

双酶法水解菜籽油的研究

谢舜珍 吴琼发

(中国科学院微生物研究所, 北京)

菜籽油用双酶(解脂假丝酵母脂肪酶和地霉脂肪酶)水解, 酶解产物的酸值可达 165 以上。酶解条件是: 酶量 90—100 单位/克油, 油:水 = 1:1, 摇床转速 220r/min, 温度 28℃, 时间 20—24h, 酶解过程中不加缓冲液, 也不加酸和碱。这样简单的条件是很适用于脂肪酸生产的。

关键词 脂肪酶, 菜籽油

菜籽油中含有 25—65% 的芥酸^[1,2], 而芥酸、芥酸酰胺以及芥酸的某些衍生物具有极重要的工业用途, 如在尼龙塑料薄膜和近代航空发动机爽滑剂等的生产方面作为原料^[3], 近年来国外已报道用酶法制备脂肪酸^[4]有节省能源、设备投资较少及产物质量较好等优点。因此, 大力研究开发酶法水解油脂, 对发展我国油脂水解工业具有推动作用。我国菜籽油的产量相当可观, 如能因地制宜地部分利用菜籽油生产芥酸、芥酸酰胺、甘油、饱和脂肪酸和脂肪醇等化工精细产品, 扩大菜籽油的利用价值将是很有意义的。

菜籽油中的芥酸位置, 有 85% 以上是在 1-位或 3-位, 或两者都有^[5]。因此我们根据微生物酶的解脂活力类型^[6]选用解脂假丝酵母的脂肪酶和地霉属菌株的脂肪酶水解菜籽油, 特别是考虑用后一类菌的脂肪酶, 它将甘油三个酯键上的不饱和脂肪酸优先释放出来^[7], 这对于菜籽油含有 98% (包括芥酸在内) 的不饱和脂肪酸释放是很有利的。本文报道这两种酶共同水解菜籽油的试验结果。

材料和方法

(一) 材料

1. 酶制剂: 解脂假丝酵母 *Candida lipolytica* AS 2.1405 脂肪酶和地霉 *Geotrichum* sp. AS 2.1135 脂肪酶均系实验室制备, 用乙醇或聚乙二醇沉淀而得。

2. 菜籽油: 市售和北京南苑植物油厂提供。

(二) 方法

1. 甘油含量测定: 根据 Donaed 等^[8]的方法。

2. 酸值测定: 根据文献^[9]的方法。

3. 水解条件: 见图注的说明, 除图 1 试验外, 所有试验加入的地霉脂肪酶的酶活力单位均为所加入总酶活力单位的 40%, 摇床转速 220r/min, 温度 28℃, 水/油为 1:1。

结果和讨论

(一) 两种酶量对比对水解油脂的影响

每克油加入两种酶的总酶活力均为 65u, 地霉脂肪酶的酶活力单位按不同比例加入。从图 1 结果可见, 单用一种假丝酵母脂肪酶作用时, 酸值不高。当加入地霉脂

本文于 1986 年 4 月 1 日收到。

肪酶后,两种脂肪酶的酶量配比为3.5:1.5或3:2时,酸值明显提高,可达150左右。

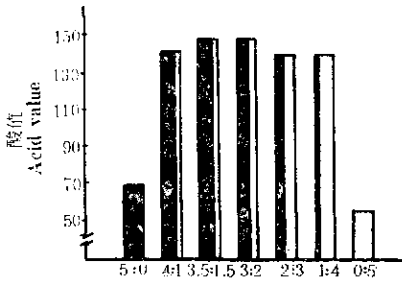


图1 两种酶的酶量对比对水解的影响

Fig. 1 Effect of the ratio of two enzyme units on hydrolysis of rapeseed oil
总酶量 Total enzyme units 65 u/g oil,
水解时间 Reaction time 24h

- 解脂假丝酵母脂肪酶
Lipase from *Candida lipolytica*
- 地霉脂肪酶
Lipase from *Geotrichum* sp.

(二) 不同酶量对菜籽油水解的影响

每克油加入总酶量由50—100u。图2结果表明,加入90—100u/克油的酶量,酸值可达167。

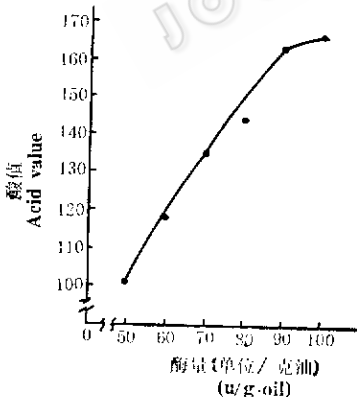


图2 不同酶量对菜籽油水解的影响

Fig. 2 Effect of differential enzyme units on hydrolysis of rapeseed oil
水解时间 Reaction time 24h

(三) 水解时间

按照酶解条件进行试验,并定时测定

酸值。由图3可见,酶解20—24h的酸值在160以上。

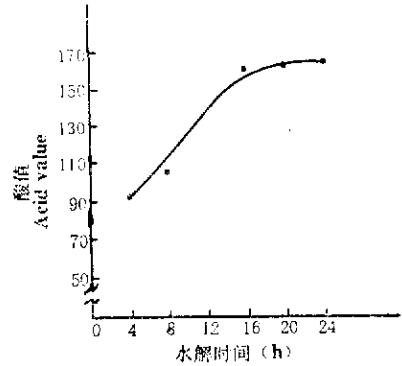


图3 水解时间对菜籽油的影响

Fig. 3 Effect of reaction time on hydrolysis of rapeseed oil
酶量 Enzyme units 100 u/g oil

(四) pH 对水解的影响

用0.2MpH5—8的磷酸盐缓冲液代替水,结果表明双酶水解菜籽油的最适pH为7.5左右。

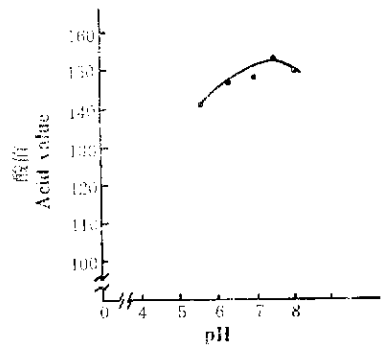


图4 pH对菜籽油水解的影响

Fig. 4 Effect of pH on hydrolysis of rapeseed oil
酶量 Enzyme units 50 u/g oil
水解时间 Reaction time 24h

(五) 水解产物测定

用单一种酶和双酶按照同样的水解条件进行酶解,将酶解液离心(3000r/min)15min,使之分层,然后分别测定酸值和甘油含量,结果见表1。

表1 水解产物测定
Table 1 Determination of lipolyzed product

酶 类 Lipase sources	解脂假丝酵母脂肪酶 Lipase from <i>C. lipolytica</i>	地霉脂肪酶 Lipase from <i>Geotrichum</i> sp.	双酶(解脂假丝酵母脂肪酶+地霉脂肪酶) Two lipase from <i>C. lipolytica</i> + <i>Geotrichum</i> sp.
酸 值 Acid value	76.8	60.3	164.7
甘油含量 Glycerol % (W/V)	2.3	1.0	9.3

酶量 Enzyme units 100/g oil 水解时间 Reaction time 24h

由以上结果说明, 当只用一种脂肪酶 含量也低, 而用双酶时, 酶解产物的酸值
水解菜籽油时, 酸值不高(76.8), 甘油 和甘油含量均达到高水平。

参 考 文 献

- [1] Г. И. 尤赫诺夫斯基: 油脂加工工艺学, 第二册, 轻工业出版社, 北京, 1960.
- [2] Appelquist, L. A., *JACCS.*, 48(12):851—859, 1971.
- [3] Nieschlag, H. J. and Woff, I. A., *JAOCS.*, 48(11): 723—727, 1971.
- [4] 癸醇之工业, 40(4): 86, 1982.
- [5] Rocquelin, G. et al., *JACCS.*, 48(11):728—732, 1971.
- [6] Alford, J. A. et al., *J. Lipid. Res.*, 5(3): 390—394, 1964.
- [7] Kilara, A., *Process Biochemistry*, 20(2):35—45, 1985.
- [8] Donald, J. H., *J. Biol. Chem.*, 231:814, 1958.
- [9] Kosugi, Y. and Suzuki, H., *J. Ferment. Technol.*, 61(3):287—294, 1983.

HYDROLYSIS OF RAPESEED OIL BY TWO LIPASES

Xie Shunzhen Wu Qiongfafa

(Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing)

Lipolysis of rapeseed oil with lipases from *C. lipolytica* AS 2.1405 and *Geotrichum* sp AS 2.1135 was followed by analysis of fatty acid formed. Condition of enzymatic hydrolysis were investigated. Reaction system obtained from experiment was as follows: total lipases activity 90—100u/g oil, water/oil=1:1, shaker rotation 220 r/min, reaction temperature 28°C, reaction time 20—24h. Total lipases activity 100u/g oil is required to achieve 94.5% hydrolysis at a given condition. In the course of enzymatic hydrolysis, it was neither necessary to add buffer solution nor acid and alkali into reaction system. The simple condition specified above could be used for fatty acid production technology.

Key word

Lipase; rapeseed oil