

DOI: 10.16210/j.cnki.1007-7561.2021.03.013

胡婷婷, 王灵, 林康森, 等. 太瑞斯梭孢壳霉磷脂酶 C 在玉米胚芽油脱胶中的应用研究[J]. 粮油食品科技, 2021, 29(3): 98-103.

HU T T, WANG L, LIN K S, et al. Application of phospholipase C from *Thielavia terrestris* in the enzymatic degumming process of crude corn oil[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2021, 29(3): 98-103.

太瑞斯梭孢壳霉磷脂酶 C 在玉米胚芽油脱胶中的应用研究

胡婷婷, 王 灵, 林康森, 江正强, 杨绍青✉

(中国农业大学 食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘 要: 研究太瑞斯梭孢壳霉 (*Thielavia terrestris*) 磷脂酶 C 为核心的玉米胚芽油酶法脱胶工艺。以玉米油磷含量为评价指标, 分别研究磷脂酶 C 添加量、氢氧化钠 (NaOH) 和柠檬酸体积比、反应温度、反应时间等 4 个因素对玉米胚芽油酶法脱胶效果的影响。结果表明: 玉米胚芽油酶法脱胶最佳工艺条件为磷脂酶 C 加酶量 5 000 U/kg, NaOH 和柠檬酸的体积比为 4, 反应温度为 35 °C, 酶解时间为 1 h。在该最优条件下, 玉米胚芽油磷含量由最初 102.7 mg/kg 降低至 24.0 mg/kg, 水解率为 76.6%。

关键词: 玉米胚芽油; 磷脂酶 C; 酶法脱胶; 磷含量; 水解率

中图分类号: TS224.6 文献标识码: A 文章编号: 1007-7561(2021)03-0098-06

网络首发时间: 2021-04-16 09:11:41

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3863.TS.20210415.1844.002.html>

Application of Phospholipase C from *Thielavia terrestris* in the Enzymatic Degumming Process of Crude Corn Oil

HU Ting-ting, WANG Ling, LIN Kang-sen, JIANG Zheng-qiang, YANG Shao-qing✉

(China Agricultural University, College of Food Science and Nutritional Engineering, Beijing 100083, China)

Abstract: The enzymatic degumming process of crude corn oil using phospholipase C from *Thielavia terrestris* was studied. The key factors affecting the enzymatic degumming efficiency of crude corn oil, including enzyme dosage, volume ratio of NaOH to citric acid, reaction temperature and reaction time, were optimized by a single-factor experiment with the content of phosphorus in corn oil as the evaluation index. The results showed that the optimal enzymatic degumming conditions were: enzyme dosage of 5000 U/kg, volume ratio (NaOH to citric acid) of 4, reaction temperature of 35 °C and reaction time of 1 h. Under the optimized conditions, the phosphorus content was reduced from 102.7 mg/kg to 24.0 mg/kg, with a hydrolysis rate of 76.6%.

Key words: crude corn oil; phospholipase C; enzymatic degumming; phosphorus content; hydrolysis rate

收稿日期: 2020-12-14

基金项目: “十三五”国家重点研发项目 (2018YFD0401102); 国家自然科学基金 (31871744)

Supported by: National Key Research and Development Project of the 13th five-year plan, China (No. 2018YFD0401102); National Natural Science Foundation of China (No. 31871744)

作者简介: 胡婷婷, 女, 1997 年出生, 在读硕士生, 研究方向为食品酶工程。E-mail: HTT19972623@163.com.

通讯作者: 杨绍青, 男, 1980 年出生, 教授, 研究方向为食品酶工程、脂质合成、乳脂制备。E-mail: ysq@cau.edu.cn.

玉米油富含多种脂肪酸, 不饱和脂肪酸含量高达 85% 左右, 其中亚油酸约占 55% 左右^[1-2]。亚油酸作为一种人体自身不能合成的必需脂肪酸, 具有降胆固醇、增强心血管机能、软化血管、预防和改善动脉硬化等功效^[3]。经压榨离心制得的玉米胚芽油中磷脂含量较高, 是毛油中主要的胶溶性杂质, 这些杂质的存在不仅会降低油脂的流动性、使用价值和贮藏稳定性, 而且在油脂精炼加工中还会导致成品油的质量下降。因此, 在油脂精炼过程中需进一步去除磷脂组分^[4]。

目前, 植物油脂脱胶多采用传统脱胶方法, 如水化脱胶和酸法脱胶等^[5-6]。传统的脱胶方法可以有效地去除水化磷脂, 但非水化磷脂很难去除^[7]。酶法脱胶是通过添加磷脂酶将毛油中的非水化磷脂转变为水化磷脂, 便于利用水化的方法除去^[8]。常用于植物油脂脱胶的酶有磷脂酶 A₁ (PLA₁)、磷脂酶 A₂ (PLA₂) 和磷脂酶 C (PLC)。PLA₂ 由于脱胶效果不突出且价格昂贵应用较少, 工业应用中多选择 PLA₁ 或 PLC 进行植物油脂脱胶^[9-11]。其中 PLC 具有很多独特的优点, 根据侧链基团的不同, 磷脂酶 C 可以分为磷脂酰胆碱特异性磷脂酶 C (PC-PLC)、磷脂酰肌醇特异性磷脂酶 C (PI-PLC) 和非特异性磷脂酶 C (NPC)。其中, PC-PLC 可以特异性水解磷脂酰胆碱 (PC) 和磷脂酰乙醇胺 (PE), 但对前者的底物特异性更好; PI-PLC 只能特异性水解磷脂酰肌醇 (PI), 不能水解 PC; NPC 则以普通磷脂为底物, 可以水解 PC、PE、磷脂酰丝氨酸 (PS)、磷脂酰甘油 (PG) 和磷脂酸 (PA)^[11]。PLC 脱胶水解产物为有机磷酸酯 (磷酸胆碱、磷酸乙醇胺或磷酸肌醇等) 及甘油二酯, 脱胶过程不产生其它副产物, 安全性更高, 且脱胶过程中仅需 1%~2% 的水分, 极大减少了废水的产生, 对环境污染相对较小, 因此更受青睐^[12]。目前, 已有许多天然或重组 PLC 应用于不同毛油脱胶, 如玉米胚芽油^[13]、大豆毛油^[14]、菜籽毛油^[15]、米糠毛油^[16]、山茶毛油^[17] 和蔬菜毛油^[18] 等。叶展等^[19] 利用 PLC 处理菜籽油, 菜籽毛油磷含量由 693 mg/kg 降低至 7.85 mg/kg。Cerminati 等^[20] 将球形芽孢杆菌 PI-PLC 和商业 PC-PLC 复配对大豆毛油进行脱胶, 除去了约 91% 的磷脂。Jiang 等^[21] 使用蜡状芽孢杆菌 PLC 对山

茶毛油脱胶, 磷含量降至 6.84 mg/kg, 脱磷率达到 98.2%。同时, 部分商业 PLC (PLC Purifine® 和 PLC Lecitase Ultra) 也被应用于毛油脱胶, 包括大豆毛油和米糠毛油等^[22-24], 但是关于玉米胚芽油酶法脱胶的报道相对较少^[12,23]。

本课题组前期从太瑞斯梭孢壳霉 (*Thielavia terrestris*) 中克隆表达得到一种新型磷脂酶 C。该酶应用于大豆毛油脱胶, 能完全除去 PC 和 PI, 仅有极少部分的 PE 残留^[11]。玉米胚芽油磷脂成分包括 PC、PI、PA、PE 等, 主要为 PC 和 PE, 含量分别占 20% 以上。因此, 使用对 PC 和 PE 底物特异性强的磷脂酶 C 利于脱胶完全^[23]。本研究进一步探究该酶在玉米胚芽油脱胶工艺中的应用效果, 优化玉米胚芽油毛油酶法脱胶工艺的主要参数, 以期为该酶的后续工业化应用奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

玉米胚芽油 (磷含量 102.7 mg/kg): 中粮东海粮油工业张家港有限公司; 太瑞斯梭孢壳霉磷脂酶 C (TtPLC): 中国农业大学酶工程实验室自制; 重水 D₂O、钼酸钠二水合物、氧化锌、硫酸联氨、脱氧胆酸钠等试剂均为分析纯; 上海麦克林生化科技有限公司。

高速台式离心机 (TGL 12GB): 上海安亭科学仪器厂公司; 全温振荡培养箱 (HZQ-F160): 江苏省太仓市实验设备厂公司; 慧泰智能马弗炉 (16-12TP): 上海慧泰仪器制造有限公司; 封闭电炉 (TDWYL-12): 沧州泰鼎恒业试验仪器有限公司; 核磁共振波谱仪 (Agilent 500 MHz DD2): 美国 Agilent 公司; 水浴恒温振荡器 (THZ-82A)、磁力加热搅拌器: 江苏金坛市荣华仪器制造有限公司; 紫外可见分光光度计 (TU 1800 PC): 北京普析通用仪器设备有限责任公司。

1.2 实验方法

1.2.1 磷脂酶 C 的制备

参照 Xiang 等^[11] 方法制备太瑞斯梭孢壳霉磷脂酶 C。从本课题组筛选保藏的嗜热真菌太瑞斯梭孢壳霉 *Thielavia terrestris* CAU709 克隆得到磷脂酶 C 基因, 将其在毕赤酵母中进行异源表达。依

照 *Pichia Fermentation Process Guidelines* (Version B, 053002, Invitrogen) 操作方法, 在 5 L 发酵罐中进行高密度发酵制备磷脂酶 C, 制备得到的磷脂酶 C 酶活力为 98 970 U/mL。

1.2.2 磷脂酶 C 活力测定

采用对硝基苯磷脂酰胆碱 (*p*-NPPC) 法测定磷脂酶 C 酶活力: 将 20 μ L 适当稀释的酶液加入到 96 孔板中, 再加入 180 μ L 含 10 mM *p*-NPPC 的 50 mM HEPES pH 6.5 缓冲溶液于 55 $^{\circ}$ C 培养箱静置。反应 30 min 后, 使用酶标仪测定 410 nm 下吸光度值。磷脂酶 C 酶活力单位 (U) 定义为在上述条件下每分钟反应产生 1 μ mol 对硝基苯酚所需的酶量。

1.2.3 玉米胚芽油的酶法脱胶

磷脂酶 C 应用于玉米胚芽油的脱胶工艺参照 Jiang 等^[25]的方法进行。称取 300 g 玉米胚芽油于 1 L 烧杯中, 水浴加热至 70 $^{\circ}$ C, 加入 0.3 mL 的柠檬酸溶液 (45 %, w/w), 在 200 rpm 条件下预处理 20 min。然后冷却至预设温度 (25~50 $^{\circ}$ C), 加入一定量的 4%NaOH 溶液 (w/v, 0.3~2.4 mL) 调节 pH, 再加入 3 mL 蒸馏水和一定量的磷脂酶 C 纯酶液 (0~10 000 U/kg), 混合均匀后, 在 200 rpm 摇床中反应 (0~4 h)。反应结束后, 将油样置于沸水浴中处理 10 min 终止酶反应, 10 000 rpm 离心 10 min, 取上层油样测定磷含量。以加入灭活的酶液处理组作为对照组。

1.2.4 磷含量测定

参照国标 GB/T 5537—2008 的方法测定磷含量。用坩埚称取 3 g 油样, 加入 0.5 g 氧化锌在电炉上加热至碳化后, 置于马弗炉中 575 $^{\circ}$ C 灼烧 2 h 至完全灰化。取出坩埚冷却至室温, 用 10 mL 盐酸溶液 (50%, v/v) 溶解灰分并加热至微沸, 5 min 后停止加热, 待溶解液温度降至室温后过滤注入 100 mL 容量瓶中, 用 5 mL 热水冲洗坩埚和滤纸 3~4 次, 待滤液冷却至室温后用 KOH 溶液 (50%, w/w) 中和至出现混浊, 缓慢滴加盐酸溶液 (50%, v/v) 使氧化锌沉淀全部溶解。最后用水稀释定容。吸取 10 mL 被测液到 50 mL 比色管中, 加入 8 mL 硫酸联氨溶液 (0.015%, w/v), 2 mL 2.5% 钼酸钠稀硫酸溶液 (V(浓硫酸): V(水)=7:25), 加塞振荡 3~4 次, 沸水浴处理 10 min, 冷却至室温

后用水稀释至刻度并充分摇匀, 静置 10 min。最后用分光光度计测定溶液 650 nm 下吸光度值。

1.3 数据处理

采用 Excel 对实验数据进行分析, Origin 2018 作图。

2 结果与分析

2.1 反应时间对脱胶效果的影响

在初始条件酶添加量为 5 000 U/kg, NaOH 和柠檬酸体积比为 4, 温度为 35 $^{\circ}$ C 时, 分别在反应时间为 0.5、1、2、3 和 4 h 下进行脱胶实验, 以磷含量为指标, 考察反应时间对玉米胚芽油脱胶效果的影响。实验结果见表 1, 整体来看, 随着反应时间的延长, 磷含量逐渐下降, 其中在 0~1 h 内油脂磷含量下降显著, 反应 1~4 h 期间, 磷含量变化趋于平缓。综合考虑脱胶率和脱胶时间, 确定最佳反应时间为 1 h。

表 1 反应时间对玉米胚芽油脱胶效果的影响
Table 1 Effect of reaction time on the degumming efficiency of crude corn oil

时间/h	0	0.5	1	2	3	4
磷含量/(mg/kg)	67.6	38.1	24.0	21.6	21.2	19.1
水解率/%	34.2	62.9	76.6	79.0	79.3	81.4

反应时间对磷脂酶 C 脱胶效果影响较大。Sampaio 等^[23]利用商业 PLC Purifine®处理玉米胚芽油的最佳反应时间为 2 h。Xiang 等^[11]进行大豆毛油磷脂脱胶时最佳的酶解时间与本研究结果一致。这是由于脱胶过程中磷脂发生凝聚, 反应时间过短, 磷脂凝聚不完全, 脱胶率较低, 随着反应时间的延长, 脱胶效果提高, 反应时间继续增加, 脱胶效果不再提升, 这是由于反应时间过长容易发生油脂乳化, 不利于磷脂的分离^[15]。此外, 酶活性也会随着反应时间的延长而降低^[8]。因此, 适宜的反应时间能够提高酶法脱胶的效果。

2.2 NaOH 和柠檬酸的体积比对脱胶效果的影响

在初始条件酶添加量为 5 000 U/kg, 温度为 35 $^{\circ}$ C, 反应时间为 1 h, 柠檬酸添加量为 0.1% (v/w) 时, 通过添加适量体积的 NaOH 来调节反应体系的 pH, 分别在 NaOH 和柠檬酸的体积比为 1、2、4、6 和 8 的条件下进行脱胶实验, 以磷含

量为指标, 考察 pH 对玉米胚芽油脱胶效果的影响。实验结果见图 1, 随着 NaOH 和柠檬酸体积比的增加, 磷含量呈现先降低后升高的趋势, 当 NaOH 和柠檬酸的体积比为 4 时, 磷含量达到最低点。因此, 确定 NaOH 和柠檬酸的最佳体积比为 4。

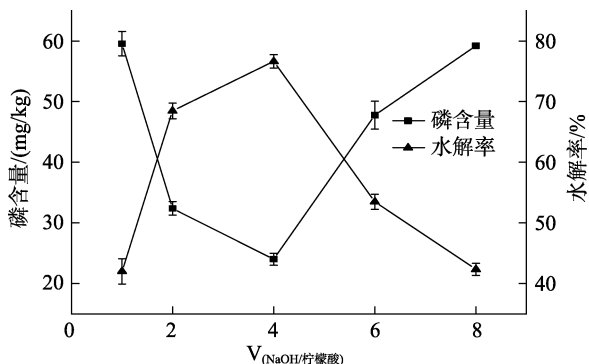


图 1 NaOH 和柠檬酸的体积比对玉米胚芽油脱胶效果的影响
Fig.1 Effect of volume ratio of NaOH to citric acid on the degumming efficiency of crude corn oil

不同的酸碱比对玉米胚芽油脱胶效果有很大的影响。Xiang 等^[11]应用磷脂酶 C 进行大豆毛油磷脂脱胶最佳酸碱体积比为 1:2。毛程鑫等^[26]用磷脂酶对菜籽油进行脱胶, 最佳酸碱体积比为 1:4.5。这可能是由于 pH 显著影响酶的活性及酶促反应速度, 酶在其最适 pH 条件下才能达到最高酶促反应水平, 当酶在过低或过高 pH 条件下, 酶结构会受到破坏, 酶的活性随之降低甚至失去活性^[8,20]。因此, 采用适宜的酸碱比能有效提高酶法脱胶的效果。

2.3 温度对脱胶效果的影响

在初始条件酶添加量为 5 000 U/kg, NaOH 和柠檬酸的体积比为 4, 酶解时间为 1 h 时, 分别在 25、30、35、40、45 和 50 °C 下进行脱胶实验, 以磷含量为指标, 考察温度对玉米胚芽油脱胶效果的影响。实验结果见图 2, 随着反应温度的升高, 磷含量呈现先降低后升高的趋势, 当温度为 35 °C 时, 磷含量达到最低点。因此, 确定最佳反应温度为 35 °C。

温度也是影响酶法脱胶效果的重要因素之一。Qu 等^[9]进行大豆毛油酶法脱胶时的最佳反应温度为 55 °C。Jiang 等^[21]进行茶花籽油酶法脱胶的最适反应温度为 53 °C。温度过低, 油脂流动性降低, 反应物分子间结合不充分, 酶促反应较

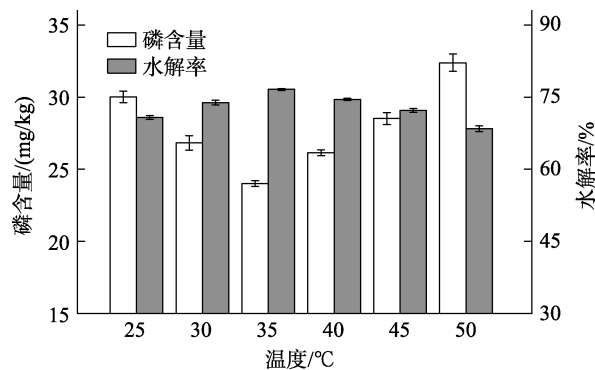


图 2 温度对玉米胚芽油脱胶效果的影响
Fig.2 Effect of temperature on the degumming efficiency of crude corn oil

慢, 随着温度的升高, 油脂的流动性越好, 反应物分子间结合越充分, 酶促反应速度越快, 但是温度过高会导致酶变性, 使酶的活性降低甚至完全不可逆的丧失活性^[16,21]。因此, 适宜的温度范围能显著提高酶法脱胶效果。

2.4 酶添加量对脱胶效果的影响

在初始条件 NaOH 和柠檬酸的体积比为 4, 温度为 35 °C, 水解时间为 1 h 时, 分别在酶添加量为 0、1 000、2 500、5 000、7 500 和 10 000 U/kg 的条件下进行脱胶实验, 以磷含量为指标, 考察酶添加量对玉米胚芽油脱胶效果的影响。实验结果见图 3, 随着加酶量的增加, 磷含量逐渐降低, 当加酶量为 5 000 U/kg 时, 磷含量达到最低点。综合考虑, 确定 PLC 脱胶最适加酶量为 5 000 U/kg。

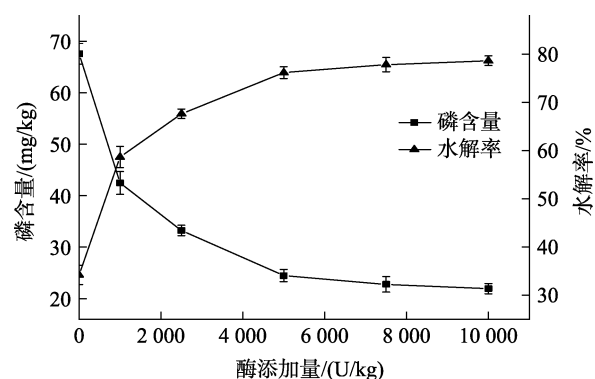


图 3 酶添加量对玉米胚芽油脱胶效果的影响
Fig.3 Effect of enzyme dosage on the degumming efficiency of crude corn oil

本研究加酶量同 Xiang 等^[11]大豆毛油磷脂脱胶结果一致, 但是低于商业 PLC Purifine® 用于沙棘果油脱胶的酶添加量 (12 000 U/kg)。这是由于在底物充足的情况下, 酶促反应速度与酶浓度大

小成正比。酶浓度越高, 酶促反应速度越快, 但是反应速度并不会一直随着酶添加量的上升而加快, 因此, 当酶的浓度达到一定值时, 催化速率曲线逐渐趋于平缓, 之后再继续增加酶的使用量时, 反应速率不再明显变化^[8]。

综上所述, 采用磷脂酶 C 对玉米胚芽油进行磷脂脱胶的最佳条件为: 酸碱比为 4、反应温度为 35 °C、反应时间为 1 h、加酶量为 5 000 U/kg。在该最优条件下, 玉米胚芽油中磷的含量降低到

24.0 mg/kg, 水解率为 76.6%。该酶的脱胶效果优于帝斯曼公司的 DSM 磷脂酶 C (商业酶, 64.70 mg/kg)^[23]和商业 PLC Purifine® (27 mg/kg)^[26], 稍差于其它几种磷脂酶 (表 2)。但是从柠檬酸的使用量来看, 本研究中的使用量仅为其它脱胶工艺的 50%左右 (表 2)。因此, 综合考虑本研究的酶活力、脱胶效果和柠檬酸的用量, 重组磷脂酶 C (TtPLC) 在玉米胚芽油脱胶工业中具有较大的应用潜力。

表 2 部分磷脂酶法脱胶效率比较

Table 2 Comparison of enzymatic degumming efficiencies of partial phospholipases

来源	酶	水解率/%	含磷量/(mg/Kg)	柠檬酸(w/w)/%	文献
<i>Thielavia terrestris</i>	PLC	94.2	7.9	45	[11]
<i>Bacillus cereus</i>	PLC/PLA1	98	6.84	45	[12]
<i>Bacillus cereus</i>	PLC	97	4.3	50	[15]
<i>Bacillus sp.</i>	PLC	93	7.34	50	[13]
DSM	PLC	—	64.70	45	[26]
<i>T. lanuginosus/F. oxysporum</i>	PLA1	92	9.30	45	[19]
Novozymes	PLC	—	8.20	45	[21]
DSM	PLC	86.5	27.0	45	[23]
Novozymes	PLA	—	<10.00	45	[9]
<i>Thielavia terrestris</i>	PLC	76.6	24.0	20	

3 结论

采用自制的太瑞斯梭孢壳霉磷脂酶 C, 优化了玉米胚芽油酶法脱胶工艺。得到最佳工艺参数为: NaOH 和柠檬酸的体积比为 4、温度为 35 °C、加酶量为 5 000 U/kg 和水解时间 1 h。在最佳条件下, 玉米胚芽油脱胶效果显著, 磷含量由 102.7 mg/kg 降低至 24.0 mg/kg, 水解率为 76.6%。PLC 脱胶不仅安全性高, 水解产物为有机磷酸酯及甘油二酯, 不产生其它副产品, 而且环境友好, 脱胶过程用水量少 (仅需 1%~2%的水分), 可显著减少废水排放量。因此太瑞斯梭孢壳霉磷脂酶 C 在玉米胚芽油酶法脱胶工业中具有潜在的应用价值。

参考文献:

- [1] 杨小倩, 郑慧, 张辉, 等. 玉米不同部位化学成分、药理作用、利用现状研究进展[J]. 吉林中医药, 2019, 39(6): 837-840.
YANG X Q, ZHI H, ZHANG H, et al. Research progress on chemical constituents, pharmacological effects and utilization status of different parts of corn[J]. Jilin Journal of Traditional Chinese Medicine, 2019, 39(6): 837-840.
- [2] THAÍS K D L, MUSSO M, MENEZES D B. Using Raman spectroscopy and an exponential equation approach to detect adulteration of olive oil with rapeseed and corn oil[J]. Food Chemistry, 2020, 333.
- [3] 李灵杰. 共轭亚油酸改善肥胖糖尿病小鼠脂代谢的作用及其分子机制研究[D]. 南方医科大学, 2018.
LI L J. The effect of conjugated linoleic acid on improving lipid metabolism in obese diabetic mice and its molecular mechanism [D]. Southern Medical University, 2018.
- [4] 陈响响, 王进英, 王兴瑞, 等. 胡麻籽油脱胶工艺优化及理化指标分析[J]. 食品与机械: 1-10.
CHEN Y Y, WANG J Y, WANG X R, et al. Process optimization and physical and chemical index analysis of flax seed oil degumming[J]. Food and Machinery: 1-10.
- [5] 王月华, 房涛, 程芳园, 等. 玉米油水化脱胶无皂精炼工艺探讨[J]. 粮食与食品工业, 2016, 23(4): 27-31.
WANG Y H, FANG T, CHENG F Y, et al. Discussion on soap-free refining process of corn oil hydration and degumming[J]. Cereal and Food Industry, 2016, 23(4): 27-31.
- [6] CHIARA A, ANDREA B, PAOLA D A, et al. Valorization of corn seed oil acid degumming waste for phospholipids preparation by phospholipase D-mediated processes[J]. Catalysts, 2020, 10(7).
- [7] LU P W, ZU W L, QIANG Z, et al. Effect of degumming methods on the degradation behavior of silk fibroin biomaterials

- [J]. *Fibers and Polymers*, 2019, 20(1).
- [8] 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 progress of enzymatic degumming in vegetable oil refining[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2015, 31(23): 269-276.
- [9] QU Y F, SUN L X, LI X X, et al. Enzymatic degumming of soybean oil with magnetic immobilized phospholipase A2[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2016, 73.
- [10] 俞乐, 黄健花, 王兴国, 等. 大豆毛油磷脂组成对磷脂酶 A1 深度脱胶的影响[J]. *中国油脂*, 2018, 43(12): 18-21.
 YU L, HUANG J H, WANG X G, et al. Effect of soybean wool oil phospholipid composition on deep degumming of phospholipase A1[J]. *China Oils & Fats*, 2018, 43(12): 18-21.
- [11] XIANG M, WANG L, YAN Q J, et al. High-level expression and characterization of a novel phospholipase C from *Thielavia terrestris* suitable for oil degumming[J]. *International journal of biological macromolecules*, 2020, 156.
- [12] 胡旭东, 蔡永国, 周勇, 等. 磷脂酶 A₁ 和磷脂酶 C 对沙棘果油脱胶的影响[J]. *新疆农业大学学报*, 2019, 42(6): 431-437.
 HU X D, CAI Y G, ZHOU Y, et al. Effects of phospholipase A1 and phospholipase C on degumming of hippohae rhamnoides fruit oil[J]. *Journal of Xinjiang Agricultural University*, 2019, 42(6): 431-437.
- [13] 邹权, 陈圣, 严明. 磷脂酰胆碱特异性和磷脂酰肌醇特异性磷脂酶 C 酶学性质及其在油脂脱胶中的应用[J]. *生物加工过程*, 2019, 17(2): 144-151.
 ZOU Q, CHEN S, YAN M. Enzymatic properties of phosphatidylcholine-specific and phosphatidylinositol-specific phospholipase C and their application in oil degumming[J]. *Bioprocessing*, 2019, 17(2): 144-151.
- [14] YU D Y, YU C, JIANG Y, et al. Magnetic immobilisation of phospholipase C and its hydrolysis of phospholipids in crude soybean oil[J]. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 2019, 11(4).
- [15] 刘露, 田华, 段愿, 等. 磷脂酶 C 的制备及其脱菜籽油胶体的研究[J]. *农业机械*, 2013(11): 42-46.
 LIU L, TIAN H, DUAN Y, et al. Preparation of phospholipase C and research on de-rapeseed oil colloid[J]. *Agricultural Machinery*, 2013(11): 42-46.
- [16] YE Z, QIAO X, LUO Z, et al. Optimization and comparison of water degumming and phospholipase C degumming for rapeseed oil[J]. *CyTA - Journal of Food*, 2016, 14(4).
- [17] JAHANI M, ALIZADEH M, PIROZIFARD M, et al. Optimization of enzymatic degumming process for rice bran oil using response surface methodology[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2007, 41(10).
- [18] 穆文侠. 真菌脂肪酶的液态发酵、固定化及其应用[D]. 安徽农业大学, 2007.
 MU W X. Liquid fermentation, immobilization and application of fungal lipase[D]. *Anhui Agricultural University*, 2007.
- [19] 叶展, 冉玉兵, 胡传荣, 等. 菜籽油磷脂酶 C 脱胶工艺优化及效果分析[J]. *食品与发酵工业*, 2015, 41(11): 87-92.
 YE Z, RAN Y B, HU C R, et al. Process optimization and effect analysis of rapeseed oil phospholipase C degumming[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2015, 41(11): 87-92.
- [20] SEBASTIÁN C, FLORENCIA E, CLAUDIA E E, et al. Development of a highly efficient oil degumming process using a novel phosphatidylinositol-specific phospholipase C enzyme[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, 101(11).
- [21] XIAO F J, MING C, QING Z J, et al. Optimization of the degumming process for camellia oil by the use of phospholipase C in pilot-scale system[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2015, 52(6).
- [22] 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 practice of phospholipase C in soybean oil degumming[J]. *China Oils and Fats*, 2017, 42(11): 152-153.
- [23] SAMPAIO K A, ZYAYKINA N, UITTERHAEGEN E, et al. Enzymatic degumming of corn oil using phospholipase C from a selected strain of *Pichia pastoris*[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2019, 107.
- [24] XIAO F J, MING C, QING Z J, et al. Application of phospholipase A1 and phospholipase C in the degumming process of different kinds of crude oils[J]. *Process Biochemistry*, 2015, 50(3).
- [25] 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. Research on enzymatic degumming of rapeseed oil[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2016, 31(8): 75-79.
- [26] JIANG Y, DU J, TANG H L, et al. Synthesis and application of nanomagnetic immobilized phospholipase C[J]. *Journal of Chemistry*, 2019. 