

# 脂肪酶 *Rhizopus chinensis* 催化水解大豆粉末磷脂制备 $L-\alpha$ -甘油磷脂酰乙醇胺

李红<sup>1</sup>, 李子怡<sup>1</sup>, 张丽霞<sup>2</sup>, 张康逸<sup>2</sup>, 申瑞玲<sup>1</sup>, 魏涛<sup>1</sup>

(1. 郑州轻工业大学食品与生物工程学院, 郑州 450000; 2. 河南省农业科学院农副产品加工研究中心, 郑州 450002)

**摘要:**为考察脂肪酶 *Rhizopus chinensis* 催化水解大豆粉末磷脂制备  $L-\alpha$ -甘油磷脂酰乙醇胺 ( $L-\alpha$ -GPE) 的可行性, 采用脂肪酶 *Rhizopus chinensis* 催化水解大豆粉末磷脂制备  $L-\alpha$ -GPE, 通过单因素实验考察了 pH、大豆粉末磷脂质量浓度、反应温度、 $\text{CaCl}_2$  质量浓度、酶浓度对  $L-\alpha$ -GPE 得率的影响, 并对纯化产品进行了红外光谱和超高效液相色谱电喷雾四极杆飞行时间质谱 (UPLC-Q-TOF-MS) 结构验证。结果表明: 在 pH 7, 大豆粉末磷脂质量浓度 5 mg/mL, 大豆粉末磷脂磷酸盐缓冲溶液中添加终质量浓度为 2 mg/mL 的  $\text{CaCl}_2$ 、终浓度为 30 U/mL 的脂肪酶 *Rhizopus chinensis*, 于 45 °C 下反应 15 h 后,  $L-\alpha$ -GPE 得率为 93.8%。产品经分离纯化后得到纯度为 99.2% 的浅黄色黏稠液体, 经结构验证确为  $L-\alpha$ -GPE。

**关键词:** 脂肪酶 *Rhizopus chinensis*; 大豆粉末磷脂;  $L-\alpha$ -甘油磷脂酰乙醇胺

中图分类号: TS229; TQ464

文献标识码: A

文章编号: 1003-7969(2022)07-0071-05

## Preparation of $L-\alpha$ -glycerylphosphorylethanolamine by hydrolysis of soybean phospholipids powder catalyzed with *Rhizopus chinensis*

LI Hong<sup>1</sup>, LI Ziyi<sup>1</sup>, ZHANG Lixia<sup>2</sup>, ZHANG Kangyi<sup>2</sup>, SHEN Ruiling<sup>1</sup>, WEI Tao<sup>1</sup>

(1. College of Food and Biological Engineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450000, China; 2. Research Center of Agricultural Products Processing, Henan Academy of Agriculture Sciences, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** To investigate the feasibility of  $L-\alpha$ -glycerylphosphorylethanolamine ( $L-\alpha$ -GPE) preparation from hydrolysis of soybean phospholipids powder with *Rhizopus chinensis* as catalyst,  $L-\alpha$ -GPE was prepared by *Rhizopus chinensis*-catalyzed hydrolysis of soybean phospholipids powder. The effects of pH, soybean phospholipid powder mass concentration, reaction temperature,  $\text{CaCl}_2$  mass concentration and enzyme concentration on the yield of  $L-\alpha$ -GPE were investigated by single-factor experiment, and the structure of the purified products were verified by infrared spectroscopy and UPLC-Q-TOF-MS. The results showed that the yield of  $L-\alpha$ -GPE was 93.8% under the conditions of addition of final mass concentration of  $\text{CaCl}_2$  2 mg/mL and final concentration of *Rhizopus chinensis* 30 U/mL in soybean phospholipids powder mass concentration 5 mg/mL, phosphate buffer solution pH 7, reaction time 15 h, and reaction temperature 45 °C. After purification, a light yellow viscous liquid product with a purity of 99.2% was obtained, which was verified as  $L-\alpha$ -GPE by structural verification.

**Key words:** *Rhizopus chinensis*; soybean phospholipids powder;  $L-\alpha$ -glycerylphosphorylethanolamine

收稿日期: 2022-01-19; 修回日期: 2022-04-13

基金项目: 2021年河南省科技攻关项目(212102110319); 中原科技创新领军人才项目(224200510017)

作者简介: 李红(1978), 女, 副教授, 硕士生导师, 博士, 研究方向为脂质提取、分析、修饰及应用(E-mail) hnzlzhong@163.com。

通信作者: 张康逸, 研究员, 博士(E-mail) kangyiz@163.com。

$L-\alpha$ -甘油磷脂酰乙醇胺 ( $L-\alpha$ -GPE) 是生物膜主要组分脑磷脂 (PE)、磷脂酰胆碱等的前体物质<sup>[1-2]</sup>, 主要存在于猪、兔、牛等动物的肝、脾、肾和

脑中<sup>[3-4]</sup>,在磷脂的生物合成和乙醇胺的释放中起重要作用。已有研究证明, $L-\alpha$ -GPE 对治疗老年性脑病变、退化性和脑瓣膜功能不全等病症(如精神活动减慢、记忆力减退、情绪低落等)具有一定疗效<sup>[5-7]</sup>,这促使人们探索其作为医药和食品添加剂的可行性。

目前, $L-\alpha$ -GPE 主要通过从生物组织器官中提取<sup>[8]</sup>、水解缩醛磷脂<sup>[9]</sup>、化学合成<sup>[10]</sup>和醇解蛋黄磷脂或大豆粉末磷脂<sup>[11]</sup>等方法制备。然而,使用这些方法制得的 $L-\alpha$ -GPE 在产品纯度、比旋光度和环境污染等方面都存在一定问题。如:从生物组织器官中提取受原料的限制,难以工业化生产;缩醛磷脂在水解过程中由于使用一定配比的醋酸、盐酸和氯化汞作为酸性催化剂会引起设备腐蚀和重金属污染问题<sup>[9]</sup>;醇解蛋黄磷脂或大豆粉末磷脂的 $L-\alpha$ -GPE 得率、纯度相对较低。脂肪酶催化水解磷脂制备 $L-\alpha$ -GPE 具有催化效率高、反应条件温和、设备要求不高、生产成本低等优势,备受关注。本课题组曾以脂肪酶 Thermo 4S-3 为催化剂,研究了水相体系中水解大豆粉末磷脂制备 $L-\alpha$ -GPE,得率达 93.6%<sup>[12]</sup>。脂肪酶 *Rhizopus chinensis* (三酰甘油酰水酶, E. C. 3. 1. 1. 3) 作为催化剂,在结构脂的制备中得到广泛应用<sup>[13]</sup>。然而,脂肪酶 *Rhizopus chinensis* 水解大豆粉末磷脂制备 $L-\alpha$ -GPE 的研究未见报道。基于此,本文采用脂肪酶 *Rhizopus chinensis* 催化水解大豆粉末磷脂制备 $L-\alpha$ -GPE,通过单因素实验优化了脂肪酶 *Rhizopus chinensis* 催化制备 $L-\alpha$ -GPE 的工艺条件,并对其分离纯化和结构鉴定,以期工业制备 $L-\alpha$ -GPE 提供一种新的方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 原料与试剂

大豆粉末磷脂(食品级,磷脂含量 96%,主要成分为 15% 磷脂酰胆碱、20% 磷脂酰乙醇胺、20% 磷脂酰肌醇、5% 磷脂酸),天津博帅工业贸易有限公司;PE 和 $L-\alpha$ -GPE 标准品、色谱级氯仿和甲醇, Sigma 公司;脂肪酶 *Rhizopus chinensis* (酶活力 9 000 U/g),江南大学生物工程实验室赠送;离子交换树脂,苏青集团;柱层析用硅胶〔0.075 ~ 0.150 mm(100 ~ 200 目),含水量 3%〕,青岛海阳化工有限公司;其他试剂均为分析纯。

#### 1.1.2 仪器与设备

RE-52 旋转蒸发仪, JJ-1B 强力恒速电力搅拌器, HH-4 数显恒温水浴锅, AR2140 电子精密天平, Waters 1525 HPLC, Waters 2424 ELSD 检测器, 470 Nicolet ATR-FTIR 傅里叶变换衰减全反射红外光谱

仪, Waters Synapt Q-TOF 超高效液相色谱电喷雾四极杆飞行时间质谱(UPLC-Q-TOF-MS)仪。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 脂肪酶 *Rhizopus chinensis* 催化水解大豆粉末磷脂制备 $L-\alpha$ -GPE

称取一定量大豆粉末磷脂于 50 mL 三颈圆底烧瓶,加入 10 mL 一定 pH 的磷酸盐缓冲溶液,在一定温度、450 r/min 转速下磁力搅拌 20 min 制成大豆粉末磷脂溶液,再添加一定量的无水  $\text{CaCl}_2$  和脂肪酶 *Rhizopus chinensis* 进行水解反应 15 h。反应完成后,水解液于 80 °C 下真空浓缩后得到浓缩液。将浓缩液溶于相同体积氯仿-甲醇(体积比 2:1)溶液中,10 000 r/min 离心 5 min,取上清液测定 $L-\alpha$ -GPE 纯度,并参照文献[12]计算 $L-\alpha$ -GPE 得率。

#### 1.2.2 $L-\alpha$ -GPE 纯度的测定

采用 HPLC-ELSD 测定 $L-\alpha$ -GPE 的纯度。HPLC-ELSD 条件: Lichrospher Si column 硅胶柱(25 cm × 0.46 cm, 5 μm),柱温 35 °C;进样量 5 μL;流速 0.97 mL/min;采用二元梯度洗脱,流动相 A 为甲醇,流动相 B 为甲醇-水(体积比 8:1);梯度洗脱程序为 0 ~ 10 min 40% B 增加到 60% B, 10 ~ 15 min 60% B, 15 ~ 18 min 60% B 降低到 40% B。

#### 1.2.3 结构鉴定

##### 1.2.3.1 红外光谱分析

参照文献[14]方法对按 1.2.1 方法得到的浓缩液进行分离纯化后,采用傅里叶变换红外光谱进行结构分析。

傅里叶变换红外光谱分析条件:样品经 KBr 压片,波数范围 250 ~ 4 000  $\text{cm}^{-1}$ 。

##### 1.2.3.2 UPLC-Q-TOF-MS 分析

将 1.2.3.1 得到的纯化的 $L-\alpha$ -GPE 用色谱纯甲醇溶解后进行 UPLC-Q-TOF-MS 分析。

UPLC 条件: ACQUITY UPLC BEH HILIC 分析柱(2.1 mm × 100 mm, 填料粒径 1.7 μm),柱温 35 °C;流动相 A 为 100% 乙腈,流动相 B 为 20 mmol/L 醋酸氨,流速 0.3 mL/min,等度洗脱。

MS 条件: Waters Synapt Q-TOF 系统,电喷雾离子源(ESI),正离子扫描模式,离子源温度 120 °C,毛细管电压 3 000 V,锥孔电压 30 V,锥孔气流量 50 L/h,雾化器温度 420 °C,雾化气流量 500 L/h,质量扫描范围( $m/z$ ) 50 ~ 1 000。

## 2 结果与讨论

### 2.1 单因素实验

#### 2.1.1 pH 对 $L-\alpha$ -GPE 得率的影响

酶的稳定性是决定反应得率的重要因素,而 pH 显

著影响酶的稳定性,因此不同 pH 会对酶催化水解反应产生较大影响。在大豆粉末磷脂质量浓度 10 mg/mL、反应温度 55 °C、CaCl<sub>2</sub> 质量浓度 3.33 mg/mL(在体系中的终质量浓度,下同)和 *Rhizopus chinensis* 浓度 63.3 U/mL(在体系中的终浓度,下同)条件下,反应 15 h,测定不同 pH 下 *L*- $\alpha$ -GPE 得率,结果见图 1。

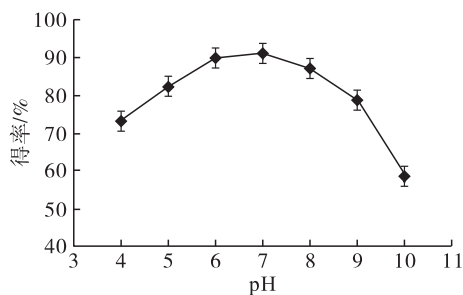


图 1 pH 对 *L*- $\alpha$ -GPE 得率的影响

由图 1 可看出:随着 pH 的升高,*L*- $\alpha$ -GPE 得率逐渐升高;在 pH 为 7 时,*L*- $\alpha$ -GPE 得率最高,这可能与脂肪酶 *Rhizopus chinensis* 在此 pH 下活性最高,其活性部位易与 PE 结合<sup>[15]</sup>,易于 *L*- $\alpha$ -GPE 的生成有关;继续升高 pH,*L*- $\alpha$ -GPE 得率降低。因此,选择最适 pH 为 7。

2.1.2 大豆粉末磷脂质量浓度对 *L*- $\alpha$ -GPE 得率的影响

在 pH 为 7,大豆粉末磷脂质量浓度分别为 2.5、3.75、5、7.5、10、15、30 mg/mL,反应温度为 55 °C, CaCl<sub>2</sub> 质量浓度为 3.33 mg/mL 和 *Rhizopus chinensis* 浓度为 63.3 U/mL 条件下,反应 15 h,测定不同大豆粉末磷脂质量浓度下 *L*- $\alpha$ -GPE 得率,结果见图 2。

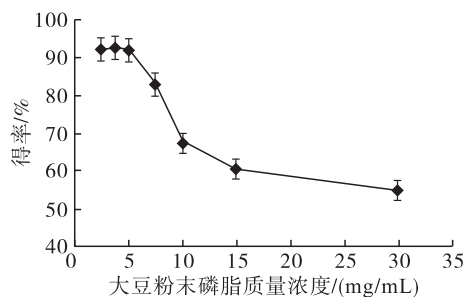


图 2 大豆粉末磷脂质量浓度对 *L*- $\alpha$ -GPE 得率的影响

由图 2 可看出,在大豆粉末磷脂质量浓度低于 5 mg/mL 时,*L*- $\alpha$ -GPE 得率较高,在大豆粉末磷脂质量浓度高于 5 mg/mL 时,*L*- $\alpha$ -GPE 得率随大豆粉末磷脂质量浓度增大显著降低。磷脂结构中的亲水基团和疏水基团使其在水中的溶解度很低,只能以胶束形式存在;浓度较低时,磷脂以单分子或小聚集体的形式分散于缓冲溶液中,磷脂液滴的界面

面积较大,易与酶结合而被水解;然而,当磷脂浓度超过临界胶束浓度时,磷脂分子逐渐聚集,界面面积减小,磷脂的水解速率降低<sup>[16]</sup>。图 2 显示大豆粉末磷脂质量浓度超过 5 mg/mL 时,*L*- $\alpha$ -GPE 得率出现明显转折,推测该浓度可能接近磷脂的临界浓度,因此选择大豆粉末磷脂质量浓度为 5 mg/mL。

2.1.3 反应温度对 *L*- $\alpha$ -GPE 得率的影响

在 pH 为 7、大豆粉末磷脂质量浓度为 5 mg/mL、CaCl<sub>2</sub> 质量浓度为 3.33 mg/mL 和 *Rhizopus chinensis* 浓度为 63.3 U/mL 条件下,反应 15 h,测定不同反应温度下 *L*- $\alpha$ -GPE 得率,结果见图 3。

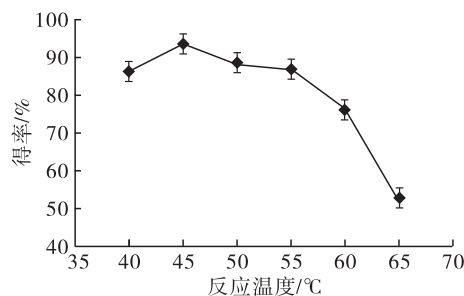


图 3 反应温度对 *L*- $\alpha$ -GPE 得率的影响

由图 3 可知,随着反应温度的升高,*L*- $\alpha$ -GPE 得率增加,45 °C 时 *L*- $\alpha$ -GPE 得率达到最大值,继续升高反应温度,*L*- $\alpha$ -GPE 得率反而下降,这可能与温度升高会引起酶构象和稳定性发生变化有关<sup>[17]</sup>。因此,选择最适反应温度为 45 °C。

2.1.4 CaCl<sub>2</sub> 质量浓度对 *L*- $\alpha$ -GPE 得率的影响

在 pH 为 7、大豆粉末磷脂质量浓度为 5 mg/mL、反应温度为 45 °C、*Rhizopus chinensis* 浓度为 63.3 U/mL 条件下,反应 15 h,测定不同 CaCl<sub>2</sub> 质量浓度(0.33、0.67、2.00、3.33、5.33、6.67 mg/mL)下 *L*- $\alpha$ -GPE 得率,结果见图 4。

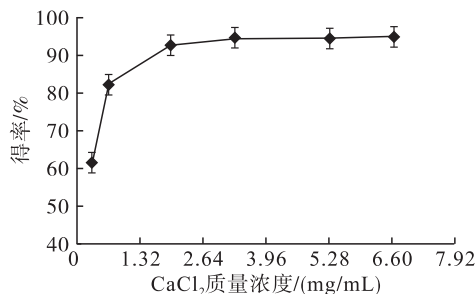


图 4 CaCl<sub>2</sub> 质量浓度对 *L*- $\alpha$ -GPE 得率的影响

脂肪酶 *Rhizopus chinensis* 的活性部位通常被包裹在螺旋结构内部, Ca<sup>2+</sup> 能与酶发生配位作用,使酶的 C 端螺旋结构伸展<sup>[18]</sup>,从而可以提高脂肪酶 *Rhizopus chinensis* 的催化活性,因此 CaCl<sub>2</sub> 浓度会对 *L*- $\alpha$ -GPE 得率产生一定的影响。

由图4可看出,  $\text{CaCl}_2$ 质量浓度由0.33 mg/mL增大到2 mg/mL时,  $L-\alpha$ -GPE得率显著增加, 继续增加  $\text{CaCl}_2$ 的质量浓度,  $L-\alpha$ -GPE得率趋于平稳, 可能因为  $\text{CaCl}_2$ 质量浓度为2 mg/mL时即与酶完全配位, 因此选择  $\text{CaCl}_2$ 质量浓度为2 mg/mL。

### 2.1.5 酶浓度对 $L-\alpha$ -GPE 得率的影响

在pH为7、大豆粉末磷脂质量浓度为5 mg/mL、反应温度为45℃、 $\text{CaCl}_2$ 质量浓度为2 mg/mL条件下, 反应15 h, 测定不同 *Rhizopus chinensis* 浓度下  $L-\alpha$ -GPE得率, 结果见图5。

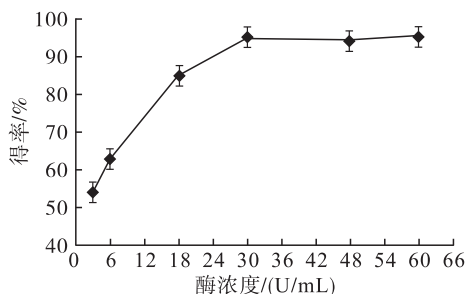


图5 酶浓度对  $L-\alpha$ -GPE 得率的影响

由图5可看出, 脂肪酶 *Rhizopus chinensis* 在0~30 U/mL浓度范围内,  $L-\alpha$ -GPE得率增加, 继续增加酶浓度,  $L-\alpha$ -GPE得率基本保持不变。酶浓度升高, 酶的活性中心增加, 底物与活性中心结合的概率增大, 酶反应速度越快; 但酶的活性中心相对于底物接近饱和时, 继续增加酶浓度, 产物得率基本不变。因此, 选择最适酶浓度为30 U/mL。

### 2.1.6 最优条件验证

根据单因素实验结果确定了脂肪酶 *Rhizopus chinensis* 催化水解大豆粉末磷脂制备  $L-\alpha$ -GPE的最佳工艺条件为pH 7、大豆粉末磷脂质量浓度5 mg/mL、反应温度45℃、 $\text{CaCl}_2$ 质量浓度2 mg/mL、酶浓度30 U/mL, 在此条件进行3次验证实验,  $L-\alpha$ -GPE得率分别为94.5%、93.3%和93.7%, 平均为93.8%。与脂肪酶 *Thermo 4S-3* 催化水解大豆粉末磷脂相比<sup>[12]</sup>, 脂肪酶 *Rhizopus chinensis* 需要反应更长时间(反应15 h)才能达到与 *Thermo 4S-3* (反应6 h)相当的  $L-\alpha$ -GPE得率, 说明在大豆粉末磷脂水解反应中, 脂肪酶 *Rhizopus chinensis* 催化活性不如 *Thermo 4S-3* 高。

### 2.2 $L-\alpha$ -GPE 的纯度

经分离纯化后的  $L-\alpha$ -GPE 为浅黄色黏稠状液体, 经HPLC-ELSD分析, 其纯度为99.2%。

### 2.3 $L-\alpha$ -GPE 的结构表征

脂肪酶 *Rhizopus chinensis* 催化制备的  $L-\alpha$ -GPE 的红外光谱及质谱图分别见图6、图7。

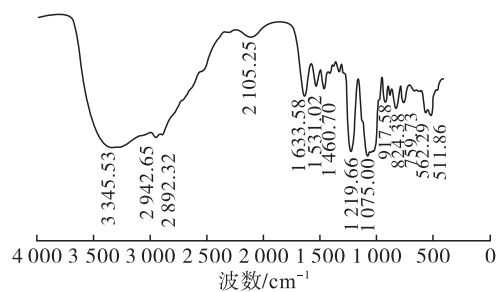


图6  $L-\alpha$ -GPE 的红外光谱图

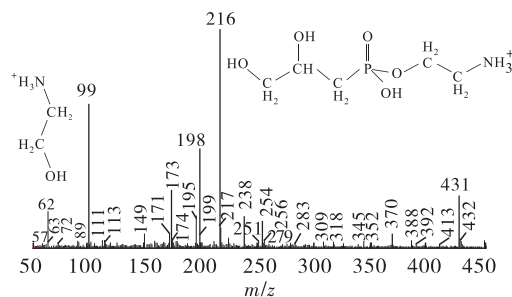


图7  $L-\alpha$ -GPE 的质谱图

由图6可看出,  $3345.53\text{ cm}^{-1}$ 是—OH振动峰,  $2942.65\text{ cm}^{-1}$ 是C—H非对称伸缩振动峰,  $2892.32\text{ cm}^{-1}$ 是C—H对称伸缩振动峰,  $1633.58\text{ cm}^{-1}$ 是 $\text{NH}_3^+$ 非对称剪式振动峰,  $1531.02\text{ cm}^{-1}$ 和 $1460.70\text{ cm}^{-1}$ 是 $\text{NH}_3^+$ 对称剪式振动峰,  $1219.66\text{ cm}^{-1}$ 是 $\text{PO}_2^-$ 非对称拉伸振动峰,  $1075.00\text{ cm}^{-1}$ 是 $\text{PO}_2^-$ 对称拉伸振动峰,  $824.38\text{ cm}^{-1}$ 和 $759.73\text{ cm}^{-1}$ 吸收峰分别是由P—(OC)<sub>2</sub>的非对称和对称伸缩振动引起的,  $562.29\text{ cm}^{-1}$ 和 $511.86\text{ cm}^{-1}$ 是P—O拉伸振动峰。

由图7可看出,  $m/z$  216和431分别为  $L-\alpha$ -GPE 的 $[\text{MH}]^+$ 和 $[2\text{m} + \text{H}]^+$ 分子离子峰。

综上, 说明产品为  $L-\alpha$ -GPE。

## 3 结论

通过单因素实验确定了脂肪酶 *Rhizopus chinensis* 催化大豆粉末磷脂水解制备  $L-\alpha$ -GPE的最佳反应条件为:pH 7, 大豆粉末磷脂质量浓度5 mg/mL,  $\text{CaCl}_2$ 质量浓度2 mg/mL, 酶浓度30 U/mL, 反应温度45℃。在最佳条件下反应15 h, 制备的  $L-\alpha$ -GPE得率为93.8%, 经分离纯化产品纯度为99.2%。

### 参考文献:

- [1] BISAGLIA M, VENEZIA V, BIGLIERI M, et al.  $\alpha$ -Glycerolphosphoryl-ethanolamine rescues astrocytes from mitochondrial impairment and oxidative stress induced by amyloid  $\beta$ -peptides [J]. *Neurochem Int*, 2004, 44(3): 161-170.
- [2] BOSTWICK J R, ABBE R, APPEL S H. Phospho-ethanolamine enhances high-affinity choline uptake and

- acetylcholine synthesis in dissociated cell cultures of the rat septal nucleus [J]. *J Neurochem*, 1992, 59:236-244.
- [3] CAMPBELL P N, WORK T S. Fractionation of the nitrogenous water-soluble constituents of liver. 1. The isolation of glycerylphosphorylethanolamine and the taurine [J]. *Biochem J*, 1952, 50 (4): 449-454.
- [4] ANSELL G B, NORMAN J M. Glycerylphosphoryl-ethanolamine in rat brain [J]. *Biochem J*, 1953, 55(5): 768-774.
- [5] FLORIO T, BAJETTO A, THELLUNG S, et al. Prolonged treatment with  $\alpha$ -glycerylphosphorylethanolamine facilitates the acquisition of an active avoidance behavior and selectively increases neuronal signal transduction in rats [J]. *Aging Clin Exp Res*, 1999, 11(5):335-342.
- [6] DANIELE S, DA POZZO E, IOFRIDA C, et al. Human neural stem cell aging is counteracted by  $\alpha$ -glycerylphosphorylethanolamine [J]. *ACS Chem Neurosci*, 2016, 7:952-963.
- [7] DANIELE S, MANGANO G, DURANDO L, et al. The nootropic drug  $\alpha$ -glyceryl-phosphoryl-ethanolamine exerts neuroprotective effects in human hippocampal cells [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(3):1-11.
- [8] ANSELL G B, NORMAN J M. Observations on the acetal-phospholipids of brain tissue [J]. *J Neurochem*, 1956, 1(1): 32-41.
- [9] PIETRUSZKO R, GRAY G M. The products of mild alkaline and mild acid hydrolysis of plasmalogens [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1962, 56: 232-239.
- [10] LPDI R. Pharmaceutical compositions for the treatment of cerebral psycho-organic syndromes: US4918062 [P]. 1990-04-17.
- [11] GIOVANNI T. Process for the preparation of  $L$ - $\alpha$ -glycerylphosphorylcholine,  $L$ - $\alpha$ -glycerylphosphorylethanolamine from crude and/or deoleated lecithins: EP86830282.9[P]. 1990-08-16.
- [12] 张康逸, 康志敏, 范运乾, 等. 水相体系酶法制备甘油磷脂酰乙醇胺的研究 [J]. *中国油脂*, 2013, 38(8): 58-61.
- [13] MAHANTA N, GUPTA A, KHARE S K. Production of protease and lipase by solvent tolerant *Pseudomonas aeruginosa* PseA in solid-state fermentation using *Jatropha curcas* seed cake as substrate [J]. *Bioresour Technol*, 2008, 99: 1729-1735.
- [14] ZHANG K Y, WANG X G, LIU Y F. Purification of  $L$ - $\alpha$ -glycerylphosphorylcholine from the enzyme reaction solutions by resin column chromatography [J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2012, 89(6): 1155-1163.
- [15] LIU X L, DU L X, LU F P, et al. Purification and characterization of a novel fibrinolytic enzyme from *Rhizopus chinensis* 12[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2005, 67(2): 209-214.
- [16] TSAI S W, CHANG C S. Kinetics of enzymatic hydrolysis of lipids in biphasic organic-aqueous system [J]. *J Chem Technol Biotechnol*, 1993, 57:147-154.
- [17] SHEELU G, KAVITHA G, FADNAVIS N W. Efficient immobilization of Lecitase in gelatin hydrogel and degumming of rice bran oil using a spinning basket reactor [J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2008, 85:739-748.
- [18] RAHMAN R, BAHARUM S N, BASRI M, et al. High-yield purification of an organic solvent-tolerant lipase from *Pseudomonas* sp. strain S5 [J]. *Anal Biochem*, 2005, 341(2):267-274.
- (上接第60页)
- [10] 秦曼曼, 孙仁金, 李喆, 等. 生物航空煤油发展问题及对策研究[J]. *现代化工*, 2019, 39(11): 1-4.
- [11] 刘广瑞, 颜蓓蓓, 陈冠益. 航空生物燃料制备技术综述及展望[J]. *生物质化学工程*, 2012, 46(3): 45-48.
- [12] 刘宇, 谭涓, 刘靖, 等. Pt/ZSM-35 催化长链正构生物烷烃加氢裂化/异构化制航空煤油[J]. *化工进展*, 2020, 39(12):5086-5094.
- [13] 王祎涵, 安虹, 刘畅, 等. 磷钨酸催化蓖麻油制备生物柴油研究[J]. *煤炭与化工*, 2018, 41(12): 116-119.
- [14] 孙振钧, 吕丽媛, 伍玉鹏. 蓖麻产业发展:从种植到利用[J]. *中国农业大学学报*, 2012, 17(6):204-214.
- [15] 王皓, 宋爱萍, 闫杰. 我国航空煤油市场发展态势及生产企业应对策略[J]. *石油规划设计*, 2017, 28(6): 1-3, 51.
- [16] 翟明路, 段浩楠, 蒲彦锋, 等. 脂肪酸(酯)脱氧制备生物燃料研究现状[J]. *化学研究*, 2020, 31(3): 196-205.
- [17] 马严富. Pt 单原子催化剂配位结构调控与催化加氢性能研究[D]. 合肥:中国科学技术大学, 2020.
- [18] MENG Y, WANG H Y, SUN N, et al. Hierarchical SAPO-11 molecular sieve for  $n$ -alkane hydroisomerization synthesized by directing agent method [J]. *China Petroleum Process Petrochem Technol*, 2020, 22(4): 85-92.
- [19] 陈玉晶. ZSM-23 分子筛合成、改性及负载铂催化剂加氢异构性能[D]. 辽宁大连:大连理工大学, 2019.
- [20] 刘宁, 刘水林, 李爱阳, 等. 不同金属氧化物在 SBA-15 表面分散度对其性能的影响[J]. *化学工程*, 2021, 49(1):12-17.
- [21] 杨顺平. 制备航空煤油的非食用植物油预处理研究[D]. 昆明:云南师范大学, 2016.