

综合利用

牡丹籽分离蛋白提取工艺及乳化特性

李 强, 罗松明, 钟 焱, 屠瀚超, 岳春秀, 王丽丽

(四川农业大学 食品学院, 四川 雅安 625000)

摘要:采用单因素试验及响应面法优化盐溶法提取牡丹籽分离蛋白工艺,并测定不同 pH 下牡丹籽分离蛋白的乳化特性。结果表明:牡丹籽分离蛋白的最佳提取工艺条件为提取时间 69 min、提取温度 40℃、料液比 1:20、NaCl 浓度 1.03 mol/L,在此条件下牡丹籽分离蛋白得率为 $(23.49 \pm 1.21)\%$,纯度为 $(90.75 \pm 0.87)\%$;牡丹籽分离蛋白乳液在 pH 为 8 时,乳化能力、乳液热稳定性均最高,分别为 $(85.27 \pm 1.23)\%$ 和 $(90.74 \pm 1.07)\%$;乳液在 pH 2~5 时,形成 Pickering 乳液,显著增加乳液热稳定性、粒径,改变乳液颜色;乳液 pH 8~10,形成 O/W 型乳液,乳液 pH 越高,乳化能力、乳液热稳定性越低,乳液粒径越小,乳液颜色越深;乳液中性条件下,粒径较大,热稳定性较低。

关键词:牡丹籽;分离蛋白;盐溶法;乳化特性;pH

中图分类号:TS229;TQ936.2 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2018)08-0127-06

Extraction process and emulsifying properties of peony seed protein isolate

LI Qiang, LUO Songming, ZHONG Yan, TU Hanchao, YUE Chunxiu, WANG Lili

(Food College, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625000, Sichuan, China)

Abstract: The extraction of peony seed protein isolate by salt solvent method was optimized by single factor experiment and response surface methodology, and the emulsifying properties of peony seed protein isolate under different pH were determined. The results showed that the optimal extraction conditions of peony seed protein isolate were obtained as follows: extraction time 69 min, extraction temperature 40℃, ratio of material to liquid 1:20 and NaCl concentration 1.03 mol/L. Under these conditions, the yield of peony seed protein isolate was $(23.49 \pm 1.21)\%$, and the purity was $(90.75 \pm 0.87)\%$. When the pH was 8, the emulsifying capacity and the emulsion thermal stability were the highest, which were $(85.27 \pm 1.23)\%$ and $(90.74 \pm 1.07)\%$ respectively. When the emulsion pH was 2-5, Pickering emulsion was formed, the thermal stability and particle size of the emulsion increased remarkably, and the color of the emulsion changed. When the emulsion pH was 8-10, O/W emulsion was formed and the higher of the emulsion pH, the lower of the emulsifying capacity and emulsion thermal stability, the smaller of the particle size of emulsion, and the darker of the emulsion color. Under the neutral condition, the particle size of the emulsion was larger, while the thermal stability was lower.

Key words: peony seed; protein isolate; salt solvent method; emulsifying property; pH

牡丹籽,由木本植物油用牡丹(*Paeonia Suffruticosa* Andr.)产出,近年来,油用牡丹逐渐成为热门的油料作物,其种植面积 20 200 hm²,牡丹籽产量 57 800 t,还保持持续增长的趋势^[1]。牡丹籽油中不

饱和脂肪酸含量达到 90%,主要为亚油酸和亚麻酸^[1]。2011 年牡丹籽油被批准为新资源食品^[2],促使牡丹籽油产量急剧增加,其中榨油副产物牡丹籽饼粕产量也大量增加。不同来源的牡丹籽饼粕中蛋白质含量(干基)为 25%~35%^[3-4]。合理的利用蛋白质资源,有利于提高附加产值。

宋艳秋^[3]、庞雪凤^[4]等采用碱提酸沉提取牡丹籽蛋白,得到较高的得率,但是碱提酸沉得到的蛋白纯度较低,易变性。盐溶法^[5]是现代工业提取常用

收稿日期:2017-10-11;修回日期:2018-03-22

作者简介:李 强(1993),男,在读硕士,研究方向为粮油加工理论与技术(E-mail)309814217@qq.com。

通信作者:罗松明,副教授(E-mail)luosming519@163.com。

的方式,有操作简便、蛋白得率较高等优点。同时,盐溶法使用 NaCl 溶液能保护蛋白质不变性从而保证蛋白质自身拥有的特性和良好的功能性质^[6],与管丽霞等^[7]采用反胶束体系萃取相比,盐溶法能更容易除去非蛋白质物质而得到纯度较高的蛋白。研究蛋白质功能性质有助于改良生产原料,增加蛋白的用途。其中乳化特性被认为是工业用途中重要的功能性质之一。Dong 等^[8]研究表明不同 pH 下,蛋白质表面电荷的改变导致乳化特性的变化。本文拟采用响应面法优化牡丹籽蛋白提取工艺,得到分离蛋白,并测定不同 pH 条件改良下的乳化特性,为牡丹籽分离蛋白生产及应用提供有价值的参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

牡丹籽(品种凤丹),购买于山东省菏泽市牡丹区众达牡丹种植专业合作社。考马斯亮蓝试剂盒(南京天根);透析袋(8 000 ~ 14 000 Da);石油醚(30 ~ 60 °C)、硫酸、氯化钾、硫酸铜、氯化钠、氢氧化钠等,均为分析纯。

1.1.2 仪器与设备

BT 124S 电子天平, PHS - 3E pH 计, ZWY - 110X30 往复式水浴恒温摇床, FDV 超细粉碎机, X3R 冷冻离心机, LGJ - 18S 冷冻干燥机, Varioskan Flash 荧光酶标仪, Rise - 2006 激光粒度仪, CX31RTSF 生物显微镜, FJ200 - SH 数显高速分散均质机。

1.2 试验方法

1.2.1 牡丹籽脱脂粉制备及蛋白质含量测定

粉碎机破碎牡丹籽仁壳,于 60 °C 烘箱烘至恒重,粗粉碎,过 40 目筛,得牡丹籽全粉。采用索氏提取法,石油醚为脱脂剂,在料液比 1:20、提取温度 40 °C、提取时间 8 h 的条件下脱脂,牡丹籽脱脂粉置于通风橱挥干溶剂,粉碎过 80 目筛,得牡丹籽脱脂粉,于 4 °C 冰箱保存备用。采用 GB 5009.5—2016,凯氏定氮法测定牡丹籽脱脂粉中蛋白质含量。

1.2.2 牡丹籽分离蛋白的提取

称取牡丹籽脱脂粉 2 g,加入一定浓度的 NaCl 溶液提取牡丹籽分离蛋白,分别以提取温度、pH、NaCl 浓度、提取时间、料液比为单因素,考察蛋白质溶出效果。溶解后以 7 000 r/min 离心 15 min 后,静置 10 min,取上清液,装入 8 000 ~ 14 000 Da 的透析袋中透析 72 h,真空冷冻干燥。可溶性蛋白含量测定参照 Bradford^[9]的考马斯亮蓝法。每组试验重复 3 次,取平均值。

$$\text{蛋白得率} = \frac{\text{提取液中的蛋白质量}}{\text{牡丹籽脱脂粉质量}} \times 100\%$$

1.2.3 乳化能力的测定

参照 Benelhadj 等^[10]方法,略改。将 0.500 g 牡丹籽分离蛋白分散于 45 mL 去离子水,室温下,磁力搅拌器搅拌 1 h,用 1 mol/L HCl 和 1 mol/L NaOH 调节溶液 pH 为 2 ~ 10,梯度为 1,保持恒定 pH 定容于 50 mL,得到蛋白溶液或者悬浮液。每份蛋白溶液或者悬浮液加入 50 mL 食用油,均质机均质 2 min,转速 10 000 r/min。准确量取 40 mL 装入 50 mL EP 管中,1 000 r/min 离心 2 min,吸取液体层,记录液体层体积,做 3 次平行。乳化能力(EC)计算公式如下:

$$\text{乳化能力} = 1 - \frac{\text{液体层体积}}{\text{离心总体积}} \times 100\%$$

1.2.4 乳液热稳定性的测定

量取 15 mL 1.2.3 稳定乳液层于 15 mL 带刻度的 EP 管中,室温下静置,每 1 h 观察 1 次,至乳液层不再发生变化,记录水浴前乳液体积。将稳定乳液于 80 °C 水浴 30 min,1 000 r/min 离心 2 min 记录水浴后乳液层体积。乳液热稳定性(EHS)计算公式如下:

$$\text{乳液热稳定性} = \frac{\text{水浴后乳液体积}}{\text{水浴前乳液体积}} \times 100\%$$

1.2.5 乳液颜色

取 1.2.3 得到乳液层装满干净透明长方体玻璃器皿,采用色差仪测定乳液表面颜色,每个点测定 5 次取平均值,选取 3 个不同点测定,记录 L、a*、b* 值。

1.2.6 乳液平均粒径的测定和显微结构

取 1.2.3 稳定乳液层,以激光粒度仪测定乳液粒径,以水为分散介质,控制遮光比在 1 ~ 2 之间,选择动态测定,每 3 s 自动记录数据,待其粒径稳定后取 8 个数值统计分析,并保存平均粒径分布曲线图。

取 1.2.3 稳定乳液层采用光学显微镜,于 100 倍物镜观察拍照,电极偶联的摄影设备拍摄并观察乳滴微观结构。

2 结果与讨论

2.1 牡丹籽脱脂粉蛋白质含量及得率标准偏差

凯氏定氮法测定 3 次,牡丹籽脱脂粉蛋白质含量为(29.999 ± 1.80)%。得率标准偏差均在 5% 以内。

2.2 牡丹籽分离蛋白提取单因素试验

2.2.1 提取时间对得率的影响

在料液比为 1:20、提取温度为 40 °C、NaCl 浓度

为 1 mol/L 的条件下提取牡丹籽分离蛋白,提取时间对牡丹籽分离蛋白得率的影响结果见图 1。

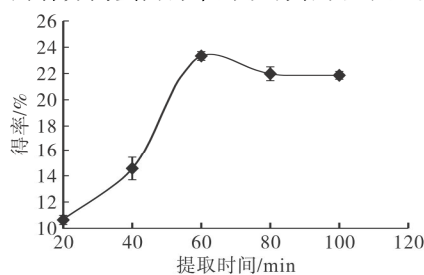


图1 提取时间对牡丹籽分离蛋白得率的影响

从图 1 可以看出,当提取时间为 60 min,得率最大;提取时间在 60 ~ 100 min 内,得率变化较小。提取时间短于 60 min,提取不够充分,因此得率较低;提取时间长于 60 min,得率有所降低,由于振荡时间较长,蛋白质部分沉淀,高献礼等^[11]研究酱油中蛋白质在超声振荡后沉淀量增加,由此可知高盐溶液中振荡提取时间过长,蛋白质会发生聚沉。

2.2.2 提取温度对得率的影响

在提取时间为 60 min、NaCl 浓度为 1 mol/L、料液比为 1:20 条件下提取牡丹籽分离蛋白,提取温度对牡丹籽分离蛋白得率的影响结果见图 2。

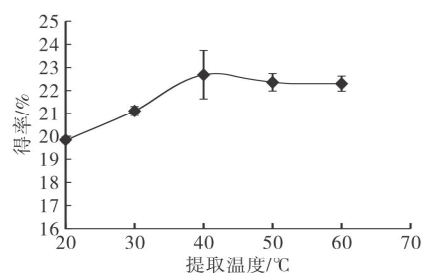


图2 提取温度对牡丹籽分离蛋白得率的影响

从图 2 可以看出,提取温度低于 40°C,随着提取温度的升高得率增加;提取温度高于 40°C,由于温度过高,使蛋白质部分变性造成聚沉,引起得率降低。瞿杰^[12]采用差示扫描量热分析仪(DSC)测定碱提酸沉牡丹籽分离蛋白的变性温度,43.23 ~ 67.40°C 之间存在 1 个峰,表明牡丹籽分离蛋白在 43.23°C 开始发生玻璃化转变。结合提取温度对得率的影响,表明牡丹籽分离蛋白在提取温度超过 40°C 后因变性得率降低。

2.2.3 料液比对得率的影响

在提取时间为 60 min、NaCl 浓度为 1 mol/L、提取温度为 40°C 条件下提取牡丹籽分离蛋白,料液比对牡丹籽分离蛋白得率的影响结果见图 3。

从图 3 可以看出,料液比增加到 1:20 得率有较高值,趋势较陡;料液比继续增加得率变化不大,说

明达到饱和状态。为了节约溶剂,因此选择 1:20 为最佳料液比。

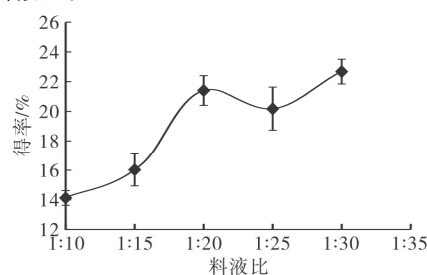


图3 料液比对牡丹籽分离蛋白得率的影响

2.2.4 NaCl 浓度对得率的影响

在提取时间为 60 min、提取温度为 40°C、料液比为 1:20 的条件下提取牡丹籽分离蛋白,NaCl 浓度对牡丹籽分离蛋白得率的影响结果见图 4。

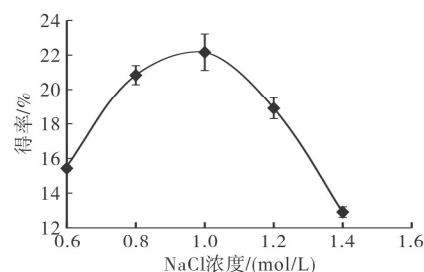


图4 NaCl 浓度对牡丹籽分离蛋白得率的影响

从图 4 可以看出,随着 NaCl 浓度增加至 1 mol/L,牡丹籽分离蛋白得率随 NaCl 浓度增加而增加,此时是盐溶效应,盐离子浓度越高,牡丹籽分离蛋白分子吸附离子,加强与水分子的相互作用,增加溶解度。NaCl 浓度大于 1 mol/L 时,得率逐渐降低,此时为盐析效应,盐离子浓度继续增加,自由水减少,蛋白质空间疏水结构暴露,发生凝聚进而沉淀^[13-14]。

2.3 牡丹籽分离蛋白提取响应面实验

2.3.1 响应面模型分析

根据单因素试验结果,选择提取时间、NaCl 浓度、提取温度、料液比为自变量,以牡丹籽分离蛋白得率为响应值,应用 Design Expert 8.0.6 设计响应面实验,共 29 个试验点进行误差分析。响应面实验因素与水平见表 1,响应面实验设计及结果见表 2,方差分析见表 3。

表1 响应面实验因素与水平

水平	A 提取时间/min	B 提取温度/°C	C 料液比	D NaCl 浓度/(mol/L)
-1	40	30	1:15	0.8
0	60	40	1:20	1.0
1	80	50	1:25	1.2

表2 响应面试验设计及结果

试验号	A	B	C	D	Y 得率/%
1	-1	-1	0	0	18.05
2	1	-1	0	0	21.62
3	-1	1	0	0	20.78
4	1	1	0	0	20.83
5	0	0	-1	-1	14.13
6	0	0	1	-1	19.27
7	0	0	-1	1	19.45
8	0	0	1	1	16.37
9	-1	0	0	-1	16.87
10	1	0	0	-1	17.34
11	-1	0	0	1	16.54
12	1	0	0	1	19.91
13	0	-1	-1	0	18.18
14	0	1	-1	0	21.40
15	0	-1	1	0	21.27
16	0	1	1	0	17.97
17	-1	0	-1	0	18.22
18	1	0	-1	0	20.52
19	-1	0	1	0	20.27
20	1	0	1	0	21.78
21	0	-1	0	-1	15.58
22	0	1	0	-1	18.38
23	0	-1	0	1	18.16
24	0	1	0	1	18.38
25	0	0	0	0	22.92
26	0	0	0	0	22.14
27	0	0	0	0	23.06
28	0	0	0	0	23.06
29	0	0	0	0	23.66

根据表2进行二次模型方程拟合,得到多元二次方程: $Y = 22.97 + 0.94A + 0.41B + 0.42C + 0.60D - 0.88AB - 0.20AC + 0.73AD - 1.63BC - 0.65BD - 2.05CD - 1.20A^2 - 1.46B^2 - 1.68C^2 - 3.99D^2$ 。得率取决于方程中每个因素对应的系数,系数为正值代表该因素与得率正相关,负值呈负相关。 A^2 、 B^2 、 C^2 和 D^2 的系数均为负值,能在因素水平中取得最大值,说明模型设计合理,能进行最优工艺分析。

由表3可知,该二次模型决定系数 R^2 为97.42%,表明该试验有97.42%数据用该方程来解释。本试验CV为2.86%,表明该模型置信度高,进一步说明该方程能对牡丹籽分离蛋白得率进行分析和预测。

4个因素对牡丹籽蛋白得率的作用大小顺序为: A (提取时间) $> D$ (NaCl浓度) $> C$ (料液比) $> B$ (提取温度)。模型一次项 A 和 D ,交互项 AB 、 BC 和 CD ,二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 影响极显著;一次项 B 和 C ,交互项 AD 和 BD 影响显著;交互项 AC 影响不显著。

表3 方差分析

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P
模型	165.11	14	11.79	37.79	<0.000 1**
A	10.58	1	10.58	33.91	<0.000 1**
B	1.98	1	1.98	6.36	0.024 4*
C	2.11	1	2.11	6.76	0.021 0*
D	4.37	1	4.37	14.00	0.002 2**
AB	3.10	1	3.10	9.92	0.007 1**
AC	0.16	1	0.16	0.50	0.491 1
AD	2.10	1	2.10	6.74	0.021 2*
BC	10.63	1	10.63	34.05	<0.000 1**
BD	1.66	1	1.66	5.33	0.036 7*
CD	16.89	1	16.89	54.12	<0.000 1**
A^2	9.27	1	9.27	29.71	<0.000 1**
B^2	13.86	1	13.86	44.42	<0.000 1**
C^2	18.38	1	18.38	58.88	<0.000 1**
D^2	103.24	1	103.24	330.76	<0.000 1**
残差	4.37	14	0.31		
失拟项	3.19	10	0.32	1.08	0.514 9
纯误差	1.18	4	0.30		
总误差	169.48	28			

2.3.2 最佳提取工艺条件的确定

为了进一步确定牡丹籽分离蛋白最佳提取工艺,采用 Design Expert 8.0.6 在各因素所选水平范围之内分析,得到牡丹籽分离蛋白最佳提取工艺参数为:提取时间 68.73 min,提取温度 39.52 °C,料液比 1:20.30,NaCl 浓度 1.03 mol/L。在此条件下,按照模型预测出牡丹籽分离蛋白理论值为 23.21%。根据实际情况,最终将最优工艺参数确定为:提取时间 69 min,提取温度 40 °C,料液比 1:20,NaCl 浓度 1.03 mol/L。按照改良提取工艺参数进行 3 次验证试验,实际测得牡丹籽分离蛋白得率平均值为(23.49 ± 1.21)%,脱脂粉蛋白质含量为(29.999 ± 1.80)%,因此 78.30% 牡丹籽蛋白被有效提取,并且分离蛋白纯度为(90.75 ± 0.87)%。刘柏华等^[15]碱提酸沉得到 81.49% 蛋白被有效提取,宋艳秋等^[3]碱提酸沉 62.95% 蛋白被有效提取,提取蛋白中蛋白质含量为 68.06%。本试验采用盐溶法蛋白得率不仅能接近高得率的碱提酸沉法,而且纯度更高,拥有更多的用途。

2.4 不同 pH 下牡丹籽分离蛋白的乳化特性

2.4.1 乳化能力和乳液热稳定性

蛋白质作为乳化剂,形成 O/W 乳液,若在界面形成单分子层,能稳定 O/W 乳液。不同 pH 对牡丹籽分离蛋白的乳化能力(EC)和乳液热稳定性(EHS)影响见图 5。

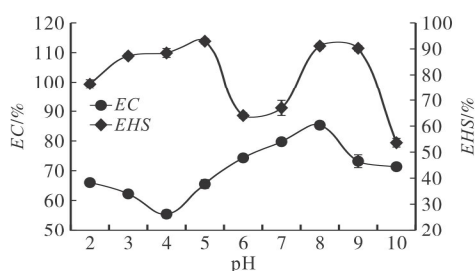


图5 不同pH对EC和EHS的影响

从图5可以看出,当pH为4,接近蛋白质等电点,界面处吸附较少蛋白质,薄膜易被破坏,此时蛋白质的乳化能力最低,仅为 $(55.25 \pm 1.14)\%$;在pH为8时,蛋白质在碱性条件下易溶解于界面,取得最高点,为 $(85.27 \pm 1.23)\%$;该结果与 Benelhadj 等^[10]和 Laura 等^[16]研究结果相近。随后却开始降低,可以初步判定蛋白质在pH大于8时开始水解,于是无法继续稳定薄膜结构;当pH大于9,乳液形成后迅速油水分离,乳化性能显著减小,能证明强碱在较短时间内水解蛋白质为小分子链,稳定O/W被严重破坏,乳化性能变差。

牡丹籽分离蛋白乳液热稳定性在pH 2~5之间,因为蛋白质溶解度较低,形成Pickering乳液^[17],热稳定性增加,且稳定性较高;pH为6~8之间,热稳定性增加;pH大于9,热稳定性显著减小。蛋白质在弱酸和弱碱下,界面带电荷,能够让界面吸附更多蛋白质分子,热稳定性增加;强碱强酸下,蛋白质肽键水解,分解为小分子,乳液稳定结构容易被破坏,

因此稳定性降低。Ghribi 等^[18]研究表明水解度越大,其乳化活性指数和乳化稳定性均有所降低,说明小分子肽类不能在界面上展开,因此乳化性质均降低。

2.4.2 乳液颜色及粒径(见表4)

表4 不同pH下乳液颜色和平均粒径

pH	L	a*	b*	平均粒径/ μm
2	$50.90 \pm 0.28^{\text{de}}$	$8.18 \pm 0.56^{\text{a}}$	$11.42 \pm 0.24^{\text{b}}$	$59.09 \pm 0.23^{\text{a}}$
3	$50.21 \pm 0.78^{\text{cd}}$	$7.93 \pm 0.61^{\text{a}}$	$11.47 \pm 0.23^{\text{b}}$	$56.81 \pm 0.27^{\text{b}}$
4	$52.29 \pm 0.41^{\text{c}}$	$7.75 \pm 0.63^{\text{a}}$	$10.12 \pm 0.12^{\text{a}}$	$54.41 \pm 0.41^{\text{d}}$
5	$57.05 \pm 0.69^{\text{e}}$	$7.09 \pm 0.09^{\text{a}}$	$12.72 \pm 0.06^{\text{bcd}}$	$45.70 \pm 0.46^{\text{e}}$
6	$47.92 \pm 0.28^{\text{b}}$	$6.88 \pm 0.10^{\text{a}}$	$11.90 \pm 0.17^{\text{bc}}$	$54.25 \pm 0.30^{\text{e}}$
7	$46.12 \pm 0.37^{\text{a}}$	$7.09 \pm 0.46^{\text{a}}$	$11.40 \pm 0.30^{\text{b}}$	$55.81 \pm 0.46^{\text{e}}$
8	$48.96 \pm 0.45^{\text{bc}}$	$7.60 \pm 0.24^{\text{a}}$	$12.60 \pm 1.37^{\text{bcd}}$	$51.79 \pm 0.05^{\text{f}}$
9	$48.76 \pm 1.32^{\text{bc}}$	$7.46 \pm 0.96^{\text{a}}$	$12.91 \pm 0.53^{\text{cd}}$	$42.57 \pm 0.05^{\text{h}}$
10	$54.35 \pm 1.59^{\text{f}}$	$7.76 \pm 0.54^{\text{a}}$	$13.55 \pm 0.51^{\text{d}}$	$25.21 \pm 0.06^{\text{i}}$

注:L、a*、b*下不同小写字母表示差异显著,平均粒径下不同小写字母表示差异极显著。

从表4可以看出,L、b*具有差异显著性,pH为7~10时随着pH升高,L、b*均增加,但当pH小于5时,由于接近蛋白质等电点,部分蛋白质析出,形成Pickering乳液,使其颜色发生较大变化($P < 0.05$)。

由表4可知,pH 2~5之间,此时为Pickering乳液,平均粒径均较大^[17,19];pH为7~10之间,pH为7平均粒径最大,为 $(55.81 \pm 0.46)\mu\text{m}$,随着pH偏向碱性,蛋白质会有一定水解,平均粒径减小,进一步说明蛋白质的水解能降低乳化性质。

2.4.3 乳液的微观结构(见图6)

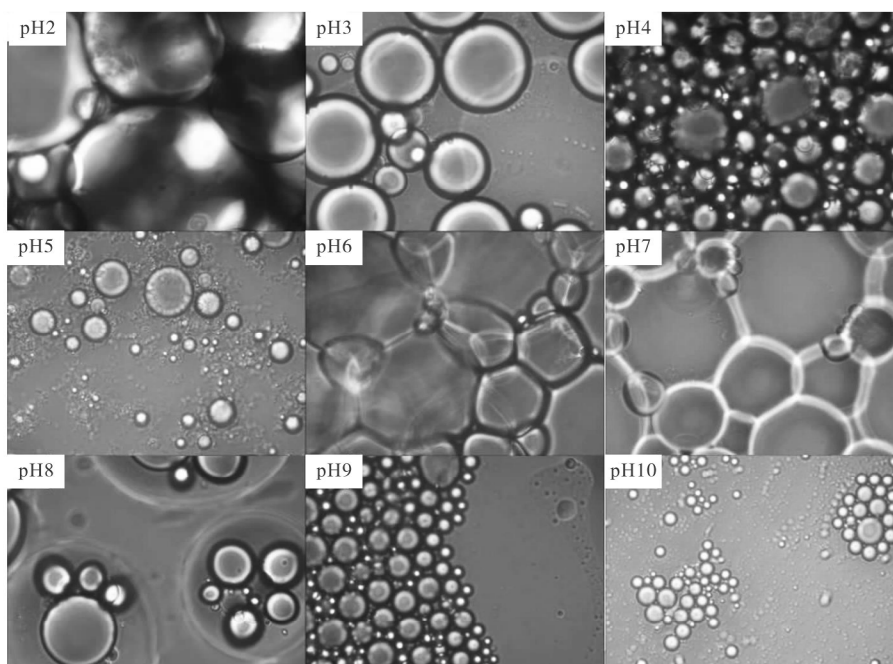


图6 pH 2~10乳液显微结构图

由图6可知,在pH 4时油滴含量较多,进一步说明蛋白质等电点溶解度降低致使乳化特性相对较低。pH 6和pH 7时乳滴相互接触,发生形变,热稳定性较低。pH 3和pH 8时乳滴均表现较稳定的结构。

3 结论

牡丹籽脱脂粉中蛋白质含量丰富,为(29.999 ± 1.80)% ,具有利用价值。应用盐溶法提取牡丹籽蛋白,该法所得蛋白质能保证良好的功能性质及较高的纯度,通过单因素试验和响应面试验优化提取工艺,确定了最优提取工艺条件为:提取时间69 min,提取温度40℃,料液比1:20,NaCl浓度1.03 mol/L。在最优条件下,牡丹籽分离蛋白得率为(23.49 ± 1.21)% ,纯度为(90.75 ± 0.87)%。

牡丹籽分离蛋白乳液在pH为8时,乳化能力及乳化热稳定性均最高;等电点附近(pH 2~5),形成Pickering乳液,乳液热稳定性显著增加,乳液粒径较大,乳液颜色变化显著;pH大于9,牡丹籽分离蛋白水解,因此形成的O/W乳液界面不稳定,乳液热稳定性显著减小,平均粒径显著减小,因此加入强碱物质可以作为破乳手段;O/W乳液在接近中性条件下乳液热稳定性较小,平均粒径较大,颜色最浅。颜色与乳液粒径、乳液热稳定性具有一定相关性,可以作为后续建模研究。牡丹籽分离蛋白产量较高,乳化性能较好,可以继续研究改良,开发为一种新型的乳化制剂。

参考文献:

- [1] LI S S, YUAN R Y, CHEN L G, et al. Systematic qualitative and quantitative assessment of fatty acids in the seeds of 60 tree peony (*Paeonia section Moutan* DC.) cultivars by GC-MS[J]. Food Chem, 2015, 173:133-140.
- [2] 张正周, 张驰松, 郑旗, 等. 油用牡丹籽油水酶法提取工艺的研究[J]. 农业与技术, 2016, 36(3):30-32.
- [3] 宋艳秋, 吴苏喜, 肖志红. 牡丹籽蛋白的制备工艺优化及功能性质评价[J]. 中国油脂, 2015, 40(7):26-30.
- [4] 庞雪风, 何东平, 胡传荣, 等. 牡丹籽油的提取及蛋白制备工艺的研究[J]. 食品工业, 2013, 34(8):73-76.
- [5] MURRAY E D, MYERS C D, BARKER L D. Protein product and process for preparing same: US4169090 A [P]. 1979-09-25.
- [6] 王丹, 江英, 王陈强, 等. 脱脂葡萄籽粕蛋白质提取工艺优化[J]. 农产品加工, 2015, 2(3):22-26.
- [7] 咎丽霞, 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.
- [8] DONG D, HUA Y F. Emulsifying behaviors and interfacial properties of different protein/gum arabic complexes: effect of pH[J]. Food Hydrocoll, 2018, 74:289-295.
- [9] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Anal Biochem, 1976, 72(1/2):248-254.
- [10] BENELHADJ S, GHARSALLAOUI A, DEGRAEVE P, et al. Effect of pH on the functional properties of *Arthrospira (Spirulina) platensis* protein isolate[J]. Food Chem, 2016, 194:1056-1063.
- [11] 高献礼, 孙鹏飞, 闫爽, 等. 酱油二次沉淀制备方法的对比[J]. 食品发酵与工程, 2013, 39(1):46-50.
- [12] 瞿杰. 牡丹籽油脂的理化性质研究及抗氧化肽的分离鉴定[D]. 合肥:合肥工业大学, 2017.
- [13] KRISNA C D, SANDRA B G. Chapter seven - salting out of protein using ammonium sulfate precipitation[J]. Meth Enzymol, 2014, 148:85-94.
- [14] 李超, 蒲彪, 刘兴艳, 等. 响应面法优化花椒籽仁蛋白质盐提工艺条件[J]. 中国油脂, 2017, 42(6):97-101, 120.
- [15] 刘柏华, 殷钟意, 郑旭煦, 等. 超声波对牡丹籽粕蛋白质碱提酸沉工艺及氨基酸组成的影响[J]. 食品与发酵工业, 2015, 41(9):215-219.
- [16] LAURA A D, HUMBERTO H S, GUSTAVO F G, et al. Modification of the soy protein isolate surface at nanometric scale and its effect on physicochemical properties[J]. J Food Eng, 2016, 168:105-112.
- [17] ZHU X F, ZHANG N, LIN W F, et al. Freeze-thaw stability of pickering emulsions stabilized by soy and whey protein particles [J]. Food Hydrocoll, 2017, 69:173-184.
- [18] GHRIBI A M, GAFSI I M, SILA A, et al. Effects of enzymatic hydrolysis on conformational and functional properties of chickpea protein isolate[J]. Food Chem, 2015, 187:322-330.
- [19] DAI L, SUN C X, WEI Y, et al. Characterization of Pickering emulsion gels stabilized by zein/gum arabic complex colloidal nanoparticles [J]. Food Hydrocoll, 2018, 74:239-248.