	0.143 0	
B	0.55	0.372 4	
C	6.54	0.022 8	*
D	86.47	<0.000 1	**
AB	0.96	0.343 2	
AC	1.23	0.286 3	
AD	3.85	0.070 0	
BC	1.14	0.302 9	
BD	70.97	<0.000 1	**
CD	0.62	0.444 4	
$A^2$	158.37	<0.000 1	**
$B^2$	216.66	<0.000 1	**
$C^2$	229.41	<0.000 1	**
$D^2$	86.21	<0.000 1	**
失拟项	1.53		
模型	44.89	<0.000 1	**

注: \* 为差异显著( $P < 0.05$ ), \*\* 为差异极显著( $P < 0.01$ )。

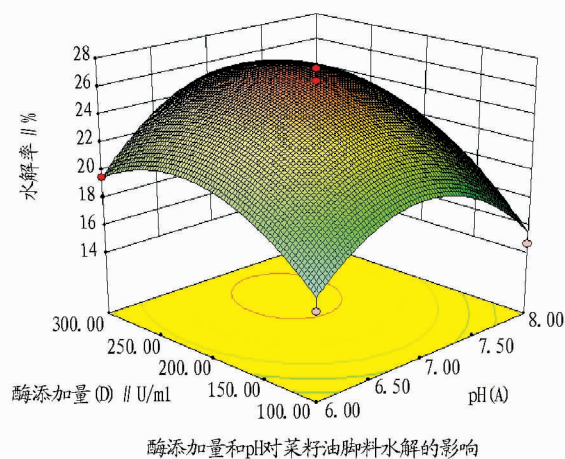


图 7 响应曲面图分析

通过软件分析给出最优水解方案和最佳水解率预测值,最优水解方案是:pH 7.11,酶解温度 41.07 °C,底物浓度 73.50 mg/ml,酶添加量 245.39 U/ml,在此条件下,菜籽油脚料的水解率理论值为 27.83%。考虑到实际操作情况和设备仪器,实际试验中的最佳水解条件控制在 pH 7.0,酶解温度 41 °C,底物浓度 75 mg/ml,酶添加量 245 U/ml,在此条件下,通过 5 次独立试验,得到的菜籽油脚料实际水解率是( $26.92 \pm 0.86$ )%,该试验值与预测值拟合较好,验证了前述假定的可行性。

### 3 结论

该试验通过对黑曲霉脂肪酶水解菜籽油脚料的工艺条件进行研究,在单因素试验的基础上,通过 Design expert 软件 Box-Behnken 试验设计法对黑曲霉脂肪酶水解菜油脚料的酶添加量、底物浓度、pH、温度做了进一步优化研究,确定了最优酶添加量是 245 U/ml,底物浓度为 75 mg/ml,pH 7.0,酶解温度 41 °C。在此优化条件下,菜籽油脚料水解率为( $26.92 \pm 0.86$ )%。

通过碱滴定法滴定酶水解菜油脚料体系中的游离脂肪酸,得出酸价;根据菜籽油脚料本身的酸价和皂化值,通过公

式算出酶解菜油的水解率,但因为水解体系中含有缓冲液,且乳化液的颜色会干扰滴定终点的判断,使得该方法重现性不够理想,今后应该对该方法的反应体系进行探索,找出一种方法使得测定方法确定性高,重现性好。

### 参考文献

- [1] XU D G, XIAO L S, CAI Y, et al. Research of lipase-catalyzed synthesis of ethyl hexanoate in nonaqueous conditions [J]. *Fine Chemicals*, 2004, 21 (4): 279 - 281.
- [2] 孙尚德, 毕艳兰, 徐玲, 等. 从油脚、皂脚混合物中提取油脂的不同方法的比较研究[J]. *粮油加工与食品机械*, 2005(5): 48 - 49.
- [3] ALI KESKINA, METIN GURU, DURAN ALTIPARMAK, et al. Using of cotton oil soapstock biodiesel-diesel fuel blends as an alternative diesel fuel[J]. *Renewable Energy*, 2008, 33(3): 553 - 557.
- [4] RAPOPORT S I, RAO J S, IGARASHI M. Brain metabolism of nutritionally essential polyunsaturated fatty acids depends on both the diet and the liver [J]. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 2007, 77: 251 - 261.
- [5] 王英雄, 侯柏林, 王国富, 等. 不同脂肪酶催化亚麻油水解反应性能的比较[J]. *中国油脂*, 2003, 28(8): 54.
- [6] 李香春, 甄宗园. 脂肪酶特性及其应用[J]. *粮食与油脂*, 2003(3): 19.
- [7] 舒正玉, 杨江科, 闫云君. 黑曲霉 F044 脂肪酶的分离纯化及酶学性质研究[J]. *生物工程学报*, 2007, 23(1): 96 - 100.
- [8] KOHLER J, WUNSCH B. The allosteric modulation of lipase and its possible biological relevance [J]. *Theoretical Biology and Medical Modelling*, 2007, 34(4): 1 - 16.



药有限公司等,以及鞍山市药品检验所、辽宁省食品药品监督管理局等研究单位,这些企业为学生实践教学提供了重要的教学基础条件。生物工程专业的学生可在这些单位进行各种实习和毕业环节,积极探索学、研、产合作教育模式,使实践教学产生良好的经济效益和社会效益,并为企业提供人才来源和技术支持<sup>[9]</sup>。

**3.2.2 创新生态实习方式建设。**传统教学环境大多限制甚至遏制学生个性和潜能的发挥、发展。生态教学的环境从尊重、激发学生个性的角度去创建,可以有效地弥补传统教学的这一缺憾,促进学生个性的发展、潜能的发挥。<sup>[10]</sup>高校教师应以生态和谐的方式尊重理解、平等对待学生,激发学生学习的主动性、积极性和创造性,引导他们实现自身发展;关心学生的发展,结合社会需求,培养具有多层次的适应创新社会经济的特色人才、地区性服务人才及行业专业人才。我们对不同追求的学生采取不同的实习方式。

(1)对不愿考研究生的学生采取以下措施:大学一、二学年学习完成基础课,大学第三学年完成专业课程学习,并根据市场调研,将专业方向设置为企业目前或预测未来几年实际需求的方向;大学第3学年的暑期及大学第4学年学期初的生产实习、毕业实习甚至毕业(论文)设计结合起来,到企业实践教学实习就业基地进行工厂化岗前培训或称就业实习。实习结束正值企业招聘活动开始,经过企业与学生的实地交流,双方认可,即可签订就业协议,同时,也为学生下一步的工作打下基础。

(2)对于参加研究生考试的学生(其中还有一部分暑期实习后没有被企业选中的学生),可采取大学第4学年的寒假时间到企业实践教学基地实习(尤其农药企业基本是每年的10月1日至次年的5月1日生产),而空出大学第3学年的暑期为其考研准备时间。同样利用寒假时间实习,为其中之一旦考研落榜,经过企业与学生的实地交流,双方认可,即可签

订就业协议。

#### 4 结语

把生态教学理念与高校教学体系进行有机结合,开辟了高校新型教学体系构建的新视角,以创新能力培养为本位,搭建了生态教学整体平台,使创新教育贯穿整个教学过程。在课堂教学中,对教学内容和教学方法进行了生态化改革;在实验教学中,注重学生实践能力和创新能力的培养,不断提高综合性、设计性和创新性实验比例;积极开展创新基地建设,与企业导师共同指导课外创新活动。辽宁科技大学生物工程系与创新教育基地企业导师合作承担的各类科研课题20多项,不仅提升了企业的技术水平,又提高了企业经济效益,科研合作成果为合作企业带来超过千万元的经济效益,真正实现了校企合作互利共赢的生态合作关系。近3年生物工程专业学生考研率超过25%,就业率超过95%,取得了很好的效果。

#### 参考文献

- [1] 刘臻,郭清泉.地方性本科院校生物工程专业实践性教学的探索与实践[J].企业家天地,2011(12):143-144.
- [2] 张芝,肖冬光,王岳,等.生物工程特色专业科研与教学互动作用的研究[J].中国轻工教育,2013(1):76-78.
- [3] 余嘉云,顾建梅.生态化教学:教学研究的生态主义取向[J].南京航空航天大学学报:社会科学版,2006,8(2):83-86.
- [4] 沈辉香,何齐宗.生态理念视角下的高校教学研究[J].黑龙江高教研究,2012(8):166-168.
- [5] 常景玲,惠明,王斌.构建生物工程专业课程体系的探索[J].河南职业技术学院学报:职业教育版,2003(2):88-89.
- [6] 张东旭,熊晓路,孙岩.普通工科高校创新人才培养模式的探索[J].辽宁工学院院长报,2007,9(3):81-84.
- [7] 杨华,路福平,王洪玲.生物工程专业教学体系的探索与实践[J].中国轻工教育,2006(1):56-57.
- [8] 徐英黔,高云,方志刚,等.改革生物工程实验教学培养学生创新能力[J].广州化工,2013,41(6):185-186.
- [9] 白金锋,徐桂英,杨春杰,等.多元化实践教学培养学生实践创新能力[J].中国冶金教育,2013(S1):87-89.
- [10] 邵尚林.基于应用型人才培养视角下生态教学的思考[J].滁州学院学报,2012,14(4):104-106.

(上接第1529页)

- [9] 李焱.嗜酸乳杆菌转化菜籽油生成共轭亚油酸的工艺研究[D].南昌:南昌大学,2013:18-19.
- [10] 柴秋儿.植物乳杆菌洗涤细胞转化生成共轭亚油酸的研究[D].北京:中国农业大学,2005:23-25.
- [11] 甘争艳,王静,吾满江,等.微乳液体系统中脂肪酶催化油脂水解的反应研究[J].化学与环境工程,2010(6):110-111.
- [12] 陈钧辉,陶力,朱婉华,等.生物化学实验[M].北京:科学出版社,2007.
- [13] NAMBOODIRI V M, CHATTOPADHYAYA R. Purification and biochemi-

cal characterization of a novel thermostable lipase from *Aspergillus niger* [J]. *Lipids*, 2000, 35:495-502.

- [14] BEZERRA M A, SANTELLI R E, OLIVEIRA E P, et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry[J]. *Talanta*, 2008, 76(5):965-977.
- [15] LIU Y X, JIN Q Z, SHALL L L, et al. The effect of ultrasound on lipase-catalyzed hydrolysis of soy oil in solvent-free system[J]. *Ultrason. Sonochem*, 2008, 18(4):402-407.
- [16] 刘亚轩.超声作用下脂肪酶催化豆油水解反应的研究[D].无锡:江南大学,2009:11-13.