

利用芝麻内源性蛋白酶破乳的影响因素探究

彭 姣,张彩猛,孔祥珍,华欲飞,陈业明

(江南大学 食品学院,江苏 无锡 214122)

摘要:通过电泳和体积排阻-高效液相色谱探究芝麻内源性蛋白酶的水解性质,在内源性蛋白酶最适的水解条件下,探究水解时间、破乳 pH、固形物含量、粒径大小、蛋白质含量对破乳的影响。结果发现,芝麻粗油体中内源性蛋白酶在 pH 4、50℃ 条件下水解速度相对最快,且在此条件下水解 4 h 后,破乳 pH 为 5 时破乳率高达 97%。但是综合风味和破乳率的增长速度,发现 2 h 水解时间为最佳,破乳率可达 87%。粗油体固形物含量在 50% 时破乳率最高。粒径越小、蛋白质含量越高,越难以破乳。实验结果为利用芝麻内源性蛋白酶进行水酶法提油提供了工艺基础。

关键词:芝麻;粗油体;内源性蛋白酶;破乳

中图分类号:TS224;TQ644

文献标识码:A

文章编号:1003-7969(2020)10-0041-07

Influencing factors of demulsification with sesame endogenous protease

PENG Jiao, ZHANG Caimeng, KONG Xiangzhen,

HUA Yufei, CHEN Yeming

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China)

Abstract: The hydrolysis properties of sesame endogenous protease were studied by Tricine-SDS-PAGE and SEC-HPLC. Under the optimal hydrolysis conditions of endogenous protease, the effects of hydrolysis time, demulsification pH, solid content, particle size and protein content on demulsification were investigated. The results showed that the hydrolysis rate of endogenous protease in crude sesame oil body was relatively the fastest at pH 4 and 50℃. And under these conditions hydrolysis for 4 h, the demulsification rate was 97% at demulsification pH 5. However, comprehensively considering the growth of demulsification rate and flavor, 2 h was the best choice and at this time the demulsification rate was 87%. When the solid content in crude oil body was 50%, the demulsification rate was the highest. The smaller the particle size, the higher the protein content, the more difficult it is to demulsify. These results provided technological basis for aqueous enzymatic extraction of oil by sesame endogenous protease.

Key words: sesame; crude oil body; endogenous protease; demulsification

芝麻是我国重要的油料作物之一。目前芝麻油的生产方法主要有水代法和压榨法^[1]。水代法主要是通过高温炒籽使蛋白质变性,经石磨研磨后加水,利用油料中非油成分对油和水的亲和力的不同以及油水密度差得到油。水代法得到的油香味浓

郁,但是蛋白质变性严重,可利用率低。压榨法又分为热榨法和冷榨法。热榨法出油率高,但蛋白质变性严重。冷榨法得到的饼变性程度低,最大程度保留了油中的热敏性营养成分,但出油率低,需要多级压榨提高出油率^[2]。

基于绿色、健康、安全的特点,水酶法制取芝麻油开始在实验室被广泛研究^[3]。水酶法主要是利用商业蛋白酶水解阻止油释放的蛋白,使油能够聚集破乳。其中破坏的一部分蛋白就是油体蛋白。脂肪主要存贮在油体中^[4]。油体蛋白与单分子磷脂组成生物膜将脂肪包裹住^[5]。油体蛋白主要包括油质蛋白(oleosin)、油体钙蛋白(calcosin)和油体固

收稿日期:2019-12-21;修回日期:2020-04-22

基金项目:国家自然科学基金青年基金(31301496)

作者简介:彭 姣(1995),女,硕士研究生,研究方向为粮食、油脂及植物蛋白工程(E-mail) Pengjiao0617@163.com。

通信作者:陈业明,副教授(E-mail) chenyming@jiangnan.edu.cn。

醇蛋白(steroleosin)^[6]。商业蛋白酶把油体蛋白和吸附在油体外的油体外源性蛋白水解后,油从油体内部被释放出来。水酶法的优点是低温保证了蛋白质和其他营养物质不被破坏,缺点是需要添加商业酶,需要维持一定的pH和温度,经济成本高^[7],且将蛋白质水解成肽,要想利用肽需要进行脱盐脱色等工序,步骤烦琐且成本高。

近年来有文献报道在植物种子内发现存在内源性蛋白酶,且发现内源性蛋白酶能够水解油体蛋白和油体外源性蛋白,而且这种水解有利于破乳。在大豆油体中,发现存在水解24 kDa和18 kDa油质蛋白的半胱氨酸蛋白酶,能够促进破乳^[8]。在花生中也发现存在一种天冬氨酸蛋白酶,可以在一定条件下水解油体中的油体外源性蛋白和油体蛋白,并发现花生红衣和内源性蛋白酶的协同作用下,使得粗油体破乳率高达87%^[9]。有研究人员通过添加酶抑制剂发现在芝麻发芽时有丝氨酸蛋白酶和半胱氨酸蛋白酶活性表征^[10]。近年来有研究表明芝麻油质蛋白在35℃和pH 6.5时被未知的内源性蛋白酶水解得很快。电泳条带的变化表明,油质蛋白在约9 h时几乎完全消失,在特定水解条件下破乳率高达98%^[8]。但是对于芝麻油体蛋白酶的性质以及影响内源性蛋白酶破乳的因素还未有人探究。本文利用离心将生芝麻浆分为3层:上浮层、清液层和沉淀层。上浮层为粗油体层,用于油的提取,沉淀层可以作为品质和色泽较好的蛋白产品。本文主要是通过电泳探究粗油体中内源性蛋白酶的水解最适pH及温度,在此条件下以破乳效果评价破乳pH、水解时间、固形物含量、粒径及蛋白质含量对油体破乳的影响,为降低经济成本,不添加商业蛋白酶的水酶法提油提供工艺基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

芝麻(水分含量 $(5.86 \pm 0.19)\%$,蛋白质含量 $(19.00 \pm 0.12)\%$,粗脂肪含量 $(47.16 \pm 0.21)\%$),购于河南省驻马店市;蔗糖、氢氧化钠、盐酸为分析纯,购于国药集团;尼罗红、异硫氰酸荧光素(FITC)以及其他电泳试剂,购于美国Sigma公司;10~250 kDa标准蛋白,购于美国Bio-Rad公司。

1.1.2 仪器与设备

上海泸西90型磁力搅拌器,梅特勒台式pH计,九阳JYL-Y5破壁料理机,日本Himac CR-21G II冷冻离心机,Mini-PROTEAN型垂直电泳仪,ChemiDoc XRS+凝胶成像仪,美国安捷伦Agilent 1100高效液相色谱仪,美国布鲁克多角度粒度与高灵敏度Zeta电位分析仪,德国徕卡TCS-P8激光共聚焦显微镜。

1.2 实验方法

1.2.1 粗油体的制备

将芝麻浸泡于其5倍质量的去离子水中,于4℃放置18 h。后经手工脱皮,再用20%的蔗糖浮选,挑选去皮后的芝麻仁,用去离子水水洗3遍后,按照芝麻仁与去离子水质量比1:4添加新鲜的去离子水,使用破壁料理机以18 000 r/min的速度打浆2 min,用四层纱布过滤除去滤渣,滤液即为生芝麻浆。将生芝麻浆置于冷冻离心机中,保持4℃,4 000 r/min离心15 min,收集上浮层,即为粗油体。测得粗油体中固形物含量为61.86%,蛋白质含量为1.35%。

1.2.2 不同粒径粗油体的制备(见图1)

参照图1,进行不同粒径的粗油体的制备,以用于后续实验。

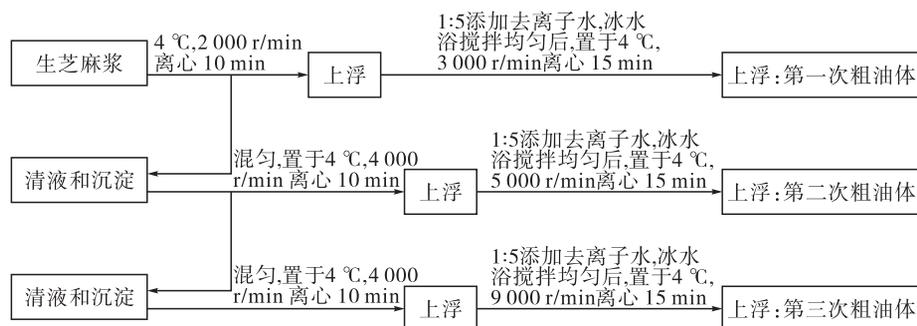


图1 不同粒径粗油体的制备流程

1.2.3 不同蛋白质含量粗油体的制备

将1.2.1制备的粗油体分成两份,一份作为样品1,一份按照1:9添加去离子水,置于4℃、6 500 r/min离心20 min,取上浮。再将上浮分成两份,一

份作为样品2,一份按照1:9添加去离子水,置于4℃、6 500 r/min离心20 min,取上浮,作为样品3。将3份样品稀释至固形物含量为50%,并测定蛋白质含量。

1.2.4 Tricine - SDS - PAGE

将0.5 mL Tricine - SDS - PAGE 样品缓冲液(0.25 mol/L Tris - HCl 缓冲液(pH 6.8), 1% SDS, 2% 巯基乙醇(非还原电泳不添加)和0.02% 溴酚蓝)与0.5 mL 样品稀释液混合^[11], 置于沸水中煮3 min, 作为还原性 Tricine - SDS - PAGE 上样样品。根据 Schagger^[12]的方法, 使用16%的丙烯酰胺分离胶和4%的丙烯酰胺浓缩胶进行电泳。加入10 μ L 样品于电泳泳道中, 并以30 V 的恒定电压进行电泳约1 h, 待所有蛋白质进入分离胶后, 以100 V 的恒定电压进行电泳, 直至电泳结束。后经过固定, 考马斯亮蓝 G - 520 染色后, 再脱色。然后使用 Image Lab 3.0 软件分析条带强度。

1.2.5 内源性蛋白酶水解产物的相对分子质量分布分析

采用体积排阻 - 高效液相色谱(SEC - HPLC) 进行分析。将1.2.1 制备的粗油体稀释至蛋白质含量为0.4%, 在最适条件下水解0 ~ 9 h。取样后用0.22 μ m 滤膜过滤, 得到的清液作为液相样品。使用安捷伦高效液相色谱仪对水解后的粗油体过滤样品进行相对分子质量分布检测。色谱柱选用 TSK gel G2000SWXL(300 mm \times 7.8 mm); 流动相为三氟乙酸 - 乙腈 - 水(体积比0.1:45:55), 流速0.5 mL/min; 紫外检测波长214 nm; 检测温度为室温, 进样量20 μ L^[13]。

1.2.6 粒径的测定

将1.2.2 得到的样品(三次粗油体)用 Tris - HCl 缓冲液(pH 9.0) 稀释20倍, 搅拌均匀后, 用多角度粒度与高灵敏度 Zeta 电位分析仪测定其粒径。

1.2.7 激光共聚焦分析

将1.2.2 得到的样品(三次粗油体)用 Tris - HCl 缓冲液(pH 9.0) 稀释20倍, 轻微搅拌均匀后, 取0.5 mL 该样品, 加0.5 μ L 0.1% 的尼罗红和10 μ L 的 FITC, 混匀, 制片, 置于激光共聚焦显微镜下分析。

1.2.8 粗油体的破乳

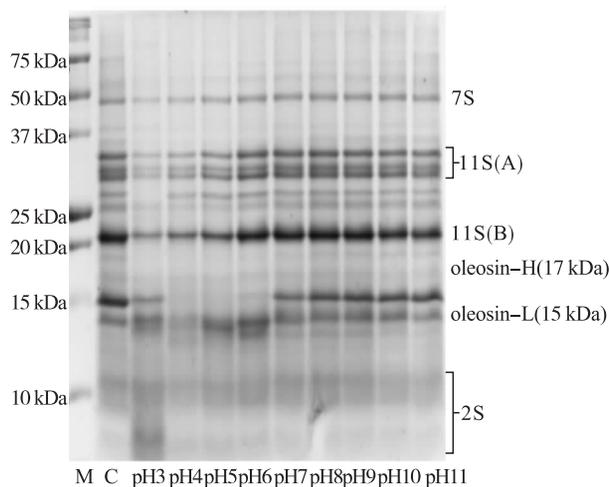
将1.2.1 制备的粗油体调整固形物含量, 在最适条件下经内源性蛋白酶水解后调整体系 pH 后置于4 000 r/min 离心15 min, 取上层游离清油并称量。按下式计算破乳率。考察固形物含量、pH、粒径及蛋白质含量对破乳的影响。

破乳率 = 游离油质量 / (样品质量 \times 样品中粗脂肪含量) \times 100%

2 结果与讨论

2.1 内源性蛋白酶水解 pH 对芝麻蛋白水解的影响

将1.2.1 制备的粗油体稀释至蛋白质含量为0.4%后, 分别调 pH 至3 ~ 11, 置于40 $^{\circ}$ C 下水解2 h 后取样进行还原性 Tricine - SDS - PAGE, 结果见图2。



注: M. Marker; C. 空白(原始粗油体稀释样品)。下同。

图2 不同 pH 条件下水解2 h 后粗油体还原性 Tricine - SDS - PAGE 图

芝麻粗油体中的蛋白除了包括组成油体结构的油体蛋白, 还吸附着一些油体外源性蛋白。芝麻油体蛋白包括油质蛋白(oleosin - H, 17 kDa; oleosin - L, 15 kDa)^[14], 油体钙蛋白(caleosin, 27 kDa)和油体固醇蛋白(steroleosin - A, 39 kDa; steroleosin - B, 41 kDa)。吸附在油体的油体外源性蛋白主要是11S、7S 和2S 等。由图2 可以看出, 11S 主要是酸性肽链(A, 30 ~ 40 kDa)和碱性肽链(B, 20 ~ 25 kDa)通过二硫键链接而成^[14-15]。2S 清蛋白的相对分子质量在4 ~ 9 kDa。对图2 中空白对照泳道进行 Image Lab 灰度分析发现11S 占油体外源性蛋白的75% 以上, 因此将11S(B) 作为油体外源性蛋白的水解代表条带, 考察其在不同 pH 下的水解速度, 并对17 kDa 的油质蛋白水解速度进行研究, 结果见图3。

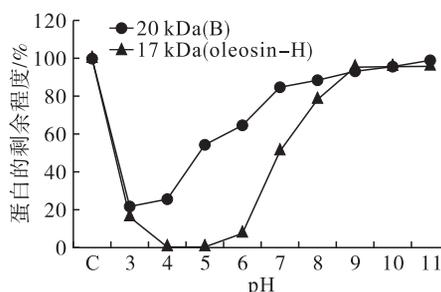


图3 不同 pH 条件下水解2 h 后20 kDa 和17 kDa 蛋白条带灰度分析

从图3可以看出,以20 kDa(B)条带为代表的油体外源性蛋白在40℃、pH 3时水解速度最快,2 h能水解约80%。而pH 4是水解油质蛋白最佳pH,在2 h后17 kDa油质蛋白几乎完全水解。油体外源性蛋白在40℃时,pH 3时水解速度最快,在高于pH 3的条件下,水解速度随着pH的提高逐渐降低,在高于pH 4时,油体外源性蛋白水解急剧减弱。油质蛋白在pH 4~6时水解速度较快,与油体外源性蛋白水解特性相似,随着pH向碱性方向偏移,水解速度大大降低。综合考虑油质蛋白和油体外源性蛋白的水解程度,选择pH 4为后续实验的水解pH。

2.2 内源性蛋白酶水解温度对芝麻蛋白水解的影响

将1.2.1制备的粗油体稀释至蛋白质含量为0.4%后调节pH至4,分别置于30~80℃水解2 h,取样进行还原性Tricine-SDS-PAGE,并研究了不同温度下20 kDa和17 kDa蛋白的水解速度,结果分别见图4、图5。

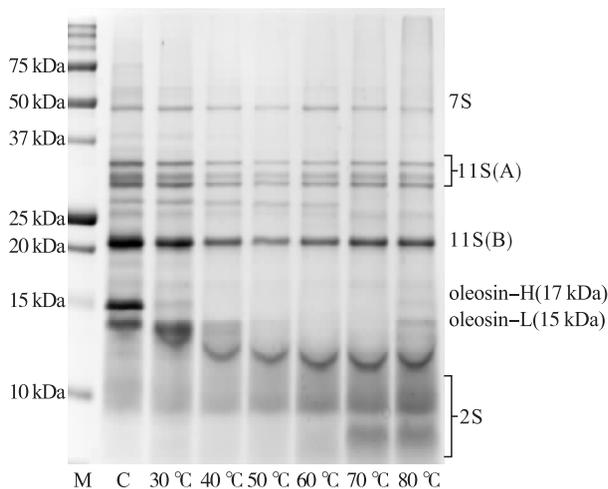


图4 不同温度下水解2 h后粗油体还原性Tricine-SDS-PAGE图

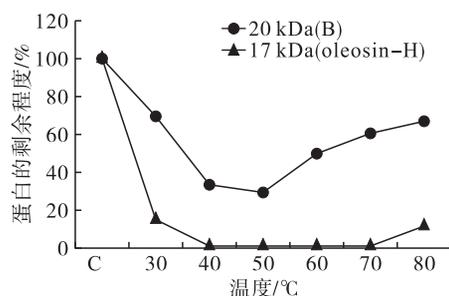


图5 不同温度下水解2 h后20 kDa和17 kDa蛋白条带灰度分析

从图4、图5可以看出,pH 4条件下,温度从30℃升高至50℃,油质蛋白和油体外源性蛋白水解速度逐渐加快,但是随着温度的继续上升,水解速度

明显下降。在50℃时,油质蛋白和油体外源性蛋白的水解速度都是最快的,在此温度下水解2 h后,油质蛋白17 kDa和15 kDa完全水解,且油体外源性蛋白也水解了70%左右。因此,可以说50℃是芝麻粗油体中内源性蛋白酶在pH 4时的最适水解温度。

2.3 内源性蛋白酶水解产物的相对分子质量分布

采用1.2.5方法对在50℃、pH 4条件下水解不同时间的样品进行SEC-HPLC分析,结果分别见图6、表1。

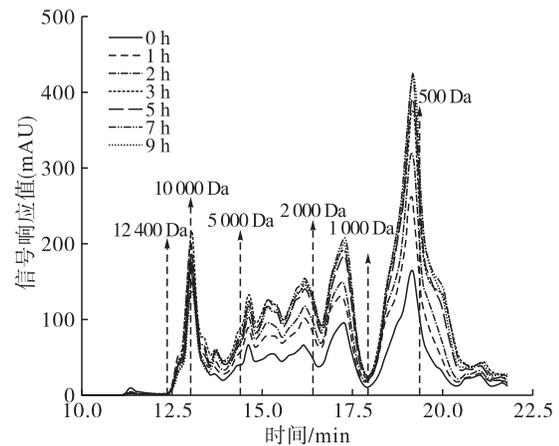


图6 不同水解时间水解产物的液相色谱图

表1 不同水解时间的水解产物相对分子质量占比

水解时间/h	相对分子质量占比/%				
	>12 400 Da	5 000 ~ 12 400 Da	2 000 ~ 5 000 Da	1 000 ~ 2 000 Da	<1 000 Da
0	0.81	14.53	18.60	23.60	42.46
1	0.60	9.34	18.57	22.83	48.66
2	0	8.67	18.26	20.73	52.34
3	0	8.38	18.07	20.70	52.85
5	0	6.34	19.54	21.05	53.07
7	0	5.78	19.08	21.56	53.58
9	0	5.31	18.87	21.67	54.15

从图6可知,相对于0 h的样品,其他时间段的水解样品在500~5 000 Da总体信号明显要强。且可以发现随着水解时间的延长,500~1 000 Da处的信号响应值越来越大,代表着500~1 000 Da的小分子肽越来越多,说明内源性蛋白酶使得芝麻蛋白水解,更多的水溶性小分子蛋白产生释放到水溶液中。从表1可知,随着水解时间的延长,小于1 000 Da的小分子蛋白占比越来越大,相对分子质量在5 000~12 400 Da的蛋白占比越来越小,以及大于12 400 Da的蛋白只出现在0 h和1 h。结果说明随着水解时间的延长体系中大分子蛋白逐渐被内源性蛋白酶水解成小分子蛋白。

2.4 破乳 pH 对油体破乳的影响

将 1.2.1 制备的粗油体于 50 °C、pH 4 下水解 4 h, 分别调 pH 至 3 ~ 11, 离心, 取游离油, 计算破乳率, 结果见图 7。

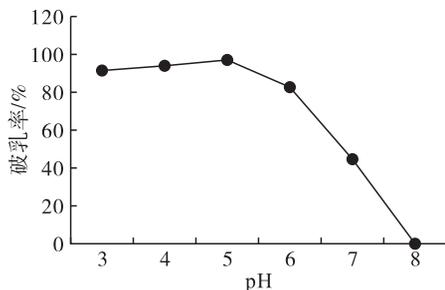


图 7 破乳 pH 对破乳率的影响

从图 7 可以看出, 随着 pH 的增加, 破乳率先缓慢上升后快速下降, 在 pH 5 时达到最大, 在 97% 左右。吴海波等^[16]在探究水酶法中 pH 对于大豆油乳状液破乳的影响时, 发现在 pH 3 和 pH 4 时, 破乳效果最好, 能达到 100%。Chabrand 等^[17]利用水酶法提取大豆油, 将乳状液水解后, 置于 50 °C、pH 4.5 下 3 h, 破乳率最高可达 83%。这些研究主要是利用在蛋白质等电点附近降低乳状液稳定性的原理。因为大部分蛋白的等电点是 pH 4.5, 因此在 pH 4.5 附近, 蛋白质不带电互相聚集, 进而促使油滴聚合, 油滴平均粒径增大, 导致乳状液稳定性降低。但是由于水解条件、样品对象、酶、水解程度、水解产物及其性质的不同, 导致在 pH 4.5 略有偏移, 与本实验在 pH 5 时破乳率最大的结果是相符的。在 pH 8 时, 完全不破乳。但是在 pH 9 ~ 11 出现了疑似游离油中夹带其他物质且与未破乳层分界不明。

2.5 水解时间对油体破乳的影响

将 1.2.1 制备的粗油体于 50 °C、pH 4 下水解 0 ~ 7 h, 调节 pH 至 5, 离心, 取游离油, 计算破乳率。将不同水解时间的粗油体稀释至蛋白质含量为 0.4%, 进行还原性 Tricine - SDS - PAGE, 结果见图 8。水解时间对破乳率的影响见图 9。

从图 8、图 9 可以看出, 随着水解时间的延长, 芝麻蛋白逐渐被水解, 破乳率逐渐增加。芝麻蛋白不水解, 调 pH 至 5, 是无法破乳的。也验证了存在内源性蛋白酶水解芝麻蛋白, 且有助于破乳。我们发现在 0 ~ 2 h 随着油质蛋白的水解, 破乳率从 0 增长到 87%, 但水解时间继续延长, 破乳率增长趋于平缓, 且对应电泳图上在 2 h 时油质蛋白基本消失, 继续水解, 油体外源性蛋白开始大量水解, 但是对破乳率贡献并不大。考虑到游离油风味和经济成本, 选定 2 h 为后续实验的水解时间。

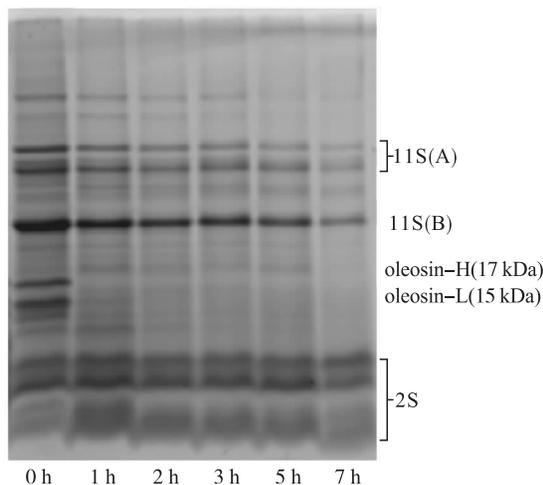


图 8 粗油体 50 °C、pH 4 条件下不同水解时间的还原性 Tricine - SDS - PAGE 图

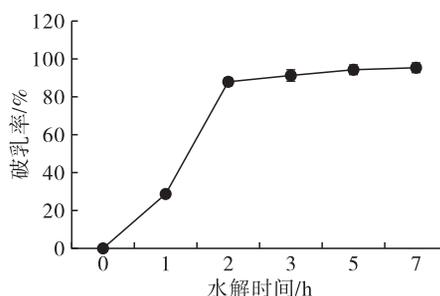


图 9 水解时间对破乳率的影响

2.6 固形物含量对油体破乳的影响

将 1.2.1 制备的粗油体用去离子水稀释至固形物含量分别为 60%、50%、40%、30%、20%。置于 50 °C、pH 4 水解 2 h, 调 pH 至 5, 离心, 取游离油, 计算破乳率, 结果见图 10。

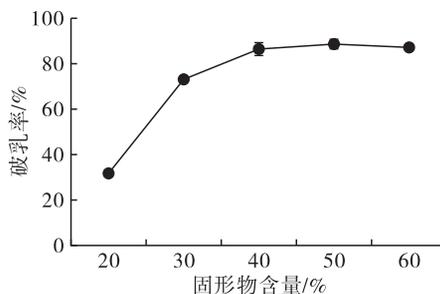


图 10 固形物含量对破乳率的影响

从图 10 可知, 固形物含量从 20% 增加到 50%, 破乳率从 30% 增加到 88%。但是固形物含量继续增加到 60%, 破乳率略有降低。这与赵路苹^[18]研究的结果一致。固形物含量过高不利于破乳, 这可能是因为水分含量过低, 导致体系黏度变大, 流动性变差, 不利于乳状液中游离油的获取^[18]。

2.7 粒径对油体破乳的影响

采用 1.2.2 方法制备不同粒径的粗油体, 并采用激光共聚焦显微镜进行观察, 发现第一次粗油体

粒径最大,其次是第二次粗油体,第三次粗油体粒径最小,且前两次粗油体的不均匀程度大于第三次粗油体(见图11)。通过粒径测定可知,第一次粗油体粒径在1.4 μm 左右,第二次粗油体粒径在900 nm左右,第三次粗油体的粒径约600 nm(见图12)。第一次粗油体在50 $^{\circ}\text{C}$ 、pH 4水解2 h,破乳率可达

88%,第二次粗油体同样条件下破乳率约80%,而第三次粗油体破乳率大大降低,只有55%左右(见图13)。这可解释为随着油质蛋白水解,芝麻粗油体发生聚集。粒径越大,油滴相互碰撞机会增加,从而加速破乳。

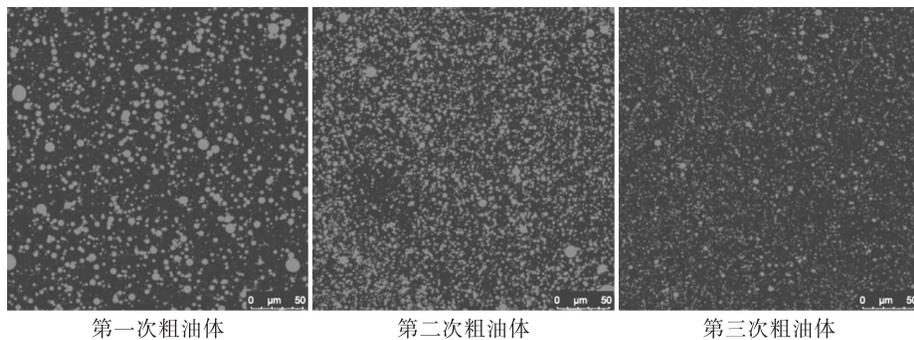


图11 三次粗油体的激光共聚焦图

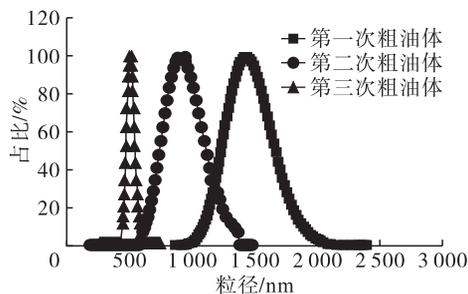


图12 三次粗油体的粒径分布

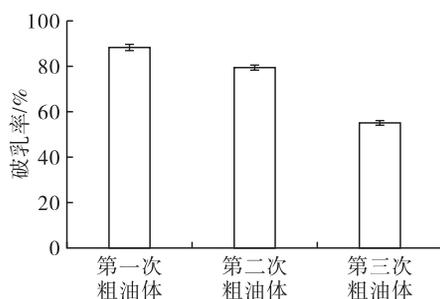


图13 三次粗油体的破乳率对比

2.8 蛋白质含量对油体破乳的影响

采用1.2.3方法制备固形物含量为50%,不同蛋白质含量的3个粗油体样品,于50 $^{\circ}\text{C}$ 、pH 4下水解2 h,调pH至5,离心,取游离油,计算破乳率,结果见表2。

表2 蛋白质含量与破乳率关系

蛋白质含量/%	破乳率/%
1.33 \pm 0.08	84.75 \pm 1.27
0.94 \pm 0.07	88.05 \pm 1.38
0.81 \pm 0.04	90.70 \pm 2.06

从表2可知,随着蛋白质含量的降低,破乳率逐渐提高。当固形物含量控制在50%,蛋白质含量为0.81%时,破乳率达到90.70%。这是因为蛋白质

含量低,覆盖在油滴表面的蛋白质减少,有利于油滴的聚集。

3 结论

粗油体中存在内源性蛋白酶,且此蛋白酶在pH 3时倾向于水解油体外源性蛋白,且水解速度最快;在pH 4~6时,倾向于水解油质蛋白,且17 kDa的水解速度较15 kDa的快;在pH 4时,水解最适温度是50 $^{\circ}\text{C}$ 。粗油体在50 $^{\circ}\text{C}$ 、pH 4条件下水解,高效液相色谱分析表明,随着水解时间的延长,小分子水溶性蛋白逐渐增加。破乳实验结果发现,蛋白质水解有利于破乳。在样品水解后,pH 5条件下破乳率最高。固形物含量为50%时,破乳率最大;粒径越大越容易破乳;蛋白质含量越低越容易破乳。将粗油体固形物含量调至50%,在50 $^{\circ}\text{C}$ 、pH 4下水解2 h,调pH至5后,破乳率能达到88%。研究结果为实际生产利用内源性蛋白酶破乳工艺提供了基础。

参考文献:

- [1] 张占洪,刘尧刚,周易枚. 芝麻油制取技术研究进展[J]. 农业机械,2011(32):55-57.
- [2] 董国平. 芝麻油几种制取工艺的比较[J]. 中国油脂,1993,18(3):55-57.
- [3] 肖旭华,汪薇,杨宏. 超声波辅助水酶法提取芝麻油的工艺优化研究[J]. 轻工学报,2018(5):30-36.
- [4] HUANG A H C. Oil bodies and oleosins in seeds[J]. Annu Rev Plant Physiol Mol Biol, 1992, 43(1): 177-200.
- [5] TZEN J T C. Surface structure and properties of plant seed oil bodies[J]. J Cell Biol, 1992, 117(2): 327-335.
- [6] LIN L J, LIAO P C, YANG H H, et al. Determination and analyses of the N-termini of oil-body proteins,

(下转第51页)

- [3] PYCIA K, KAPUSTA I, JAWORSKA G, et al. Antioxidant properties, profile of polyphenolic compounds and tocopherol content in various walnut (*Juglans regia* L.) varieties[J]. *Eur Food Res Technol*, 2019, 245(3): 607 - 616.
- [4] ROS E, IZQUIERDO - PULIDO M, SALA - VILA A. Beneficial effects of walnut consumption on human health: role of micronutrients [J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2018, 21(6): 498 - 504.
- [5] 王丁丁, 赵见军, 张润光, 等. 核桃油研究进展[J]. *食品工业科技*, 2013, 34(16): 383 - 387.
- [6] 仲雪娜, 任小娜, 曾俊, 等. 新疆不同品种核桃及其油脂品质对比分析[J]. *中国油脂*, 2018, 43(12): 130 - 133.
- [7] 耿树香, 宁德鲁, 贺娜, 等. 云南主栽核桃品种油脂及蛋白综合评价分析[J]. *食品科技*, 2018, 43(2): 124 - 131.
- [8] 李群, 张倩茹, 尹蓉, 等. 不同核桃品种脂肪酸组分的化学计量学分析[J]. *中国农学通报*, 2017, 33(18): 141 - 149.
- [9] 李敏夏, 王泱栋, 白英, 等. 晋中市优良核桃品种的营养成分研究[J]. *中国农学通报*, 2017, 33(18): 134 - 140.
- [10] LI Q, YIN R, ZHANG Q R, et al. Chemometrics analysis on the content of fatty acid compositions in different walnut (*Juglans regia* L.) varieties [J]. *Eur Food Res Technol*, 2017, 243(12): 2235 - 2242.
- [11] 朱振宝, 刘梦颖, 易建华, 等. 不同产地核桃油理化性质、脂肪酸组成及氧化稳定性比较研究[J]. *中国油脂*, 2015, 40(3): 87 - 90.
- [12] CHUNG J, KIM Y S, LEE J, et al. Compositional analysis of walnut lipid extracts and properties as an anti - cancer stem cell regulator via suppression of the self - renewal capacity [J]. *Food Sci Biotechnol*, 2016, 25(2): 623 - 629.
- [13] YANG R N, ZHANG L X, LI P W, et al. A review of chemical composition and nutritional properties of minor vegetable oils in China [J]. *Trends Food Sci Technol*, 2018, 74: 26 - 32.
- [14] 刘丙花, 王开芳, 王小芳, 等. 基于主成分分析的蓝莓果实质地品质评价[J]. *核农学报*, 2019, 33(5): 927 - 935.
- (上接第46页)
- steroleosin, caleosin and oleosin [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2005, 43(8): 770 - 776.
- [7] 王文侠, 任健. 植物油水酶法浸提工艺研究进展[J]. *现代食品科技*, 2005, 21(2): 182 - 185.
- [8] 赵路莘. 大豆油体富集物的蛋白质组成及其对油体乳液性质的影响研究[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2017.
- [9] 陈雅静. 花生水相加工过程中内源性蛋白酶的作用机制研究[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2017.
- [10] PENG C C, TZEN J T C. Analysis of the three essential constituents of oil bodies in developing sesame seeds[J]. *Plant Cell Physiol*, 1998, 39(1): 35 - 42.
- [11] YING Y, ZHAO L, KONG L, et al. Solubilization of proteins in extracted oil bodies by SDS: a simple and efficient protein sample preparation method for Tricine - SDS - PAGE[J]. *Food Chem*, 2015, 181: 179 - 185.
- [12] SCHAGGER H. Tricine - SDS - PAGE[J]. *Nat Protoc*, 2006, 1(1): 6 - 22.
- [13] CHEN Y M, CHEN Y J, ZHAO L P, et al. A two - chain aspartic protease present in seeds with high affinity for peanut oil bodies[J]. *Food Chem*, 2018, 241: 443 - 451.
- [14] ZHAO L P, CHEN Y M, CHEN Y J, et al. Effects of pH on protein components of extracted oil bodies from diverse plant seeds and endogenous protease - induced oleosin hydrolysis[J]. *Food Chem*, 2016, 200: 125 - 133.
- [15] HSIAO E S L, LIN L J, LI F Y, et al. Gene families encoding isoforms of two major sesame seed storage proteins, 11S globulin and 2S albumin [J]. *J Agric Food Chem*, 2006, 54(25): 9544 - 9550.
- [16] 吴海波, 江连洲. CaCl₂和pH值对水酶法提取大豆油形成乳状液破乳效果影响[J]. *农业工程学报*, 2018, 34(23): 307 - 314.
- [17] CHABRAND R M, GLATZ C E. Destabilization of the emulsion formed during the enzyme - assisted aqueous extraction of oil from soybean flour[J]. *Enzyme Microb Technol*, 2009, 45(1): 28 - 35.
- [18] WU N N, HUANG X, YANG X Q, et al. In vitro assessment of the bioaccessibility of fatty acids and tocopherol from soybean oil body emulsions stabilized with κ - carrageenan [J]. *J Agric Food Chem*, 2012, 60(6): 1567 - 1575.