

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2021.01.012

赵光辉, 孙淑坤, 曾群英, 等. 小桐子毛油酶法脱胶工艺研究及机理分析[J]. 粮油食品科技, 2021, 29(1): 91-95.

ZHAO G H, SUN S K, ZENG Q Y, et al. Research on enzymatic degumming process of jatropha crude oil and mechanism analysis[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2021, 29(1): 91-95.

# 小桐子毛油酶法脱胶工艺 研究及机理分析

赵光辉, 孙淑坤, 曾群英, 杨春基, 马克存

(中国石油天然气股份有限公司 石油化工研究院, 黑龙江 大庆 163714)

**摘要:**以小桐子毛油为原料, 应用复合磷脂酶通过单因素试验和正交试验开展酶法脱胶工艺研究。结果表明: 在酶加量 50  $\mu\text{g/g}$ 、pH5.5、反应温度 50  $^{\circ}\text{C}$ 、转速 350 r/min、反应时间 2 h 的条件下, 脱胶后油中的磷、金属、氮等微量杂质含量明显减少, 脱胶效果明显。在试验研究的基础上, 并对毛油酶法脱胶机理进行分析。

**关键词:**小桐子毛油; 脱胶; 磷脂酶; 脱胶机理

中图分类号: TS225.6; TQ644.46 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2021)01-0091-05

## Research on Enzymatic Degumming Process of Jatropha Crude Oil and Mechanism Analysis

ZHAO Guang-hui, SUN Shu-kun, ZENG Qun-ying, YANG Chun-ji, MA Ke-cun

(Petro China Company Limited Petrochemical Research Institute, Daqing, Heilongjiang 163714, China)

**Abstract:** Jatropha crude oil and compound phospholipase were used as raw material and degumming enzyme respectively, the enzymatic degumming process was studied by single factor test and orthogonal array test. The results showed that the optimal conditions were confirmed as follows: enzyme dosage, 50  $\mu\text{g/g}$ ; pH5.5; reaction temperature, 50  $^{\circ}\text{C}$ ; stirring speed, 350 r/min; reaction time, 2 h. The contents of phosphorus, metal, nitrogen and other trace impurities were significantly reduced in degumming oil, and the degumming effect was obvious. On the basis of test research, enzymatic degumming mechanism of crude oil was also analyzed.

**Key words:** jatropha crude oil; degumming; phospholipase; degumming mechanism

我国有上千种油料植物, 其中以小桐子为代表的木本油料具有含油量高、适应范围广、耐干旱贫瘠等特点, 广泛栽培或野生于我国的云南、四川、贵州、海南和广东等非农田用地, 这不仅符合我国生物质能源“不与人争粮, 不与粮争地”的发展原则, 而且对改善生态环境、调整农业产

业结构、促进农村经济发展、增加农民收入等都具有十分重要的意义。小桐子种籽的含油率在 28%~40% 之间, 脱皮后种仁的含油率最高可达 60%, 是木本油料中含油量最高的一种植物<sup>[1]</sup>。其种籽经萃取或压榨出的毛油主要成分是甘油三酯和游离脂肪酸, 同时含佛波醇酯和毒蛋白, 有毒, 不可食用, 但却是制备生物液体燃料(航空生物燃料和生物柴油)和其它化工品的理想原料<sup>[2-4]</sup>。

由于小桐子毛油中存在一定量的胶溶性杂质, 这些杂质通常条件下与蛋白质、黏液质及钙、镁、

收稿日期: 2020-07-08

作者简介: 赵光辉, 男, 1975 年出生, 高级工程师, 研究方向为液体生物燃料及化工研究工作。E-mail: zgh459@petrochina.com.cn.

铁、钾等金属结合成配位化合物, 形成 1~100 nm 的胶溶态微粒分散于毛油中<sup>[5-7]</sup>。将会对后续的脱色处理、贮存稳定性及下游用户造成极大影响, 因此高效的脱胶技术已成为小桐子油应用的关键。目前国内外油脂加工厂普遍采用水化脱胶、酸法脱胶或碱炼等传统工艺脱除胶质, 具有工艺简单易行、操作性强等优势, 但也存在甘油三酯损失大、辅料消耗多及三废排放等问题<sup>[8-9]</sup>。而酶法脱胶具有反应过程温和、工艺简便、出油率高、节约能源及环境友好等优势, 受到了学者和企业的广泛关注。本文通过对酶法脱胶工艺研究及机理分析, 以期小桐子油的工业化生产提供科学依据。

## 1 试验材料与方法

### 1.1 试验材料

小桐子毛油: 磷含量 221.8  $\mu\text{g/g}$ , 游离脂肪酸 3.92%, 自制; 复合磷脂酶(磷脂酶 B 和磷脂酶 C 复配): 夏盛实业集团有限公司。

柠檬酸、硝酸、盐酸、过氧化氢: 阿拉丁控股集团; 硫酸钠、氧化钾: 天津渤化化学试剂有限公司; 甲醇、乙醇、石油醚、异辛烷: 天津市瑞金特化学品有限公司。

Optima 5300DV 型等离子发射光谱仪: 美国 PerkinElmer 公司; ANTEK9000 型总氮分析仪: 美国 ANTEK 公司; Multi EA5000 型总硫分析仪: 德国耶拿公司; ECS3000 型总氯分析仪: 赛默飞世尔公司; Agilent7890 气相色谱: 安捷伦科技公司; ZK072 型干燥箱: 上海沪粤明科学仪器有限公司; BT323S 型电子天平: 赛多利斯电子有限公司; TDL-5A 型离心机: 凯特实验仪器有限公司。

### 1.2 毛油酶法脱胶方法

准确称取 300 g 小桐子毛油于 500 mL 的三口烧瓶中, 水浴加热到 75  $^{\circ}\text{C}$  后加入 50% 柠檬酸 0.42 g, 高剪切搅拌条件下反应 30 min。然后冷却至 55  $^{\circ}\text{C}$  以下, 加入适量 5% 的 NaOH 溶液混合均匀, 将反应体系调整到试验需要的 pH 范围。再加入一定量的水稀释酶液, 在预设温度和转速条件下反应。反应结束后进行离心分离, 除去胶质, 取定量样品进行分析。

## 1.3 分析方法

磷和金属含量: 参照 GB/T17476—1998; 氮含量: 参照 ASTM D5762—2012; 硫含量: 参照 ASTM D5453—2008; 氯含量: 参照 ASTM D5808—2009a; 不皂化物含量: 参照 GB/T5535.1—2008; 游离脂肪酸含量: 参照 GB/T5530—2005。

## 2 结果与分析

### 2.1 酶法脱胶单因素试验

#### 2.1.1 反应体系 pH 对脱胶效果影响

在酶加量 40  $\mu\text{g/g}$ 、反应温度 50  $^{\circ}\text{C}$ 、反应时间 2.5 h、搅拌转速 300 r/min 的条件下, 通过控制 NaOH 溶液的加量, 考察了反应体系 pH 对脱胶效果影响, 结果如图 1 所示。

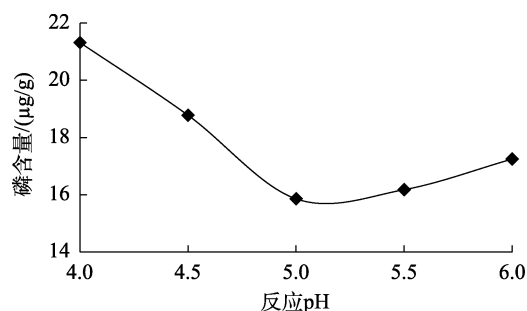


图 1 反应体系 pH 对脱胶效果影响

Fig.1 The pH of the reaction solution to degumming effect

由图 1 可见, 随着反应体系 pH 升高, 脱胶油中的磷含量明显降低; 当 pH 超过 5.0 以后, 脱胶油中磷含量反而升高, 这主要是随着碱量增加, 导致磷脂酶活性降低所致, 因此选择反应体系 pH5.0 时较适宜。

#### 2.1.2 磷脂酶加量对脱胶效果影响

在反应温度 50  $^{\circ}\text{C}$ 、反应时间 2.5 h、搅拌转速 300 r/min、pH5.0 的条件下, 考察了磷脂酶加量对脱胶效果影响, 结果如图 2 所示。

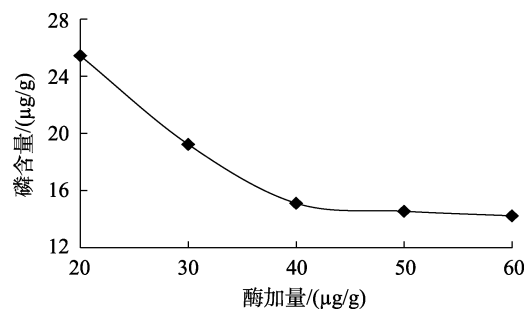


图 2 酶加量对脱胶效果影响

Fig.2 Enzyme dosage to degumming effect

由图 2 可见, 脱胶油中的磷含量随着酶加量的增加而降低, 当酶加量超过 40  $\mu\text{g/g}$  以后, 脱胶油中的磷含量降低趋势变缓。由此可见, 磷脂酶加量在一定范围内决定着脱胶效果, 再提高磷脂酶加量对脱胶效果的影响并不明显, 但会增加脱胶成本。从经济性方面考虑, 确定酶加量 40  $\mu\text{g/g}$  较适宜。

### 2.1.3 反应温度对脱胶效果影响

在反应时间 2.5 h、搅拌转速 300 r/min、pH5.0、酶加量 40  $\mu\text{g/g}$  的条件下, 考察了反应温度对脱胶效果影响, 结果如图 3 所示。

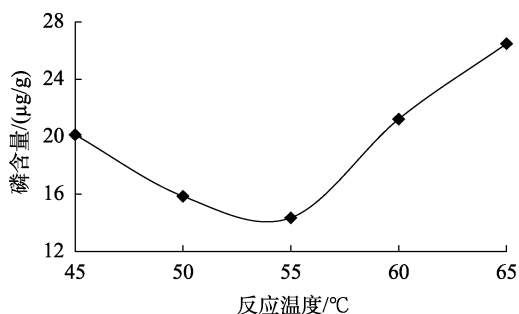


图 3 反应温度对脱胶效果影响

Fig.3 Reaction temperature to degumming effect

由图 3 可见, 随着反应温度的升高, 脱胶油的磷含量呈先降低后上升的趋势, 当温度为 55  $^{\circ}\text{C}$  时, 此时脱胶油含磷量降至 14.36  $\mu\text{g/g}$ , 说明酶促进脱胶反应达到最大水平。由于温度过低或过高都会影响酶的活性, 因此确定脱胶反应的最适温度为 55  $^{\circ}\text{C}$ 。

### 2.1.4 反应时间对脱胶效果影响

在搅拌转速 300 r/min、pH5.0、酶加量 40  $\mu\text{g/g}$ 、反应温度 55  $^{\circ}\text{C}$  的条件下, 考察了反应时间对脱胶效果影响, 结果如图 4 所示。

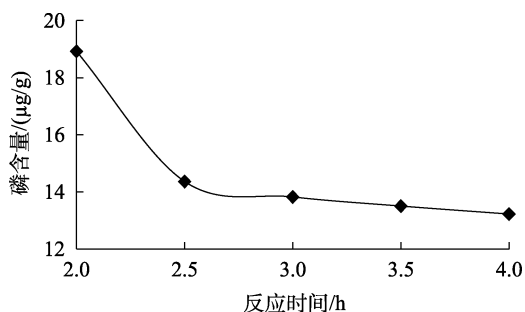


图 4 反应时间对脱胶效果影响

Fig.4 Reaction time to degumming effect

由图 4 可见, 随着反应时间的增加, 脱胶油含磷量呈现递减趋势。当反应时间超过 3.0 h 后,

磷含量基本不再发生变化, 因此较优的酶反应时间确定为 3.0 h。

### 2.1.5 搅拌转速对脱胶效果影响

在 pH5.0、酶加量 40  $\mu\text{g/g}$ 、反应温度 55  $^{\circ}\text{C}$ 、反应时间 3.0 h 的条件下, 考察了搅拌转速对脱胶效果影响, 结果如图 5 所示。

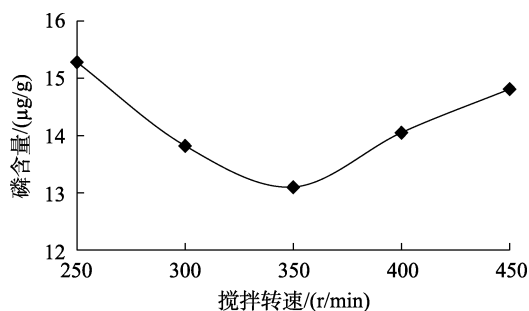


图 5 搅拌转速对脱胶效果影响

Fig.5 stirring speed to degumming effect

由图 5 可见, 搅拌转速在 250~350 r/min 范围内时, 增加转速能够使磷脂酶和水在油相中分散均匀, 反应界面越大, 脱胶油中的磷含量越低。但随着搅拌继续增加, 可能是由于搅拌形成的剪切力影响了酶的活性或反应体系乳化造成磷脂的残留, 从而造成脱胶效果, 因此确定脱胶反应转速为 350 r/min。

## 2.2 酶法脱胶正交试验

根据单因素酶法脱胶试验结果, 选取 pH、酶加量、反应温度、反应时间和搅拌转速等五个因素作为变量, 每个因素选取 4 个水平, 以脱胶油中的磷含量作为考察指标, 根据因素数和水平数选择  $L_{16}(4^5)$  正交表开展脱胶试验, 结果见表 1。

由极差分析结果可知, 表 1 中正交试验各因素的影响顺序依次是酶加量>pH>反应温度>搅拌转速>反应时间, 由正交试验结果可以看出优化后的组合为  $A_3B_4C_3D_2E_1$ , 即在酶加量 50  $\mu\text{g/g}$ 、pH5.5、反应温度 50  $^{\circ}\text{C}$ 、搅拌转速 350 r/min、反应时间 2 h 的条件下, 酶法脱胶试验效果最好。

## 2.3 酶法脱胶验证试验及微量组分分析

以小桐子毛油为原料, 在酶加量 50  $\mu\text{g/g}$ 、pH5.5、反应温度 50  $^{\circ}\text{C}$ 、搅拌转速 350 r/min、反应时间 2 h 的条件下, 开展了酶法脱胶工艺验证试验, 并对脱胶油中的微量组分进行了分析, 试验数据见表 2。

表 1 正交试验设计与结果  
Table 1 Orthogonal test design and results

| 试验编号           | pHA    | 酶加量 B/(μg/g) | 反应温度 C/°C | 反应时间 D/h | 搅拌转速 E/(r/min) | 磷含量/(μg/g) |
|----------------|--------|--------------|-----------|----------|----------------|------------|
| TJ-01          | 4.5    | 20           | 40        | 1.5      | 350            | 18.23      |
| TJ-02          | 4.5    | 30           | 45        | 2.0      | 400            | 15.59      |
| TJ-03          | 4.5    | 40           | 50        | 2.5      | 450            | 12.16      |
| TJ-04          | 4.5    | 50           | 55        | 3.0      | 500            | 9.97       |
| TJ-05          | 5.0    | 20           | 45        | 2.5      | 500            | 20.20      |
| TJ-06          | 5.0    | 30           | 40        | 3.0      | 450            | 17.88      |
| TJ-07          | 5.0    | 40           | 55        | 1.5      | 400            | 13.23      |
| TJ-08          | 5.0    | 50           | 50        | 2.0      | 350            | 11.20      |
| TJ-09          | 5.5    | 20           | 50        | 3.0      | 400            | 16.76      |
| TJ-10          | 5.5    | 30           | 55        | 2.5      | 350            | 14.23      |
| TJ-11          | 5.5    | 40           | 40        | 2.0      | 500            | 12.57      |
| TJ-12          | 5.5    | 50           | 45        | 1.5      | 450            | 11.17      |
| TJ-13          | 6.0    | 20           | 55        | 2.0      | 450            | 17.88      |
| TJ-14          | 6.0    | 30           | 50        | 1.5      | 500            | 14.82      |
| TJ-15          | 6.0    | 40           | 45        | 3.0      | 350            | 13.21      |
| TJ-16          | 6.0    | 50           | 40        | 2.5      | 400            | 11.75      |
| K <sub>1</sub> | 13.988 | 18.267       | 15.107    | 14.363   | 14.217         |            |
| K <sub>2</sub> | 15.628 | 15.630       | 15.043    | 14.310   | 14.332         |            |
| K <sub>3</sub> | 13.683 | 12.793       | 13.735    | 14.585   | 14.773         |            |
| K <sub>4</sub> | 14.415 | 11.023       | 13.828    | 14.455   | 14.390         |            |
| R              | 1.945  | 7.244        | 1.372     | 0.275    | 0.556          |            |

表 2 酶法脱胶验证试验及脱胶油微量组分分析  
Table 2 Enzymatic degumming verifying test and analysis of trace components in degumming oil

| 分析项目      | 毛油     | 脱胶油-1 | 脱胶油-2 |
|-----------|--------|-------|-------|
| 磷/(μg/g)  | 117.90 | 9.93  | 9.95  |
| 金属/(μg/g) | 135.50 | 11.85 | 11.73 |
| 氮/(μg/g)  | 83.10  | 8.22  | 8.31  |
| 硫/(μg/g)  | 4.37   | 3.65  | 3.69  |
| 氯/(μg/g)  | 5.63   | 3.32  | 3.40  |
| 酸度/%      | 3.92   | 4.86  | 4.89  |
| 不皂化物/%    | 0.48   | 0.43  | 0.41  |

从表 2 可以看出,在该条件下进行验证试验,脱胶油中的磷含量最低为 9.93 μg/g。脱胶油中的磷、金属及氮的含量大幅度降低,这主要是由于毛油磷脂中含有金属离子和氨基,在脱胶过程中酶可将非水化磷脂中的酰基切断转化为溶血性磷脂或磷脂酰基,与水化磷脂遇水时形成液态水合结晶<sup>[10-11]</sup>,再同硫化物、氯化物、不皂化物等同时被沉淀分离出来,使脱胶油中的杂质得到不同程度的降低,这对于油品储存及下游用户的应用是非常有利的。由于毛油脱胶反应体系中存在碱液和水,在一定条件下会造成甘油三酯水解,生成游离脂肪酸,导致脱胶油酸度有所升高。

### 2.4 酶法脱胶反应机理分析

毛油中的胶质主要是磷脂,所以说“脱胶”也称“脱磷”。根据磷脂酸羟基相连的官能团不同,磷脂通常分为水化磷脂和非水化磷脂。酶法脱胶就是利用磷脂酶与油中的非水化磷脂发生特异性反应,切除非水化磷脂中的一个或两个脂肪酸,生成水化磷脂<sup>[12-13]</sup>。然后再利用水化磷脂具有很强亲水性的特点,通过沉淀或离心分离从油中除去。此法减少了精炼过程中酸碱用量和废水排放量,提高了生产效率,降低了经济成本,显示出明显优势和发展潜力。

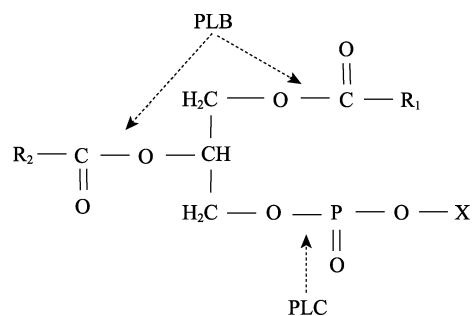


图 6 不同磷脂酶的作用位点  
Fig.6 The site of different phospholipase Hydrolysis phospholipids

由图6可见, 试验采用磷脂酶B和磷脂酶C的复合酶, 直接作用于磷脂的1号和2号位以及甘油与磷酸盐之间的P-O键上进行特异性反应。其中磷脂酶B能特异性水解磷脂1号和2号位上的脂肪酸, 生成游离脂肪酸和溶血磷脂<sup>[14-16]</sup>。由于溶血磷脂具有较强的亲水性, 可以通过水化作用去除。磷脂酶C作用于甘油与磷酸盐之间的P-O键, 使磷脂分解为亲水性组分和溶于油脂的甘油二酯, 从而减少油脚产出及其夹带损失, 增加了中性油的产出, 具有良好的应用前景。磷脂酶C在生物细胞较为常见, 目前已有企业通过发酵培养无毒、无致病性的转基因毕赤酵母, 提取磷脂酶C, 用于油脂的脱胶<sup>[17-18]</sup>。

### 3 结论

利用正交试验对酶法小桐子毛油脱胶工艺进行了优化, 确定最佳工艺条件为 $A_3B_4C_3D_2E_1$ , 即在酶加量 $50\ \mu\text{g/g}$ 、 $\text{pH}5.5$ 、反应温度 $50\ ^\circ\text{C}$ 、搅拌转速 $350\ \text{r/min}$ 、反应时间 $2\ \text{h}$ 的条件下, 脱胶油的磷含量可降 $9.93\ \mu\text{g/g}$ , 其它杂质也有不同程度的降低, 说明开发出的酶法脱胶工艺除杂效果明显。

由于小桐子毛油中的磷、金属、氮等杂质受产地、品种、储藏时间及压榨工艺等多因素的影响, 其含量变化大、性质均不相同, 因此油脂加工企业应根据毛油的性质及产品要求, 选择适当的磷脂酶和脱胶工艺条件, 以期达到最佳效果。

### 参考文献:

- [1] 胡徐腾. 液体生物燃料-从化石到生物质[M]. 北京: 化学工业出版社, 2013: 76-77.  
HU X T. Liquid biofuels-from fossil to biomass[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2013: 76-77.
- [2] 杨兆华, 史宣明, 张骊, 等. 小桐子(麻疯树)粕脱毒工艺技术的研究[J]. 中国油脂, 2011, 36(7): 15-17.  
YANG Z H, SHI X M, ZHANG L, et al. Study on detoxification technology of jatropha curcas meal[J]. China Oils and Fats, 2011, 36(7): 15-17.
- [3] 邓欣, 方真, 杨成源, 等. 一种小桐子毒蛋白的连续化提取方法[P]. 中国专利: 101463073, 2009-06-04.  
DENG X, FANG Z, YANG C Y, et al. A continuous extraction method of jatropha curcas venom protein[P]. CN101463073, 2009-06-04.
- [4] 赵光辉, 关旭, 金书含, 等. 麻疯树毛油精炼工艺研究[J]. 中国油脂, 2017, 42(5): 12-14.  
ZHAO G H, GUAN X, JIN S H, et al. Refining process of crude jatropha oil[J]. China Oils and Fats, 2017, 42(5): 12-14.
- [5] 何东平. 油脂精炼与加工工艺学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 2-7.
- [6] HE D P. Oil Refining and processing technology[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2010: 2-7.
- [7] 赵光辉, 董平, 姜伟, 等. 油脂脱胶技术现状及发展方向[J]. 粮食与油脂, 2017, 30(11): 14-16.  
ZHAO G H, DONG P, JIANG W, et al. The current status and development direction of oil degumming technology[J]. Cereals and Oils, 2017, 30(11): 14-16.
- [8] 顾雁蕾, 叶兴乾. 植物油膜法脱胶的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2017, 36(3): 122-124.  
GU Y L, YE X Q. Degumming vegetable oils by membrane[J]. Food and Fermentation Industries, 2017, 36(3): 122-124.
- [9] 徐赢华, 王国敬, 李春, 等. 酶法脱胶在植物油脂精炼中的应用进展[J]. 农业工程学报, 2015, 31(23): 269-276.  
XU Y H, WANG G J, LI C, et al. Application of enzymatic degumming on vegetable oils refining[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2015, 31(23): 269-276.
- [10] 李兴勇, 陈玉保, 杨顺平, 等. 脱胶在植物油精炼中的研究进展[J]. 中外能源, 2018, 23(4): 19-24.  
LI X Y, CHENG Y B, YANG S P, et al. Research progress of degumming in vegetable oil refining[J]. Sino-Global Energy, 2018, 23(4): 19-24.
- [11] DIJKSTRA, ALBERT J. Enzymatic degumming[J]. European journal of lipid science and technology, 2010(11): 1178-1189.
- [12] 毛程鑫, 李桂华, 薛武军, 等. 菜籽油酶法脱胶的研究[J]. 中国粮油学报, 2016, 31(8): 75-79.  
MAO C X, LI G H, XUE W J, et al. Enzymatic degumming of rapeseed oil[J]. Journal of The Chinese Cereals and Oils Association, 2016, 31(8): 75-79.
- [13] DIJKSTRA A. Enzymatic degumming[J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2010, 112(11): 1178-1189.
- [14] 程实, 王长坤, 张梁, 等. 复合重组磷脂酶用于大豆油脱胶的工艺优化[J]. 食品科学, 2016, 37(18): 13-18.  
CHENG S, WANG C K, ZHANG L, et al. Optimization of soybean oil degumming by mixed recombinant phospholipases[J]. Food Science, 2016, 37(18): 13-18.
- [15] 刘丽娜, 王洁, 陶海腾, 等. 磷脂酶 Lecitase Ultra 用于花生油脱磷工艺的研究[J]. 山东农林科学, 2015, 48(2): 108-111.  
LIU L N, WANG J, TAO H T, et al. Study on enzymatic degumming technology for peanut oil with lecitase ultra[J]. Shangdong Agricultural Sciences, 2015, 48(2): 108-111.
- [16] 刘瑞利, 张传许, 沈益烈, 等. 磷脂酶在浓香菜籽油脱胶中的应用研究[J]. 黄冈师范学院学报, 2016, 36(3): 47-49.  
LIU R L, ZHANG C X, SHEN Y L, et al. A study on enzymatic degumming of aroma rapeseed oil with phospholipase[J]. Journal of Huanggang Normal University, 2016, 36(3): 47-49.
- [17] 李进红. 磷脂酶A1和C的固定化及在联合脱胶中的应用[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2019: 5-7.  
LI J H. Immobilization of phospholipase A1 and C and its application in combined degumming[D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2019: 5-7.
- [18] 尹佳, 付杰, 陈涛, 等. 磷脂酶C的酶活及其脱胶研究[J]. 食品工业, 2015, 36(12): 121-125.  
YIN J, FU J, CHEN T, et al. Study on enzyme activity and degumming of phospholipase C[J]. 食品工业, 2015, 36(12): 121-125.
- [19] 徐振山, 郑有涛, 刘宝珍. 磷脂酶C在大豆油脱胶中的应用实践[J]. 中国油脂, 2017, 42(11): 152-153.  
XU Z S, ZHENG Y T, LIU B Z. Application of phospholipase C in soybean oil degumming[J]. China Oils and Fats, 2017, 42(11): 152-153. 完