

水解大豆油催化复合酶制剂的研究

崔汝艳, 王昌梅, 张无敌*, 陈玉保, 尹芳, 刘士清, 柳静, 赵兴玲 (云南师范大学, 云南昆明 650092)

摘要 [目的] 得到能使大豆油彻底水解的复合脂肪酶配方。[方法] 采用不同来源的脂肪酶对大豆油进行水解, 以酸值的变化来衡量水解程度, 研究了单一脂肪酶和复合脂肪酶对大豆油的水解条件。[结果] 单一脂肪酶水解时质量分数 2% 时水解最好, 水解酸值达到 126 mgKOH/g 油脂; 使用复合脂肪酶时水解效率明显提高, 达到 150 mgKOH/g 油脂左右。[结论] 复合脂肪酶是一种既经济又很高效的脂肪酶, 它可使大豆油的水解率大大提高, 并且克服了脂肪酶制备成本高、易失活、转化效率不高等缺点, 可以应用到工业上, 降低成本, 获得更大的利益。

关键词 大豆油; 复合脂肪酶; 水解率

中图分类号 S565.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)02-00819-02

Study on Hydrolysis of Soybean Oil Catalyzed by Complex Enzyme

CUI Ru-yan et al (Yunnan Normal University, Kunming, Yunnan 650092)

Abstract [Objective] To obtain compound lipase for hydrolysis of soybean oil. [Method] Lipase from different sources was used as catalyst to hydrolysis soybean. The change of acid value was observed for measuring the degree of hydrolysis during the experiment course. The single and complex lipase hydrolysis conditions of lipase were studied. [Result] The best hydrolysis condition was the mass fraction of 2% by single lipase. The acid value could up to 126 mgKOH/g. Using compound lipase to hydrolyze, the efficiency obviously increased, reaching around 150 mgKOH/g. [Conclusion] As an economy and high-efficiency lipase, the compound lipase could be applied in industry, which not only can significantly improve soybean oil hydrolysis rate, but also can overcome disadvantages of high cost for lipase preparation, easy to lost activity, low transformation efficiency.

Key words Soybean oil; Compound lipase; Hydrolysis rate

天然油脂水解得到的游离脂肪酸是制备生物柴油的重要原料, 甘油是油脂化工的重要组成部分, 也是油脂化工的主要研究领域之一^[1]。近年来, 国内外许多研究人员利用等离子体技术对一些力学强度较好, 但缺少活性基团(如羟基、羧基、羰基、氨基等官能团)的材料进行处理, 以得到更好的新型固定化酶载体^[2-4]。脂肪酶已用于食品、医药、环境治理、优质化学品生产等领域的研究与开发。复合酶在叔丁醇体系中催化大豆油、菜籽油、棉籽油、蓖麻油、橄榄油、茶油、桐油的甲酯得率均在 90% 以上, 均高于单一脂肪酶催化的甲酯得率。因此, 复合酶催化工艺具有很大的潜在实用价值^[5-6]。脂肪酸具有广泛的用途^[7], 一些植物油已用于酶法制备脂肪酸甲酯的研究, 并取得了较高的产率, 如桐油、米糠油、麻疯树油、皂脚酸油、乌柏籽油等^[8-9]。笔者以大豆油为原料, 用不同来源的游离脂肪酶进行不同配方的复合对大豆油水解, 以期得到能使大豆油彻底水解的复合脂肪酶配方。

1 材料与方法

1.1 材料 大豆油, 购自昆明超市, 产地为嘉里粮油(防城港)有限公司。主要试剂: 邻苯二甲酸氢钾、乙醚、脂肪酶 a、Lipolase100T、Lipex100T, 均为分析纯。主要仪器: D2KW-D-6 型水浴锅, DHT 型搅拌调温电热套, FA2004 型电子分析天平, 202 型电热恒温干燥箱, 三角瓶等。

1.2 方法 将一定量的脂肪酶加入 500 ml 三角瓶中, 加入蒸馏水, 振荡使酶分散均匀, 将三角瓶放于 40 °C 恒温水浴中, 使酶活化 20 min, 然后快速加入大豆油, 置于 40 °C 水浴中, 使用增力电动搅拌器搅拌反应, 同时开始计时。

1.2.1 单一脂肪酶水解试验。 设置 5 组试验, 分别加入 0.5%、1.0%、1.5%、2.0% 和 2.5% 的单一脂肪酶 a。在 40 °C 水浴中用增力电动搅拌器搅拌反应, 反应进行不同时间取样进行酸值测定。

1.2.2 单一脂肪酶与复合酶对水解的影响。 用单一脂肪酶与复合酶分别对大豆油进行水解, 反应在不同时间取样进行酸值测定。

1.2.3 不同来源的脂肪酶复合后对水解的影响。 分别使用 1% 脂肪酶 a 和 1% Lipex100T 脂肪酶进行复合、1% Lipolase100T 与 1% Lipex100T 脂肪酶进行复合及 1% Lipolase100T 与 1% 脂肪酶 a 进行复合后对大豆油进行水解, 反应在不同时间取样进行酸值测定。

1.2.4 复合酶的二次水解反应。 使用效果较好的一组复合脂肪酶, 及 1% 的脂肪酶 a 和 1% 的 Lipex100T 脂肪酶对水解后的产物进行二次水解。当反应结束后, 将产物分离出来洗涤干燥, 测定酸值后继续加入 1% 的脂肪酶 a 和 1% 的 Lipex100T 脂肪酶的复合脂肪酶进行水解, 在不同时间取样品测定酸值。

1.3 分析测定方法 反应产物为游离脂肪酸, 采用 KOH 滴定法进行测定, 反应进程以测定的酸值来衡量。

油脂的酸值是指中和 1.0 g 油脂中所含游离脂肪酸所需的氢氧化钾的毫克数 (mgKOH/g)。酸值是油脂品质的重要指标之一, 同一种油的酸值越高, 表明油脂因水解和酸败产生的游离脂肪酸越多^[10]。

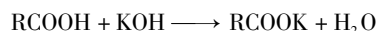
油脂中的游离脂肪酸与氢氧化钾发生中和反应, 从氢氧

基金项目 云南省工业与信息化委员会项目(2011292); 云南省应用基础研究基金项目(2010-CD050); 云南省能源局项目(20102127); 云南省教育厅科学研究基金项目(2011Z028)。

作者简介 崔汝艳(1988-), 女, 云南永善人, 本科生, 专业: 农业生物环境, E-mail: wangcmzf@163.com。* 通讯作者, 研究员, 博士生导师, 从事生物质的研究与开发利用, E-mail: wootichang@163.com。

收稿日期 2012-11-13

化钾标准溶液消耗量可计算出游离脂肪酸的量。反应式如下:



酸值计算公式:

$$\text{酸值} = \frac{56.1 \times cV}{m}$$

式中, c , 氢氧化钾标准溶液的准确浓度 (mol/L); V , 消耗标准氢氧化钾溶液的体积 (ml); 56.1, 氢氧化钾的摩尔质量 (g/mol); m , 样品的质量 (g)。

试验过程中取适量反应样品水洗干燥后, 加入适量 (使样品完全溶解即可) 配制好的乙醇-乙醚溶液, 轻轻摇晃使脂肪酸完全溶解在乙醇-乙醚溶液。再加入酚酞 3~4 滴, 用氢氧化钾溶液滴定至淡红色并于 30 s 内不褪色为终点。计算出反应物的酸值, 用以衡量水解程度。

2 结果与分析

2.1 不同用量脂肪酶对大豆油水解的影响 从图 1 可以看出, 随着反应的不断进行, 酸值不断升高, 表明大豆油水解反应的深度不断加深。酶的质量百分数为 0.5%、1.0%、1.5% 的酸值升高情况与酶的质量百分数为 2.0%、2.5% 酸值升高情况有一定的差距, 但酶的质量百分数为 2.0% 的酸值升高情况与酶的质量百分数为 2.5% 的酸值升高情况比较接近, 从原料的转化效率和成本的角度考虑, 选择酶的质量百分数为 2.0% 作为反应量。

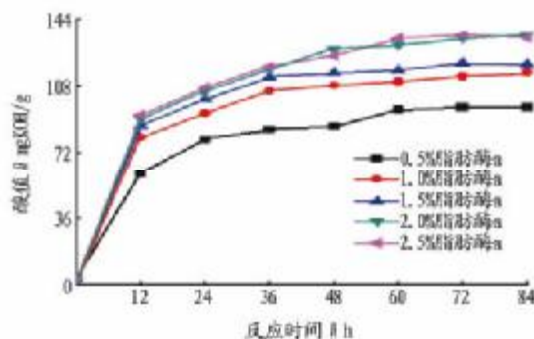


图 1 不同用量的脂肪酶 a 水解结果

2.2 单一脂肪酶和复合脂肪酶对大豆油水解的影响 分别使用单一脂肪酶和复合脂肪酶对大豆油进行水解, 图 2 所示为脂肪酶用量 2.0% 的水解产物酸值情况。

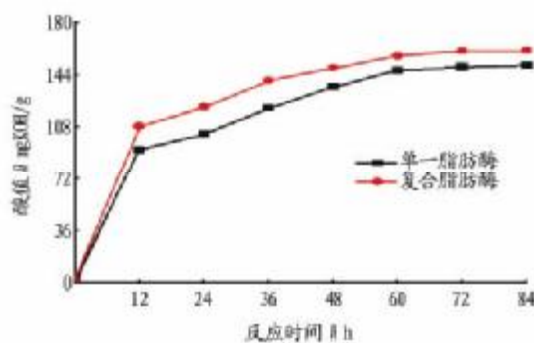


图 2 单一脂肪酶和复合脂肪酶酸值的比较

由图 2 可以看出, 随着反应的不断进行, 酸值不断升高,

表明大豆油水解反应的深度不断加深, 复合脂肪酶的酸值要比单一脂肪酶的酸值高。单一脂肪酶和复合脂肪酶对大豆油的水解趋势基本一致, 水解产物在开始 12 h 之内都随时间都呈直线上升, 之后水解速度变慢, 一共水解了 84 h, 但在 60 h 后水解达到最高点, 水解产物酸值几乎不再变化。由此可以看出, 复合脂肪酶在催化的过程中产生了一定的协同效应。

2.3 几种复合脂肪酶对大豆油水解的影响 由图 3 可以看出, 随着反应的不断进行, 酸值不断升高, 表明大豆油水解反应的深度不断加深。通过图 3 的比较, 可以得出最好的一组复合脂肪酶的配方是 1% 的脂肪酶 a 和 1% 的 Lipex100T 脂肪酶, 酸值可达到 160.53 mgKOH/g。

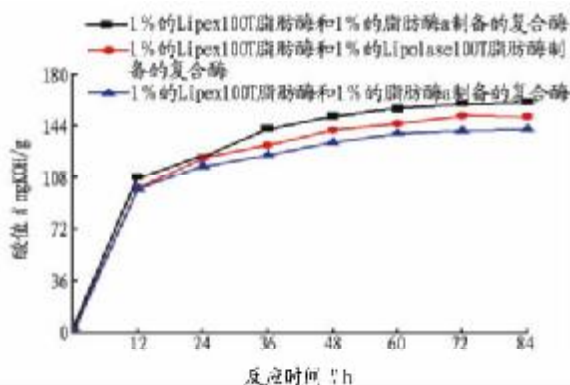


图 3 几种复合脂肪酶的酸值比较

2.4 复合脂肪酶第 1 次反应和第 2 次反应的水解结果 对水解达到一定酸值的油脂继续加入复合酶制剂进行二次水解, 在相同条件下与水解大豆油的比较如图 4 所示。

由图 4 可知, 随着反应的不断进行, 酸值不断升高, 表明大豆油水解反应的深度不断加深。第 1 次反应体系是 2% 的复合脂肪酶 (1% 的 Lipex100T 脂肪酶和 1% 的 Lipolase100T 脂肪酶), 反应 84 h 后将第 1 次反应的油分液出来, 加入与第 1 次反应一样的 2% 的复合酶让其继续反应 84 h。由图 4 可以看出, 酸值会升高, 但升高的幅度很小, 最大也只能提高 10 mgKOH/g 左右, 考虑脂肪酶的成本问题, 建议不必进行二次水解。

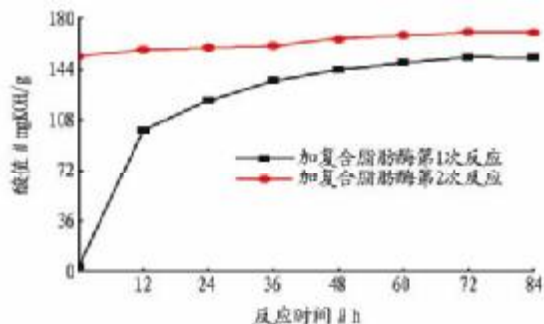


图 4 复合脂肪酶第 1 次反应和第 2 次反应的酸值比较

3 结论与讨论

试验以大豆油作为原料, 使用了 3 种脂肪酶进行不同比例的复合, 通过酸值的测定来判断其水解效率。通过大量的

(下转第 852 页)

别有一条4 m宽旧混凝土路面翻修成4 m宽新水泥混凝土路,长度分别为816和448 m。

3 结论与讨论

土地整治工程旨在改善农业生产条件,增加耕地面积,提升耕地质量,增强农用地综合生产能力。通过田、水、路、林、村的综合治理,项目区新增耕地75.5 hm²,新增耕地率为3.30%,可新增粮食产能1 099 t,将有效缓解项目区人多地少的矛盾;通过实施土地平整工程、灌溉与排水工程、田间道路工程和农田防护工程,把项目区的耕地建设成为旱涝保收的高产稳产农田,为种植业结构调整、土地集约化利用和规模化经营奠定了基础;村庄内部饮水井工程和道路工程的设计施工,极大地改善了农村农民生产、生活条件,农村整体面貌得到较大改观。该项目的实施将为太行山山麓平原区的土地整治起到积极的示范作用。

当前土地整治项目大都以土地整治为依托,提升土地产出率,而对于以土地整治为契机,推进现代农业发展的关注不足。我国当前的土地整治规划设计与现代农业发展相脱节,对具体的土地整治工程和措施针对性不强,造成了大量重复建设和资源浪费;土地整治过程中,对农业多功能价值的忽视使土地整治的综合效益难以有效发挥。因此,梳理各级土地整治规划和农业发展规划的定位、规划重点和研究内容,深入研究在“一张图”下的农业发展规划与土地整治规划设计相衔接的新机制、新手段,构建面向现代农业发展的土地整治规划设计技术体系是亟需强化研究的重要课题。

参考文献

[1] 严金明,夏方舟,李强. 中国土地综合整治战略顶层设计[J]. 农业工程学报,2012,28(14):1-9.

(上接第820页)

试验研究,最终得到了此次试验最好的一组复合脂肪酶,油水比1:3,温度在40℃的条件下,1%的脂肪酶a和1%的Lipex100T脂肪酶制备的复合酶在反应了84 h后酸值最高能达到160.53 mgKOH/g;当把第1次反应的油分液出来,加入与第1次一样的2%的复合酶让其继续反应84 h,大豆油的酸值最高能达到169.33 mgKOH/g。

使用脂肪酶进行油脂生物转化,比传统的化学催化具有更多优点:反应操作条件温和,副产物少,节约能源,最大的优点是独特的专一性^[11]。复合脂肪酶催化油脂水解的工艺,无论从原料来源、生产工艺,还是从产品质量上看,前景都是广阔的。许多国家的开发步伐正在加快,我国能源相对贫乏,又是耗能大国,努力解决这项课题,无论对于精细化工,还是对于资源利用,都有极大的意义。

参考文献

[1] ROONEY D, WEATHERLEY L R. The effect of reaction conditions upon

- [2] 鲍海君,徐保根. 生态导向的土地整治区空间优化与规划设计模式——以嘉兴市七星镇为例[J]. 经济地理,2009,29(11):1903-1906.
- [3] 高向军. 土地整理理论与实践[M]. 北京:地质出版社,2003.
- [4] 肖光强,李新举,胡振琪,等. 土地整理成功度评价方法[J]. 农业工程学报,2010,26(3):304-308.
- [5] 蔡海生,赵建宁,曾珩,等. 江西省土地开发整理工程类型区划分研究[J]. 中国土地科学,2011,25(3):19-25.
- [6] 孟广文,柳海岩,秦楠,等. 天津市土地开发整理工程类型区划分研究[J]. 天津师范大学学报:自然科学版,2009,29(3):69-74.
- [7] 刘红萍,李剑峰,姜炎. 海南省土地开发整理工程类型区划分研究[J]. 水土保持研究,2011,18(2):188-191.
- [8] 郎文聚,李振荣. 中国农村土地整治生态景观建设策略[J]. 农业工程学报,2011,27(4):1-6.
- [9] 李灿,罗海波. 基于生态重建的石漠化山区土地整理项目规划[J]. 农业工程学报,2011,27(12):324-329.
- [10] 王军,李正,白中科,等. 喀斯特地区土地整理景观生态规划与设计——以贵州荔波土地整理项目为例[J]. 地理科学进展,2011,30(7):906-911.
- [11] 赵华甫,吴克宁,王自威,等. 中国东北典型黑土区土地整理规划设计模式[J]. 资源科学,2011,33(5):929-934.
- [12] 蔡海生,陈美球,赵建宁,等. 土地开发整理工程类型区划分的概念与方法探讨[J]. 农业工程学报,2009,25(10):290-295.
- [13] 王世元. 在国家投资土地开发整理项目检查情况汇报会上的讲话[J]. 国土资源通讯,2007(8):29-30.
- [14] 温爱存,张继东. 麦积区土地整理实施中的问题与对策[J]. 中国水土保持,2012(5):31-32.
- [15] 王亦兵. 土地整理项目规划设计研究——以尧都区土门镇土地开发整理项目为例[J]. 华北国土资源,2005(3):4-15.
- [16] 彭琼芬. 土地开发整理项目中土地平整工程量的计算研究[J]. 昆明理工大学学报:理工版,2010,35(3):12-15.
- [17] 国土资源部土地整理中心. 土地开发整理项目预算编制与实务[M]. 北京:中国人事出版社,2005:151-160.
- [18] MENG D B, ZHU D L. Research on Classification of Land Consolidation Project Zones in Inner Mongolia[J]. Asian Agricultural Research,2011,3(6):50-54.
- [19] 孙和颜. 土地开发整理综合效益评价——以商河县土地开发整理项目为例[J]. 内蒙古农业科技,2012(4):46-49.
- lipase catalyzed hydrolysis of high oleate sunflower oil in stirred liquid-liquid reactor [J]. Process Biochem,2000,36(1):947-953.
- [2] 黄家贤,李悦,霍岩丽,等. 含环碳酸酯基新型聚合物载体的合成及固定化葡萄糖淀粉酶研究[J]. 高等学校化学学报,2002,23(8):1605-1609.
- [3] 刘海洲,张媛媛,张广柱,等. 固定化酶制备技术的研究进展[J]. 化学工业与工程技术,2009,30(1):21-23.
- [4] 冯超,蒋丽娟,黎继烈,等. 固定化脂肪酶研究进展[J]. 食品工业科技,2011,32(2):373-378.
- [5] 周位. 复合脂肪酶催化制备生物柴油的工艺研究[D]. 武汉:华中科技大学,2007.
- [6] 周位,杨江科,黄瑛,等. 复合脂肪酶催化生物柴油的初步研究[J]. 生物加工过程,2007,5(3):20-26.
- [7] 高宗颖,苏丽,袁丽,等. 多不饱和脂肪酸的应用[J]. 农业产品加工业,2011(2):39-41.
- [8] 张中义,吴新侠. 脂肪酶的研究进展[J]. 食品与药品,2007,9(12):54-56.
- [9] 富淘,高昆玉. 脂肪酶催化油脂水解[J]. 精细石油化工,1992(6):5-12.
- [10] 徐宝财,郑福平. 日用化学品与原材料分析手册[K]. 北京:化学工业出版社,2002.
- [11] 王萍. 脂肪酶专一性在脂质生物转化中应用前景[J]. 粮食与油脂,1998(2):21-23.