

反胶束法提取辣木籽蛋白工艺优化

和 丽¹, 吴君瑞¹, 王雪峰^{1,2}, 普岳红^{1,2}, 范江平^{1,2}, 王桂瑛^{1,2},
肖智超^{1,2}, 徐志强^{1,2}, 谷大海^{1,2}, 黄艾祥¹

(1. 云南农业大学 食品科学技术学院, 昆明 650201; 2. 云南农业大学 畜产品加工工程技术研究中心, 昆明 650201)

摘要:以脱脂辣木籽粉为原料, 利用反胶束法提取辣木籽蛋白并进行工艺优化。通过单因素实验和正交实验考察反胶束(AOT)质量浓度、提取温度、pH、料液比、水分活度(W_o)5个因素对提取辣木籽蛋白的反胶束前萃工艺的影响, 再通过单因素实验和二次通用旋转实验考察提取温度、pH、KCl浓度、提取时间4个因素对提取辣木籽蛋白的超声波辅助反胶束后萃工艺的影响。结果表明:反胶束前萃最佳工艺条件为pH 9、料液比1:50、AOT质量浓度0.08 g/mL、提取温度45℃、水分活度25, 该条件下所得前萃辣木籽蛋白提取率为67.2%;超声波辅助反胶束后萃最佳工艺条件为提取时间45 min、提取温度45℃、pH 6.5、KCl浓度1.25 mol/L, 在此条件下所得后萃辣木籽蛋白提取率为58.5%。

关键词:辣木籽; 辣木籽蛋白; 反胶束; 前萃; 后萃

中图分类号: TS229; TQ936.2 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2021)07-0080-07

Optimization of extraction process of *Moringa oleifera* seed protein by reverse micelle method

HE Li¹, WU Junrui¹, WANG Xuefeng^{1,2}, PU Yuehong^{1,2}, FAN Jiangping^{1,2},
WANG Guiying^{1,2}, XIAO Zhichao^{1,2}, XU Zhiqiang^{1,2},
GU Dahai^{1,2}, HUANG Aixiang¹

(1. College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. Yunnan Engineering Technology Research Center for Processing of Livestock Products,
Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: Using defatted *Moringa oleifera* seed powder as raw material, the reverse micelle method was used to extract *Moringa oleifera* seed protein and the process was optimized. Through single factor experiment and orthogonal experiment, the effects of the reverse micelle (AOT) mass concentration, extraction temperature, pH, ratio of material to liquid, and water activity on the reverse micelle pre-extraction process for extracting *Moringa oleifera* seed protein were investigated. The single factor experiment and the second general rotating experiment were used to investigate the ultrasound-assisted reverse micelle post-extraction process of extracting *Moringa oleifera* seed protein with four factors of extraction temperature, pH, KCl concentration, and extraction time. The results showed that the optimal process conditions for the reverse micelle pre-extraction were obtained as follows: pH 9, ratio of

material to liquid 1:50, AOT mass concentration 0.08 g/mL, extraction temperature 45℃, water activity 25. Under these conditions, the extraction rate of pre-extracted *Moringa oleifera* seed protein was 67.2%. The optimal process conditions for ultrasound-assisted reverse micelle post-extraction were obtained as follows: extraction time 45 min, extraction temperature

收稿日期: 2020-08-27; 修回日期: 2021-03-16

基金项目: 国家自然科学基金地区项目(31960462); 云南省基础研究计划面上项目(2019FB052); 云南省农业联合专项(2018FG001-040)

作者简介: 和 丽(1995), 女(藏族), 在读硕士, 研究方向为食品加工与安全(E-mail) 18288842687@qq.com。

通信作者: 王雪峰, 副教授(E-mail) 364135728@qq.com。

45 °C, pH 6.5, and KCl concentration 1.25 mol/L. Under these conditions, the extraction rate of post-extracted *Moringa oleifera* seed protein was 58.5%.

Key words: *Moringa oleifera* seed; *Moringa oleifera* seed protein; reverse micelle; pre-extraction; post-extraction

辣木 (*Moringa oleifera*) 为辣木科辣木属植物, 是一种多年生热带落叶乔木, 原产于印度。我国辣木的种植主要分布在云南、福建、广东等省^[1-3]。辣木具有较高的营养价值, 辣木叶片干粉中含粗蛋白质 27.5%、钙 2.3% 以及维生素 A 0.41%, 辣木籽干粉中含有 37.8% 的粗蛋白质^[4-5]。另外, 辣木树含有钙、镁、磷、钾、钠、硫等矿物元素及锌、铜、铁、锰、硒等微量元素^[6]。目前, 对辣木籽蛋白的研究主要集中在脱脂辣木籽中蛋白的分级提取及其在水处理中的效果^[7-8], 以及水酶法同时提取辣木籽油和蛋白等方面^[9-11]。关于辣木籽蛋白分离提取的研究报道较少, 尤其是利用反胶束法提取辣木籽蛋白的相关研究尚未见报道。

反胶束 (Reverse micelle) 是由表面活性分子溶于非极性有机溶剂中形成的极性头向内、非极性尾向外且中间含有微量水的纳米聚集体, 是透明的、热力学稳定的体系^[12-14]。反胶束萃取具有提取生物分子选择性高、使用范围广、条件温和不会引起生物活性物质变性、体系黏度较低且反萃时分相相对时间短、易连续化生产、表面活性物质可循环再利用节约成本等优点^[15-17]。作为一种新型的生物分离技术, 反胶束萃取技术越来越受到重视, 已经被广泛应用于蛋白质、酶等生物活性大分子的分离提纯, 显示出了较好的应用前景^[18]。为提高辣木籽蛋白的生物学利用价值, 本实验主要采用反胶束法前萃工艺和超声波辅助反胶束后萃工艺来提取辣木籽蛋白并优化工艺条件, 以期为辣木籽蛋白的提取及应用提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 原料与试剂

辣木籽, 云南天佑科技开发有限公司; 反胶束 (AOT), 国药集团化学试剂有限公司; 正己烷、甲基红、氯化钾、硫酸铜、硫酸钾、硫酸、盐酸、氯化钠等均为分析纯, 天津市风船化学试剂科技有限公司。

1.1.2 仪器与设备

SCQ-92018 数控加热超声波清洗机, 上海声彦超声波仪器有限公司; FW-200 高速万能粉碎机,

北京中兴伟业仪器有限公司; TH12-5 超临界 CO₂ 萃取装置, 上海震樾机电科技发展有限公司; HH-6 数显恒温水浴锅, 国华电器有限公司; CP153 电子天平, 奥豪斯仪器有限公司; DT5-2 离心机, 上海安亭科学仪器厂; 78-2 磁力搅拌器, 常州国华电器有限公司; pH 计, 意大利哈纳仪器有限公司; UV-1700 紫外可见光谱仪, 日本岛津仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 脱脂辣木籽粉的制备

脱脂辣木籽粉的制备参考段琼芬等^[19]的方法并进行适当调整。辣木籽样品粉碎过 0.25 mm (60 目) 筛后称取备用, 在萃取压力 30 MPa、CO₂ 流量 20 kg/h、萃取温度 40 °C 的条件下经超临界 CO₂ 萃取装置处理 3 h 后得到脱脂辣木籽粉。采用 GB 5009.5—2010 测定脱脂辣木籽粉的蛋白质含量。

1.2.2 反胶束提取辣木籽蛋白工艺

1.2.2.1 反胶束提取辣木籽蛋白前萃工艺

参考咎丽霞等^[20]的方法并进行适当调整。称取 0.8 g AOT, 加入一定量的正己烷, 搅拌至 AOT 完全溶解, 用 0.5 mol/L KCl 溶液调节溶液的水分活度, 以 4 500 r/min 的转速离心 20 min, 得到的上清液为反胶束溶液。

准确称量 50 g 脱脂辣木籽粉, 按一定料液比加入反胶束溶液充分混匀, 用 1 mol/L HCl 溶液和 NaOH 溶液调节 pH, 置于恒温水浴锅中于一定温度下提取 60 min, 于 4 000 r/min 离心 10 min, 收集上清液备用。取 5 mL 上清液采用 GB 5009.5—2010 测定其中蛋白质的含量。

以辣木籽蛋白提取率为评价指标, 分别考察前萃液 pH (3、5、7、9、11)、提取温度 (25、35、45、55、65 °C)、AOT 质量浓度 (0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 g/mL)、水分活度 (*W_o*) (15、20、25、30、35) 和料液比 (1:10、1:20、1:30、1:40、1:50) 对前萃辣木籽蛋白提取率的影响。

1.2.2.2 反胶束提取辣木籽蛋白后萃工艺

量取 1.2.2.1 中收集的上清液体积, 向其中加入等体积一定浓度的 KCl 溶液, 用 1 mol/L HCl 溶液和 NaOH 溶液调节 pH, 置于超声波清洗机中于超声频率 20 kHz 一定温度下提取一定时间, 然后于

4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液按 GB 5009.5—2010 测定其中蛋白质的含量。

以辣木籽蛋白提取率为评价指标, 分别考察提取时间(30、45、60、75、90 min)、提取温度(25、35、45、55、65 °C)、pH(2.5、4.5、6.5、8.5、10.5)和 KCl 浓度(0.50、0.75、1.00、1.25、1.50 mol/L)对后萃辣木籽蛋白提取率的影响。

1.2.3 数据处理与分析

采用 Excel 2010 进行数据统计, IBM SPSS Statistics 25 对数据进行统计学分析。

2 结果与分析

2.1 反胶束提取辣木籽蛋白前萃工艺优化

2.1.1 单因素实验

2.1.1.1 pH 对前萃辣木籽蛋白提取率的影响

在提取温度 25 °C、AOT 质量浓度 0.04 g/mL、 W_o 25、料液比 1:20 的条件下, 考察 pH 分别为 3、5、7、9、11 对前萃辣木籽蛋白提取率的影响, 结果如图 1 所示。

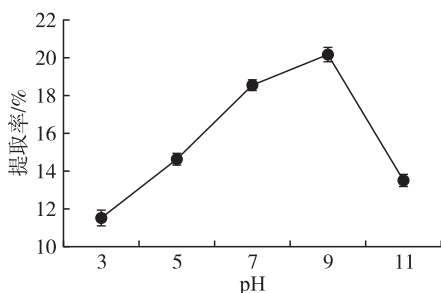


图 1 pH 对前萃辣木籽蛋白提取率的影响

由图 1 可知, 提取率随着 pH 的增加呈先增加后减小的趋势, pH 为 9 时提取率最大, 为 20.15%。可能是由于辣木籽蛋白分子与表面活性剂分子之间存在疏水相互作用, 由此实现蛋白质增溶。因此, 选取 pH 为 9。

2.1.1.2 水分活度(W_o)对前萃辣木籽蛋白提取率的影响

在提取温度 25 °C、AOT 质量浓度 0.04 g/mL、pH 9 和料液比 1:20 的条件下, 考察 W_o 分别为 15、20、25、30、35 对前萃辣木籽蛋白提取率的影响, 结果如图 2 所示。

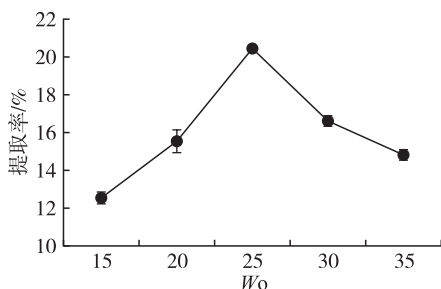


图 2 W_o 对前萃辣木籽蛋白提取率的影响

由图 2 可知, 随着 W_o 的增加, 提取率呈先增加后降低的趋势, 在 W_o 为 25 时提取率达到最大, 为 20.4%。这可能是水溶液增加形成的含水胶团较多, 增溶的蛋白质数量也变多^[21]。因此, 选取 W_o 为 25。

2.1.1.3 AOT 质量浓度对前萃辣木籽蛋白提取率的影响

在提取温度 25 °C、 W_o 25、pH 9 和料液比 1:20 的条件下, 考察 AOT 质量浓度分别为 0.02、0.04、0.06、0.08、0.10 g/mL 对前萃辣木籽蛋白提取率的影响, 结果如图 3 所示。

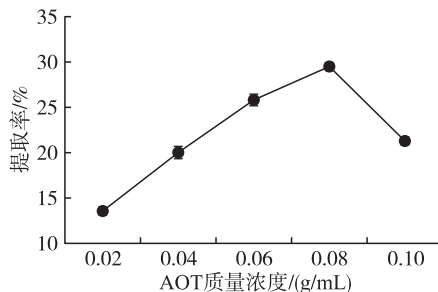


图 3 AOT 质量浓度对前萃辣木籽蛋白提取率的影响

由图 3 可知, 随着 AOT 质量浓度的增加, 提取率呈现先增加后降低的趋势, 当 AOT 质量浓度为 0.08 g/mL 时, 提取率达到最大值, 为 29.45%。因此, 选取 AOT 质量浓度为 0.08 g/mL。

2.1.1.4 提取温度对前萃辣木籽蛋白提取率的影响

在 AOT 质量浓度 0.04 g/mL、pH 9、 W_o 25、料液比 1:20 的条件下, 考察提取温度分别为 25、35、45、55、65 °C 对前萃辣木籽蛋白提取率的影响, 结果如图 4 所示。

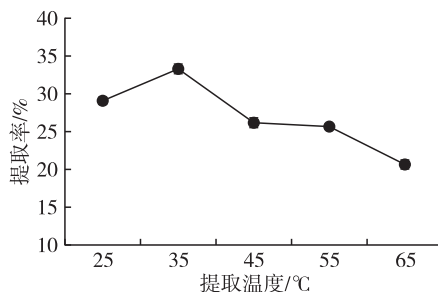


图 4 提取温度对前萃辣木籽蛋白提取率的影响

由图 4 可知, 提取率随着提取温度的升高呈现先增加后减小的趋势, 在提取温度为 35 °C 时提取率达到最大值, 为 33.25%。随着温度的升高, 增大了传质推动力, 促进了蛋白质的提取。温度持续升高蛋白提取率下降, 可能是由于分子运动速率加快, 体系混乱度增加, 胶团变小, 增溶蛋白质量减少进而造成提取率下降^[22]。因此, 选取提取

温度为 35℃。

2.1.1.5 料液比对前萃辣木籽蛋白提取率的影响

在 AOT 质量浓度 0.04 g/mL、pH 9、 W_o 25、提取温度 35℃ 的条件下,考察料液比分别为 1:10、1:20、1:30、1:40、1:50 对前萃辣木籽蛋白提取率的影响,结果如图 5 所示。

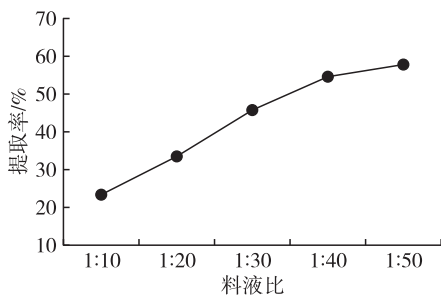


图 5 料液比对前萃辣木籽蛋白提取率的影响

由图 5 可知,提取率随着料液比增加而逐渐增大,当料液比为 1:50 时,提取率达到最大。因为料液比为 1:50 时趋近于饱和状态,反胶束“水池”接近饱和状态时会形成一些含有大量水分子的反胶束,与小的反胶束相比,在增溶蛋白质时,排除了蛋白质体积大而不能增溶的限制^[23]。因此,选取料液比为 1:50。

2.1.2 正交实验

根据单因素实验结果,固定 pH 为 9,选取提取温度(A)、AOT 质量浓度(B)、水分活度(W_o)(C)、料液比(D)4 个因素并采用 $L_9(4^3)$ 正交实验对反胶束提取辣木籽蛋白前萃工艺进行优化。正交实验因素与水平见表 1,正交实验设计及结果见表 2。

表 1 正交实验因素与水平

水平	A/℃	B/(g/mL)	C	D
1	25	0.06	20	1:30
2	35	0.08	25	1:40
3	45	0.10	30	1:50

表 2 正交实验设计及结果

实验号	A	B	C	D	提取率/%
1	1	1	1	1	45.9
2	1	2	2	2	56.1
3	1	3	3	3	64.8
4	2	1	2	3	65.0
5	2	2	3	1	47.3
6	2	3	1	2	54.7
7	3	1	3	2	55.7
8	3	2	1	3	66.0
9	3	3	2	1	46.9
k_1	55.60	55.53	55.53	46.70	
k_2	55.67	56.47	56.00	55.50	
k_3	56.20	55.47	55.93	65.27	
R	0.60	1.00	0.47	18.57	

从表 2 可看出,对前萃辣木籽蛋白提取率的影响因素重要性依次为 $D > B > A > C$,即料液比 $>$ AOT 质量浓度 $>$ 提取温度 $> W_o$ 。反胶束提取辣木籽蛋白前萃的最佳工艺条件为 $A_3B_2C_2D_3$,即提取温度 45℃、AOT 质量浓度 0.08 g/mL、 W_o 25、料液比 1:50。在最佳工艺条件下,辣木籽蛋白提取率达到 67.2%。

2.2 反胶束提取辣木籽蛋白后萃工艺优化

2.2.1 单因素实验

2.2.1.1 pH 对后萃辣木籽蛋白提取率的影响

在提取时间 30 min、提取温度 25℃、KCl 浓度 0.5 mol/L 的条件下,考察 pH 分别为 2.5、4.5、6.5、8.5、10.5 对后萃辣木籽蛋白提取率的影响,结果如图 6 所示。

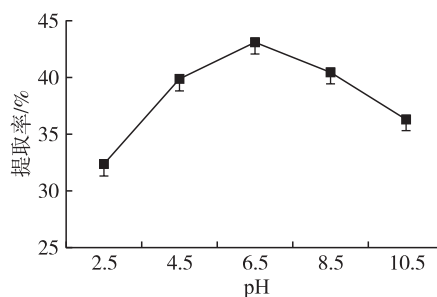


图 6 pH 对后萃辣木籽蛋白提取率的影响

由图 6 可知,提取率随着 pH 增加呈现先增加后减小的趋势。当 pH 为 6.5 时,提取率达到最大,为 43.1%。pH 大于 6.5 时,提取率降低,这可能是由于随着 pH 的增加,蛋白质表面的负电量增加,蛋白质之间的静电排斥作用增强,提取率降低^[24]。因此,选取 pH 为 6.5。

2.2.1.2 KCl 浓度对后萃辣木籽蛋白提取率的影响

在提取时间 30 min、提取温度 25℃、pH 6.5 的条件下,考察 KCl 浓度分别为 0.50、0.75、1.00、1.25、1.50 mol/L 对后萃辣木籽蛋白提取率的影响,结果如图 7 所示。

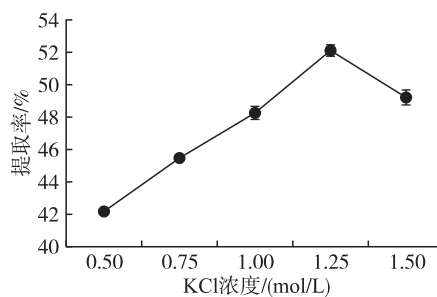


图 7 KCl 浓度对后萃辣木籽蛋白提取率的影响

由图 7 可知,提取率随着 KCl 浓度的增加呈先增加后减小的趋势,当 KCl 浓度为 1.25 mol/L 时,

提取率达到最大,为 52.05%。KCl 浓度大于 1.25 mol/L 时,提取率下降,这可能是由于盐浓度增加时,表面活性剂周围的电层厚度变薄,减小了表面活性剂极性头之间的排斥作用,使反胶束变小^[25],导致提取率降低。因此,选取 KCl 浓度为 1.25 mol/L。

2.2.1.3 提取温度对后萃辣木籽蛋白提取率的影响

在提取时间 30 min、KCl 浓度 1.25 mol/L、pH 6.5 的条件下,考察提取温度分别为 25、35、45、55、65 °C 对后萃辣木籽蛋白提取率的影响,结果如图 8 所示。

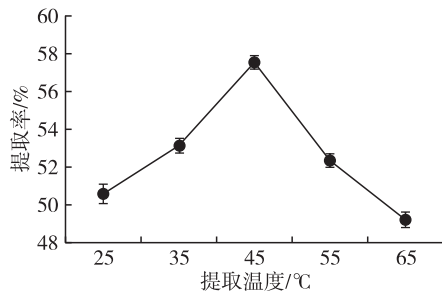


图 8 提取温度对后萃辣木籽蛋白提取率的影响

由图 8 可知,提取率随着提取温度的升高呈先增加后减小的趋势,当提取温度为 45 °C 时,提取率达到最大值,为 57.5%,提取温度继续升高,提取率下降。可能提取温度过高,会引起蛋白质和酶的损失,同时高温时表面活性剂与蛋白质发生反应,提取率随之下降^[26]。因此,选取提取温度为 45 °C。

2.2.1.4 提取时间对后萃辣木籽蛋白提取率的影响

在提取温度 45 °C、KCl 浓度 1.25 mol/L、pH 6.5 的条件下,考察提取时间分别为 30、45、60、75、90 min 对后萃辣木籽蛋白提取率的影响,结果如图 9 所示。

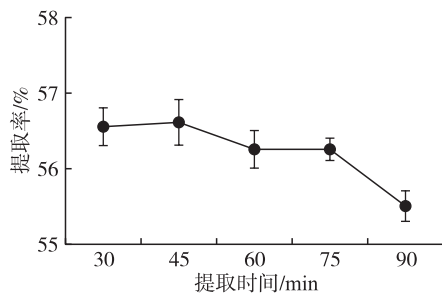


图 9 提取时间对后萃辣木籽蛋白提取率的影响

由图 9 可知,辣木籽蛋白提取率在提取时间 45 min 时达到最大,为 56.6%,随后随提取时间的延长提取率不断下降。原因可能是超声波的空化作用加速并增加了蛋白质从反胶束中溶出^[27],导致提取率逐渐下降。短时间的超声可以提高提取率,因此选取提取时间为 45 min。

2.2.2 二次通用旋转实验

根据单因素实验结果,固定提取时间为 45 min,选取提取温度(X_1)、pH(X_2)、KCl 浓度(X_3)3 个因素,采用二次通用旋转实验方案对反胶束提取辣木籽蛋白的后萃工艺进行优化,二次通用旋转实验设计及结果见表 3,方差分析见表 4。

表 3 二次通用旋转实验设计及结果

实验号	X_1 /°C	X_2	X_3 /(mol/L)	提取率(Y)/%
1	55	8.5	1.25	53.2
2	55	8.5	0.75	45.9
3	55	4.5	1.25	47.1
4	55	4.5	0.75	40.3
5	35	8.5	1.25	51.7
6	35	8.5	0.75	43.3
7	35	4.5	1.25	57.2
8	35	4.5	0.75	37.8
9	28	6.5	1.00	53.9
10	62	6.5	1.00	50.1
11	45	9.8	1.00	46.8
12	45	3.1	1.00	55.4
13	45	6.5	0.58	40.7
14	45	6.5	1.42	54.3
15	45	6.5	1.00	56.6
16	45	6.5	1.00	53.2
17	45	6.5	1.00	60.0
18	45	6.5	1.00	61.9
19	45	6.5	1.00	54.3
20	45	6.5	1.00	58.4

利用 DPS 软件对实验结果进行分析,得到二次回归模型为: $Y = 57.42154 - 0.78548X_1 + 1.86385X_2 + 4.67628X_3 - 2.46212X_1^2 - 2.81568X_2^2 - 4.05311X_3^2 + 1.50000X_1X_2 - 1.75000X_1X_3 - 1.25000X_2X_3$ 。

表 4 二次通用旋转实验方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	偏相关	F	p
X_1	8.426 0	1	8.426 0	-0.271 2	0.793 7	0.393 9
X_2	47.443 1	1	47.443 1	0.555 8	4.469 1	0.060 6
X_3	298.642 9	1	298.642 9	0.858 9	28.132 0	0.000 3
X_1^2	87.361 9	1	87.361 9	-0.671 9	8.229 4	0.016 7

续表 4

变异来源	平方和	自由度	均方	偏相关	F	p
X_2^2	114.253 1	1	114.253 1	-0.720 0	10.762 6	0.008 3
X_3^2	236.744 7	1	236.744 7	-0.830 9	22.301 2	0.000 8
X_1X_2	18.000 0	1	18.000 0	0.380 8	1.695 6	0.222 1
X_1X_3	24.500 0	1	24.500 0	-0.433 0	2.307 9	0.159 7
X_2X_3	12.500 0	1	12.500 0	-0.324 6	1.177 5	0.303 3
模型	780.792 3	9	86.754 7			0.002 1
剩余	106.157 7	10	10.615 8			
失拟	46.824 4	5	9.364 9			0.580 7
误差	59.333 3	5	11.866 7			
总和	886.950 0	19				

注: $p < 0.05$ 差异显著。

由表 4 可知,该回归模型达到显著水平 ($p < 0.05$),失拟项不显著,说明方程与实际情况拟合良好,能够反映辣木籽蛋白提取效果与提取温度、pH、KCl 浓度的关系。

通过二次通用旋转实验优化,得到最佳工艺条件为提取温度 45 °C、pH 6.5、KCl 浓度 1.25 mol/L,此条件下后萃辣木籽蛋白提取率为 58.5%。

3 结 论

本研究以脱脂辣木籽粉为原料,通过对反胶束萃取辣木籽蛋白进行单因素实验、正交实验以及二次通用旋转实验,得到反胶束前萃最佳提取工艺条件为 pH 9、料液比 1:50、提取温度 45 °C、水分活度 (W_o)25、AOT 质量浓度 0.08 g/mL,超声波辅助反胶束后萃最佳提取工艺条件为提取时间 45 min、提取温度 45 °C、pH 6.5、KCl 浓度 1.25 mol/L。在最佳条件下,前萃辣木籽蛋白提取率为 67.2%,后萃辣木籽蛋白提取率为 58.5%,最终辣木籽蛋白提取率为 39.3%。

参考文献:

[1] 汪泰,顾文宏,何军,等. 辣木新资源食品研究进展[J]. 食品工业科技,2017,38(8):364-368.

[2] 涂行浩,杜丽清,魏芳,等. 我国 7 种典型热带木本油料加工研究现状[J]. 热带农业科学,2019,39(4):114-122.

[3] 黄洁. 云南省辣木产业发展现状及趋势[J]. 农村实用技术,2018(12):24-25.

[4] ROCKWOOD J L, ANDERSON B G, CASAMATTA D A. Potential uses of *Moringa oleifera* and an examination of antibiotic efficacy conferred by *Moringa oleifera* seed and leaf extracts using crude extraction techniques available to under-served indigenous populations[J]. Int J Phytoth Res, 2013, 3: 61-71.

[5] 樊建麟,邵金良,叶艳萍,等. 辣木籽营养成分含量测定[J]. 中国食物与营养,2016,22(5):69-72.

[6] 苏科巧,陶亮,黄艾祥. 辣木食品研究进展[J]. 农产品加工,2015(1):72-74.

[7] ZHONG J, WANG Y H, YANG R, et al. The application of ultrasound and microwave to increase oil extraction from *Moringa oleifera* seeds[J]. Ind Crop Prod, 2018, 120:1-10.

[8] CARVALHO M S, ALVES B R R, SILVA M F, et al. $CaCl_2$ applied to the extraction of *Moringa oleifera* seeds and the use for *Microcystis aeruginosa* removal[J]. Chem Eng J, 2016, 304:469-475.

[9] 汪国威,李明祥,蒋璐,等. 水酶法同时制备辣木籽油和水解蛋白的工艺研究[J]. 食品工业,2018,39(1):105-108.

[10] 刘华勇. 水酶法同时提取辣木籽油和抗氧化肽的研究[D]. 广州:华南理工大学,2016.

[11] 赵翊君,刘华勇,陈森林,等. 辣木籽酶解产物的蛋白回收率及 DPPH·清除能力的研究[J]. 现代食品科技,2017,33(12):77-83.

[12] 邵婷,刘昕,黎重阳,等. 超声波辅助高效提取辣木籽中的蛋白质[J]. 食品与发酵工业,2019,45(9):207-213.

[13] 邢要非. 亚临界萃取棉籽油与反胶束纯化棉籽蛋白研究[D]. 北京:中国农业科学院,2014.

[14] 吴倩,张丽芬,陈复生,等. 反胶束萃取大豆油中的 AOT 脱除技术研究[J]. 中国油脂,2016,41(3):41-45.

[15] MOHD-SETAPAR S H, MOHAMAD-AZIZ S N, HARUN N H, et al. Review on the extraction of biomolecules by biosurfactant reverse micelles[J]. APCBEE Procedia, 2012,3(8):78-83.

[16] MOHD-SETAPAR S H, MOHAMAD-AZIZ S N, CHUONG C S, et al. A review of mixed reverse micelle system for antibiotic recovery[J]. Chem Eng Commun, 2014, 201(12):1664-1685.

[17] KADAM K L. Reverse micelles as a bioseparation tool[J]. Enzyme Microb Technol,1986,8(5):266-273.

[18] 孙雪,赵晓燕,朱运平,等. 反胶束对植物蛋白的结构、功能性和应用的影响研究进展[J]. 中国粮油学报,2020,35(1):196-202.

(下转第 98 页)

- [10] 刘玉兰. 现代植物油料油脂加工技术[M]. 郑州:河南科学技术出版社, 2015.
- [11] 刘玉兰, 黄会娜, 王璐阳, 等. 油脂吸附脱色过程氯离子含量变化及其对脱臭油中3-氯丙醇酯和缩水甘油酯的影响[J]. 中国油脂, 2019, 44(10): 85-89.
- [12] 任我行. 油脂精炼过程3-MCPD酯和缩水甘油酯的控制与脱除研究[D]. 郑州:河南工业大学, 2018.
- [13] 任我行, 刘玉兰, 马宇翔, 等. 玉米油脱臭条件对3-氯丙醇酯和缩水甘油酯影响的研究[J]. 中国油脂, 2018, 43(4): 57-60.
- [14] SVEJKOVSKA B, MAREK D, JAN V. Formation and decomposition of 3-chloropropane-1, 2-diol esters in models simulating processed foods[J]. Czech J Food Sci, 2006, 24(4): 172-179.
- [15] SIM B I, MUHAMAD H, LAI O M, et al. New insights on degumming and bleaching process parameters on the formation of 3-monochloropropane-1,2-diol esters and glycidyl esters in refined, bleached, deodorized palm oil [J]. J Oleo Sci, 2018, 67(4): 397-406.
- [16] MATTHAUS B, FRANK P. Mitigation of 3-MCPD and glycidyl esters within the production chain of vegetable oils especially palm oil[J]. Lipid Technol, 2013, 25(7): 151-155.
- [17] 李昌. 油脂中3-氯丙醇酯的暴露评估及其在热加工过程中的形成机理和控制[D]. 南昌:南昌大学, 2015.
- [18] ZHAO Y, ZHANG Y, ZHANG Z, et al. Formation of 3-MCPD fatty acid esters from monostearoyl glycerol and the thermal stability of 3-MCPD monoesters[J]. J Agric Food Chem, 2016, 64(46): 8918-8926.
- [19] ERMACORA A, HRNCIRIK K. Influence of oil composition on the formation of fatty acid esters of 2-chloropropane-1, 3-diol (2-MCPD) and 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) under conditions simulating oil refining[J]. Food Chem, 2014, 161: 383-389.
- [20] 吴少明, 傅武胜, 杨贵芝. 食用植物油中脂肪酸氯丙醇酯形成机制的研究进展[J]. 食品科学, 2014, 35(1): 266-270.
- [21] SHIMIZU M, WEITKAMP P, VOSMANN K, et al. Influence of chloride and glycidyl-ester on the generation of 3-MCPD- and glycidyl-esters[J]. Eur J Lipid Sci Technol, 2013, 115(7): 735-739.
- [22] CICHELLI A, RICIPUTI Y, CERRETANI L, et al. Glycidols esters, 2-chloropropane-1,3-diols and 3-chloropropane-1,2-diols contents in real olive oil samples and their relation with diacylglycerols[J]. J Am Oil Chem Soc, 2020, 97(1): 15-23.
- [23] 周红茹, 金俊, 杨娇, 等. 油脂中3-氯丙二醇酯形成的化学反应机制[J]. 中国粮油学报, 2012, 27(10): 118-122.

(上接第85页)

- [19] 段琼芬, 刘飞, 罗金岳, 等. 辣木籽油的超临界CO₂萃取及其化学成分分析[J]. 中国油脂, 2010, 35(2): 76-79.
- [20] 答丽霞, 王宇, 陈君红, 等. 反胶束体系萃取牡丹籽蛋白的两种工艺比较研究[J]. 中国油脂, 2016, 41(8): 23-27.
- [21] 王悦. 反胶束法提取核桃蛋白及蛋白理化性质的研究[D]. 河北邯郸:河北工程大学, 2018.
- [22] NISHIKI T, SATO I, KATAOKA T, et al. Partitioning behavior and enrichment of protein with reversed micellar extraction; I. forward extraction of proteins from aqueous to reversed micellar phase [J]. Biotechnol Bioeng, 1993, 42(5): 596-600.
- [23] 代佳和, 罗旋飞, 史崇颖, 等. 响应面法优化辣木叶中水溶性蛋白提取工艺研究[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2020, 35(1): 130-138.
- [24] NORITOMI H, KOJIMA N, KATO S, et al. How can temperature affect reverse micellar extraction using sucrose fatty acid ester? [J]. Colloid Polym Sci, 2006, 284(6): 683-687.
- [25] 徐怀德. 天然产物提取工艺学[M]. 北京:中国轻工业出版社, 2006: 196-204.
- [26] 程小丽, 陈复生, 李里特, 等. 超声波辅助AOT反胶束体系后萃大豆蛋白的研究[J]. 食品与机械, 2009, 25(5): 71-74.
- [27] HILHORST R, FIJNEMAN P, HEERING D, et al. Protein extraction using reversed micelles [J]. Pure Appl Chem, 1992, 64(11): 1765-1770.