

## 核桃蛋白制备工艺研究

高盼<sup>1,2</sup>, 杨歆萌<sup>1</sup>, 马开创<sup>1</sup>, 潘坤<sup>3</sup>, 胡传荣<sup>1,2</sup>, 何东平<sup>1,2</sup>, 张四红<sup>1</sup>

(1. 武汉轻工大学 食品科学与工程学院, 武汉 430023; 2. 大宗粮油精深加工教育部重点实验室, 武汉 430023;  
3. 丰益(上海)生物技术研发中心有限公司, 上海 200137)

**摘要:**以提高核桃蛋白产品的附加值为目的,探索核桃蛋白制备工艺。利用单因素实验和正交实验分别对水酶法结合超声法制备核桃蛋白工艺和糖化酶处理纯化核桃蛋白工艺条件进行优化。结果表明:核桃蛋白的最佳制备工艺条件为料液比 1:20、酶解时间 2.0 h、加酶量 2.0%、温度 50℃、pH 9.0,在此条件下核桃蛋白得率为 78.16%,蛋白质含量为 82.53%;核桃蛋白的最佳纯化工艺条件为酶解温度 50℃、pH 4.5、酶解时间 140 min、加酶量 0.4%,在此条件下,核桃蛋白纯度为 94.16%。

**关键词:**核桃蛋白;超声;水酶法;提取;纯化

中图分类号:TS225.1;TS221 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2021)01-0052-06

### Preparation of walnut protein

GAO Pan<sup>1,2</sup>, YANG Xinmeng<sup>1</sup>, MA Kaichuang<sup>1</sup>, PAN Kun<sup>3</sup>,  
HU Chuanrong<sup>1,2</sup>, HE Dongping<sup>1,2</sup>, ZHANG Sihong<sup>1</sup>

(1. College of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China;  
2. Key Laboratory of Bulk Grain and Oil Intensive Processing, Ministry of Education, Wuhan 430023, China;  
3. Wilmar (Shanghai) Biotechnology R & D Center Co., Ltd., Shanghai 200137, China)

**Abstract:** In order to improve the added value of walnut protein products, the preparation process of walnut protein was explored. Using single factor experiment and orthogonal experiment, the conditions for the extraction of walnut protein by aqueous enzymatic method combined with ultrasound and the purification of walnut protein by glucoamylase treatment were optimized. The results showed that the optimal extraction conditions were obtained as follows: ratio of material to liquid 1:20, enzymolysis time 2.0 h, amount of enzyme 2.0%, temperature 50℃, pH 9.0. Under the optimal conditions, the yield of walnut protein was 78.16%, and the content of protein was 82.53%. The optimal purification process conditions were obtained as follows: enzymolysis temperature 50℃, pH 4.5, enzymolysis time 140 min, amount of enzyme 0.4%. Under these conditions, the purity of walnut protein was 94.16%.

**Key words:** walnut protein; ultrasound; aqueous enzymatic method; extraction; purification

核桃制油过程中会产生大量的副产物核桃粕<sup>[1]</sup>,粕中含有大量的蛋白质。蛋白质作为构成人体细胞的基础物质,在人体的营养构成和饮食结构方面不可或缺,占有极其重要的地位,核桃仁中蛋白

质含量达 17%~27%,是良好的蛋白质来源。但目前核桃粕经简单加工后主要用作肥料或饲料,粕中蛋白质利用率低<sup>[2]</sup>,造成了营养成分的浪费。研究发现,核桃蛋白的消化率和净蛋白比值相较于其他普通蛋白的高<sup>[3]</sup>,营养价值与动物蛋白相近,并含有丰富的 8 种人体必需氨基酸,是一种优质植物蛋白<sup>[4-6]</sup>。目前国内外市场上核桃蛋白制品主要为核桃蛋白粉、核桃蛋白乳及饮料<sup>[3-5]</sup>等产品,但应用相对较少,因此开发高附加值的核桃蛋白是核桃深加

收稿日期:2020-06-23;修回日期:2020-09-21

基金项目:湖北省重大科技计划项目(2019ABA096)

作者简介:高盼(1990),女,讲师,博士,研究方向为粮食、油脂及植物蛋白(E-mail)gaopan925@163.com。

通信作者:张四红,副教授(E-mail)whzhsh@126.com。

工未来发展的趋势和方向。

蛋白的制备方法主要有碱溶酸沉法<sup>[7]</sup>、盐溶酸沉法<sup>[8]</sup>、反胶束法<sup>[9]</sup>、离子交换法<sup>[10]</sup>、水酶法<sup>[11]</sup>等。碱溶酸沉法制备的分离蛋白在实际应用中使用最广,但对于溶液中的可溶性成分去除不彻底,消耗酸碱溶液较多。盐溶酸沉法操作简单且成本低,但制备的蛋白质纯度不高,含有较多杂质。反胶束法是近几年兴起的一种蛋白质提取技术,该法对蛋白质的变性失活影响较小,但前期的操作过程较为复杂。离子交换法生产的分离蛋白纯度高、色泽浅,但生产周期较长,目前处于实验室研究阶段。水酶法处理条件温和,对蛋白质性质影响较小,近年来已用于多种植物蛋白的提取中。考虑到单一使用水酶法成本较高,本文采用水酶法结合超声法制备核桃蛋白,以期提高核桃蛋白的得率和纯度。

本研究通过正交实验,优化核桃蛋白制备和纯化阶段的工艺条件,以期高附加值的核桃蛋白的制备提供理论指导依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 原料与试剂

脱脂核桃蛋白粉由实验室制备,蛋白质含量为40.23%,脱脂率为91.23%。

碱性蛋白酶( $2 \times 10^5$  U/g),诺维信(中国)生物技术有限公司;糖化酶( $1.5 \times 10^5$  U/g),南宁庞博生物工程有限公司;氢氧化钠、盐酸、硼酸溶液、硫酸铜、硫酸钾、硫酸、甲基红指示剂、溴甲酚绿指示剂、95%乙醇溶液、乙醚,国药集团化学试剂有限公司。

#### 1.1.2 仪器与设备

K984自动凯氏定氮仪,济南海能仪器有限公司;DF-101S集热式恒温加热磁力搅拌器,巩义市英峪予华仪器厂;八孔消化炉,上海纤检仪器有限公司;FD-8型冷冻干燥机,北京博医康实验仪器有限公司;TDSZ台式离心机,湖南凯达科学仪器有限公司;通用实验室pH计,上海奥豪斯仪器有限公司;101-1-S数显鼓风干燥箱,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;DZF-6021真空干燥箱,上海博迅实业有限公司医疗设备厂;SZ-93自动双重纯水蒸馏器,上海亚荣生化仪器厂。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 核桃蛋白的制备

脱脂核桃蛋白粉→加水混合→调节温度→调节pH至碱性→加入碱性蛋白酶→酶解→高温灭酶(90℃,10 min)→超声15 min(200 W)→调节pH至

4.5→搅拌(100 min)→4 000 r/min离心10 min→取沉淀→水洗至中性→真空冷冻干燥→核桃蛋白

#### 1.2.2 核桃蛋白的纯化工艺

核桃蛋白→加水混合搅拌→调节温度和pH→加糖化酶酶解→高温灭酶(100℃,10 min)→离心→取下层沉淀→冷冻干燥→纯化核桃蛋白

#### 1.2.3 基本指标的测定

蛋白质含量的测定:参照GB 5009.5—2016。按下式计算蛋白得率(Y)。

$$Y = \frac{m_1}{m} \times 100\% \quad (1)$$

式中: $m_1$ 为产品中蛋白质的质量; $m$ 为脱脂核桃蛋白粉中蛋白质的质量。

#### 1.2.4 数据处理

单因素实验数据均重复测定3次,利用Excel 2016对数据进行整理、作图,并进行正交设计来优化实验。

## 2 结果与分析

### 2.1 核桃蛋白制备工艺优化

#### 2.1.1 单因素实验

##### 2.1.1.1 料液比的影响

将脱脂核桃蛋白粉分为6等份,料液比按1:5、1:10、1:15、1:20、1:25、1:30 6个梯度设置,制备蛋白过程中保持温度50℃、pH 9.0、加酶量2.0%、酶解时间2.0 h。料液比对蛋白得率和蛋白质含量的影响如图1所示。

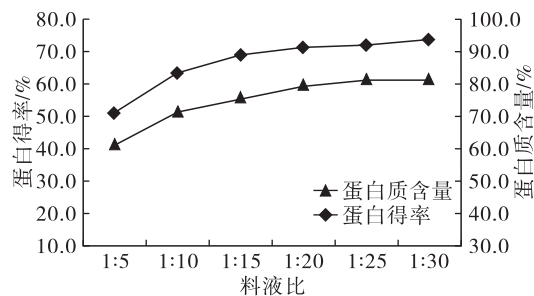


图1 料液比对蛋白得率和蛋白质含量的影响

由图1可知,当料液比超过1:20时,蛋白得率和蛋白质含量的增加趋势逐渐平缓,这是因为蛋白酶酶解效果已达到最大。故选取最佳料液比为1:20。

##### 2.1.1.2 酶解时间的影响

将脱脂核桃蛋白粉分为6等份,酶解时间按0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h 6个梯度设置,制备蛋白过程中保持温度50℃、pH 9.0、料液比1:20、加酶量2.0%。酶解时间对蛋白得率和蛋白质含量的影响如图2所示。

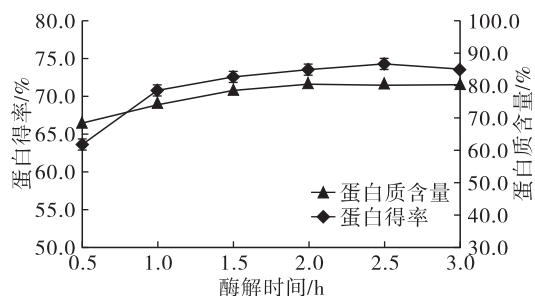


图2 酶解时间对蛋白得率和蛋白质含量的影响

由图2可知,蛋白得率和蛋白质含量随着酶解时间的延长而增加,酶解2.0 h后,蛋白得率和蛋白质含量趋于稳定。故选择最佳酶解时间为2.0 h。

#### 2.1.1.3 加酶量的影响

将脱脂核桃蛋白粉分为6等份,碱性蛋白酶加酶量按0.5%、1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0% 6个梯度设置,制备蛋白过程中保持酶解时间2.0 h、料液比1:20、pH 9.0、温度50℃。加酶量对蛋白得率和蛋白质含量的影响如图3所示。

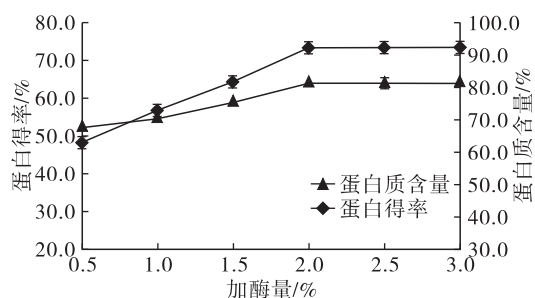


图3 加酶量对蛋白得率和蛋白质含量的影响

由图3可知,蛋白得率随着加酶量的增加而增加,当加酶量超过2.0%时,蛋白得率不再显著增加,蛋白质含量亦是如此,这是因为加酶量达到2.0%后,酶浓度与原料浓度达到了平衡,对原料的酶解作用效果不再增强。故选择最佳加酶量为2.0%。

#### 2.1.1.4 温度的影响

将脱脂核桃蛋白粉分为5等份,制备过程中的温度按40、45、50、55、60℃ 5个梯度设置,制备蛋白过程中保持酶解时间2.0 h、料液比1:20、pH 9.0、加酶量2.0%。温度对蛋白得率和蛋白质含量的影响如图4所示。

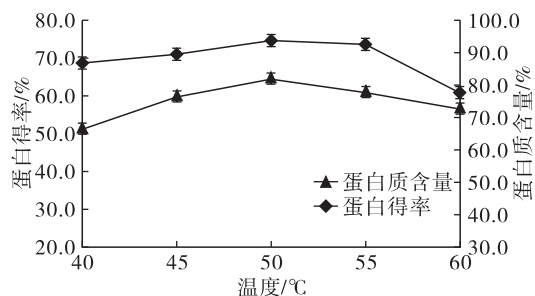


图4 温度对蛋白得率和蛋白质含量的影响

由图4可知,蛋白得率和蛋白质含量均随着温度的升高先增加后降低。这是因为低温状态下酶的活性不高,导致酶解效率不高,随着温度的升高,酶的活性越来越强,而当温度过高时,部分酶会开始变性失活,导致酶解效率下降。故选择最佳温度为50℃。

#### 2.1.1.5 pH的影响

将脱脂核桃蛋白粉分为5等份,制备过程中的pH按7.0、8.0、9.0、10.0、11.0 5个梯度设置,制备蛋白过程中保持酶解时间2.0 h、料液比1:20、温度50℃、加酶量2.0%。pH对蛋白得率和蛋白质含量的影响如图5所示。

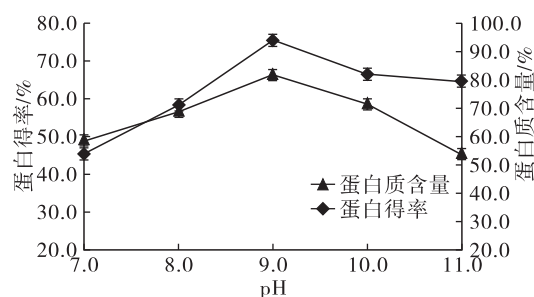


图5 pH对蛋白得率和蛋白质含量的影响

由图5可知,蛋白得率随着pH的增加先增加后降低,蛋白质含量亦是如此。这是因为随着pH的增加,酶的活性越来越高,当超过酶的最适pH后,随着pH的继续增加,酶开始失活,酶解效率开始降低。故选择最佳pH为9.0。

#### 2.1.2 正交实验优化

在单因素实验基础上,选取料液比(A)、酶解时间(B)、加酶量(C)、温度(D)以及pH(E)为考察因素,采用 $L_{16}(4^5)$ 的正交表进行正交实验,研究各因素对蛋白得率和蛋白质含量的影响,正交实验设计及结果见表1。

由表1中极差分析可知,对于蛋白得率,其因素影响的主次顺序是 $D > B > E > A > C$ ,即温度 > 酶解时间 > pH > 料液比 > 加酶量,最优方案组合为 $D_2 B_3 E_3 A_3 C_2$ ,对于蛋白质含量而言,其因素影响的主次顺序是 $B > D > E > C > A$ ,即酶解时间 > 温度 > pH > 加酶量 > 料液比,最优方案组合为 $B_3 D_3 E_2 C_3 A_2$ 。

综合比较分析发现,对于因素A(料液比),其对蛋白质含量的影响最小,而对蛋白得率的影响更为重要,故选择 $A_3$ 水平为宜;对于因素C(加酶量),其对蛋白得率和蛋白质含量的影响较小,结合单因素实验,选择 $C_3$ 水平;对于因素D(温度)和E(pH),二者对蛋白得率和蛋白质含量的影响较大,

结合单因素实验结果,当温度为 50 ℃ 时,蛋白得率和蛋白质含量明显较优,故选择 D<sub>3</sub> 水平为宜,当 pH 为 9.0 时,蛋白得率和蛋白质含量明显较优,故选用 E<sub>3</sub> 水平为宜。综上所述,得到最优方案为 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>C<sub>3</sub>D<sub>3</sub>E<sub>3</sub>,

即料液比 1:20、酶解时间 2.0 h、加酶量 2.0%、温度 50 ℃、pH 9.0,在此条件下蛋白得率为 78.16%,蛋白质含量为 82.53%。

表 1 核桃蛋白制备正交实验设计及结果

| 实验号            | A       | B        | C       | D       | E       | 蛋白得率/% | 蛋白质含量/% |
|----------------|---------|----------|---------|---------|---------|--------|---------|
| 1              | 1(1:10) | 1(1.0 h) | 1(1.0%) | 1(40 ℃) | 1(7.0)  | 55.17  | 60.94   |
| 2              | 1       | 2(1.5 h) | 2(1.5%) | 2(45 ℃) | 2(8.0)  | 63.34  | 68.40   |
| 3              | 1       | 3(2.0 h) | 3(2.0%) | 3(50 ℃) | 3(9.0)  | 65.68  | 72.54   |
| 4              | 1       | 4(2.5 h) | 4(2.5%) | 4(55 ℃) | 4(10.0) | 62.25  | 66.25   |
| 5              | 2(1:15) | 1        | 2       | 3       | 4       | 60.83  | 66.89   |
| 6              | 2       | 2        | 1       | 4       | 3       | 60.26  | 65.64   |
| 7              | 2       | 3        | 4       | 1       | 2       | 60.34  | 69.20   |
| 8              | 2       | 4        | 3       | 2       | 1       | 62.68  | 69.21   |
| 9              | 3(1:20) | 1        | 3       | 4       | 2       | 60.19  | 68.05   |
| 10             | 3       | 2        | 4       | 3       | 1       | 62.28  | 68.84   |
| 11             | 3       | 3        | 1       | 2       | 4       | 65.74  | 73.15   |
| 12             | 3       | 4        | 2       | 1       | 3       | 61.53  | 59.38   |
| 13             | 4(1:25) | 1        | 4       | 2       | 3       | 61.42  | 61.36   |
| 14             | 4       | 2        | 3       | 1       | 4       | 59.13  | 65.28   |
| 15             | 4       | 3        | 2       | 4       | 1       | 62.44  | 66.24   |
| 16             | 4       | 4        | 1       | 3       | 2       | 63.05  | 68.66   |
| 蛋白得率           |         |          |         |         |         |        |         |
| K <sub>1</sub> | 246.44  | 237.61   | 244.22  | 236.17  | 242.57  |        |         |
| K <sub>2</sub> | 244.11  | 245.01   | 248.14  | 253.18  | 246.92  |        |         |
| K <sub>3</sub> | 249.74  | 254.20   | 247.68  | 251.84  | 248.89  |        |         |
| K <sub>4</sub> | 246.04  | 249.51   | 246.29  | 245.14  | 247.95  |        |         |
| R              | 5.63    | 16.59    | 3.92    | 17.01   | 6.32    |        |         |
| 蛋白质含量          |         |          |         |         |         |        |         |
| K <sub>1</sub> | 268.13  | 257.24   | 268.39  | 254.80  | 265.23  |        |         |
| K <sub>2</sub> | 270.94  | 268.16   | 260.91  | 272.12  | 274.31  |        |         |
| K <sub>3</sub> | 269.42  | 281.13   | 275.08  | 276.93  | 258.92  |        |         |
| K <sub>4</sub> | 261.54  | 263.5    | 265.65  | 266.18  | 271.57  |        |         |
| R              | 9.40    | 23.89    | 14.17   | 22.13   | 15.39   |        |         |

## 2.2 蛋白纯化工艺优化

### 2.2.1 单因素实验

#### 2.2.1.1 酶解温度的影响

取 5 份同等质量的 1.2.1 制备的核桃蛋白,纯化过程中的酶解温度按 40、45、50、55、60 ℃ 5 个梯度设置,纯化过程中保持料液比 1:20、酶解时间 120 min、pH 4.5、加酶量 0.4%。酶解温度对蛋白纯度的影响如图 6 所示。

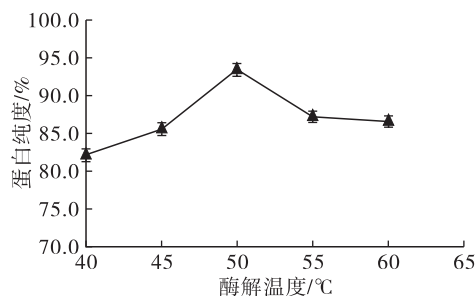


图 6 酶解温度对蛋白纯度的影响

由图 6 可知,蛋白纯度随着酶解温度的升高先升高,超过 50 ℃ 后蛋白纯度开始降低,这是由于温度对于糖化酶的活性有影响,温度较低时,糖化酶活性较低,其酶解能力不高,当温度超过 50 ℃ 时,糖化酶变性失活,从而导致蛋白纯度下降。故选择最佳酶解温度为 50 ℃。

#### 2.2.1.2 pH 的影响

取 5 份同等质量的 1.2.1 制备的核桃蛋白,纯化过程中的 pH 按 3.5、4.0、4.5、5.0、5.5 5 个梯度设置,纯化过程中保持料液比 1:20、酶解温度 50 ℃、酶解时间 120 min、加酶量 0.4%。pH 对蛋白纯度的影响如图 7 所示。

由图 7 可知,蛋白纯度随着 pH 的升高先增加后降低,这是由于糖化酶存在最适 pH,当 pH 过低或过高时,会导致糖化酶变性失活,从而导致蛋白纯度降低。故选择最佳 pH 为 4.5。

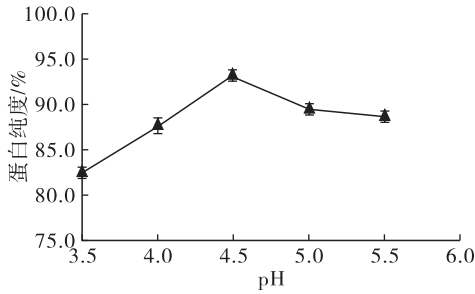


图7 pH对蛋白纯度的影响

### 2.2.1.3 酶解时间的影响

取6份同等质量的1.2.1制备的核桃蛋白,纯化过程中的酶解时间按60、80、100、120、140、160 min 6个梯度设置,纯化过程中保持料液比1:20、酶解温度50℃、加酶量0.4%、pH 4.5。酶解时间对蛋白纯度的影响如图8所示。

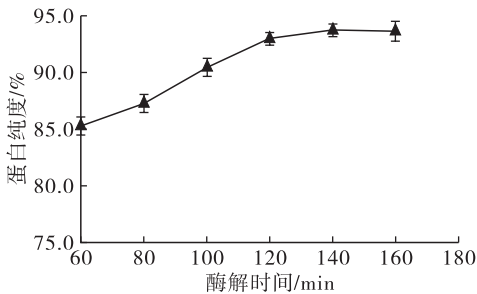


图8 酶解时间对蛋白纯度的影响

由图8可知,蛋白纯度随着酶解时间的延长先增加,而后逐渐保持平稳。这是因为原料中的糖类物质的总量是固定的,随着酶解时间的延长,糖化酶酶解得越彻底,达到一定的时间后,糖化酶的酶解已

达到饱和。考虑到成本,故选择最佳酶解时间为120 min。

### 2.2.1.4 加酶量的影响

取5份同等质量的1.2.1制备的核桃蛋白,纯化过程中的加酶量按0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5% 5个梯度设置,纯化过程中保持料液比1:20、酶解时间120 min、酶解温度50℃、pH 4.5。加酶量对蛋白纯度的影响如图9所示。

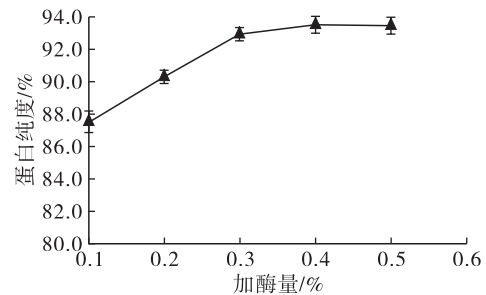


图9 加酶量对蛋白纯度的影响

由图9可知,蛋白纯度随着加酶量的增加先升高,而后保持稳定,这是由于随着糖化酶添加量的增加,酶解效率逐渐增大,当加酶量达到0.4%时,糖化酶酶解效率达到最大。综合考虑,故选择最佳加酶量为0.4%。

### 2.2.2 正交实验优化

在单因素实验基础上,选取酶解温度(A)、pH(B)、酶解时间(C)和加酶量(D)为考察因素,采用 $L_9(3^4)$ 正交实验研究各因素对蛋白纯度的影响,正交实验设计及结果见表2。

表2 核桃蛋白纯化正交实验设计及结果

| 实验号   | A      | B      | C          | D       | 蛋白纯度/% |
|-------|--------|--------|------------|---------|--------|
| 1     | 1(45℃) | 1(4.0) | 1(100 min) | 1(0.3%) | 76.51  |
| 2     | 1      | 2(4.5) | 2(120 min) | 2(0.4%) | 85.32  |
| 3     | 1      | 3(5.0) | 3(140 min) | 3(0.5%) | 84.61  |
| 4     | 2(50℃) | 1      | 2          | 3       | 86.63  |
| 5     | 2      | 2      | 3          | 1       | 90.21  |
| 6     | 2      | 3      | 1          | 2       | 88.57  |
| 7     | 3(55℃) | 1      | 3          | 2       | 85.65  |
| 8     | 3      | 2      | 1          | 3       | 86.28  |
| 9     | 3      | 3      | 2          | 1       | 84.52  |
| $K_1$ | 246.44 | 248.79 | 251.36     | 251.24  |        |
| $K_2$ | 265.41 | 261.81 | 256.47     | 259.54  |        |
| $K_3$ | 256.45 | 257.70 | 260.47     | 257.52  |        |
| R     | 18.97  | 13.02  | 9.11       | 8.30    |        |

由表2极差分析可知,影响蛋白纯度的因素主次顺序是A>B>C>D,即酶解温度>pH>酶解时间>加酶量,最优方案为 $A_2B_2C_3D_2$ ,即酶解温度50℃、pH 4.5、酶解时间140 min、加酶量0.4%,在该条件下蛋白纯度达到94.16%。

### 3 结论

以脱脂核桃蛋白粉为原料,利用水酶法结合超声法制备核桃蛋白,用单因素实验考察了料液比、酶解时间、加酶量、温度以及pH对蛋白得率和蛋白质含(下转第75页)



- [14] 马力. 茶油与橄榄油营养价值的比较[J]. 粮食与食品工业, 2007, 12(6): 19-21.
- [15] 张木歆, 李建平, 陈创鑫. 茶籽油防晒功效的研究与应用[J]. 广东化工, 2011, 38(3): 52-54.
- [16] 蒋玲艳, 王林果, 欧煜煜. 茶油抑菌效果的研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(14): 5913-5914.
- [17] 朱敏. 基于茶油的抗衰老化妆品的研究开发[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2017.
- [18] 王顺利, 任秀霞, 薛璟祺, 等. 牡丹籽油成分、功效及加工工艺的研究进展[J]. 中国粮油学报, 2016, 31(3): 139-145.
- [19] 孙英杰, 郇雪, 吴迪, 等. 牡丹籽油的制备及其在化妆品中的应用[J]. 中国化妆品, 2015, 11(8): 74-76.
- [20] 王成章, 陈强, 罗建, 等. 中国油橄榄发展历程与产业展望[J]. 生物质化学工程, 2013, 47(2): 41-46.
- [21] D'ANGELO S, INGROSSO D, MIGLIARDI V, et al. Hydroxytyrosol, a natural antioxidant from olive oil, prevents protein damage induced by long-wave ultraviolet radiation in melanoma cells[J]. Free Radic Biol Med, 2005, 38(7): 908-919.
- [22] 王丽虹, 许悦, 刘阳. 辣木籽中活性物质及其生理功能研究进展[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(4): 190-195.
- [23] 王铁旦, 杨敏, 杨芳, 等. 辣木籽油功能性成分检测及多元统计分析[J]. 食品科学, 2020(16): 154-159.
- [24] 段琼芬, 马李一, 余建兴. 辣木油抗紫外线性能研究[J]. 食品科学, 2008, 29(9): 118-121.
- [25] 段琼芬, 杨莲, 李钦, 等. 辣木油对小鼠抗紫外线损伤的保护作用[J]. 林产化学与工业, 2009, 29(5): 69-73.
- [26] 邵婷, 覃小丽, 钟金锋, 等. 辣木籽油的提取方法及其应用[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(17): 286-193.
- [27] 薛焕焕, 张海生, 赵鑫帅, 等. 不同提取方法对大扁杏仁油品质的影响[J]. 江苏农业学报, 2018, 34(2): 439-446.
- [28] 杨海涛. 甜杏仁油的提取研究与应用[J]. 中国油脂, 2008, 33(4): 20-21.
- [29] 段岢君, 邓福明, 赵松林, 等. 椰子油的生理活性(III): 抗氧化活性[J]. 热带农业科学, 2013, 33(9): 71-78.
- [30] 李晓煜, 邓福明, 赵松林, 等. 椰子油的生理活性(IV): 减肥与美容[J]. 热带农业科学, 2013, 33(9): 84-89.
- [31] 张传光, 罗婷, 俞新华, 等. 云南引种乳木果现状及乳木果油脂脂肪酸组成分析[J]. 中国油脂, 2019, 44(4): 102-105.
- [32] 陈培丰. 乳木果油在化妆品中的应用[J]. 福建轻纺, 2003(12): 1-4.
- [33] 李加兴, 马美湖, 张永康, 等. 猕猴桃籽油的营养成分及其保健功能[J]. 食品与机械, 2005, 20(4): 61-65.
- [34] 李加兴, 余娇, 黄诚, 等. 猕猴桃籽油的体外抗氧化活性[J]. 食品科学, 2012, 33(23): 51-54.
- [35] 刘义军, 卜梦婷, 谭戈, 等. 不同提取方法对牛油果油理化特性、抗氧化性能及脂肪酸组成的对比研究[J]. 四川农业大学学报, 2020, 38(2): 161-167.
- [36] 张丽苹, 张颂培, 胡燕霞, 等. 牛油果脂在化妆品中的应用[J]. 日用化学工业, 2004, 34(3): 184-186.
- [37] 陶珂鑫, 杜桐, 王欣欣, 等. 葡萄籽油提取分离及其在化妆品中的应用[J]. 广州化工, 2018, 46(22): 28-31.
- [38] 樊帆. 葡萄籽油对女性的六大美容作用[J]. 食品与健康, 2010(7): 37.
- [39] 江东南, 黄佳佳, 蓝少鹏, 等. 紫苏籽油研究进展概述[J]. 现代食品, 2017, 6(3): 1-3.
- [40] 冯林慧, 李迎秋. 紫苏的活性成分及其应用研究[J]. 中国调味品, 2017, 42(9): 177-180.

(上接第56页)

量的影响, 并通过正交实验得到最佳制备工艺条件为料液比 1:20, 酶解时间 2.0 h、加酶量 2.0%、温度 50℃、pH 9.0, 在此条件下蛋白得率达到 78.16%, 蛋白质含量为 82.53%。利用糖化酶纯化核桃蛋白以提高蛋白纯度, 采用单因素实验分析酶解温度、pH、酶解时间、加酶量对蛋白纯度的影响, 通过正交实验得到最佳纯化工艺条件为酶解温度 50℃、pH 4.5、酶解时间 140 min、加酶量 0.4%, 在此条件下蛋白纯度达到 94.16%。

#### 参考文献:

- [1] 郭蔓莉, 吴澎, 赵路苹, 等. 核桃加工副产物的综合利用及精深加工[J]. 粮油食品科技, 2018, 26(2): 25-29.
- [2] 康俊杰, 陈树俊, 赵瑞欢, 等. 核桃粕组成测定及抗氧化多肽工艺优化的研究[J]. 农产品加工(学刊), 2014(2): 31-34, 38.
- [3] 刘玲, 韩本勇, 陈朝银. 核桃蛋白研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(9): 116-118.
- [4] VENKATACHALAM M, SATHE S K. Chemical composition of selected edible nut seeds[J]. J Agric Food Chem, 2006(54): 4705-4714.
- [5] SAVAGE G P. Chemical composition of walnuts (*Juglans regia* L.) grown in New Zealand[J]. Plant Foods Human Nutr, 2001(56): 75-82.
- [6] FAO/WHO. Protein quality evaluation[M]. Rome: Food and Agricultural Organization of the United Nations, 1990: 66.
- [7] 杜蕾蕾, 郭涛, 万辉, 等. 冷榨核桃饼中核桃蛋白的提取与纯化的研究[J]. 粮油加工, 2008(10): 79-80.
- [8] 孙娜. 核桃蛋白提取工艺及含量测定研究进展[J]. 甘肃高师学报, 2015, 20(5): 46-49.
- [9] 刘海远. 反胶束体系萃取大豆蛋白的动力学及其机理研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2012.
- [10] 王子佳, 李红梅, 弓爱君, 等. 蛋白质分离纯化方法研究进展[J]. 化学与生物工程, 2009(8): 13-16.
- [11] 杨柳, 江连洲, 李杨, 等. 水酶法提取的大豆蛋白功能特性研究[J]. 食品与发酵工业, 2010(6): 86-90.