

水酶法提取南瓜籽油过程中乳状液酶法 联合化学法破乳工艺研究

Study on enzymatic combined chemical demulsification process of emulsion
from enzyme-assisted aqueous extraction of pumpkin seed oil

张根生 杨慧铎 岳晓霞 刘志鑫 许春明

ZHANG Gen-sheng YANG Hui-duo YUE Xiao-xia LIU Zhi-xin XU Chun-ming

(哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150076)

(College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin, Heilongjiang 150076, China)

摘要:为提高水酶法提取南瓜籽油的提油率,采用地衣芽孢杆菌碱性蛋白酶并联合化学破乳法对水酶法提取南瓜籽油过程中产生的乳状液进行破乳研究。通过单素试验并结合响应曲面优化试验,得出酶法破乳的最佳工艺为:液料比 0.9:1.0 (mL/g)、酶添加量 3 078 U/g、pH 10.4、酶解温度 51 ℃、酶解时间 2.5 h,验证实验得破乳率为 88.39%。酶解破乳后调节 pH 对乳状液稳定性及破乳率影响的研究发现当酶解破乳后调节 pH 至 4.5 时,破乳率增至 95.47%。

关键词:南瓜籽油;破乳;蛋白酶;乳状液稳定性;pH

Abstract: In order to increase the extraction rate of pumpkin seed oil by enzyme-assisted aqueous extraction, using method of enzymatic combined chemical demulsification process by adding *Bacillus licheniformis* protease (pH 9~12) during emulsion from enzyme-assisted aqueous extraction of pumpkin seed oil. According to single factor experiment and response surface methodology, the best processes for enzymatic demulsification were: volume ratio of water to emulsion 0.9:1 (mL/g), dosage of enzyme 3 078 U/g, hydrolysis temperature 51 ℃, hydrolysis time 2.5 h, and the demulsification rate of the verification experiment was 88.39%. The effect of adjusting the pH on emulsion stability and demulsification rate after enzymatic demulsification was analyzed. It was found that the demulsification rate increased to 95.47% when adjusted pH to 4.5 after enzymatic demulsification.

Keywords: pumpkin seed oil; demulsification; protease; stabilization of emulsions; pH adjustment

随着科技的发展,很多非传统的植物油提取工艺受到关注^[1]。水酶法作为一种新型提油方法,被广泛地应用在大

豆、花生、油菜籽、松籽和玉米胚芽等多种油料作物的油提取上^[2-4]。在使用水酶法提取南瓜籽油时,反应温度低,保持油的品质同时又提高了蛋白质利用率^[5]。但是油提取率较低,只有小部分的油以游离油的形式存在,大部分的油是乳化状态,存在于离心后的乳状膏或乳状液中。为了提高游离油提取率,乳状液破乳至关重要。乳状液是由蛋白质、磷脂和碳水化合物等组成的稳定状态^[6]。两性亲水溶性蛋白吸附在 O/W 型乳状液界面上,形成一层具有立体屏障的硬质膜,阻止油的释放。Bos 等^[7]研究表明磷脂具有很高的表面活性,对乳状液稳定性影响显著。而碳水化合物通过增加黏度或使水相凝胶^[8-9],来减少油体的聚集影响游离油的释放,且效果随其浓度的增加而增加^[10]。

水酶法提取植物油中乳状液的破乳方法有:物理破乳方法^[11-13]、化学破乳方法^[14]、生物酶法破乳及多种方法联合使用^[15-16]。其中生物酶法破乳通过水解乳状液中的蛋白质或表面磷脂来释放油脂,实现破乳。朱敏敏等^[17]对水酶法提取番茄籽油过程中乳状液破乳进行了研究,使用风味蛋白酶破乳,出油率提高至 51.57%。Wu 等^[18]采用蛋白酶对水酶法提取的大豆油乳状液进行破乳,游离油得率为 88%。Chabrand 等^[19]在大豆乳状液中添加溶血磷脂酶 A₁ 破乳,游离油提取率为 95%。目前,对于水酶法提大豆油乳状液酶法破乳研究较多,而对南瓜籽油破乳研究较少。王丽波等^[20]进行水酶法提取南瓜籽油研究,南瓜籽出油率为 38.34%,提取率为 85%左右,虽然提取率较高,但是在最后提取南瓜籽油时,直接在离心液中加入正己烷进行萃取,使用有机试剂破乳,违背了水酶法提油绿色安全的初衷。本研究拟采用酶法对水酶法提南瓜籽油的乳状液进行破乳,同时对破乳后 pH 对乳状液稳定性的影响进行分析,从而通过生物酶法联合化学法提高破乳率,并且比较破乳前后油体平均粒径大小分布,为提高水酶法提南瓜籽油的提取率提供参考。

基金项目:哈尔滨商业大学研究团队支持项目(编号:2016TD007)

作者简介:张根生(1964—),男,哈尔滨商业大学教授,硕士。

E-mail: zhanggsh@163.com

收稿日期:2018-06-04

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

南瓜籽:黑龙江赛美食品有限公司;

地衣芽孢杆菌碱性蛋白酶(酶活力 2.0×10^5 U/g)、枯草芽孢杆菌中性蛋白酶(酶活力 6.0×10^4 U/g)、木瓜蛋白酶(酶活力 5.0×10^5 U/g):北京奥博星生物技术有限责任公司;

磷脂酶(1.0×10^5 U/g):湖南世纪华星生物工程有限公司;

硫酸铜、硫酸钾、浓硫酸、无水乙醇、氨水、石油醚、氢氧化钠、盐酸:分析纯,天津市富宇精细化工有限公司。

1.1.2 主要仪器

电热鼓风干燥箱:DHG-9420A型,上海一恒科学仪器有限公司;

中草药粉碎机:FW135型,天津市泰斯特仪器有限公司;

恒温水浴锅:DK-98-1型,天津市泰斯特仪器有限公司;

集热式恒温磁力搅拌器:CL-200型,巩义市予华仪器有限责任公司;

酸度计:PB-10型,赛多利斯科学仪器有限公司;

凯氏定氮仪:KDY-9820型,苏州江东精密科学仪器有限公司;

旋转蒸发器:R205型,上海申胜生物技术有限公司;

台式高速离心机:TG16-WS型,上海卢湘仪离心机仪器有限公司;

Zetasizer Nano 粒度分析仪:ZEN3500型,英国马尔文仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 乳状膏主要成分测定

(1) 水分含量的测定:按 GB 5009.3—2016 的直接干燥法执行。

(2) 油脂含量的测定:按 GB 5009.9—2016 的碱水解法执行。

(3) 蛋白质含量的测定:按 GB 5009.5—2016 的凯氏定氮法执行。

(4) 总灰分含量的测定:按 GB 5009.4—2016 执行。

(5) 磷脂含量测定:按 GB/T 5537—2008 执行。

1.2.2 乳状膏制备工艺流程

南瓜籽仁→烘烤(105℃、1 h)→粉碎、过40目筛→浸泡1 h→磨浆→木瓜蛋白酶酶解(酶添加量4 500 U/g、酶解pH 7.5、酶解温度50℃、酶解时间3 h)→灭酶(80℃、10 min)→离心分离(3 600×g、20 min)→乳状液→静置12 h→取上层乳状膏

1.2.3 酶法破乳工艺流程

乳状膏加去离子水→搅拌→酶解→灭酶(80℃、10 min)→离心分离(3 600×g 离心20 min)→游离油

1.2.4 酶的种类对破乳率的影响 取一定质量的乳状膏加入去离子水使液料比为1:1(mL/g),搅拌成均一的乳状液后分别调节pH和温度为各酶最适,依次添加2 000 U/g的地衣芽孢杆菌碱性蛋白酶、枯草芽孢杆菌中性蛋白酶、黄曲霉酸性蛋白酶、木瓜蛋白酶、磷脂酶进行酶解,酶解时间为2 h,灭酶,冷却至室温后离心,抽取游离油称量并计算破乳率。通过比较分析这5种酶对破乳率的影响。

1.2.5 酶法破乳工艺单因素试验

(1) 液料比对破乳率的影响:取一定质量的乳状膏,分别以0.5:1.0,1.0:1.0,1.5:1.0,2.0:1.0,2.5:1.0(mL/g)的液料比添加去离子水,搅拌成均一的乳状液后调节pH为10.5,添加地衣芽孢杆菌碱性蛋白酶2 000 U/g,50℃酶解2.0 h,灭酶,冷却至室温后离心,抽取游离油称量并计算破乳率。

(2) 酶添加量对破乳率的影响:取一定质量的乳状膏加入去离子水使液料比为1:1(mL/g),搅拌成均一的乳状液后调节pH为10.5,分别添加地衣芽孢杆菌碱性蛋白酶的量为1 000,2 000,3 000,4 000,5 000 U/g,50℃酶解2.0 h,灭酶,冷却至室温后离心,抽取游离油称量并计算破乳率。

(3) 酶解温度对破乳率的影响:取一定质量的乳状膏加入去离子水使液料比为1:1(mL/g),搅拌成均一的乳状液后调节pH为10.5,添加地衣芽孢杆菌碱性蛋白酶2 000 U/g,分别在40,45,50,55,60℃酶解2.0 h,灭酶,冷却至室温后离心,抽取游离油称量并计算破乳率。

(4) 酶解pH对破乳率的影响:取一定质量的乳状膏加入去离子水使液料比为1:1(mL/g),搅拌成均一的乳状液后分别调节pH至9.5,10.0,10.5,11.0,11.5,添加地衣芽孢杆菌碱性蛋白酶2 000 U/g,50℃酶解2.0 h,灭酶,冷却至室温后离心,抽取游离油称量并计算破乳率。

(5) 酶解时间对破乳率的影响:取一定质量的乳状膏加入去离子水使液料比为1:1(mL/g),搅拌成均一的乳状液后调节pH为10.5,添加地衣芽孢杆菌碱性蛋白酶2 000 U/g,50℃酶解时间分别为1.0,1.5,2.0,2.5,3.0 h,灭酶,冷却至室温后离心,抽取游离油称量并计算破乳率。

1.2.6 破乳率的测定

$$R = \frac{M_1}{M_2} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

R——乳状液的破乳率,%;

M_1 ——破乳所得游离油质量,g;

M_2 ——乳状液中含油质量,g。

1.2.7 响应面优化试验 以酶法破乳单因素试验结果为基础,依据Box-Behnken的原理设计四因素三水平的优化试验,选液料比、酶添加量、酶解温度、酶解pH 4个因素为自变量,每个因素做3个水平。以破乳率为响应值,采用Design-Expert 8.0作图,通过响应面分析法优化酶法破乳工艺条件。

1.2.8 南瓜籽油滴粒径分布和Zeta电位测定 在离心分离前,分别取一定质量未破乳和经优化的酶法破乳的乳状液,加去离子水配置成0.1 g/L的溶液,分别取1 mL放入可抛

弃型聚苯乙烯样品池。设置折射率(RI)1.47,吸收值 0.001,使用粒度分析测定油滴粒径。在离心分离前,取等质量经酶法破乳的乳状液,分别调节不同 pH(3,4,4.5,5,6,7,8,9)后配置成 0.1 g/L 的溶液,取样注入弯曲式毛细管样品池中,进行 Zeta 电位测定。

2 结果分析

2.1 乳状膏主要成分

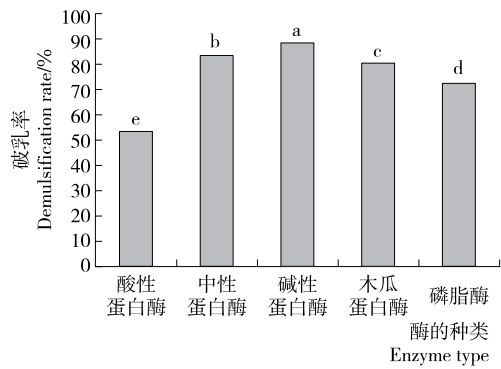
乳状膏主要成分测定结果见表 1。由表 1 可知,乳状膏中的水分、脂肪、蛋白质含量较高。

表 1 乳状膏主要成分含量

Table 1 The main composition of the cream %				
水分	脂肪	蛋白质	磷脂	灰分
26.00±1.25	63.00±5.60	6.50±0.50	0.20±0.07	1.00±0.20

2.2 酶种类的选择

由图 1 可知,在各酶最适条件和相同添加量的情况下进行酶解反应,地衣芽孢杆菌碱性蛋白酶破乳率最高,破乳所得游离油最多,而磷脂酶破乳率低于大多数蛋白酶。因为木瓜蛋白酶酶解所制得的南瓜籽乳状膏中的蛋白质被地衣芽孢杆菌碱性蛋白酶水解形成小分子肽或氨基酸,使得由蛋白质形成的膜所包围的油脂释放出来,得到游离油,实现破乳。虽然水解磷脂也是影响乳状液稳定性重要因素之一^[19],但是由表 1 可知,南瓜籽乳状膏中磷脂含量偏低而蛋白质含量较高,所以对于南瓜籽乳状膏来说,蛋白酶更适合破乳,最后选择地衣芽孢杆菌碱性蛋白酶为反应酶。



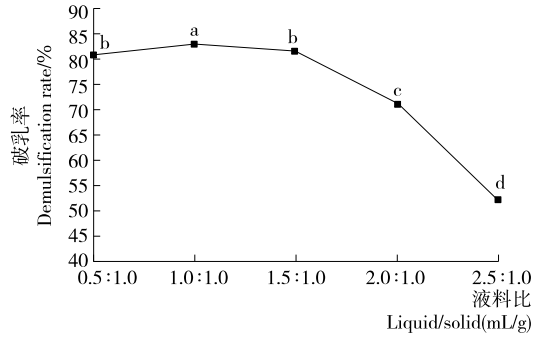
不同字母表示差异显著(P<0.05)

图 1 酶的种类对破乳率的影响

Figure 1 Effects of enzyme type on the demulsification rate

2.3 酶法破乳工艺单因素试验

2.3.1 液料比对破乳率的影响 由图 2 可知,液料比对破乳率影响显著,随着水相的增加破乳率也明显升高,当液料比为 1:1 (mL/g)时破乳率达到最高值为 83%;继续增大水相,破乳率逐渐下降。这是由于在乳状液中添加少量的水,可以降低乳状液的黏度同时增加液体的流动性^[21],增大酶与底物的接触面积,使得酶解更加充分。但是过量添加水相会导致底物质量浓度变小,酶浓度变低就不能充分地底物反应,破乳率会因此下降。

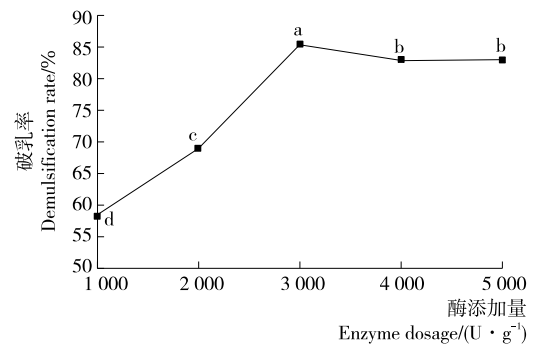


不同字母表示差异显著(P<0.05)

图 2 液料比对破乳率的影响

Figure 2 Effects of liquid/solid ratio on the demulsification rate

2.3.2 酶添加量对破乳率的影响 由图 3 可知,破乳率随着酶添加量增加而逐渐变大,当酶添加量为 3 000 U/g 时,破乳率达到最高值(85.18%);继续增加酶添加量时,破乳率缓慢下降并趋于平稳。说明当酶添加量逐渐增加至3 000 U/g 时,乳状液中酶浓度增大,可以渗透到脂质体膜内,大部分的蛋白质被水解,脂多糖被分解,由大量蛋白质构成的膜结构被破坏,更多游离油被释放出来,破乳率变大;而再继续添加更多酶只会影响游离油的释放,因为未反应的地衣芽孢杆菌碱性蛋白酶附着在油体上或者其周围,使得游离油不能被提取完全^[22]。



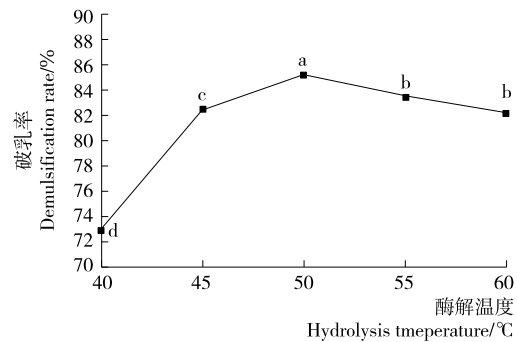
不同字母表示差异显著(P<0.05)

图 3 酶添加量对破乳率的影响

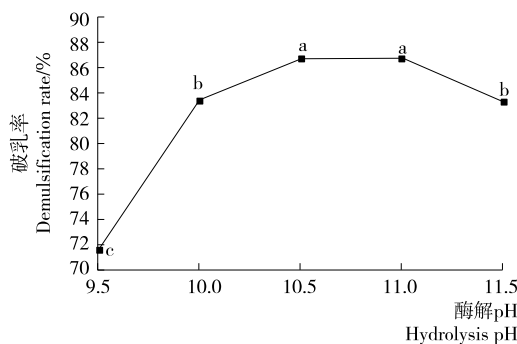
Figure 3 Effects of enzyme dosage on the demulsification rate

2.3.3 酶解温度对破乳率的影响 由图 4 可知,在地衣芽孢杆菌碱性蛋白酶的适宜反应温度范围内进行单因素试验,当温度在 40~50 ℃时,破乳率随着温度的升高而迅速增大直至最高点,破乳率为最大值(85.08%);当酶解温度继续升高时,破乳率缓慢下降直至平稳。因为当温度逐渐升高至 50 ℃,温度接近酶的最适反应温度,可更好地作用于底物;而当温度升至 60 ℃时,小部分酶因为温度上升而活力下降,导致破乳率小幅度下降。

2.3.4 酶解 pH 对破乳率的影响 由图 5 可见,随着酶解 pH 的增加,pH 在 9.5~10.5 时,破乳率也明显增大。当 pH 增加至 10.5~11.5 时,破乳率下降。这可能是当 pH 调节至 11.5 时,乳状液中负电荷增多,蛋白质和油滴形成了极稳定



不同字母表示差异显著(P<0.05)
图 4 酶解温度对破乳率的影响
Figure 4 Effects of hydrolysis temperature on the demulsification rate



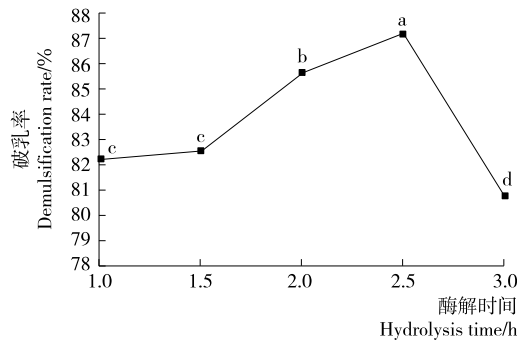
不同字母表示差异显著(P<0.05)
图 5 酶解 pH 对破乳率的影响
Figure 5 Effects of hydrolysis pH on the demulsification rate

状态,对游离油的释放造成阻碍。

2.3.5 酶解时间对破乳率的影响 由图 6 可知,随着酶解时间的延长,破乳率缓慢上升了 5.7%,当酶解时间超过 2.5 h 时,破乳率迅速下降了 12.7%。这可能是随着时间的延长,酶与底物发生反应,大量小油体聚集成大油滴,更多的游离油逐渐被释放出来,破乳率升高;而当时间超过 2.5 h,酶解时间过长,由于蛋白质乳化特性,部分大油滴变成乳化油,无法以游离油的形式释放出来,导致破乳率大幅度下降^[22]。

2.4 响应面优化酶法破乳工艺条件

2.4.1 响应面试验设计及结果 根据酶法破乳的单因素试验结果,设计四因素三水平设计见表 2。以破乳率为响应值,



不同字母表示差异显著(P<0.05)
图 6 酶解时间对破乳率的影响
Figure 6 Effects of hydrolysis time on the demulsification rate

进行响应面分析,其试验设计及结果见分别表 2、3。

2.4.2 响应面结果分析 通过 Design-Expert 8.0 统计分析软件对破乳率的数据结果进行分析,建立破乳率对反应温度、液料比、酶添加量、pH 的二次回归模型如下:

$$R = 88.42 + 0.13A - 0.55B + 0.23C - 0.39D - 0.37AB + 0.34AC - 0.46AD - 0.64BC + 1.48BD + 0.12CD - 0.88A^2 - 3.03B^2 - 2.28C^2 - 2.59D^2. \quad (2)$$

表 2 响应面试验因素水平表

Table 2 Factors and levels used for response surface methodology				
编码	A 酶解温度/°C	B 液料比 (mL/g)	C 酶添加量/(U · g ⁻¹)	D 酶解 pH
-1	45	0.5 : 1.0	2 000	10.0
0	50	1.0 : 1.0	3 000	10.5
1	55	1.5 : 1.0	4 000	11.0

表 3 响应面试验方案及结果

Table 3 Experiment program and results for response surface analysis					
序号	A	B	C	D	R 破乳率/%
1	0	0	0	0	88.34
2	-1	1	0	0	84.53
3	0	0	1	1	83.45
4	1	-1	0	0	84.90
5	1	1	0	0	83.68
6	0	1	0	1	83.76
7	0	-1	0	-1	85.87
8	1	0	1	0	86.14
9	-1	0	0	-1	84.90
10	0	1	1	0	82.45
11	1	0	0	-1	86.12
12	0	0	0	0	88.58
13	0	0	-1	-1	83.58
14	0	0	0	0	88.59
15	0	0	0	0	87.97
16	-1	0	-1	0	85.05
17	0	0	-1	1	82.36
18	0	-1	1	0	84.95
19	0	1	-1	0	82.80
20	-1	0	0	1	84.95
21	0	-1	-1	0	83.72
22	0	0	1	-1	84.18
23	1	0	-1	0	84.95
24	0	0	0	0	88.46
25	-1	-1	0	0	84.29
26	1	0	0	1	84.32
27	0	1	0	-1	81.31
28	0	-1	0	1	81.46
29	-1	0	1	0	84.98

利用 Design-Expert 8.0 对二次回归方程模型进行分析,破乳率的方差分析结果及其显著性结果见表 4。

由表 4 可知,模型的 $P < 0.0001$,说明二次响应面回归模型极显著;失拟项 $P = 0.2654 > 0.05$,这表示失拟项差异不显著;决定系数 $R^2 = 94.14\%$,说明模型能够解释 94.14% 的响应值变化。根据以上各值可以判断出,该模型与试验拟合度较高,试验误差小,可信度较高,可以很好地描述试验结果,可实现酶法破乳工艺条件的优化。由各因素的 F 值得到 4 个因素对破乳率影响大小顺序为: $B(\text{液料比}) > D(\text{pH}) > C(\text{酶添加量}) > A(\text{酶解温度})$ 。

2.4.3 交互作用分析 由表 4 及图 7 可知, BD 的 $P < 0.0001$, B 和 D 交互作用对破乳率影响极显著,破乳率随着 B 与 D 水平的增加而升高; BC 的 $P < 0.05$,说明 B 和 C 交互作用对破乳率影响显著,破乳率随着液料比和酶添加量交互作用的增加先增加后下降;随着 A 和 D 交互水平增加,破乳率变化比

较平缓,与前 2 个交互作用相比较,此交互作用对破乳率影响不显著。

2.4.4 酶法破乳最佳工艺条件验证实验 通过响应面法优化出最佳酶法破乳工艺为:液料比 0.9:1.0 (mL/g)、酶添加量 3 078 U/g、酶解 pH 10.4、温度 51 °C。由响应面法得出此条件下酶法破乳的破乳率理论值为 88.50%。为了验证该试验的准确性和可靠性,将最佳工艺条件进行验证实验,每组重复 3 次取平均值。最后测得破乳率为 88.39%,与响应面预测所得的理论值相比,相对误差为 0.12%,此结果表明经响应面优化后的条件可以更好地预测酶法破乳工艺。

2.5 破乳前后油滴粒径分布及 pH 对乳状液稳定性的影响

2.5.1 破乳前后的油滴粒径分布 由图 8 可知,酶法破乳前油滴的平均粒径为 2.950 μm ,破乳后平均粒径增加至 48.000 μm ,粒径明显增大。这是因为破乳前油体被蛋白质所形成的膜包裹着,以较小的油滴形式不均匀地分布在乳状

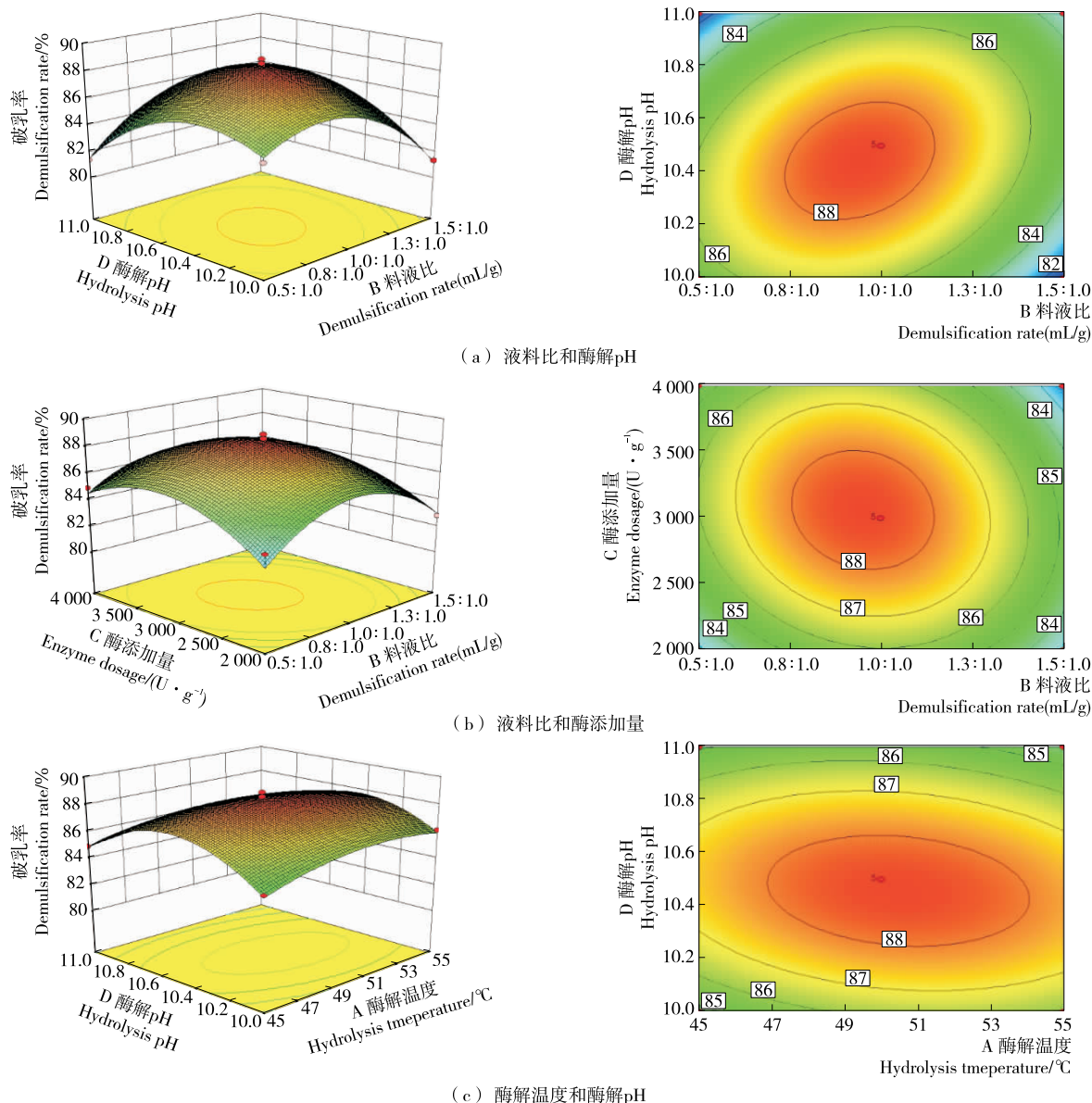


图 7 各因素交互响应面图

Figure 7 Response surface showing the interactive effects of four extraction parameters on the yield of pumpkin seed oil

表 4 响应面方差分析

Table 4 Analysis of variance for response surface

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	119.14	14.00	8.51	33.13	<0.000 1	* *
A	0.19	1.00	0.19	0.74	0.404 2	
B	3.64	1.00	3.64	14.17	0.002 1	* *
C	0.65	1.00	0.65	2.53	0.134 3	
D	1.85	1.00	1.85	7.20	0.017 8	*
AB	0.53	1.00	0.53	2.07	0.171 8	
AC	0.46	1.00	0.46	1.80	0.201 0	
AD	0.86	1.00	0.86	3.33	0.089 4	
BC	1.66	1.00	1.66	6.48	0.023 3	*
BD	8.73	1.00	8.73	33.99	<0.000 1	* *
CD	0.06	1.00	0.06	0.23	0.636 3	
A ²	4.99	1.00	4.99	19.44	0.000 6	* *
B ²	59.65	1.00	59.65	232.23	<0.000 1	* *
C ²	33.65	1.00	33.65	130.99	<0.000 1	* *
D ²	43.51	1.00	43.51	169.40	<0.000 1	* *
残差	3.60	14.00	0.26			
失拟项	2.99	10.00	0.30	1.99	0.265 4	
净误差	0.60	4.00	0.15			
总和	122.73	28.00				

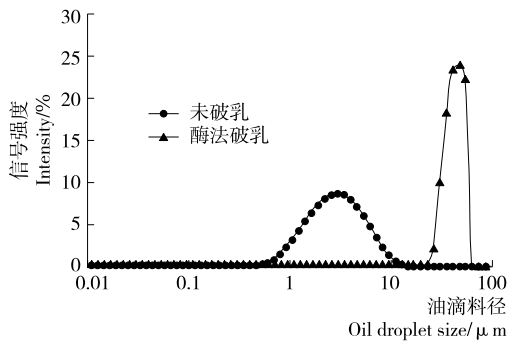


图 8 粒径分布

Figure 8 Particle size distribution

液中,经过酶法破乳后,蛋白质膜被水解破坏,油体被释放出来聚集成更大的油滴。比较破乳前后油滴平均粒径大小,更加直观地表达了破乳的重要性。

2.5.2 不同 pH 下乳状液的 Zeta 电位 由图 9 可知,Zeta 电位值随着 pH 增加而降低。当 pH 在 4.25~4.50 时,pH 接近南瓜籽蛋白的等电点,Zeta 电位值接近于 0,此时蛋白质溶解性最差乳化力最小,吸附在油滴和水之间的蛋白最少,由于不存在静电排斥作用,油滴易聚集在一起,乳状液处于极不稳定的状态^[23];当 pH 在 8~9 时,Zeta 电位值<-37.3 mV,乳状液负电荷增多,蛋白质带相同电荷相斥,由蛋白质膜所包裹的油滴不易上浮聚集在一起,乳状液处于稳定状态^[24]。这也证明为了酶法破乳后酸化处理的意

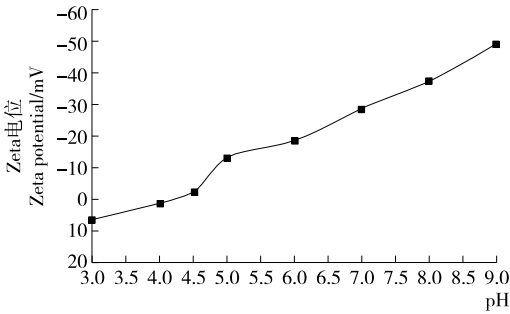


图 9 pH 对乳状液 Zeta 电位的影响

Figure 9 Effect of pH on Zeta potential of cream emulsion

瓜籽蛋白等电点,使乳状液处于极不稳定状态,游离油释放的更充分。为方便工业化生产,调节 pH 至 4.5,使破乳率提高至 95.47%。

3 结论

本试验选用地衣芽孢杆菌碱性蛋白酶,酶解由水酶法提取南瓜籽油过程中产生的乳状液,实现破乳提高南瓜籽油的提取率。通过单因素试验和响应曲面优化试验,得出酶法破乳的最佳工艺为液料比 0.9:1.0 (mL/g)、添加地衣芽孢杆菌碱性蛋白酶 3 078 U/g、调节 pH 10.4、酶解温度 51 ℃、酶解时间 2.5 h,验证所得破乳率为 88.39%。同时还研究了 pH 对乳状液稳定性的影响,发现在酶法破乳后进行酸化处

参考文献

[1] 马金魁,李珂,韦炳墩,等.百香果籽油超临界 CO₂萃取工艺优化及其体外抗氧化活性[J].食品与机械,2017,33(7):155-159.
[2] 李大房,马传国.水酶法制取油脂研究进展[J].中国油脂,2006,31(10):29-32.
[3] 李杨,江连洲,杨柳.水酶法制取植物油的国内外发展动态[J].食品工业科技,2009(6):383-387.
[4] 朱敏敏,赵巧玲,魏长庆.水酶法制油工艺研究进展[J].粮食与油脂,2017,30(11):12-13.
[5] 徐效圣,潘俨,傅力,等.响应面法优化水酶法提取核桃油的工艺条件[J].食品与机械,2010,26(2):92-96.
[6] MORALES C R, KIM H, ZHANG Cheng, et al. Destabilization of the Emulsion Formed during Aqueous Extraction of Soybean oil[J]. Journal of the American Oil Chemists Society, 2008, 85(4):383-390.
[7] BOS M, NYLANDER T, ARNEBRANT T, et al. Protein/E-mulsifier Interactions[M]. Food Emulsions and Their Applications. New York: Springer, 2008: 89-171.

(下转第 178 页)

参考文献

- [1] 李淑超, 乔鹏, 刘思思, 等. 块菌属分子系统学及菌根共生机制研究进[J]. 菌物学报, 2016, 35(12): 131-144.
- [2] 清源, 何晓兰, 柳成益, 等. 名贵地下真菌——块菌的研究进展[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(11): 19-22.
- [3] CHATURVEDI P, KB K, KWAPE T, et al. Free radical scavenging and antioxidant properties of a truffle, *Kalaharituber pfeilii* found in Kalahari deserts of Botswana[J]. International Journal of Bioassays, 2015, 4(11): 4 533-4 537.
- [4] 王云, 刘培贵. 块菌名实考证及其资源保护[J]. 植物分类与资源学报, 2011, 33(6): 625-642.
- [5] 刘培贵, 王云, 王向华, 等. 中国块菌要览及其保护策略[J]. 菌物研究, 2012(4): 232-243.
- [6] QING Yuan, LI Shu-hong, LIU Cheng-yi, et al. *Tuber xanthomonosporum*, a new *Paradoxa*-like species from China[J]. Mycotaxon, 2015, 130(1): 61-68.
- [7] ATTIA W Y, EL-NAGGAR R E, BAWADEKJI A, et al. Evaluation of some in vitro anti-carcinogenic activities of polysaccharides extracted from ascomata of the desert truffle *terfezia clavervyi* chatin[J]. J. Appl. Environ. Biol. Sci., 2018, 8(2): 152-159.
- [8] ZHAO Wei, WANG Xiao-hua, LI Hong-mei, et al. Isolation and characterization of polysaccharides with the antitumor activity from Tuber fruiting bodies and fermentation system[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, 98(5): 1 991-2 002.
- [9] BEARA I N, LESJAK M M, CETOJEVIC-SIMIN D D, et al. Phenolic profile, antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activities of black (*Tuber aestivum* Vittad.) and white (*Tuber magnatum* Pico) truffles [J]. Food Chemistry, 2014, 165: 460-466.
- [10] 张文州, 许嵘. 食药真菌多糖的研究进展[J]. 食品工业科技, 2014, 35(15): 395-399.
- [11] 王庆, 李丹丹, 潘芸芸, 等. 提取方法对天麻多糖提取率及其抗氧化活性的影响[J]. 食品与机械, 2017, 33(9): 146-150.
- [12] GUO Xin, YE Xing-qian, SUN Yu-jing, et al. Ultrasound effects on the degradation kinetics, structure, and antioxidant activity of sea cucumber fucoidan[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(5): 1 088-1 095.
- [13] CHENG Zhen-yu, SONG Hai-yan, YANG Ying-jie, et al. Optimization of microwave-assisted enzymatic extraction of polysaccharides from the fruit of *Schisandra chinensis* Baill[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 76: 161-168.
- [14] 张晓, 朱彩平, 邓红, 等. 均匀设计优化超声协同酶法提取平菇多糖工艺[J]. 食品与机械, 2016, 32(9): 166-171.
- [15] 岳金玫, 蒲彪, 周月霞, 等. 响应面法优化块菌多糖的酶法辅助提取工艺[J]. 食品科学, 2013, 34(2): 119-124.
- [16] 岳金玫. 攀枝花块菌多糖的提取、纯化及抗氧化活性研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2012: 20-21.
- [17] 苑璐, 冷凯良, 周余航, 等. 复合酶解法优化黄精多糖提取工艺[J]. 食品与生物技术学报, 2017, 36(9): 996-1 001.
- [18] 赵玉红, 林洋, 张立钢, 等. 黑木耳多糖高剪切分散乳化法与酶法提取的比较研究[J]. 食品与机械, 2016, 32(4): 181-186.
- [19] 薛燕, 敢小双, 黄开丽, 等. 铁皮石斛多糖复合酶法提取工艺及其抗氧化性[J]. 食品工业科技, 2018, 39(3): 215-219.
- [20] 岳金玫, 蒲彪, 陈安均, 等. 响应面法优化块菌多糖的提取工艺[J]. 食品工业科技, 2012, 33(19): 271-274.
- (上接第 144 页)
- [8] MCCLEMENTS D J. Food emulsions : principles, practices, and techniques[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2005, 36(2): 223-224.
- [9] DICKINSON E. Food emulsions and foams: Stabilization by particles[J]. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 2010, 15(1): 40-49.
- [10] MASKAN M, GÖĞÜŞ F. Effect of sugar on the rheological properties of sunflower oil-water emulsions[J]. Journal of Food Engineering, 2000, 43(3): 173-177.
- [11] 王瑛瑶, 王璋, 罗磊. 水酶法提花生油中乳状液性质及破乳方法[J]. 农业工程学报, 2008, 24(12): 259-263.
- [12] 章绍兵. 水酶法从油菜籽中提取油和生物活性肽的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2008: 52-54.
- [13] 王文睿, 江连洲, 郑环宇, 等. 热处理对大豆乳状液破乳工艺的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(4): 285-287.
- [14] 李杨, 齐宝坤, 隋晓楠, 等. 水酶法提取大豆乙醇冷浴破乳工艺及油脂聚集状态的研究[J]. 中国粮油学报, 2016, 31(12): 79-83.
- [15] 李世科, 李春阳, 曾晓雄. 油茶籽油乳状液的碱法破乳工艺研究[J]. 食品工业科技, 2015, 36(3): 219-222.
- [16] 吴桐, 康健, 张丽霞, 等. 水酶法提沙棘果油破乳方法的研究[J]. 食品工业科技, 2011(12): 280-283.
- [17] 朱敏敏, 王永瑞, 刘文玉, 等. 水酶法提取番茄籽油酶法破乳工艺的研究[J]. 食品工业, 2018(4): 20-23.
- [18] WU Jun, JOHNSON L, JUNG S. Demulsification of oil-rich emulsion from enzyme-assisted aqueous extraction of extruded soybean flakes [J]. Bioresource Technology, 2009, 100(2): 527.
- [19] CHABRAND R M, GLATZ C E. Destabilization of the emulsion formed during the enzyme-assisted aqueous extraction of oil from soybean flour[J]. Enzyme & Microbial Technology, 2009, 45(1): 28-35.
- [20] 王丽波, 徐雅琴, 杨星等. 南瓜籽油的水酶法提取工艺及产品的理化性质[J]. 农业工程学报, 2010, 27(10): 383-387.
- [21] 李杨, 齐宝坤, 隋晓楠, 等. 超声辅助二次酶解对大豆乳状液破乳工艺研究[J]. 中国油脂, 2016, 41(2): 16-19.
- [22] 包怡红, 郭阳. 响应面法优化超声波辅助水酶法提取松籽油工艺及其氧化稳定性[J]. 食品科学, 2016, 37(22): 60-68.
- [23] 李鹏飞. 水酶法提取花生油及蛋白质[D]. 无锡: 江南大学, 2017: 43-44.
- [24] 张涛, 江波, 王璋. 鹰嘴豆分离蛋白的乳化性及结构关系[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(12): 10-14.