

光皮楝木油的水解工艺优化与动力学模拟

匡曾敏^{1,2}, 张 喻¹, 李昌珠^{2,3,4}, 肖静晶^{2,3,4}, 肖志红^{2,3,4,5},

李培旺^{2,3,4}, 聂素丽², 晁 燕²

(1. 湖南农业大学 食品科学技术学院, 长沙 410128; 2. 湖南省林业科学院 省部共建木本油料资源利用国家重点实验室, 长沙 410004; 3. 油脂分子构效湖南省重点实验室, 长沙 410004; 4. 南方木本油料利用科学国家林草局重点实验室, 长沙 410004; 5. 湖南农业大学 长沙现代食品创新研究院, 长沙 410128)

摘要:旨在为酶催化光皮楝木油水解制备脂肪酸提供参考,以光皮楝木油为底物,分别以固定化脂肪酶 Lipozyme RMIM、Lipozyme TLIM、Novozym 435 和游离脂肪酶 F1 为催化剂,考察脂肪酶种类、反应时间、反应温度、加水量、酶添加量对光皮楝木油水解率的影响,并进行水解动力学分析。结果表明:酶催化光皮楝木油水解最优条件为加水量(以水油底物质量计)60%、Lipozyme RMIM 添加量(以水油底物质量计)5%、反应温度 60 ℃、反应时间 24 h,在此条件下光皮楝木油水解率可达到 98.08%;动力学拟合结果表明以 Lipozyme RMIM 作为催化剂在最优条件下对光皮楝木油进行水解时,米氏常数(K_m)为 0.108 4 mL/g,最大反应速率(v_m)为 0.381 4 mg/(g·mL·h)。综上,脂肪酶 Lipozyme RMIM 可以高效催化光皮楝木油水解。

关键词:光皮楝木油;脂肪酶;脂肪酸;动力学模拟

中图分类号:TQ645.6;TS225.1 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2025)02-0143-05

Optimization and kinetics modeling of the hydrolysis process of *Swida wilsoniana* oil

KUANG Zengmin^{1,2}, ZHANG Yu¹, LI Changzhu^{2,3,4}, XIAO Jingjing^{2,3,4},
XIAO Zhihong^{2,3,4,5}, LI Peiwang^{2,3,4}, NIE Suli², CHAO Yan²

(1. College of Food Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. State Key Laboratory of Utilization of Woody Oil Resources, Hunan Academy of Forestry, Changsha 410004, China; 3. Hunan Province Key Laboratory of Oil & Fats Molecular Structure and Function, Changsha 410004, China; 4. Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration on Utilization Science for Southern Woody Oil Resources, Changsha 410004, China; 5. Changsha Institute of Modern Food Innovation, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: In order to provide reference for enzyme-catalyzed hydrolysis of *Swida wilsoniana* oil to prepare fatty acids, immobilized lipases Lipozyme RMIM, Lipozyme TLIM, Novozym 435 and free lipase F1 were used as catalysts, the *Swida wilsoniana* oil was used as substrate, the effects of lipase type, reaction time, reaction temperature, water dosage and enzyme dosage on the hydrolysis rate of *Swida wilsoniana* oil were investigated. In addition, the hydrolysis kinetics of *Swida wilsoniana* oil was

analyzed. The results showed that the optimal conditions for enzyme-catalyzed hydrolysis of *Swida wilsoniana* oil were 60% water (based on the mass of water-oil substrate), 5% Lipozyme RMIM (based on the mass of water-oil substrate), reaction temperature 60 ℃ and reaction time 24 h. Under these conditions, the hydrolysis rate of *Swida wilsoniana* oil could reach

收稿日期:2023-06-28;修回日期:2024-11-07

基金项目:湖南省创新平台与人才计划(2022PT1004);湖南省林业科技项目(XLKY202205);长沙市科技计划——“揭榜挂帅”重大科技项目(kq2301004)

作者简介:匡曾敏(2000),女,硕士研究生,研究方向为粮油食品科学与工程(E-mail)879295563@qq.com。

通信作者:张 喻,教授(E-mail) skxzhangyu@163.com;李昌珠,研究员(E-mail)Lichangzhu2013@aliyun.com。

98.08%。The kinetics fitting results showed that the M_i constant (K_m) was 0.108 4 mL/g and the maximum reaction rate (v_m) was 0.381 4 mg/(g · mL · h) when Lipozyme RMIM was used as catalyst for hydrolysis of *Swida wilsoniana* oil under optimal conditions. In conclusion, lipase Lipozyme RMIM can efficiently catalyze the hydrolysis of *Swida wilsoniana* oil.

Key words: *Swida wilsoniana* oil; lipase; fatty acid; kinetics modeling

光皮楝木 (*Swida wilsoniana*), 又名光皮树, 是山茱萸科楝木属的一种木本油料树种, 主要种植于我国湖南、湖北、江西等省份^[1]。光皮楝木果实含油率为 26.36% ~ 29.16%^[2], 还含有维生素 E 和 β -胡萝卜素等功能成分^[3]。光皮楝木油主要脂肪酸组成为油酸、亚油酸、棕榈酸和硬脂酸等^[4], 其不饱和脂肪酸含量在 64% 以上, 其中亚油酸含量最高, 其次为油酸^[5]。脂肪酸在许多行业中都有广泛的应用, 包括食品工业(作为调味剂和防腐剂)、化妆品工业(作为乳化剂和润滑剂)、塑料工业(作为聚酯的原料)以及润滑油和燃料工业等。而油脂作为制备脂肪酸的重要原料, 在化学工业中扮演着关键角色。光皮楝木是我国特有的木本油料树种, 以光皮楝木油为原料制备脂肪酸对于提高光皮楝木油资源的附加值具有重要意义。

油脂水解制备脂肪酸的方法主要有酸法、皂化法、酶法等^[6]。其中: 酸法水解反应时间长、能量消耗高、可能会腐蚀设备^[7]; 皂化法水解生产成本较高、产率低、脂肪酸质量不稳定, 且反应过程中会对环境造成污染^[6-8]; 酶法水解是近年来国内外油脂水解领域的研究热点^[9-11], 其具有专一性高、效率高、副反应少、环保、操作简单等优势^[12-14]。近年来, 对酶法水解油脂的研究已有较多报道, 如: 吕凯波等^[15]采用超声辅助米曲霉脂肪酶水解红花籽油, 在最佳条件下水解率可达 94.47%; 叶棋锋等^[6]采用固定化脂肪酶水解椰子油, 在最佳条件下水解率为 94.80%; 向小乐等^[16]采用超声辅助 LVK 脂肪酶水解茶叶籽油, 在最佳条件下水解率达 83.15%。但目前还没有关于以光皮楝木油为原料制备脂肪酸的研究报道。

本研究以光皮楝木油为原料, 分别以 4 种脂肪酶为催化剂, 考察了反应时间、反应温度、加水量、酶添加量对光皮楝木油水解率的影响, 并进行动力学分析, 研究其水解特性, 以期酶催化光皮楝木油深度水解制备脂肪酸提供理论基础和参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

光皮楝木油, 由湖南省林业科学院木本油料国

家重点实验室自制; 固定化脂肪酶 Lipozyme RMIM (简称“RMIM”)、Lipozyme TLIM (简称“TLIM”) 和 Novozym 435 (简称“N435”), 诺维信生物科技有限公司; 游离脂肪酶 F1 (简称“F1”), 湖南万全裕湘生物科技有限公司; 石油醚 (30 ~ 60 °C)、异丙醇、盐酸、氢氧化钾、酚酞、碱性蓝 6B, 均为分析纯, 国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 仪器与设备

MS304TS-02 电子天平, 梅特勒-托利多国际贸易上海公司; TOL5M 台式高速离心机, 湖南凯达科学仪器有限公司; RE-52AA 旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; SY-2230 恒温水浴振荡器, 美国精骐有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 光皮楝木油的水解

将超纯水按不同加水量(以水油底物质量为基准)与 21 g 光皮楝木油置于 250 mL 碘量瓶中, 加入一定量(以水油底物质量为基准)的脂肪酶, 密封后置于一定温度的恒温水浴摇床中, 在振荡速度 180 r/min 下反应一定时间后, 将反应液倒入 100 mL 离心管中, 以 5 000 r/min 离心分离 30 min, 吸取上层油相, 即为光皮楝木油脂肪酸。

1.2.2 水解率的测定

参照 GB 5009.229—2016《食品安全国家标准 食品中酸价的测定》测定样品酸值, 参照 GB/T 5534—2008《动植物油脂 皂化值的测定》测定样品皂化值, 按下式估算光皮楝木油水解率(Y)。

$$Y = (A_1 - A_0) / (S - A_0) \quad (1)$$

式中: A_1 为光皮楝木油脂肪酸的酸值 (KOH), mg/g; A_0 为原料光皮楝木油的酸值 (KOH), mg/g; S 为原料光皮楝木油的皂化值 (KOH), mg/g。

1.2.3 水解动力学模型的建立

Michaelis-Menten 通过中间产物学说对脂肪酶作催化剂的水解反应做了两步假设, 推导出底物浓度与酶促反应速度之间关系的米氏动力学方程^[17], 如式(2)所示。

$$v = \frac{v_m [S]}{K_m + [S]} \quad (2)$$

式中: ν 为反应速度; $[S]$ 为底物浓度; ν_m 为最大反应速率; K_m 为米氏常数。 K_m 表示反应速度达最大反应速度一半时的底物浓度,其只与酶本质特性有关,不受酶和底物浓度影响。 K_m 值越小说明酶与底物结合能力越强;反之亦然。将米氏动力学方程变形,可得到方程(3)。

$$\frac{1}{\nu} = \frac{1}{\nu_m} + \frac{K_m}{\nu_m[S]} \quad (3)$$

在实际应用中,通过测定不同底物浓度所对应的反应速度,可以 $1/\nu$ 对应 $1/[S]$ 的 Lineweaver - Burk 双倒数图,由拟合直线方程求得 ν_m 和 K_m [18]。本研究中反应速度即为水解反应速率,按下式计算[19]。

$$\nu = A/(V \times t) \quad (4)$$

式中: ν 为水解反应速率, $\text{mg}/(\text{g} \cdot \text{mL} \cdot \text{h})$; A 为反应产物的酸值(KOH), mg/g ; V 为反应产物的体积, mL ; t 为反应时间, h 。

1.2.4 数据分析

实验平行 3 次,实验数据由 IBM SPSS Statistics 27 进行统计和显著性分析 ($p < 0.05$),用 Origin 2021 进行绘图和动力学拟合。

2 结果与讨论

2.1 光皮柞木油水解单因素实验

2.1.1 反应时间对光皮柞木油水解率的影响

在加水量 40%、酶添加量 5%、反应温度 50 °C 条件下,考察反应时间对光皮柞木油水解率的影响,结果见图 1。

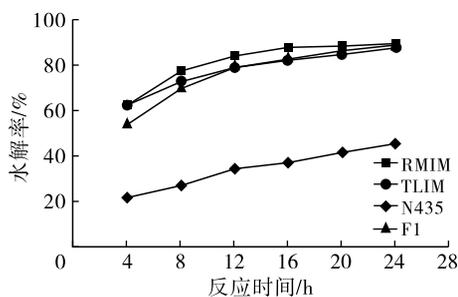


图 1 反应时间对光皮柞木油水解率的影响

Fig. 1 Effect of reaction time on the hydrolysis rate of *Swida wilsoniana* oil

由图 1 可知,随着反应时间的延长,光皮柞木油的水解率逐渐升高。在 4 种酶中 RMIM 表现出对光皮柞木油最佳的催化水解效果,反应 24 h 时水解率可达 89.5%,TLIM 和 F1 次之,N435 的催化水解效果最差。这可能是因为 N435 是由南极假丝酵母脂肪酶 B 固定化制备而成,该脂肪酶具有疏水性且活性位点数量有限。因此,选择 RMIM 水解 24 h 较为适宜。

2.1.2 反应温度对光皮柞木油水解率的影响

在加水量 40%、酶添加量 5%、反应时间 24 h 条件下,考察反应温度对光皮柞木油水解率的影响,结果见图 2。

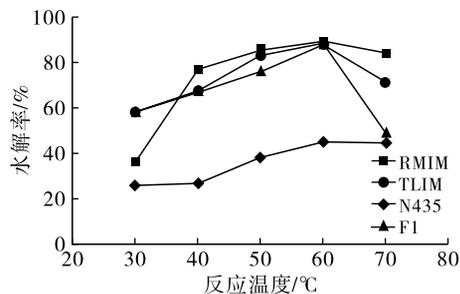


图 2 反应温度对光皮柞木油水解率的影响

Fig. 2 Effect of reaction temperature on the hydrolysis rate of *Swida wilsoniana* oil

由图 2 可知,光皮柞木油的水解率随反应温度升高呈先增加后下降的趋势,在 60 °C 时水解率达到最高,60 °C 之后水解率开始下降。这是因为反应温度较低时,分子运动较弱,酶与底物的接触碰撞较少[20],导致水解反应进行缓慢;随着反应温度升高,分子运动增强,促进了底物与脂肪酶之间的相互作用,有利于水解反应进行;当反应温度过高时,酶发生变性甚至逐渐失活[21],导致水解率降低。因此,水解温度在 60 °C 较为合适。

2.1.3 加水量对光皮柞木油水解率的影响

在酶添加量 5%、反应温度 60 °C、反应时间 24 h 条件下,考察加水量对光皮柞木油水解率的影响,结果见图 3。

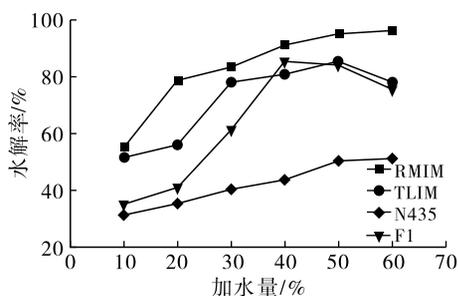


图 3 加水量对光皮柞木油水解率的影响

Fig. 3 Effect of water dosage on the hydrolysis rate of *Swida wilsoniana* oil

由图 3 可知:在 RMIM 和 N435 催化下光皮柞木油的水解率随着加水量的增加而增加,且在加水量达到 50% 之后趋于平缓;TLIM 催化下光皮柞木油的水解率在加水量为 50% 时达到最大,之后呈下降趋势;F1 催化下光皮柞木油的水解率在加水量为 40% 时达到最大,之后也呈下降趋势。这

是因为脂肪酶处于水油界面时才与底物进行有效接触^[22],当加水量过高或者过低时,水油界面都会较小,导致酶与底物的接触面积小,从而导致水解率较低^[23]。本研究结果显示在加水量 60% 时 RMIM 对水解反应的催化效果最好,因此选择加水量为 60%。

2.1.4 酶添加量对光皮柞木油水解率的影响

在加水量 60%、反应温度 60 ℃、反应时间 24 h 条件下,考察酶添加量对光皮柞木油水解率的影响,结果见图 4。

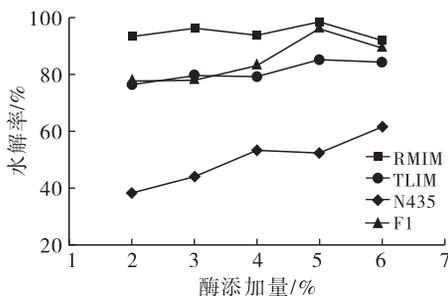


图 4 酶添加量对光皮柞木油水解率的影响

Fig. 4 Effect of enzyme dosage on hydrolysis rate of *Swida wilsoniana* oil

由图 4 可知, RMIM、TLIM、F1 催化下,在酶添加量为 5% 时光皮柞木油的水解率最高,之后随酶添加量的增加呈下降趋势。这是因为通常情况下,在酶促反应中,随着酶添加量的增加,更多的酶分子可以与底物分子发生作用,加速反应进程,从而使水解率增加,但当酶添加量达到过载点时,反应体系浓稠,酶之间相互黏附,不能与底物充分接触,催化效果变差,从而使水解率下降。N435 催化下,光皮柞木油的水解率随着酶添加量的增加总体呈上升趋势,可能是因为 N435 的水解活性较低,反应一直处于未平衡状态,酶添加量的增加会导致水解率的持续升高。综合之前实验结果和酶的成本考虑,选择 RMIM 添加量为 5%,此时水解率可达 98.08%。

综上,光皮柞木油酶法水解的最优工艺条件为加水量 60%、RMIM 添加量 5%、反应温度 60 ℃、反应时间 24 h,在此条件下光皮柞木油水解率为 98.08%。

2.2 光皮柞木油水解动力学

在光皮柞木油酶法水解最优条件下,测定不同底物(以水为底物)浓度下的反应速率,结果如表 1 所示。

根据表 1 数据,绘制 RMIM 水解光皮柞木油的 Lineweaver - Burk 双倒数图,结果见图 5。

表 1 RMIM 水解光皮柞木油的 $[S]$ 、 ν 、 $1/[S]$ 和 $1/\nu$
Table 1 $[S]$, ν , $1/[S]$ and $1/\nu$ of *Swida wilsoniana* oil hydrolysis by Lipozyme RMIM

$[S]/$ (g/mL)	$\nu /$ [mg/(g · mL · h)]	$(1/[S])/$ (mL/g)	$(1/\nu)/$ ((g · mL · h)/mg)
0.1	0.182 7	10.00	5.473 0
0.2	0.250 1	5.00	3.999 2
0.3	0.275 8	3.33	3.626 5
0.4	0.302 1	2.50	3.309 8
0.5	0.314 3	2.00	3.181 2
0.6	0.322 0	1.67	3.305 8

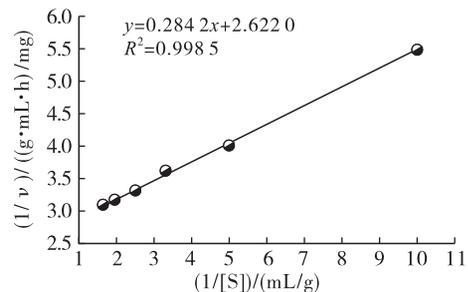


图 5 RMIM 水解光皮柞木油 Lineweaver - Burk 双倒数图

Fig. 5 Lineweaver - Burk double reciprocal plot of *Swida wilsoniana* oil hydrolysis by Lipozyme RMIM

根据图 5 拟合数据可以得到反应的 K_m 为 0.108 4 mL/g, ν_m 为 0.381 4 mg/(g · mL · h)。

3 结论

对光皮柞木油的酶法水解工艺条件进行研究,结果表明: Lipozyme RMIM 的水解效果最好,在加水量 60%、酶添加量 5%、反应温度 60 ℃、反应时间 24 h 的最优水解条件下,光皮柞木油水解率为 98.08%; Lipozyme RMIM 催化水解光皮柞木油的 K_m 为 0.108 4 mL/g, ν_m 为 0.381 4 mg/(g · mL · h)。可见,脂肪酶 Lipozyme RMIM 可以高效催化光皮柞木油水解。

参考文献:

- [1] 汪志强, 李晨杰, 李婧慧. 光皮柞木果油酶法脱胶工艺优化[J]. 粮食与油脂, 2022, 35(12): 84 - 87.
- [2] 李沿. 光皮柞木果油主要成分及氧化稳定性研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2017.
- [3] 李斌, 原梓洋. 光皮柞木籽油的提取及其品质的研究[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(6): 41 - 45.
- [4] XIAO J, WU J, CHAO Y, et al. Evaluation of yields and quality parameters of oils from *Swida wilsoniana* fruit extracted by subcritical *n* - butane extraction and conventional methods[J]. Grain Oil Sci Technol, 2022, 5(4): 204 - 212.
- [5] 吴经芝, 吴红枚, 肖静晶, 等. 低温预榨 - 亚临界正丁烷提取光皮柞木油的理化性质及表征[J]. 中国油脂, 2023, 48(8): 14 - 18.
- [6] 叶棋锋, 王挥, 赵松林, 等. 固定化酶催化椰子油水解

- 工艺研究[J]. 中国油脂, 2016, 41(11): 36-40.
- [7] 朱东奇, 李道明, 王卫飞, 等. 两步酶法合成富含 EPA/DHA 甘油酯的研究[J]. 中国油脂, 2016, 41(12): 46-49.
- [8] 洪育春, 王洪国, 胡爱军, 等. 棕榈油的超声辅助水解研究[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(8): 88-92.
- [9] YANG G, TONG T, YANG Y, et al. Amano lipase PS-catalyzed hydrolysis of pine nut oil for the fatty acids production using deep eutectic solvent as co-solvent[J]. J Oleo Sci, 2019, 68(10): 977-988.
- [10] 张松松, 苏良佳, 吴阳, 等. 山茶油碱催化水解工艺研究[J]. 福建师范大学学报(自然科学版), 2019, 35(4): 44-49.
- [11] WONG W K L, WAHAB R A, ONOJA E. Chemically modified nanoparticles from oil palm ash silica-coated magnetite as support for *Candida rugosa* lipase-catalysed hydrolysis: Kinetic and thermodynamic studies[J]. Chem Pap, 2020, 74(4): 1253-1265.
- [12] MORAIS JUNIOR W G, FERNANDEZ-LORENTE G, MANUEL GUIBAN J, et al. Production of omega 3 polyunsaturated fatty acids through hydrolysis of fish oil by *Candida rugosa* lipase immobilized and stabilized on different supports [J]. Biocatal Biotransfor, 2017, 35(1): 63-73.
- [13] YILMAZ E, CAN K, SEZGIN M, et al. Immobilization of *Candida rugosa* lipase on glass beads for enantioselective hydrolysis of racemic naproxen methyl ester[J]. Bioresour Technol, 2011, 102(2): 499-506.
- [14] KAUR S, DAS M. Functional foods: An overview[J]. Food Sci Biotechnol, 2011, 20(4): 861-875.
- [15] 吕凯波, 杨文婷, 吴士筠, 等. 超声波辅助脂肪酶水解红花籽油条件优化与动力学[J]. 食品工业科技, 2018, 39(13): 161-166.
- [16] 向小乐, 余佳, 杨万根, 等. 响应曲面法优化茶叶籽油超声辅助 LVK 脂肪酶酶解工艺[J]. 食品工业科技, 2015, 36(18): 238-243.
- [17] 向小乐. 超声作用下脂肪酶催化茶叶籽油水解工艺优化及反应动力学研究[D]. 湖南 吉首: 吉首大学, 2016.
- [18] 武林贺. 原生态椰子油及其衍生物的制备及特性研究[D]. 海口: 海南大学, 2017.
- [19] PHUAH E T, LAI O M, CHOONG T S Y, et al. Kinetic study on partial hydrolysis of palm oil catalyzed by *Rhizomucor miehei* lipase [J]. J Mol Catal B - Enzym, 2012, 78: 91-97.
- [20] 范修霖, 王鹏飞, 滕士奇, 等. 皱褶假丝酵母脂肪酶催化水解大豆油工艺优化及机制研究[J]. 中国油脂, 2022, 47(10): 89-95.
- [21] 李法香, 孔永平, 张环平. 餐饮废油脂亚临界水解反应及其动力学研究[J]. 中国油脂, 2018, 43(11): 54-56, 85.
- [22] XIAO Z, YANG W, YAN F, et al. Assembly of calix[4]arene carboxylic acid derivatives by hydrogen bonding[J]. Cryst Eng Comm, 2019, 21(3): 439-448.
- [23] 向小乐, 黄群, 杨万根, 等. 超声波辅助脂肪酶水解茶叶籽油条件的优化与动力学研究[J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(2): 141-146.

(上接第 134 页)

(2) 按照仿真结果对弹簧进行设计, 设计的压缩圆柱弹簧刚度为 32.69 N/mm, 材料直径为 10 mm, 自由高度为 330 mm, 中径为 65 mm, 有效圈数为 11 圈, 安装预紧力为 163.45 N, 稳定性及强度均校核合格, 满足要求。

(3) 将设计好的弹簧安装到榨油机上进行验证试验, 试验中设备运行情况良好, 动作均符合设计要求, 运行过程最大轴向缝隙仅为 2.54 mm。实际生产中为保证稳定性, 弹簧刚度与安装预紧力不宜低于本研究设计结果, 但是过大的弹簧刚度与安装预紧力会造成压榨腔内压力损失, 提高成本; 利用 ADAMS 指导实际设计的弹簧能够满足运行需求, 利用虚拟样机能够进行机构参数设计, 同时减少了试错成本, 提高了设计效率。

参考文献:

- [1] 鲁海龙, 梁宇柱. 核桃制油榨油机的比较与选择[J]. 中国油脂, 2010, 35(5): 68-70.
- [2] 刘印志. 液压压榨制油装置的设计与试验研究[D]. 北京: 中国农业机械化科学研究院, 2018.
- [3] 吴凤智, 周鸿翔, 柳荫, 等. 液压冷榨提取核桃油工艺研究[J]. 食品科技, 2014, 39(1): 182-186.
- [4] 王致凯. 我国农用榨油机械发展概况[J]. 中国油脂, 1992(S1): 96-103.
- [5] 韩晓丹, 胡居吾, 熊伟, 等. 新型液压驱动式山茶籽榨油装置设计[J]. 中国油脂, 2018, 43(6): 150-152.
- [6] 李增刚. ADAMS 入门详解与实例[M]. 北京: 国防工业出版社, 2006.
- [7] 石明全, 张鹏, 范树迁, 等. 基于多接触约束的动力学仿真计算效率[J]. 机械工程学报, 2010, 46(7): 108-113.
- [8] 石明全. 基于 ADAMS 的多接触问题研究[J]. 计算机工程与应用, 2004, 40(29): 220-222.
- [9] KLISCH T. Contact mechanics in multibody systems [J]. Mech Mach Theory, 1999, 34(5): 665-675.
- [10] SHARF I, ZHANG Y N. A contact force solution for non-colliding contact dynamics simulation [J]. Multibody Syst Dyn, 2006, 16(3): 263-290.
- [11] 成大先. 机械设计手册[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008.
- [12] 吴宗泽. 机械设计师手册[M]. 北京: 高等教育出版社, 2009.