

# 葵花籽油酶法脱胶工艺优化

王 灵<sup>1</sup>, 胡婷婷<sup>1</sup>, 闫巧娟<sup>2</sup>, 江正强<sup>1</sup>, 杨绍青<sup>1</sup>

(1. 中国农业大学 食品科学与营养工程学院, 北京 100085; 2. 中国农业大学 工学院, 北京 100085)

**摘要:**选取米曲霉磷脂酶 C(PLC)对葵花籽油进行酶法脱胶。采用单因素试验分别研究了混合体系 pH、酶解温度、酶解时间、加酶量和柠檬酸质量分数对葵花籽油酶法脱胶效果的影响。结果表明,葵花籽油酶法脱胶的最佳工艺条件为:混合体系 pH 7.5, 酶解温度 25 °C, 酶解时间 3 h, 加酶量 5 000 U/kg, 柠檬酸质量分数 20% (添加量 0.1%)。在最佳工艺条件下,葵花籽油磷含量从 55.8 mg/kg 降至 8.2 mg/kg, 脱胶率为 85.3%, 达到植物油工业精炼要求(磷含量 ≤ 10 mg/kg)。

**关键词:**磷脂酶 C; 葵花籽油; 酶法脱胶

中图分类号:TS225.1;Q814.9 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2021)08-0012-04

## Optimization of enzymatic degumming of sunflower seed oil

WANG Ling<sup>1</sup>, HU Tingting<sup>1</sup>, YAN Qiaojuan<sup>2</sup>,  
JIANG Zhengqiang<sup>1</sup>, YANG Shaoqing<sup>1</sup>

(1. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100085, China; 2. College of Engineering, China Agricultural University, Beijing 100085, China)

**Abstract:** The sunflower seed oil was degummed using phospholipase C from *Aspergillus oryzae*. The effects of mixed system pH, enzymolysis temperature, enzymolysis time, enzyme dosage and mass fraction of citric acid on degumming effect of sunflower seed oil were studied by single factor experiment. The results showed that the optimal parameters were obtained as follows: mixed system pH 7.5, enzymolysis temperature 25 °C, enzymolysis time 3 h, enzyme dosage 5 000 U/kg, mass fraction of citric acid 20% (dosage 0.1%). Under the optimal conditions, the phospholipid content of degummed oil was reduced by 85.3% (from 55.8 mg/kg to 8.2 mg/kg), which could satisfy the requirements for industrial oil refining (phospholipid content ≤ 10 mg/kg).

**Key words:** phospholipase C; sunflower seed oil; enzymatic degumming

葵花籽油不饱和脂肪酸含量大于 95%, 而且还富含维生素 E、胡萝卜素等营养物质<sup>[1]</sup>。与其他植物油相比,葵花籽油的亚油酸含量较高,亚油酸对高血压、肥胖、脑栓塞、心肌梗死和肾病等疾病具有较好的预防作用<sup>[2]</sup>。然而葵花籽原油中含有磷脂、色素及铁、铜、镁等物质,影响了其品质,因此需要对其进行脱胶、碱炼、脱色、脱臭等精炼后才能食用<sup>[3]</sup>。脱胶效果的好坏对碱炼、脱色、脱臭工序会产生很大影响,因此脱胶工艺在葵花籽油精炼中尤为

重要<sup>[4]</sup>。

近年来,酶法脱胶因产油率高、成本低、对环境污染小而成为一种很有潜力的油脂脱胶方法<sup>[3]</sup>。与传统脱胶方法相比,酶法脱胶不仅能够减少酸、碱的用量和废水的排放,而且还能够高效降解其中的非水化磷脂<sup>[1,3]</sup>。磷脂酶是油脂酶法脱胶工艺中的主要用酶,目前磷脂酶 A、B 和 C 已被广泛用于植物油脱胶<sup>[5]</sup>。磷脂酶 A(PLA)和磷脂酶 B(PLB)主要水解磷脂的 sn-1 和 sn-2 酯键,产物为游离脂肪酸<sup>[6]</sup>,而磷脂酶 C(PLC)主要水解磷脂酰基甘油 C3 位上的磷酸酯键,释放出 1,2-二酰基甘油(DAG)<sup>[7]</sup>。与 PLA 和 PLB 相比,PLC 不仅不会产生副产物游离脂肪酸,而且其催化反应还能够产生更多的 DAG,

收稿日期:2020-11-20;修回日期:2021-05-25

作者简介:王 灵(1990),女,在读博士,研究方向为食品科学(E-mail)Lyingwl@cau.edu.cn。

通信作者:杨绍青,教授(E-mail)ysq@cau.edu.cn。

进一步提高油脂的产量<sup>[3,8]</sup>。目前,已有将 PLC 应用于油脂脱胶的相关报道,如:杨娇等<sup>[9]</sup>使用 PLC 处理大豆原油,大豆原油磷含量由 169 mg/kg 降低至 17.8 mg/kg;油脂的 PLC 酶法脱胶工艺也应用到工业化生产中,有公司利用商业 PLC(DSM 公司)对大豆原油进行酶法脱胶,脱胶后平均磷含量为 105 mg/kg<sup>[10]</sup>,中纺粮油有限公司利用商业 PLC(DSM 公司)对大豆原油进行酶法脱胶,平均磷含量降至 171.89 mg/kg<sup>[11]</sup>。

目前,葵花籽油的脱胶方法主要是物理和化学方法,而酶法脱胶未见报道。本研究室前期从食品安全菌株米曲霉中克隆表达得到一种新型 PLC<sup>[12]</sup>,本研究拟进一步将其应用于葵花籽原油的脱胶工艺中,采用单因素试验优化葵花籽油酶法脱胶工艺,以期在保证葵花籽油的酸值不显著升高的前提下,大幅降低其中的磷含量,为后续葵花籽原油酶法脱胶的工业化应用提供一定的理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 原料与试剂

葵花籽原油(磷含量 55.8 mg/kg),由东海粮油有限公司(张家港)提供。PLC,来源于米曲霉,由本实验室发酵制备,酶活力为 20 000 U/mL<sup>[12]</sup>。其他试剂均为分析纯。

#### 1.1.2 仪器与设备

TDWYL-12 封闭电炉,北京悠帆仪器公司;高速台式离心机,德国 Siemens 公司;16-12TP 慧泰智能马弗炉,北京君乐博有限公司;S21-2 水浴恒温振荡器,杭州米欧仪器公司;磁力搅拌器,上海司乐有限公司;TU 1901 紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器公司。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 葵花籽油的酶法脱胶

葵花籽原油的酶法脱胶参照 Jiang 等<sup>[3]</sup>的方法,并适当修改。具体操作:300 g 葵花籽原油中加入 0.3 mL 一定质量分数的柠檬酸,在 70℃、200 r/min 条件下处理 20 min;冷却后加入不同体积的 NaOH 溶液(1 mol/L)调节反应混合体系的 pH;加入适量的 PLC 和 3 mL 蒸馏水,于一定温度、200 r/min 条件下处理不同时间后,将上述葵花籽油混合物置于 95℃ 下处理 10 min 灭酶,将灭酶的葵花籽油混合物于 10 000 r/min 离心 10 min,收集上层溶液,即为脱胶葵花籽油。

#### 1.2.2 磷含量测定

按照 GB/T 5537—2008 钼蓝比色法测定脱胶葵

花籽油的磷含量。进行 3 次平行测定,结果以“平均值 ± 标准偏差”表示。

## 2 结果与讨论

### 2.1 混合体系 pH 对葵花籽油酶法脱胶的影响

在加酶量 5 000 U/kg、酶解温度 25℃、酶解时间 4 h、柠檬酸质量分数 45% 的条件下,通过添加不同体积的 NaOH 溶液来调节反应混合体系 pH,考察混合体系 pH(pH 5.0、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5)对葵花籽油磷含量的影响,结果如图 1 所示。

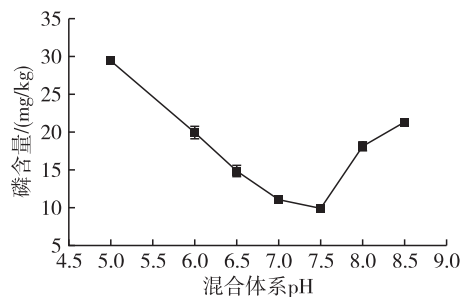


图 1 混合体系 pH 对葵花籽油磷含量的影响

由图 1 可知,随着混合体系 pH 的升高,磷含量呈现先降低后升高的趋势。当混合体系 pH 为 7.5 时磷含量达到最低值,为 9.96 mg/kg。酶促反应速度受到 pH 的显著影响,只有在最适 pH 条件下酶促反应才能达到最高速率<sup>[3]</sup>。不同来源的磷脂酶在不同条件下发挥出最佳脱胶效果,如:Liu 等<sup>[5]</sup>报道 PLA<sub>2</sub> 在混合体系 pH 4.5 条件下,脱胶油中磷含量为 20.74 mg/kg;Jiang 等<sup>[3]</sup>报道 PLA<sub>1</sub> 和 PLC 复合酶在混合体系 pH 5.5 时催化效果最好,脱胶油中磷含量为 2.5 mg/kg。本研究混合体系 pH 7.5 时,酶解效率最高,且在该条件下脱胶后的葵花籽油磷含量能够满足植物油工业精炼工艺要求(磷含量 ≤ 10 mg/kg)<sup>[3]</sup>。因此,最适混合体系 pH 为 7.5。

### 2.2 酶解温度对葵花籽油脱胶的影响

在加酶量 5 000 U/kg、混合体系 pH 7.5、柠檬酸质量分数 45%、酶解时间 4 h 条件下,考察酶解温度(15、20、25、30、35、40、45℃)对葵花籽油磷含量的影响,结果如图 2 所示。

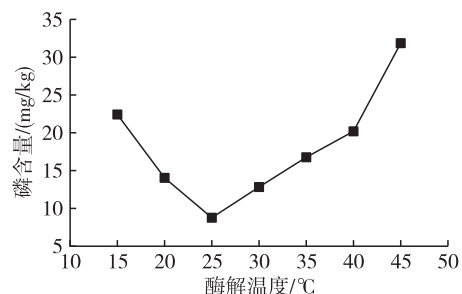


图 2 酶解温度对葵花籽油磷含量的影响

由图 2 可知,随着酶解温度的升高,磷含量呈现

先降低后升高的趋势。当酶解温度为 25 ℃ 时,磷含量降低到最低值,为 8.78 mg/kg。目前文献报道的油脂 PLC 脱胶酶解温度大多在 37 ~ 55 ℃<sup>[4,8]</sup>。Jiang 等<sup>[3]</sup>报道来源于蜡样芽孢杆菌 PLC 的最适脱胶温度为 40 ℃。来源于假单胞菌 PLC 的最适脱胶温度为 37 ℃<sup>[8]</sup>。Xiang 等<sup>[13]</sup>报道来源于太瑞斯梭孢壳霉的 PLC 酶法脱胶最适温度为 55 ℃。与其他研究结果相比,本研究所使用的 PLC 为低温酶,其最适温度仅为 25 ℃,这也是目前已有文献报道的最低值<sup>[12]</sup>。在酶法处理油脂过程中,酶反应前需要一个降温过程,从节约能源的角度,本研究选用 25 ℃ 酶解温度有利于节约能源<sup>[8]</sup>。本研究中采用的低温 PLC 在葵花籽油脱胶行业具有一些独特的优势。因此,确定最佳酶解温度为 25 ℃。

### 2.3 酶解时间对葵花籽油脱胶的影响

在加酶量 5 000 U/kg、混合体系 pH 7.5、柠檬酸质量分数 45%、酶解温度 25 ℃ 条件下,考察酶解时间(0、0.5、1、2、3、4 h)对葵花籽油磷含量的影响,结果如图 3 所示。

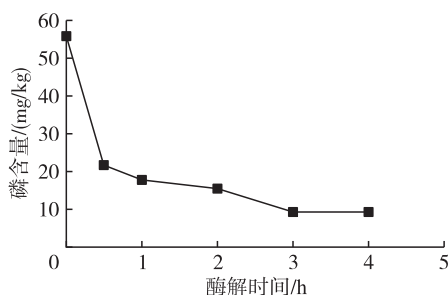


图3 酶解时间对葵花籽油磷含量的影响

由图 3 可知,随着酶解时间的延长,磷含量逐渐下降。磷含量在酶解 1 h 内下降最为显著,酶解 3 h 磷含量达到最低,之后至 4 h 磷含量下降趋于平缓。酶解时间对 PLC 脱胶效果影响较大。磷脂在脱胶过程中会发生凝聚,酶解时间过短,磷脂凝聚不完全,脱胶率较低,随着酶解时间的延长,脱胶效果提高。随着酶解时间继续延长,油脂产生乳化现象,磷脂不易分离,导致脱胶效果降低<sup>[8]</sup>。此外,加酶之前的柠檬酸处理可能会改变部分磷脂的结构,使非水化磷脂转化成水化磷脂,从而能够被快速脱除,进而缩短酶解时间<sup>[8,14]</sup>。因此,本研究在酶与柠檬酸协同作用下,有利于缩短酶解时间,保证酶的稳定性和活性。综合考虑,确定最佳酶解时间为 3 h。

### 2.4 加酶量对葵花籽油脱胶的影响

不加柠檬酸预处理,在酶解温度 25 ℃、酶解时间 3 h、混合体系 pH 7.5 的条件下,考察加酶量(1 000、2 000、3 000、5 000、6 000、7 000 U/kg)对葵

花籽油磷含量的影响,结果如图 4 所示。

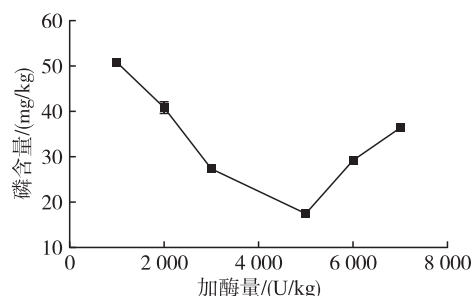


图4 加酶量对葵花籽油磷含量的影响

由图 4 可知,随着加酶量的升高,磷含量呈现先降低后升高的趋势。当加酶量为 5 000 U/kg 时,磷含量(17.50 mg/kg)达到最低值。因此,确定 PLC 脱胶的最适加酶量为 5 000 U/kg。

### 2.5 柠檬酸质量分数对葵花籽油脱胶的影响

在混合体系 pH 7.5、酶解温度 25 ℃、酶解时间 3 h、加酶量 5 000 U/kg 条件下,考察柠檬酸质量分数(10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%)对葵花籽油磷含量的影响,结果如图 5 所示。

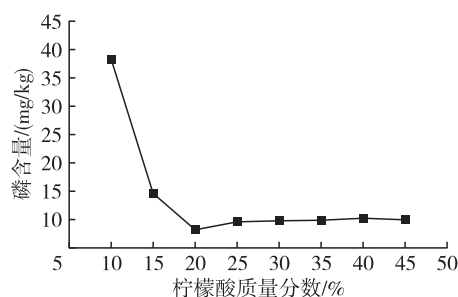


图5 柠檬酸质量分数对葵花籽油磷含量的影响

由图 5 可知,随着柠檬酸质量分数的升高,磷含量呈现先降低后趋于平缓的趋势。当柠檬酸质量分数为 20% 时,磷含量达到最低值,为 8.2 mg/kg,脱胶率达 85.3%,达到工业上油脂精炼的要求。添加柠檬酸是油脂脱胶的重要一步,其在油脂混合体系中可以螯合金属离子,减少金属离子对酶的抑制,有利于酶的催化作用<sup>[3]</sup>。在油脂脱胶过程中,随着反应体系中电解质增多,磷脂发生凝聚,而此时柠檬酸起主导作用,但是柠檬酸只能脱除少量磷脂。当添加的柠檬酸质量分数大于 20% 后,PLC 逐渐起主导作用,使大量磷脂分离<sup>[15]</sup>。目前文献报道最佳柠檬酸质量分数大多在 45% ~ 50%<sup>[12]</sup>。与其他研究比较,本研究的最佳柠檬酸质量分数降低了约 60%,这不仅降低了成本,而且还可以降低因加酸带来的环境问题<sup>[8]</sup>。葵花籽原油成分复杂,其中的磷脂由磷脂酰胆碱(PC)、磷脂酰乙醇胺(PE)和磷脂酰甘油(PG)等组成<sup>[8,13]</sup>,本研究使用的 PLC 可以降低混合体系中添加的柠檬酸质量分数,且低于大多

数文献报道的柠檬酸质量分数。这可能是与大部分文献报道的底物特异性较为单一的 PLC 相比<sup>[15]</sup>,本研究使用的 PLC 底物特异性较为广泛,水解能力较好<sup>[8,12]</sup>。因此,确定最佳柠檬酸质量分数为 20%。


### 3 结论

通过单因素试验优化了葵花籽油的 PLC 酶法脱胶的反应条件,得到最佳工艺条件为混合体系 pH 7.5、反应温度 25℃、酶解时间 3 h、加酶量 5 000 U/kg、柠檬酸质量分数 20% (添加量 0.1%)。在最佳脱胶条件下,葵花籽油磷含量从 55.8 mg/kg 降至 8.2 mg/kg,葵花籽油脱胶率为 85.3%,达到工业上油脂精炼的要求(磷含量 ≤ 10 mg/kg)。本研究表明米曲霉 PLC 对葵花籽油的脱胶效果良好,有望用于葵花籽油的工业化精炼。

### 参考文献:

- [1] PAL U S, PATRA R K, SAHOO N R, et al. Effect of refining on quality and composition of sunflower oil [J]. J Food Sci Technol, 2015, 52(7): 4613 - 4618.
- [2] SAMPAIO K A, ZYAKINA N, UITTERHAEGEN E, et al. Enzymatic degumming of corn oil using phospholipase C from a selected strain of *Pichia pastoris* [J]. LWT - Sci Food Technol, 2019, 107: 145 - 150.
- [3] JIANG X F, CHANG M, JIN Q Z, et al. Application of phospholipase A<sub>1</sub> and phospholipase C in the degumming process of different kinds of crude oils [J]. Process Biochem, 2015, 50(3): 432 - 437.
- [4] CERMINATI S, EBERHARDT F, ELENA C E, et al. Development of a highly efficient oil degumming process using a novel phosphatidylinositol-specific phospholipase C enzyme [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2017, 101(11): 4471 - 4479.
- [5] LIU A, YU X W, SHA C, et al. *Streptomyces violaceoruber* phospholipase A<sub>2</sub>: expression in *Pichia pastoris*, properties, and application in oil degumming [J]. Appl Biochem Biotechnol, 2015, 175(6): 3195 - 3206.
- [6] HUANG S, LIANG M L, XU Y H, et al. Characteristics and vegetable oils degumming of recombinant phospholipase B [J]. Chem Eng J, 2014, 237: 23 - 28.
- [7] JIANG X F, CHANG M, JIN Q Z, et al. Optimization of the degumming process for camellia oil by the use of phospholipase C in pilot - scale system [J]. J Food Sci Technol Mysore, 2015, 52(6): 3634 - 3644.
- [8] BORRELLI G M, TRONO D. Recombinant lipases and phospholipases and their use as biocatalysts for industrial applications [J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(9): 20774 - 20840.
- [9] 杨娇, 金青哲, 王兴国. 磷脂酶 C 用于大豆油脱胶的工艺优化[J]. 中国油脂, 2012, 37(12): 14 - 17.
- [10] 杨亚济. 大豆油酶法脱胶应用实践[J]. 中国油脂, 2016, 41(8): 107 - 109.
- [11] 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.
- [12] WANG L, HU T, YANG S Q, et al. Efficient production of a novel alkaline cold - active phospholipase C from *Aspergillus oryzae* by molecular chaperon co - expression for crude oil degumming [J/OL]. Food Chem, 2021, 350(6): 129212 [2020 - 11 - 20]. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129212>.
- [13] XIANG M, WANG L, YAN Q, et al. High - level expression and characterization of a novel phospholipase C from *Thielavia terrestris* suitable for oil degumming [J]. Int J Biol Macromol, 2020, 156: 740 - 748.
- [14] SUN X, ZHANG L, TIAN S, et al. Phospholipid composition and emulsifying properties of rice bran lecithin from enzymatic degumming [J/OL]. LWT - Sci Food Technol, 2020, 117: 108588 [2020 - 11 - 20]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108588>.
- [15] 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.

· 公益广告 ·



## 油脂加工精准适度

《中国油脂》宣