

分类号: TS224.4

单位代码: 10363

密 级: 公开

学 号: 2220530108

汽爆调质对大豆油水相萃取效率及豆粕
蛋白功能性质的影响

Effects of Steam Explosion Conditioning on the Aqueous
Extraction Efficiency of Soybean Oil and the Functional
Properties of Soybean Meal Protein

学生姓名: 王真真

指导教师: 郭玉宝 教授

专 业: 食品科学与工程

研究方向: 粮油工程

论文答辩日期: 2025 年 5 月 21 日

安徽工程大学学位论文原创性声明

本人郑重声明：我恪守学术道德，崇尚严谨学风。所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已明确注明和引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的作品及成果的内容。论文为本人亲自撰写，我对所写的内容负责，并完全意识到本声明的法律后果由本人承担。

学位论文作者签名：

王真真

日期：2025 年 5 月 21 日

安徽工程大学学位论文版权使用授权书

学位论文作者完全了解学校有关保留、使用学位论文的规定，同意学校保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅或借阅。本人授权安徽工程大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存和汇编本学位论文。

保密 ☐，在 ____ 年解密后适用本版权书。

本学位论文属于

不保密 ☒。

学位论文作者签名：王真真

日期：2025 年 5 月 21 日

指导教师签名：郭宏

日期：2025 年 5 月 21 日

汽爆调质对大豆油水相萃取效率及豆粕 蛋白功能性质的影响

摘 要

大豆作为我国重要的油料，其油脂和蛋白资源的开发利用备受关注。目前大豆油主要是以有机溶剂浸出法制取，但粕蛋白变性严重难以高值化利用，且生产安全要求高，溶剂逸散污染环境。植物油脂水相萃取可以实现同时高值化利用油脂和蛋白。但是，水酶法提取中生物酶的成本较高，清油率较低，还需要专门的破乳。因此，大豆油脂的水相萃取工艺革新是十分必要的。本研究以汽爆调质辅助乙醇水法萃取大豆油，从汽爆调质条件、提取工艺优化、油脂品质及豆粕蛋白功能性质，以及萃取效率提高机制等方面开展研究，以期找到一种工艺绿色环保、过程安全高效、产品健康营养的新型大豆油水相制取工艺，达到同时高值化利用大豆油脂与蛋白的目的，为大豆油加工业的高质量发展奠定基础。获得的主要结论如下：

（1）汽爆调质对大豆油水相萃取效率和蛋白功能性质的影响。大豆汽爆调质显著提高了油脂乙醇水萃取的效率，而且蛋白质的功能性质大部分得以保留。大豆浸泡 2 h，在汽爆压力 1.0 MPa、维压时间 15 s 下调质后，乙醇水萃取大豆油清油收率可达 97.60%。所得油脂在 0.06 MPa 真空下处理 1.5 h，水分及挥发物含量从 1.02% 降到 0.11%，清油收率核算为 96.69%。所得大豆油的酸价和过氧化值分别为 0.13

mg KOH/g 和 2.41 mmol/kg, 折光指数为 1.4726, 均符合大豆油国家一级标准。汽爆调质导致蛋白发生轻度变性, 豆粕可溶性蛋白含量从 7.60%降低至 6.03%, 但持水性从 3.51 g/g 增至 4.28 g/g, 蛋白水化能力增加。粕蛋白乳化性、乳化稳定性、起泡性及泡沫稳定性保留率分别为 71.63%、71.39%、80.28%和 71.83%。因此, 汽爆调质能显著提高清油收率, 粕蛋白功能性质大部分得以保留, 该工艺高效可行。

(2) 汽爆调质辅助乙醇水萃取大豆油工艺的优化。在较优的汽爆条件下, 选取对清油收率影响比较显著的四个因素(乙醇体积分数、液料比、萃取温度、萃取时间)作为自变量, 采用响应面法对萃取条件进行优化, 模型的相关系数 $R^2=0.9533$, 说明该模型的预测值与真实值之间具有高度的相关性; 模型的调整决定系数 R_{Adj}^2 为 0.9065, 说明该模型与实际的拟合程度较好。获得的萃取条件为: 乙醇体积分数 41%, 液料比 3:1, 萃取温度 71℃, 萃取时间 2 h, 此时验证实验的清油收率为 97.62%。

(3) 汽爆调质对大豆粉粒度分布和油脂萃取后物料分配的影响。从豆粉粒径和萃取过程中油脂分配角度来揭示汽爆调质提高油脂萃取效率的原因。汽爆调质后, 大豆粉 D_{90} 从 325.54 μm 显著减小到 85.79 μm , 豆粕的 D_{90} 和 $D[4,3]$ 分别从 623.90 μm 和 194.08 μm 减小至 207.85 μm 和 109.77 μm , 表明汽爆调质使豆粉更加细腻, 缩短了油脂溶出的路径。汽爆调质后萃取混合物中乳化油、水相油和粕残油从 14.85%、9.86%和 13.38%显著减小至 0.97%、1.09%及 1.32%, 而清油收率从 61.91%提高至 96.62%, 效果显著。汽爆调质大幅提高了油脂的溶出,

明显降低了乳化，减少了粕残油以及水相油。汽爆调质后残渣中蛋白质降低为对照组的 95.58%、水相固形物提高到对照组的 124.72%，这些变化均有助于降低粕残油、提高清油。

(4) 汽爆调质对大豆子叶中油体聚集及豆粕蛋白结构的影响。

从大豆子叶中油脂存在状态和豆粕蛋白结构变化角度揭示汽爆调质提高油脂萃取效率的原因。汽爆调质促使大豆细胞膨胀，细胞间隙增大，部分细胞破裂，且小油滴聚集融合成大油滴游离于胞外，蛋白分布出现了明显的弥散现象，有利于油脂与蛋白分离。对豆粕蛋白结构研究发现，汽爆调质导致蛋白有序结构被部分破坏（XRD），蛋白质更加伸展，但整体吸收强度及峰位变化幅度较小，汽爆调质对豆粕蛋白结构的影响有限；FTIR 表明蛋白质中 α -螺旋、 β -折叠和 β -转角含量均明显降低，而无规则卷曲含量升高，蛋白质结构无序程度有所提高；DSC 分析表明，蛋白质的变性温度从 112.67℃下降至 111.77℃，热稳定性降低，但变化幅度较小，粕蛋白的变性程度较小。这些变化共同促进了油脂与蛋白质的分离，提高了大豆油水相萃取的效率。

本研究建立了汽爆调质辅助乙醇水萃取大豆油新工艺，从子叶中油脂聚集态变化、豆粉粒度、萃取中油脂分配及粕蛋白结构等方面揭示了萃取效率提高的原因，为大豆油水相萃取工艺的改进和大豆蛋白的高值化利用提供了理论依据和技术支持，对推动大豆油加工产业的绿色健康发展具有重要意义。

关键词：大豆油，汽爆调质，水相萃取，清油收率，蛋白质

Effects of Steam Explosion Conditioning on the Aqueous Extraction Efficiency of Soybean Oil and the Functional Properties of Soybean Meal Protein

ABSTRACT

Soybean, as an important oilseed in China, has attracted much attention for the development and utilization of its oil and protein resources. At present, soybean oil is mainly produced by organic solvent leaching method, but the denaturation of soybean meal protein is severe and difficult to be high-value utilized. In addition, the production safety requirements are high, and solvent leakage pollutes the environment. Aqueous phase extraction of plant oils can achieve high-value utilization of both oils and proteins simultaneously. However, the cost of biological enzymes using the aqueous enzyme method is high, the yield of free oil is low, and additional demulsification is required. Therefore, it is necessary to innovate the aqueous extraction process of soybean oil. This study used steam explosion conditioning assisted ethanol water method to extract soybean oil. The research focused on steam explosion conditioning conditions, optimization of extraction process, oil quality and functional properties of soybean meal protein, as well as mechanisms to improve extraction efficiency. The aim was to find a new type of soybean oil

aqueous phase extraction process that is environmentally friendly, safe, efficient, and has healthy and nutritious products. The goal is to achieve high-value utilization of soybean oil and protein simultaneously, laying the foundation for the high-quality development of soybean oil processing industry. The main conclusions obtained are as follows:

(1) Effects of steam explosion conditioning on aqueous phase extraction efficiency of soybean oil and functional properties of protein. Soybean steam explosion conditioning significantly improved the efficiency of ethanol aqueous phase extraction of oil, and most of the functional properties of protein were retained. After soybean was soaked for 2 h, the yield of soybean oil extracted by ethanol water could reach 97.60% under steam explosion pressure of 1.0 MPa and pressure maintaining time of 15 s. When the obtained oil was treated in 0.06 MPa vacuum for 1.5 h, the content of water and volatile matter could be reduced from 1.02% to 0.11%, and the yield of clear oil was 96.69%. The acid value and peroxide value of soybean oil were 0.13 mg KOH/g and 2.41 mmol/kg, respectively, and the refractive index was 1.4726. These indicators meet the national first-class standard of soybean oil, and the quality is good. Steam explosion conditioning led to mild denaturation of the protein, the soluble protein content decreased from 7.60% to 6.03%, but the water holding capacity increased from 3.51 g/g to 4.28 g/g, and the protein hydration capacity increased. The retention rates of

emulsifying property, emulsifying stability, foaming property and foam stability of meal protein were 71.63%, 71.39%, 80.28% and 71.83%, respectively. Therefore, steam explosion conditioning can significantly improve the yield of free oil, and most of the functional properties of meal protein can be retained. This process is efficient and feasible.

(2) Optimization of steam explosion conditioning assisted ethanol aqueous phase extraction process of soybean oil. Under the optimal steam explosion conditions, four factors (ethanol volume fraction, liquid-solid ratio, extraction temperature, extraction time) which had significant effects on the yield of free oil were selected as independent variables, and the extraction conditions were optimized by response surface methodology. The correlation coefficient R^2 of the model was 0.9533, indicating that there was a high correlation between the predicted value and the real value of the model. The adjusted determination coefficient R_{adj}^2 of the model is 0.9065, indicating that the model has a good fit with the actual situation. The extraction conditions were as follows: ethanol volume fraction 41%, liquid-solid ratio 3:1, extraction temperature 71°C, extraction time 2 h. at this condition, the free oil yield of the validation experiment was 97.62%.

(3) Effect of steam explosion conditioning on particle size distribution of soybean powder and material allocation after oil extraction. The reason of improving oil extraction efficiency by steam explosion

quenching and tempering was revealed from the perspective of soybean powder particle size and oil distribution in the extraction process. After steam explosion conditioning, the D_{90} of soybean powder decreased significantly from 325.54 μm to 85.79 μm , and the D_{90} and $D[4,3]$ of soybean meal decreased from 623.90 μm and 194.08 μm to 207.85 μm and 109.77 μm , respectively, indicating that steam explosion conditioning made the soybean powder more delicate and shortened the path of oil dissolution. After steam explosion, the emulsified oil, aqueous oil and residual oil in the extracted mixture were significantly reduced from 14.85%, 9.86% and 13.38% to 0.97%, 1.09% and 1.32%, while the yield of clear oil was increased from 61.91% to 96.62%. Steam explosion conditioning significantly improved the dissolution of oil, significantly reduced emulsification, and reduced residual oil and water phase oil. After steam explosion conditioning, the protein in the residue was reduced to 95.58% of the control group, and the aqueous solid content was increased to 124.72% of the control group. These changes were helpful to reduce the residual oil and improve the clear oil.

(4) Effects of steam explosion conditioning on oil body agglomeration and protein structure of soybean meal in soybean cotyledons. The reason of improving oil extraction efficiency by steam explosion conditioning was revealed from the point of view of the existence of oil in soybean cotyledons and the structural changes of

soybean meal protein. The results showed that the steam explosion conditioning promoted the expansion of soybean cells, the increase of cell gap, the rupture of some cells, and the aggregation and fusion of small oil droplets into large oil droplets, which were free outside the cells, and the protein distribution appeared obvious dispersion phenomenon, which was conducive to the separation of oil and protein. The study on the structure of soybean meal protein showed that the ordered structure of protein was partially destroyed (XRD) and the protein was more extended by steam explosion conditioning, but the overall absorption intensity and peak position changed slightly, and the effect of steam explosion conditioning on the structure of soybean meal protein was limited. FTIR showed that the contents of α -helix, β -fold and β -turn in the protein were significantly decreased, while the content of irregular coil was increased, and the disorder degree of protein structure was improved. DSC analysis showed that the denaturation temperature of protein decreased from 112.67°C to 111.77°C, and the thermal stability decreased, but the change range was small, and the denaturation degree of meal protein was small. These changes promote the separation of oil and protein, and improve the efficiency of aqueous extraction of soybean oil.

This study established a new process for steam explosion conditioning assisted ethanol water extraction of soybean oil. The reasons for the improved extraction efficiency were revealed from the changes in

oil aggregation state in cotyledons, soybean powder particle size, oil allocation during extraction, and meal protein structure. This provides theoretical basis and technical support for the improvement of soybean oil water phase extraction process and the high-value utilization of soybean protein, which is of great significance for promoting the green and healthy development of soybean oil processing industry.

KEY WORDS: soybean oil, steam explosion conditioning, aqueous phase extraction, free oil yield, protein

目 录

摘 要	I
ABSTRACT	IV
第 1 章 绪论	1
1.1 大豆的生产和消费	1
1.2 大豆的化学组成和营养价值	1
1.3 大豆油脂的制取方法研究现状	2
1.3.1 压榨法	2
1.3.2 浸出法	2
1.3.3 水代法	2
1.3.4 水酶法	3
1.3.5 乙醇水提法	3
1.4 汽爆预处理技术在食品中的应用	4
1.5 大豆蛋白的功能性质和利用价值	4
1.6 立题背景与意义	4
1.7 研究内容	5
第 2 章 汽爆调质对大豆油水相萃取效率和粕蛋白功能性质的影响	6
2.1 前言	6
2.2 材料与设备	6
2.2.1 实验原料	6
2.2.2 实验试剂	7
2.2.3 实验仪器与设备	7
2.3 实验方法	8
2.3.1 大豆化学组成分析	8
2.3.2 大豆调质方法的筛选	8
2.3.2.1 烘烤调质结合乙醇水萃取大豆油	8
2.3.2.2 汽爆调质结合乙醇水萃取大豆油	8

2.3.3 大豆油水相萃取方法及清油收率的计算	9
2.3.4 大豆油品质分析	9
2.3.5 热烘及真空法对大豆油水分及挥发物含量的影响	10
2.3.6 豆粕蛋白功能性质的测定	10
2.3.7 数据处理方法	12
2.4 结果与分析	12
2.4.1 大豆油制取工艺的确定	12
2.4.1.1 烘烤调质辅助乙醇水萃取大豆油	12
2.4.1.2 汽爆调质辅助乙醇水相萃取大豆油	13
2.4.2 汽爆调质对大豆油品质的影响	15
2.4.3 热烘及真空法对大豆油水分及挥发物含量的影响	16
2.4.4 汽爆对豆粕蛋白功能性质的影响	17
2.5 本章小结	18
第 3 章 汽爆调质辅助乙醇水萃取大豆油工艺的优化	19
3.1 引言	19
3.2 材料与设备	19
3.2.1 实验原料和试剂	19
3.2.2 主要实验设备	19
3.3 实验方法	19
3.3.1 粉碎次数对大豆粉粒度的影响	19
3.3.2 大豆粉粒度对油脂乙醇水萃取效率的影响	20
3.3.3 乙醇体积分数对大豆油清油收率的影响	20
3.3.4 液料比对大豆油清油收率的影响	20
3.3.5 萃取温度对大豆油清油收率的影响	20
3.3.6 萃取时间对大豆油清油收率的影响	20
3.3.7 振荡速度对大豆油清油收率的影响	20
3.3.8 大豆油水相萃取的响应面优化实验	20
3.3.9 数据处理方法	21
3.4 结果与分析	21

3.4.1 粉碎次数对大豆粉粒度的影响	21
3.4.2 大豆粉粒度对油脂清油收率的影响	23
3.4.3 乙醇体积分数对油脂清油收率的影响	24
3.4.4 液料比对油脂清油收率的影响	25
3.4.5 萃取温度对油脂清油收率的影响	25
3.4.6 萃取时间对油脂清油收率的影响	26
3.4.7 振荡速度对油脂清油收率的影响	26
3.4.8 大豆油水相萃取工艺的响应面优化	27
3.4.8.1 模型建立及其方差分析	27
3.4.8.2 响应面图分析	29
3.5 本章小结	31
第 4 章 汽爆调质对粒度分布和物料分配的影响	33
4.1 引言	33
4.2 材料与设备	34
4.2.1 实验原料	34
4.2.2 实验试剂	34
4.2.3 主要实验设备	34
4.3 实验方法	34
4.3.1 大豆含水量对豆粉粒径分布的影响	34
4.3.2 浸泡、汽爆及乙醇体积分数对清油收率的影响	34
4.3.3 大豆汽爆调质对乙醇水萃取混合物各相粒度分布的影响	35
4.3.4 汽爆调质对萃取混合物各相油脂分配的影响	35
4.3.5 汽爆调质对萃取混合物各相物料分配的影响	36
4.3.6 数据处理方法	36
4.4 结果与分析	36
4.4.1 不同烘干时间对大豆含水量及豆粉粒径分布的影响	36
4.4.2 浸泡、汽爆及乙醇体积分数对清油收率的影响	37
4.4.3 汽爆调质对萃取混合物各相粒度分布的影响	38
4.4.4 汽爆调质对萃取混合物各相油脂分配的影响	40

4.4.5 汽爆调质对萃取混合物各相物料分配的影响	40
4.5 本章小结	41
第 5 章 汽爆调质对大豆子叶中油体聚集及豆粕蛋白结构的影响	42
5.1 引言	42
5.2 材料与设备	42
5.2.1 实验原料	42
5.2.2 实验试剂	43
5.2.3 主要实验设备	43
5.3 实验方法	43
5.3.1 大豆组织切片中油体状态的光学显微镜观察	43
5.3.2 大豆组织切片中蛋白质存在状态的光学显微镜观察	43
5.3.3 大豆组织切片中油体和蛋白质的双染色光学显微镜观察	43
5.3.4 豆粕微观结构形态的扫描电镜观察	43
5.3.5 豆粕蛋白 X 射线衍射分析 (XRD)	44
5.3.6 豆粕蛋白傅里叶红外光谱分析 (FTIR)	44
5.3.7 豆粕蛋白紫外光谱分析 (UV)	44
5.3.8 豆粕蛋白内源荧光光谱分析	44
5.3.9 豆粕蛋白十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE)	44
5.3.10 豆粕蛋白热稳定性分析 (DSC)	45
5.3.11 数据处理方法	45
5.4 结果与分析	45
5.4.1 大豆组织切片中油体状态的单染色光学显微镜观察	45
5.4.2 大豆组织切片中蛋白质存在状态的单染色光学显微镜观察	46
5.4.3 大豆组织切片中油体和蛋白质的双染色光学显微镜观察	47
5.4.4 豆粕微观结构形态的扫描电镜观察	48
5.4.5 豆粕蛋白 X 射线衍射分析 (XRD)	49
5.4.6 豆粕蛋白傅里叶红外光谱分析 (FTIR)	50
5.4.7 豆粕蛋白紫外光谱分析 (UV)	51
5.4.8 豆粕蛋白内源荧光光谱分析	52

5.4.9 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE)	53
5.4.10 豆粕蛋白的热稳定性 (DSC)	54
5.5 本章小结	55
第 6 章 结论与展望	56
6.1 结论	56
6.2 展望	58
参考文献	59
攻读硕士学位期间取得的成果	69
致 谢	70

第 1 章 绪论

1.1 大豆的生产和消费

根据美国农业部（USDA）的数据，近年来全球大豆种植面积呈增长趋势，2023~2024 年度，全球大豆产量约为 3.75 亿吨^[1]。其中美国、巴西、阿根廷是主要生产国。美国大豆种植历史悠久，种植技术先进，2023 年出口量约为 5421 万吨；巴西凭借适宜的气候和不断扩张的耕地，种植面积达 4200 万公顷左右，出口量为 9551 万吨；阿根廷的大豆产业也较为发达，2023 年出口量为 419 万吨^[1]。中国是大豆原产国，种植历史超五千年。近年来，中国积极推动大豆扩种，2023 年大豆种植面积达 1.57 亿亩，单产 132.7 公斤/亩^[1]，主产区集中在东北和黄海地区，黑龙江是种植最多的省份。2022 年中国大豆的加工量超过 1.1 亿吨^[2]，但在大豆加工过程中，精加工产品的开发相对较少，大豆生产过程中浪费了约 2000 万吨的鲜豆渣及 9000 万吨的豆粕副产物^[3]。

大豆油是全球重要的食用植物油之一，广泛应用于烹饪、食品加工等领域。以 2023 年为例，全球用于制油的大豆量约为 3.2~3.6 亿吨^[4]。随着经济的飞速发展以及居民的生活条件不断改善，中国对大豆的需求持续增长，大豆进口依赖度较高。国内大豆消费主要集中在饲料、食用油加工和豆制品制作等领域。在制油方面，国产大豆和进口大豆均有应用，由于国产大豆产量难以满足需求，进口大豆在制油原料中占比较大，用于制油的大豆产量比例与全球水平相近，约 80%~90%。例如 2023 年，中国用于制油的大豆量约 7000~8000 万吨，其中大部分为进口大豆。以大豆为原料制作而成的食品，大体上能够划分为未经过发酵处理的食品以及经过发酵工序的两大类。豆浆、大豆油、豆芽等都属于未发酵的大豆制品，而豆瓣酱、日本特色的味噌、纳豆等都属于发酵过的大豆制品。

1.2 大豆的化学组成和营养价值

大豆作为一种重要的农作物，营养构成极为丰富，具有很高的利用价值。大豆一般含有蛋白质 40%，脂肪 20%，碳水化合物 20%，水分 10%，粗纤维 5%，及灰分 5%左右^[5]。大豆当中还存有不少如卵磷脂、皂甙、异黄酮这类极具价值

的有效生物活性因子，营养价值颇高^[6]，保健功效显著，但是不同产地、品种、培育条件也会影响大豆中各营养成分的含量。大豆还富含多不饱和脂肪酸，其中亚油酸的含量占总脂肪酸的 40~62%^[7]。亚油酸是人体必需脂肪酸^[8,9]，能在一定程度上预防心脑血管疾病、增强机体的免疫力^[10]。

1.3 大豆油脂的制取方法研究现状

1.3.1 压榨法

压榨法是借助机械外力，将油料种子中的油脂挤压出来。通过对原料施加压力，破坏细胞结构，使油脂从细胞内渗出并汇集。大豆压榨产业在我国粮油加工体系中占据关键地位，是保障国内食用植物油和蛋白粕稳定供应的重要一环。

压榨法制取的大豆油保留了较多的天然成分，大豆油品质高且香味浓郁，无需经过复杂的溶剂脱除等油脂精炼。而且压榨法的设备简单、投资少，是目前国内油脂的主要制取方法。但在实际操作中冷榨法出油率偏低，因此朱秀清^[11]等人为了提高冷榨油得率，选择纤维素酶结合碱性蛋白酶对冷榨提取大豆油的工艺进行优化，最终大豆出油率可达 70.6%。但此方法成本较高，不利于大规模生产。在实际生产中通常会选用热榨法来提取大豆油^[12]。但是热榨需要将生胚进行高温炒制，会致使豆粕的蛋白质发生变性，进而影响蛋白质的持水性、乳化性等蛋白性质，使得豆粕蛋白在食品工业领域的应用价值大打折扣。

1.3.2 浸出法

溶剂浸提法是基于固液萃取的原理，使用有机溶剂溶解油料中的油脂，具有提油效率高、蛋白质变性小、操作简单等优点^[13]。张元生^[14]等人使用正戊烷萃取大豆油，在 1:6 的料液比、30℃萃取温度以及 2.4 h 萃取时间的最佳浸出条件下，大豆的提油率达到了 98.83%。但是此类有机溶剂易燃易爆存在安全隐患，残留的有机溶剂也有损伤中枢神经系统及运动神经细胞的危险^[15]，因此需要找到一种更加节能高效且安全的油脂萃取法，寻找新的大豆油提取工艺。

1.3.3 水代法

水代法的原理是利用水替代油脂在油料细胞内的位置，令油脂从原料中游离于水相，由于水和油彼此不互溶，且两者具有明显的密度差异^[16]，因此可以通过离心分离得到油脂^[17]。水代法提取条件温和，毛油质量高，但是油脂提取率较低，乳化现象严重，因此很多学者尝试借助物理、化学手段来辅助提取油脂。张祎^[18]

等采用浓度为 1.2 mol/L 的蔗糖辅助水代法提取文冠果籽油，提油率达到 70.9%。李清华^[19]等采用浓度 1.8 mol/L 的碳酸钠辅助水代法提取南瓜籽油，提取率达到 70.6%，表明盐效应可以改善乳化现象。

传统的水代法无法直接应用于大豆，因为大豆颗粒较小质地较硬，油脂难于释放出来，而且直接水萃取乳化非常严重^[20]，很难获得清油。

1.3.4 水酶法

水酶法是近年来兴起的一种油脂提取新技术。其原理是利用机械和酶的作用破坏大豆的细胞壁，令油脂从油料中得以释放出来。然后，依据非油成分（主要是蛋白质和碳水化合物）对油和水亲和力的差异^[21]，以及油水密度的不同，将油和非油成分进行分离。倪倩^[5]等采取水酶法萃取大豆油，选取中性蛋白酶对冷榨大豆饼进行酶解的蛋白提取率为 67.84%；钱俊青^[6]通过调整乳液分离蛋白酶的用量，使用石油醚萃取大豆油的提油率可达 84.50%，但石油醚易燃易爆存在安全隐患，而且酶解法成本高昂无法大规模应用；Athanasia^[22]等使用超声波处理结合水酶法提取石榴籽油，经研究发现通过此方法不仅将石榴籽油的提油率提高 18.4%，还将提取时间缩短了 91.7%；刘媛媛^[23]等人在其研究成果中指出，当把葵花籽精细研磨至粒径为 19.68 μm 时，能够极大程度提升游离油的产出效率。使用水酶法提取葵花籽油的反应条件是 1: 5 (w/v) 的料液比，添加 1.5% 的碱性蛋白酶 Protex 6L，提取时间 2 h，通过这种方式葵花籽的清油收率为 92.48%。

1.3.5 乙醇水提法

乙醇水提法是指蒸馏水为主要提取媒介，添加乙醇溶液充当破乳剂，以此来萃取植物油脂。溶液中的乙醇通过分子扩散运动进入到油水界面，从而改变其界面性质，达到破乳的效果^[24]。迟延娜^[25]等选择乙醇溶液作为破乳剂，发现乙醇具有良好的破乳效果，花生油的清油收率从 88% 显著提高至 93%。李杨^[26]等通过乙醇冷浴促使蛋白质变性，具有良好的破乳效果。倪双双^[27]等采用汽爆调质结合乙醇水提法提取玉米胚芽油的清油收率为 94.05%，其玉米胚芽油的品质符合国标一级标准。乙醇水提法是一种能够高效萃取油脂的方法，具有广阔的应用前景。

基于各项技术的研究进展，本课题以大豆为原料，通过采用乙醇水提法作为提取方法，试图解决以往大豆油工艺中大豆提油率低、乳化严重、豆粕资源浪费

严重等问题。本研究以清油收率和油脂品质为最主要考察目标，同时达到降低能耗、保护环境、减少生产成本和提高生产效率的效果，为大豆油提取甚至其他油料的提取提供了一条新的工艺路线，也为该工艺的工业化应用提供了技术支持。

1.4 汽爆预处理技术在食品中的应用

蒸汽爆破是一种将热能转化为机械能的原料预处理方法，其原理是水蒸气在高压条件下进入到原料内部，填充组织之间的空隙，再通过瞬间释放压力使料仓内的原料被膨化^[27-29]。汽爆可使结构紧凑、质地坚硬的植物组织更疏松，已应用于提高膳食纤维、酚类等化合物的萃取效率^[30,31]。也有研究利用汽爆改变大豆的质地结构，促进酚类物质的释放^[32]。张善英^[33]等利用汽爆处理油茶籽，使水代法的提油率提高了 27%。Yu^[34]等将油菜籽经汽爆调质后，油菜籽的出油率从 69.26%提高至 80.11%。

1.5 大豆蛋白的功能性质和利用价值

大豆分离蛋白是一种来源于豆粕的优质蛋白质。在各类农作物中，大豆是蛋白质含量最高的食品，为人类和动物提供了超过四分之一的蛋白质，是一种优质的植物蛋白源^[35]。与动物蛋白相比，植物蛋白更加健康、可持续，提供各种生理益处，如降低胆固醇、抗氧化和调节血压^[36]。大豆蛋白涵盖了人体必需的全部 8 种氨基酸^[37]，且氨基酸构成与人体需要十分契合。尤其值得一提的是，在谷类蛋白中通常较为稀缺的赖氨酸，于大豆之中含量颇高，因此大豆蛋白是谷类蛋白互补的天然理想食品。大豆蛋白具备良好的乳化性、持水性、凝胶性等功能性质，因此大豆蛋白经常被当作功能性成分添加到其他食品中作为食品添加剂或者配料使用^[38]，从而为大豆食品赋予更好的品质与性能^[39]。因此，在利用大豆中油脂的同时充分利用其蛋白，对于人体营养和食品工业发展具有重要的意义。

1.6 立题背景与意义

大豆富含蛋白质、脂肪、碳水化合物等多种营养成分，还含有卵磷脂、皂甙、异黄酮等生物活性因子，营养价值高。然而，传统大豆油脂制取方法存在诸多问题。压榨法的出油率低，而且热榨会使豆粕蛋白变性，影响其应用价值；溶剂浸出法使用的有机溶剂易燃易爆且危害人体健康；水代法因大豆细胞破壁难度大、乳化严重无法直接应用；水酶法成本较高不利于大规模生产。因此，开发高效、

节能、绿色的大豆油提取工艺迫在眉睫。

同时，大豆蛋白是优质植物蛋白源，在食品工业中具有重要价值。但在大豆油提取过程中，如何充分利用大豆蛋白，提高其功能性质，也是亟待解决的问题。汽爆调质作为一种新兴预处理技术，在提高萃取效率方面展现出潜力，乙醇水提法也具有高效、优质的特点，二者结合有望解决传统工艺的难题。

1.7 研究内容

本研究以大豆为原料，对汽爆调质预处理条件、乙醇水提法的工艺参数、大豆油的品质及豆粕的功能性质，以及汽爆调质提高大豆油水相萃取效率的机理进行研究，具体的研究内容如下：

（1）汽爆调质条件（浸泡时间、汽爆压力、维压时间）对大豆油水相萃取效率和油脂品质的影响。

（2）汽爆调质辅助乙醇水萃取大豆油工艺的建立和条件优化（乙醇体积分数、液料比、萃取温度、萃取时间、振荡速度）。

（3）汽爆调质对大豆油乙醇水萃取各相粒度分布及物料分配的影响（大豆粉、萃取后混合物、第一次离心后的水相、渣相的粒度分布；清油、乳化油、水相油、残渣油的油脂分配规律及物料去向衡算）。

（4）汽爆调质提高大豆油水相萃取效率的原因分析（清油收率高、油脂品质好及残油率低，从大豆组织中油脂存在状态、蛋白质功能性质、蛋白结构、豆粕微观形态进行原因分析）。主要包括豆粕蛋白质功能性质（溶解性、持水性、持油性、乳化性、乳化稳定性、起泡性、泡沫稳定性、表面疏水性）变化分析，豆粕蛋白结构变化表征（结晶结构、热稳定性、二级结构），大豆切片微观结构观察（大豆细胞油脂状态、大豆蛋白质的形态结构），及豆粕微观形态观察等。

第2章 汽爆调质对大豆油水相萃取效率和粕蛋白 功能性质的影响

2.1 前言

目前市面上多数大豆油是直接利用有机溶剂萃取大豆的方式来制取的。一直以来，己烷使用过程中的安全性以及向环境排放引起污染的问题备受瞩目。美国也有相关判定，在油籽萃取环节溶剂排放属于空气污染的关键源头，并且颁布了限制己烷排放的相关法规。出于削减己烷排放量的考量，食用油行业亟需探寻高效、节能、绿色的替代方案。水相萃取是一种良好的替代方法，但仅仅使用蒸馏水萃取大豆油存在严重乳化的现象，因此需要采用辅助处理手段以及破乳进行改进。

烘烤调质以及汽爆调质对油脂萃取具有显著的效果，本章采取烘烤法以及汽爆调质法萃取大豆油。经过预试验筛选，最终选定使用汽爆调质法结合乙醇水溶液萃取大豆油，采用此方法的原因是选用适当的条件可以有效地避免生成难以消除的乳化油，以便在不形成乳液时回收游离清油，同时为富含蛋白质的脱脂豆粕保留高附加值的利用价值。

在本章的研究中，系统探究了浸泡时间、汽爆压力以及维压时间等预处理因素对大豆清油收率的影响，同时针对萃取所得大豆油的品质、脱脂豆粕的蛋白质功能性质变化进行研究。通过一系列的实验分析，最终筛选出一种既能保障较高的清油收率，又能对油脂品质与蛋白质功能性质的不良影响最小的理想预处理条件。

2.2 材料与设备

2.2.1 实验原料

大豆，购于万达城市名人连锁超市（芜湖，中国），含有 $9.06\% \pm 0.16\%$ 的水分、 $18.02\% \pm 0.47\%$ 的油脂及 $32.56\% \pm 0.93\%$ 的蛋白质。

2.2.2 实验试剂

表 2-1 实验试剂

Table 2-1 Experimental reagents

试剂名称	生产厂家	规格
无水乙醇	国药集团化学试剂有限公司	分析纯
石油醚（30-60℃）	国药集团化学试剂有限公司	分析纯
甲基红	国药集团化学试剂有限公司	指示剂
亚甲基蓝	国药集团化学试剂有限公司	指示剂
溴甲酚绿	国药集团化学试剂有限公司	指示剂
氢氧化钠	国药集团化学试剂有限公司	分析纯
氢氧化钾	国药集团化学试剂有限公司	分析纯
酚酞	国药集团化学试剂有限公司	指示剂
乙醚	国药集团化学试剂有限公司	分析纯
异丙醇	国药集团化学试剂有限公司	分析纯
碘化钾	国药集团化学试剂有限公司	分析纯
可溶性淀粉	国药集团化学试剂有限公司	分析纯
考马斯亮蓝 G-250	国药集团化学试剂有限公司	显微镜用
磷酸二氢钾	国药集团化学试剂有限公司	分析纯
磷酸氢二钾	国药集团化学试剂有限公司	分析纯
溴酚蓝	国药集团化学试剂有限公司	指示剂
三氯甲烷	国药集团化学试剂有限公司	分析纯
冰乙酸	国药集团化学试剂有限公司	分析纯
牛血清白蛋白	国药集团化学试剂有限公司	生化试剂
十二烷基硫酸钠	国药集团化学试剂有限公司	分析纯

2.2.3 实验仪器与设备

电子天平（JA2003N），上海市佑科仪器仪表有限公司；电热鼓风干燥箱（ZX-9146 MBE），上海市博讯实业有限公司医疗设备厂；高速旋风粉碎机（FW-100），天津市泰斯特仪器有限公司；恒温水浴振荡器（SHA-B），常州市金捷乐电器有限公司；台式高速冷冻离心机（TGL-16M），盐城市凯特实验

仪器有限公司；蒸汽爆破机（QBS-80），苏州市清正生态科技有限公司；阿贝折射仪（WAY-2D），上海市光学仪器一厂；紫外分光光度计（MV-5800C），上海元析仪器有限公司；高速均质机（FA25），上海弗鲁克流体机械制造有限公司；粗脂肪测定仪（SZF-06A），上海新嘉电子有限公司。

2.3 实验方法

2.3.1 大豆化学组成分析

分别采用烘箱法（AOAC 法，Ca 2c-25）、索氏提取法（AOAC 法，995.19）及凯氏定氮法（AOAC 法 Ac 4-91）测定大豆中水分、油脂及蛋白质的含量。大豆原料含有 $9.06\% \pm 0.16\%$ 的水分、 $18.02\% \pm 0.47\%$ 的油脂及 $32.56\% \pm 0.93\%$ 的蛋白质。

2.3.2 大豆调质方法的筛选

大豆是我国主要的油料作物，因此我们选择了大豆进行预实验，分别采用烘烤调质法以及汽爆调质法对原料进行处理，最终确定了使用汽爆调质结合乙醇水提法萃取大豆油。

2.3.2.1 烘烤调质结合乙醇水萃取大豆油

将大豆分别于 140、150、160、170、180℃ 下烘烤 10 min，将大豆磨成细粉后，用 45% 体积分数的乙醇萃取大豆油，初步探索烘烤预处理对大豆清油收率的影响。

2.3.2.2 汽爆调质结合乙醇水萃取大豆油

称取大豆 50 g，清洗后加入 3 倍蒸馏水浸泡 2 h，沥干后放入汽爆机的料仓中进行汽爆调质。汽爆压力为 1.0 MPa，维压时间 15 s。汽爆后的大豆于 55℃ 烘箱中烘 12 h 至原含水量，得到汽爆调质大豆。

萃取流程：大豆→清洗→浸泡→汽爆调质→烘干→粉碎→乙醇水溶液萃取→离心分离→大豆清油

（1）汽爆压力对大豆油清油收率的影响

使用不同的汽爆压力（0 MPa、0.5 MPa、1.0 MPa、1.5 MPa、2.0 MPa、）对大豆进行预处理，考察汽爆压力对大豆油清油收率的影响。其它提取条件如下：大豆浸泡 2 h、维压时间 15 s、乙醇体积分数 45%、液料比 3:1 mL/g、萃取温度 70℃、萃取时间 2 h、振荡速度 140 r/min。

(2) 维压时间对大豆油清油收率的影响

使用不同的维压时间（0 MPa、0.5 MPa、1.0 MPa、1.5 MPa、2.0 MPa、）对大豆进行预处理，考察汽爆压力对大豆油清油收率的影响。其它提取条件如下：大豆浸泡 2 h、汽爆压力 1.0 MPa、乙醇体积分数 45%、液料比 3:1 mL/g、萃取温度 70℃、萃取时间 2 h、振荡速度 140 r/min。

(3) 浸泡时间对大豆油清油收率的影响

准确称取 5 g 大豆，按液料比 3:1（mL/g）加入蒸馏水分别浸泡 0.0、0.5、1.0、1.5、2.0 h。浸泡结束后，用纱布轻轻吸去大豆表面残留的水分，最后将大豆进行汽爆调质并萃取大豆油，考察浸泡时间对大豆油清油收率的影响。提取条件如下：汽爆压力 1.0 MPa、维压时间 30 s、乙醇体积分数 45%、液料比 3:1 mL/g、萃取温度 70℃、萃取时间 2 h、振荡速度 140 r/min。

2.3.3 大豆油水相萃取方法及清油收率的计算

称取 50 g 汽爆调质大豆，用高速旋风粉碎机在 24000 r/min 下粉碎 30 s，重复 5 次，得到大豆粉，于 4℃保存备用，同时以未汽爆大豆作对照。准确称取 5 g 大豆粉加入三角瓶，按液料比 3:1 mL/g 加入体积分数 45%的乙醇水溶液，搅拌均匀后，在 70℃下以 140 r/min 的速度在恒温水浴振荡器中萃取 2 h。萃取结束后在 5000 r/min（ $2817 \times g$ ）下离心 10 min，吸取上层清油和乳化层后，再将剩余物搅拌均匀后重复离心一次。合并前述两次离心获得的清油和乳化层，然后在 4000 r/min（ $1803 \times g$ ）下二次离心 10 min，吸取上层清油，计量清油质量，最后计算清油收率（清油质量占大豆粉中油脂质量的百分数）。

$$\text{清油收率}(\%) = (m_2 / (m_1 \times a)) \times 100\%$$

上式中， m_1 为大豆粉质量/g； m_2 为提取的大豆清油质量/g； a 为大豆含油量。吸去清油和乳化层后的离心管，缓缓倾斜倒去残渣上面的水相，用 5 mL 蒸馏水清洗两次，残渣于 55℃下烘干 12 h，得到豆粕。将豆粕研成细腻的粉末，装于自封口袋中，在 4℃下冷藏备用。

2.3.4 大豆油品质分析

酸价、过氧化值以及折光指数是检测油脂质量的重要参考指标，分别按 GB 5009.229-2016《食品安全国家标准 食品中酸价的测定》、GB 5009.227-2016《食品中过氧化值的测定》和 GB/T 5527-2010《动植物油脂 折光指数的测定》的方

法测定。

2.3.5 热烘及真空法对大豆油水分及挥发物含量的影响

(1) 烘干法对大豆油水分及挥发物含量的影响

为了进一步降低汽爆调质结合乙醇水萃取的大豆油中的水分及挥发物含量，将大豆油于 50℃ 的烘箱中分别烘干 0、1、2、3、4 h，之后按照 2.3.1 的方法测定处理后样品的水分及挥发物含量。

(2) 真空法对大豆油水分及挥发物含量的影响

为了进一步降低汽爆调质结合乙醇水萃取的大豆油中的水分及挥发物含量，准确称取 1.0 g 大豆油于离心管中，将离心管放入抽滤瓶中，于 0.06 MPa 的压力下使用真空泵分别抽真空 0、1、1.5、2、2.5 h，之后按照 2.3.1 的方法测定处理后样品的水分及挥发物含量。

2.3.6 豆粕蛋白功能性质的测定

(1) 可溶性蛋白质含量的测定参考郭红彦^[40]等的考马斯亮蓝染液染色法。配置 0.1% 质量分数的考马斯亮蓝溶液、100 µg/mL 的牛血清白蛋白 (BSA) 标准溶液，在 4℃ 下冷藏保存备用。加入染液后静置 2 min，用比色皿测定样品在 595 nm 处的吸光度^[41]，按照表 2-2 制作蛋白质浓度标准曲线，得到回归方程为： $Y=0.0347X+0.8488$ ($R^2=0.9915$)。

表 2-2 Bradford 法实验表

Table 2-2 Experiment Table of the Bradford Method

管号	0	1	2	3	4	5	6
BSA标准溶液	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.6	0.8
蒸馏水/mL	1.0	0.9	0.8	0.7	0.6	0.4	0.2
蛋白质浓度 (µg/mL)	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0

准确称取 0.5 g 待测样品溶于 25 mL 0.05mol/L pH=7 磷酸盐缓冲溶液中，配制成蛋白质溶液，漩涡振荡 15 s 后，于 5000 r/min 离心 20 min，吸取上层清液于离心管中并读取体积。取 0.1 mL 上层清液加入 5 mL 考马斯亮蓝溶液，放置 2 min 后用比色皿测定 595 nm 处的吸光度，按照公式计算可溶性蛋白质的含量。

$$\text{可溶性蛋白含量 (g/100g)} = c_1 \times v_1 / 10^4 / m_1$$

式中： c_1 为可溶性蛋白的浓度，µg/mL； v_1 为上层清液的体积，mL； m_1 为

待测样品的质量，g。

(2) 参考 Jeong 等^[42-44]的方法测定蛋白质的持水性（或持油性）。准确称取 0.5 g 待测样品，加入 5 mL 蒸馏水（或大豆油），漩涡振荡 2 min 后，于室温下静置 3 h，之后在 5000 r/min 下离心 15 min，缓缓倾斜离心管倒去上层液体，记录离心管的质量，按以下公式计算的结果表示为每克蛋白质保留的水或油的质量：

$$\text{持水性（持油性）（g/g）} = (m_1 - m_0 - m_2) / m_2$$

式中： m_0 为空离心管的质量，g； m_1 为离心后离心管+残渣的质量，g； m_2 为待测样品的质量，g。

(3) 乳化性指数（EAI）及乳化活性指数（ESI）的测定参考 Rivera^[45]的方法。准确称取 0.3 g 待测样品，加入 30 mL 0.05 mol/L pH=7 磷酸盐缓冲溶液后配制成质量分数为 1% 的大豆蛋白溶液。充分溶解后，向大豆蛋白溶液中加入 10 mL 大豆油，漩涡振荡 2 min 后，在 10000 r/min 下离心 2 min，立即在离心管底部吸取 20 μ L 乳状液，加入到 5 mL 0.1 % 十二烷基硫酸钠（SDS）溶液中。以 0.1% 质量分数的 SDS 溶液作为空白对照，用比色皿测定样品溶液在 500 nm 处的吸光度，记为 A_0 。按照以下公式计算待测样品的乳化活性指数（EAI）：

$$\text{EAI/min} = (2 \times 2.303 \times A_0) / (0.25 \times m)$$

式中： A_0 为 0 min 时的吸光度； m 为待测样品的质量，g。

将溶液静置 30 min，用移液枪吸取同样位置的乳状液 20 μ L，测定在 500 nm 处的吸光度 A_{30} ，乳化稳定性指数（ESI）按照以下方程式计算：

$$\text{ESI/min} = A_0 \times t / (A_0 - A_{30})$$

式中： A_0 为 0 min 时的吸光度； A_{30} 为 30 min 时的吸光度； t 为间隔时间，30 min。

(4) 起泡性及泡沫稳定性的测定参考 Medina^[46]的方法。准确称取待测样品 0.3 g，加入 30 mL 0.05 mol/L pH=7 的磷酸盐缓冲溶液，配制 10 mg/mL 的大豆蛋白溶液。使用高速均质机均质 2 min 后，将其迅速倒入 100 mL 的量筒中，读取泡沫的体积记为 V_1 。静置 20 min 后，再次记录泡沫体积记为 V_2 ，按照以下公式计算待测样品的起泡性以及泡沫稳定性：

$$\text{FC（\%）} = (V_1/V_0) \times 100\%$$

$$FS(\%) = (V_2/V_1) \times 100\%$$

式中： V_0 为蛋白溶液体积，30 mL； V_1 为0 min时的泡沫体积，mL； V_2 为20 min后的泡沫体积，mL。

(5) 参考方海砚^[47]等的方法，使用分光光度法测定样品的表面疏水性^[48,49]。称取待测样品，将其配制成10 mg/mL大豆蛋白溶液，旋涡振荡5 s将其混合均匀。用移液枪吸取0.5 mL蛋白溶液于离心管中，加入100 μ L 1.0mg/mL的溴酚蓝溶液，充分混匀后静置3 min。然后于5000 r/min下离心10 min，缓慢吸取上清液后用缓冲溶液将其稀释20倍，通过可见光分光光度计测定样品在595 nm处的吸光度。选择空白0.05 mol/L pH=7的磷酸盐缓冲溶液作为对照，通过溴酚蓝的结合量计算待测样品的表面疏水性(H_0)，按照以下公式计算溴酚蓝的结合量：

$$\text{溴酚蓝结合量}(\mu\text{g}) = 200 \mu\text{g} \times (A_0 - A_1) / A_0$$

式中： A_0 为空白对照组的吸光度； A_1 为样品溶液的吸光度。

2.3.7 数据处理方法

每组数据至少测定三次，结果表示为平均值 $\pm$ 标准差。采用SPSS19.0进行单因素方差分析(ANOVA)和邓肯多元极差检验(Duncan's multiple range test)显著性分析($P < 0.05$)，用Origin 2019b软件作图。

2.4 结果与分析

2.4.1 大豆油制取工艺的确定

2.4.1.1 烘烤调质辅助乙醇水萃取大豆油

烘烤温度对大豆油清油收率的影响如图2-1所示，当烘烤温度从140℃提高至170℃时，大豆油的清油收率也随之增加，从69.85%增加至89.69%。当大豆的烘烤条件为140℃、10 min时，大豆的清油收率为69.85%。维持烘烤时间不变，继续增加烘烤温度，在170℃下清油收率达到了峰值为89.69%，是140℃温度下萃取大豆油得率的1.28倍。说明烘烤能显著提高大豆的清油收率，这可能是因为随着温度的升高，大豆细胞壁收到烘烤而变得更薄，更加有利于油脂的溶出。另一方面大豆蛋白受热变性，内部的亲水基团暴露出来，减少了乳化油的产生，达到了良好的破乳效果。温度的提高也可能促使大豆中易乳化成分的脂类物质得以充分游离溶解度，进一步达到破乳的效果，提高大豆油的清油收率。值得

注意的是，当温度超过 170℃后，清油收率并未显著增加，这可能表明 170℃时已达到了最佳的破乳效果和水分蒸发的条件，继续增加烘烤温度无明显效果。

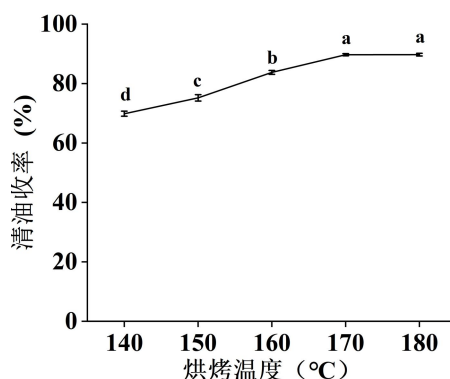


图 2-1 烘烤调质对乙醇水萃取大豆油清油收率的影响

Figure 2-1 Influence of roasting conditioning on the extraction of soybean oil with ethanol-water

2.4.1.2 汽爆调质辅助乙醇水相萃取大豆油

(1) 汽爆压力对大豆油清油收率的影响

大豆汽爆调质明显提高了水相萃取的清油收率（图 2-2A-B）。在 0~1.0 MPa 范围内，清油收率随着汽爆压力的升高而明显增大（图 2-2A），1.0 MPa 时清油收率达到 97.60%，接近对照的 2 倍。这可归咎于汽爆处理对大豆组织的撕裂和膨化作用，在一定程度上破坏了细胞壁，有利于油脂的释放。在汽爆压力 1.0~2.0 MPa 范围内，随着汽爆压力的增加，清油收率变化不显著^[50]；同时，过高的压力会导致大豆组织褐变，颜色加深，可能会影响油脂的色泽。在保证较高清油收率的前提下，考虑到节约能耗，选择汽爆压力 1.0 MPa 较好。

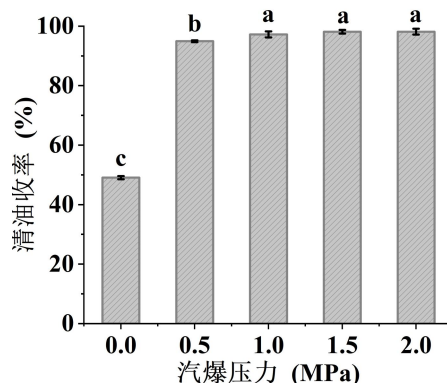


图 2-2 汽爆压力对大豆油清油收率的影响

Figure 2-2: Influence of steam explosion pressure on the yield of clear soybean oil

(2) 维压时间对大豆油清油收率的影响

维压时间是影响清油收率的另外一个重要因素。如图 2-3B 所示，维压时间在 0-15 s 范围内，清油收率随着维压时间的延长而明显提高，但当维压时间继续延长到 20 s 时清油收率变化不明显，这可能是因为渗透进入大豆细胞内的蒸汽已经足够在泄压时破坏细胞壁，延长维压时间对大豆细胞的破坏程度影响不大。另外，维压时间过长，大豆组织的颜色也会加深，可能会导致大豆产生焦糖化反应影响油脂颜色^[51]，因此选择维压时间 15 s 较为合适。

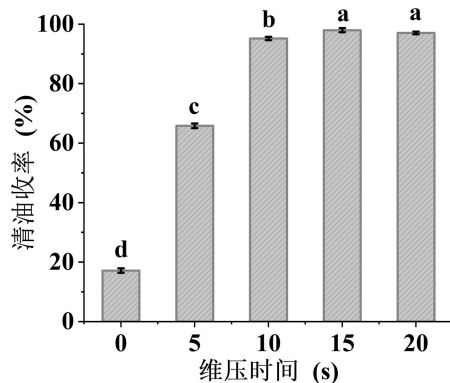


图 2-3 维压时间对大豆油清油收率的影响

Figure 2-3: Influence of pressure maintaining time on the yield of clear soybean oil

(3) 浸泡时间对大豆油清油收率的影响

在汽爆调质处理前，将大豆以液料比 3:1 (mL/g) 加入蒸馏水浸泡一定时间，浸泡时间对大豆清油收率的影响如图 2-4A 所示。随着浸泡时间不断延长，大豆油的清油收率呈现上升趋势，当浸泡时间达到 1.0 h 时，大豆的清油收率从 81.88% 显著提高至 96.86%，浸泡 2 h 后清油收率提高至 97.60%。如图 2-4B 所示，浸泡 2 h 后大豆的体积膨胀到未浸泡大豆的 2 倍左右，这种体积膨胀导致大豆内部组织变得更加疏松，更有利于汽爆调质过程中水蒸气的渗透和扩散，从而促进大豆细胞的充分破裂，进一步提高大豆的清油收率。当浸泡时间超过 2 h 后，进而影响其结构完整性，在后续的汽爆调质过程中难以维持完整的形态结构，导致组织破碎程度加剧反而不利于油脂萃取，因此浸泡时间选择 2 h 为宜。

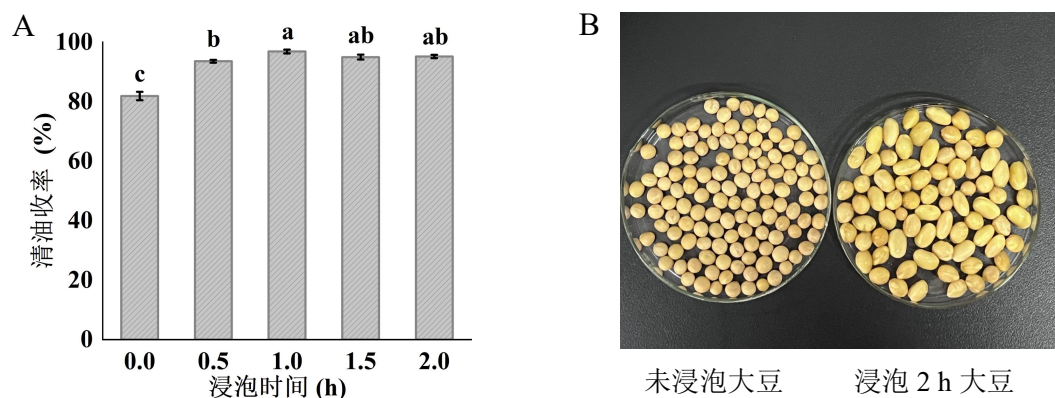


图 2-4 浸泡对大豆油清油收率以及膨胀程度的影响

Figure 2-4: Influence of soaking on the yield of clear soybean oil and the degree of expansion

注：图 A 为浸泡时间对清油收率的影响，图 B 为未浸泡大豆与浸泡 2 h 大豆的对比。

2.4.2 汽爆调质对大豆油品质的影响

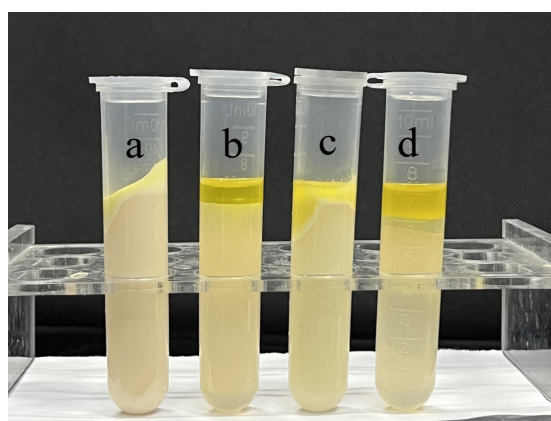
汽爆调质对大豆油外观及品质的影响见图 2-5 和表 2-3。大豆经汽爆调质后，大豆油的色泽无明显变化，仍为浅黄色，但透明度有所降低；尽管大豆油的酸价和过氧化值比对照组有所提高，但仍远低于国家一级大豆油标准值，折光指数也无明显变化，符合良好品质要求。大豆经汽爆调质后，所得油脂的水分及挥发物含量明显高于国标值，需要进一步降低，但比对照组的大豆油明显更低，表明大豆汽爆调质对降低水相萃取所得大豆油的水分及挥发物是有利的。大豆油的酸价和过氧化值有所上升，可能是由于汽爆过程中游离出来的少量油脂发生轻微水解和氧化所致。但大豆汽爆调质的时间极短，因此对油脂的品质影响很小，萃取后获得的大豆油依然是高品质的。由于汽爆后大豆组织结构变得疏松，非油成分也容易溶解出来，可能是油脂中水分及挥发物含量升高的原因，但可以通过进一步处理使之降低至符合国家一级大豆油标准。

表 2-3 汽爆调质对油脂品质的影响

Table 2-3 Effect of steam explosion conditioning on oil quality.

样品	酸价 (KOH) /(mg/g)	过氧化值 /(mmol/kg)	折光系数 /n ⁴⁰	水分及挥发物 /%
对照 (图 b)	0.08±0.01 ^b	1.37±0.21 ^b	1.4725±0.0001 ^a	5.83±0.06 ^a
汽爆 (图 d)	0.13±0.02 ^a	2.41±0.04 ^a	1.4726±0.0001 ^a	1.02±0.05 ^b
大豆油国标 一级	≤ 0.50	≤ 5.00	1.4720-1.4770	≤ 0.20
GB/T 1535-2017 二级	≤ 2.00	≤ 6.00		

注：同一列的不同小写字母代表显著性差异 ($p<0.05$)，下同。



(a)对照、水；(b)对照、45%乙醇；(c)汽爆、水；(d)汽爆、45%乙醇

图 2-5 汽爆调质对油脂颜色的影响

Figure 2-5 Effects of steam explosion conditioning on the color of oil

2.4.3 热烘及真空法对大豆油水分及挥发物含量的影响

在大豆油的加工过程中，有效控制水分及挥发物含量是确保油脂品质的关键环节。由表 2-3 可知经过汽爆调质结合乙醇水萃取的大豆油中水分及挥发物含量过高，因此采用热烘法以及真空法控制水分及挥发物的含量，热烘法及真空法对水分及挥发物含量的影响如图 2-6 所示。当热烘时间为 2 h、或者真空压力为 0.06 MPa、真空时间为 1.5 h 时，水分及挥发物含量分别显著降低至 0.12%、0.11%，均能符合一级大豆油标准 ($\leq 0.20\%$)。但考虑到两种方法对油脂品质的影响，选择真空法效果更好。热烘过程中，较长时间的高温处理可能引发油脂的氧化、酸败等化学反应，影响油脂品质。而真空法是在相对较低温度下，通过抽真空的方式促使水分及挥发物在较低温度下快速挥发，对油脂品质的影响较小^[52]。因此，综合考虑对油脂品质的影响，选择真空法去除汽爆调质萃取大豆油中的水分及挥

发物更为适宜。

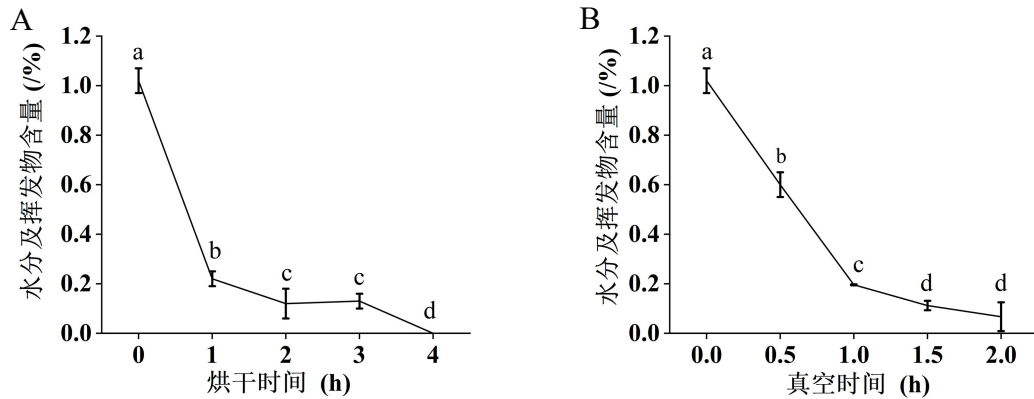


图 2-6 热烘及真空法对大豆油水分及挥发物含量的影响

Figure 2-6 Effects of drying and vacuum methods on the moisture and volatile matter content in soybean oil

2.4.4 汽爆对豆粕蛋白功能性质的影响

在加工过程中，蛋白质可能受到挤压或者高温等作用而变性，进而影响到其蛋白结构以及功能性质，汽爆调质对豆粕蛋白性质的影响如表 2-4 所示。经过处理后，豆粕蛋白的可溶性蛋白含量从 7.60%降低至 6.03%。这可能是在水相萃取大豆油的过程中，随着清油收率的上升，乙醇作为萃取剂也溶解了更多的可溶性蛋白。

持水性（WHC）和持油性（OHC）是蛋白质的重要特性^[53]，在肉制品、乳制品、烘焙产品和其他食品的质地中发挥着重要的作用。由表 2-4 可知，大豆汽爆调质后豆粕蛋白的持水性明显增大，持油性降低、表面疏水性明显降低^[54]。汽爆调质使得豆粕结构变得更疏松、孔隙增多，蛋白质更容易吸水溶胀，可能是瞬时汽爆使蛋白质折叠导致疏水基更加埋藏^[55,56]，蛋白质的亲水基暴露出来从而增加了豆粕的持水性^[46]。同时，汽爆调质后豆粕的持油性和表面疏水性降低，有利于油脂与豆粕的分离，从而降低了残油率。

大豆分离蛋白在加工过程中通常会受到加热，蛋白质的乳化功能会随着加热而降低^[57]。尽管大豆蛋白由于其更刚性的结构，在加热过程中比乳清蛋白更稳定，但它们也可能在长时间加热下变性，特别是在高于 85°C 的温度下 30 分钟，导致液滴聚集^[58]。蛋白质的乳化特性取决于它们扩散到油/水界面的能力^[59]，然后在界面上经历部分解折叠和重排。EAI 代表蛋白质吸附在油-水界面的性能，而 ESI 代表的是乳液经过一段时间的存储或者加入之后维持在油-水界面的能力^[60]。经

过汽爆调质处理后，豆粕中的蛋白质乳化性从 $4.16 \text{ m}^2/\text{g}$ 显著降低至 $2.98 \text{ m}^2/\text{g}$ ，乳化稳定性从 $79.45 \text{ m}^2/\text{g}$ 显著降低至 $56.72 \text{ m}^2/\text{g}$ ，说明汽爆调质产生的热蒸汽改变了蛋白质的性质，从而降低了其乳化性能。因此可以减少乳化油的产生，破坏蛋白质与油脂的复合体，增加大豆油的清油收率。

蛋白质的起泡性是指蛋白质降低气-液交界面的张力，促使泡沫产生的能力^[61]，维持泡沫体积、令其不易消散的能力被称为泡沫稳定性^[62]，蛋白质空间结构的变化会影响大豆蛋白的起泡性以及泡沫稳定性。如表 3-4 所示与对照组相比，汽爆后蛋白质的起泡性从 17.44% 下降 14.00%，泡沫稳定性从 66.27% 下降至 47.60%，说明蛋白质发生了一定的变性^[63]。

表 2-4 汽爆调质对豆粕中蛋白质功能性质的影响

Table 2-4 Effects of steam-explosion conditioning on the functional properties of proteins in soybean meal

样品	可溶性蛋白含量/%	持水性/(g/g)	持油性/(g/g)	EAI/(m^2/g)	ESI/(m^2/g)	起泡性/%	泡沫稳定性/%	表面疏水性/(μg)
对照	7.60 ± 0.57^a	3.51 ± 0.15^b	3.09 ± 0.13^a	4.16 ± 0.07^a	79.45 ± 0.71^a	17.44 ± 1.17^a	66.27 ± 1.00^a	52.49 ± 2.58^a
1.0 MPa 15s	6.03 ± 0.08^b	4.28 ± 0.23^a	2.78 ± 0.15^a	2.98 ± 0.16^b	56.72 ± 1.67^b	14.00 ± 0.33^b	47.60 ± 1.25^b	49.72 ± 1.27^b

2.5 本章小结

本章系统研究了汽爆调质对大豆油水相萃取效率、油脂品质及豆粕蛋白功能性质的影响。通过对多种预处理方法的筛选，确定汽爆结合乙醇水提法是萃取大豆油的有效方式。研究发现，汽爆压力、维压时间和浸泡时间对清油收率影响显著，确定了较优预处理条件为浸泡时间 2 h、汽爆压力 1.0 MPa、维压时间 15 s。在此条件下，清油收率较高且对油脂品质影响较小。同时，汽爆调质会使大豆油的酸价、过氧化值和水分及挥发物含量有所变化，但仍符合高品质要求。此外，预处理改变了豆粕蛋白的功能性质，如降低了可溶性蛋白含量，增大了持水性，降低了持油性、乳化性和起泡性等。这些结果为后续研究奠定了基础，表明汽爆调质在大豆油萃取及豆粕蛋白利用方面具有重要的研究价值和应用潜力。

第3章 汽爆调质辅助乙醇水萃取大豆油工艺的优化

3.1 引言

大豆油具有很高的营养价值，但因为大豆含油量低、极易乳化等特点导致大豆油的水相提取较为困难。目前多是以有机溶剂萃取的方法提取大豆油，正己烷等易燃易爆且成本高。大豆油的水提法是一项很有前景的技术，具有绿色、安全、简便、经济以及蛋白质变性程度较低等特点。本实验使用蒸汽爆破作为调质方法，以乙醇水作为萃取剂，促使油脂释放到水相中并防止乳化，经离心分离获得大豆清油。

为了提高大豆的清油收率，需要探究浸泡时间、汽爆压力、维压时间、液料比等因素对清油收率的影响，并对水相萃取大豆油的工艺进行响应面优化。

3.2 材料与设备

3.2.1 实验原料和试剂

大豆，购于万达城市名人连锁超市（芜湖，中国），含有 $9.06\% \pm 0.16\%$ 的水分、 $18.02\% \pm 0.47\%$ 的油脂及 $32.56\% \pm 0.93\%$ 的蛋白质。无水乙醇，国药集团化学试剂有限公司，分析纯。

3.2.2 主要实验设备

恒温水浴振荡器（SHA-B），常州市金捷乐电器有限公司；台式高速冷冻离心机（TGL-16M），盐城市凯特实验仪器有限公司。

3.3 实验方法

3.3.1 粉碎次数对大豆粉粒度的影响

准确称取 0.2 g 待测样品于 50 mL 的离心管中，加入 20 mL 体积分数 45%（v/v）的乙醇水溶液，混合均匀制备成样品悬液。测定参数为：分散剂为水，转速 1500 r/min，测定模式为手动，分散模式为多分散，每个样品平行测定 5 次后取平均值。

3.3.2 大豆粉粒度对油脂乙醇水萃取效率的影响

每次准确称取待测样品 50 g，分别使用高速粉碎机将样品粉碎 1、2、3、4、5 次，以清油收率为考察因素，探究汽爆前后不同粉碎次数对大豆油水相萃取效率的影响。水相萃取条件为：乙醇体积分数 45%、液料比 3:1 mL/g、萃取温度 70℃、萃取时间 2 h、振荡速度 140 r/min。

3.3.3 乙醇体积分数对大豆油清油收率的影响

准确称取 5 g 待测样品，按液料比 3:1 (mL/g) 分别加入 0%、15%、30%、45%、60%体积分数的乙醇水溶液，在 70℃下以 140 r/min 的振荡速度水浴振荡萃取 2 h，离心分离后测定清油收率，考察液料比对大豆清油收率的影响。

3.3.4 液料比对大豆油清油收率的影响

准确称取 5 g 待测样品，分别按 2:1、3:1、4:1、5:1、6:1 (mL/g) 的液料比加入 45%体积分数的乙醇水溶液，在 70℃下以 140 r/min 的振荡速度水浴振荡萃取 2 h，离心分离后测定清油收率，考察液料比对大豆清油收率的影响。

3.3.5 萃取温度对大豆油清油收率的影响

分别称取 5 g 待测样品，按液料比 3:1 (mL/g) 加入 45%体积分数的乙醇水溶液，分别在 40、50、60、70、80℃下以 140 r/min 的振荡速度水浴振荡萃取 2 h，离心分离后测定清油收率，考察萃取温度对大豆清油收率的影响。

3.3.6 萃取时间对大豆油清油收率的影响

分别称取 5 g 待测样品，按液料比 3:1 (mL/g) 加入 45%体积分数的乙醇水溶液，在 70℃下以 140 r/min 的振荡速度水浴振荡分别萃取 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 h，离心分离后测定清油收率，考察萃取时间对大豆清油收率的影响。

3.3.7 振荡速度对大豆油清油收率的影响

分别称取 5 g 待测样品，按液料比 3:1 (mL/g) 加入 45%体积分数的乙醇水溶液，在 70℃下分别以 100、120、140、160、180 r/min 的振荡速度水浴振荡萃取 2 h，离心分离后测定清油收率，考察萃取温度对大豆清油收率的影响。

3.3.8 大豆油水相萃取的响应面优化实验

根据单因素实验选择乙醇体积分数 (A)、液料比 (B)、萃取温度 (C) 以及萃取时间 (D) 作为自变量，以大豆油的清油收率为响应值，进行了响应面最优设计对四个因素进行交叉实验，试验测试方案及测试结果如表 3-1 所示。运用

Design-Expert 软件进行拟合。

表 3-1 试验因素与水平表

Table 3-1 Factors and levels of the experiment

水平	因素			
	A 乙醇体积分数/%	B 液料比/(mL/g)	C 萃取温度/°C	D 萃取时间/h
-1	30	2:1	60	1.5
0	45	3:1	70	2
1	60	4:1	80	2.5

3.3.9 数据处理方法

每组数据至少测定三次，结果表示为平均值 $\pm$ 标准差。采用 SPSS19.0 进行单因素方差分析（ANOVA）和邓肯多元极差检验（Duncan's multiple range test）显著性分析（ $P < 0.05$ ），用 Origin 2019b 软件作图。

3.4 结果与分析

3.4.1 粉碎次数对大豆粉粒度的影响

从图 3-1 可以看出随着粉碎次数的增加，无论是对照组还是汽爆后的大豆粉均是小粒径数量增加，大粒径颗粒数量减少。从图 3-1A-B 可以看出，大豆粉的粒径分布范围变窄，小粒径峰体积分数增大，增加粉碎次数可以显著降低大豆粉的平均粒径。随着粉碎次数的增加，汽爆后大豆粉的粒径分布的峰值是先减小，到后期变化变缓，且整体上粒径分布峰值的变化幅度比对照组稍大。说明粉碎次数对大豆粉粒径影响相对较小，因此粉碎次数选择 4-5 次为最佳。根据表 3-2 可知，汽爆调质后的大粒径 D_{90} 显著小于对照组，随着粉碎次数的增加，汽爆组与对照组的 D_{90} 、 $D[4,3]$ 均显著下降，说明增加粉碎次数能显著降低大豆粉的粒径，有利于增大原料与乙醇的接触面积，提高大豆油的清油收率。

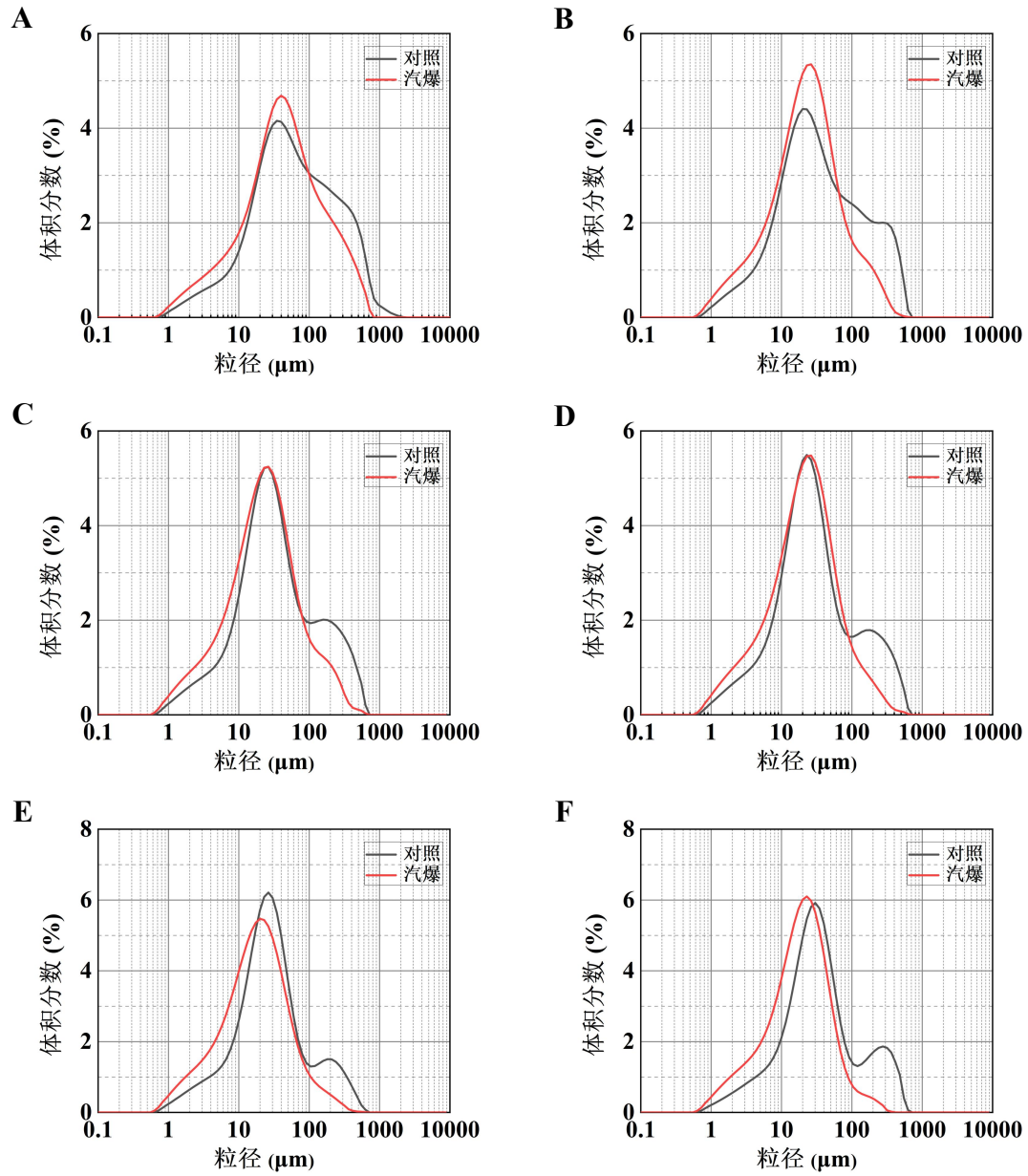


图 3-1 不同粉碎次数对大豆粉粒径分布的影响

Figure 3-1 Effects of different grinding times on the particle size distribution of soybean powder

表 3-2 不同粉碎次数对大豆粉粒度分布参数的影响

Table 3-2 Effect of different grinding times on particle size distribution parameters of soybean powder

样品		D ₁₀ / μm	D ₅₀ / μm	D ₉₀ / μm	D[3,2] / μm	D[4,3] / μm
粉碎	对照	8.97 $\pm$ 0.13 ^a	49.81 $\pm$ 1.25 ^a	319.83 $\pm$ 2.18 ^a	18.64 $\pm$ 0.26 ^a	122.89 $\pm$ 2.10 ^a
1 次	汽爆	5.62 $\pm$ 0.08 ^g	38.22 $\pm$ 0.70 ^b	208.86 $\pm$ 1.06 ^c	13.51 $\pm$ 0.18 ^d	77.52 $\pm$ 1.82 ^b
粉碎	对照	6.37 $\pm$ 0.25 ^d	32.06 $\pm$ 1.69 ^d	250.01 $\pm$ 1.21 ^b	14.24 $\pm$ 0.32 ^c	83.36 $\pm$ 1.10 ^b
2 次	汽爆	4.36 $\pm$ 0.07 ^h	24.05 $\pm$ 0.50 ^f	103.52 $\pm$ 1.33 ^{ef}	10.47 $\pm$ 0.16 ^f	43.73 $\pm$ 3.94 ^e
粉碎	对照	6.73 $\pm$ 0.04 ^c	31.49 $\pm$ 0.23 ^d	241.02 $\pm$ 2.02 ^b	14.46 $\pm$ 0.07 ^c	80.51 $\pm$ 1.62 ^b
3 次	汽爆	4.35 $\pm$ 0.04 ^h	24.08 $\pm$ 0.34 ^f	107.88 $\pm$ 1.47 ^e	10.44 $\pm$ 0.11 ^f	44.05 $\pm$ 2.62 ^e
粉碎	对照	5.77 $\pm$ 0.06 ^f	27.14 $\pm$ 0.33 ^e	200.65 $\pm$ 1.56 ^c	12.86 $\pm$ 0.12 ^e	67.99 $\pm$ 1.48 ^c
4 次	汽爆	4.08 $\pm$ 0.03 ⁱ	22.61 $\pm$ 0.19 ^g	83.01 $\pm$ 1.94 ^{fg}	9.94 $\pm$ 0.06 ^g	37.54 $\pm$ 1.32 ^f
粉碎	对照	6.27 $\pm$ 0.05 ^e	28.12 $\pm$ 0.19 ^e	168.59 $\pm$ 2.71 ^d	13.53 $\pm$ 0.08 ^d	60.34 $\pm$ 1.34 ^d
5 次	汽爆	3.62 $\pm$ 0.01 ^k	18.94 $\pm$ 0.08 ⁱ	68.64 $\pm$ 1.80 ^{gh}	8.85 $\pm$ 0.02 ⁱ	32.33 $\pm$ 1.66 ^{fg}
粉碎	对照	7.01 $\pm$ 0.19 ^b	33.11 $\pm$ 1.06 ^c	242.71 $\pm$ 1.55 ^b	15.19 $\pm$ 0.39 ^b	77.43 $\pm$ 1.19 ^b
6 次	汽爆	3.83 $\pm$ 0.02 ^j	19.92 $\pm$ 0.082 ^h	59.80 $\pm$ 0.93 ^h	9.27 $\pm$ 0.03 ^h	29.66 $\pm$ 0.64 ^g

3.4.2 大豆粉粒度对油脂清油收率的影响

不同粉碎次数对大豆油清油收率的影响如图 3-2 所示。随着粉碎次数从 1 次增加到 6 次，清油收率呈现逐渐上升的趋势。从粉碎一次时的 49.05%清油收率，显著上升至第 6 次粉碎时的 61.98%。说明随着粉碎次数的增加，大豆的颗粒面积变小、比表面积增大，使得油脂更加容易从组织中释放出来，从而提高了清油收率。当粉碎次数超过 5 次时，清油收率的变化不大，说明豆粉颗粒已足够细小，继续增加粉碎次数对油脂释放的促进作用减弱。另一方面，粉碎次数对汽爆后的大豆粉的清油收率影响较小，在粉碎次数为 3 次时清油收率就达到了 96.67%，说明汽爆处理很大程度上破坏了大豆粉的组织结构，油脂可以充分地游离到水相中，这说明汽爆调质可以显著提高清油收率。

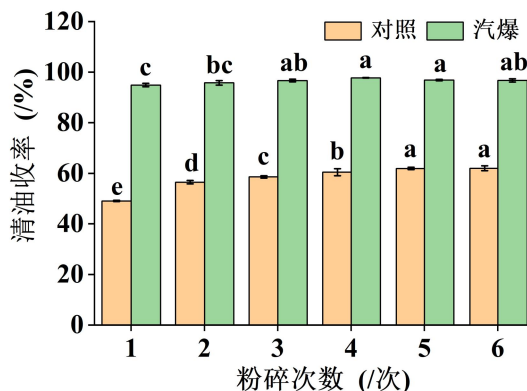


图 3-2 不同粉碎次数对清油收率的影响

Figure 3-2 Effects of different grinding times on the yield of clear oil

3.4.3 乙醇体积分数对油脂清油收率的影响

由图 3-3 可以看出, 在 0-45% 范围内随着乙醇体积分数的增加, 清油收率明显增加, 乙醇体积分数为 45% 时清油收率达到 96.80%。当乙醇浓度继续增加到 60% 时, 清油收率反而明显下降。乙醇具有较强的亲水性, 其界面膜处蛋白质亲水端的吸附能力可以破坏界面膜的稳定性, 抑制萃取混合液中水包油型乳液的形成^[64], 使体系中的小油滴逐渐聚集成大油滴, 漂浮在水相上方形成清油, 因此乙醇具有良好的破乳能力。同时较高的乙醇浓度可促进极性物质的溶出, 乙醇具有较强的渗透能力进入到油水界面增加油脂的溶解。但是乙醇浓度达到 60% 可能有助于大豆组织中多糖等物质的溶出, 多糖有助于乳液的形成和稳定, 从而不利于清油的释放。因此选择体积分数 45% 的乙醇水溶液作为萃取剂较好。

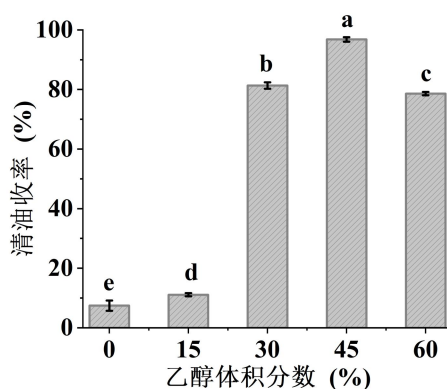


图 3-3 乙醇体积分数对清油收率的影响

Figure 3-3 Effect of ethanol volume fraction on the yield of clear oil

3.4.4 液料比对油脂清油收率的影响

液料比对大豆油水相萃取的影响如图 3-4 所示, 当体系中的液料比超过 2:1 mL/g 时, 清油收率也从 75.19%显著提高至 93.60%。当液料比过低时, 萃取混合物的体系粘度过高^[65], 水浴振荡不均匀, 减少了萃取液与原料的接触面积, 限制了乙醇水溶液向大豆细胞内的渗透扩散, 导致油脂置换效率低, 部分油脂无法游离。当液料比升高时, 体系粘度下降, 增大了大豆粉与溶液的接触面积, 促进乙醇向大豆组织内部的渗透, 从而提高油脂的萃取效率。然而, 当液料比超过 3:1 mL/g 时, 清油收率反而下降, 可能是萃取液过高增加了蛋白质的溶出程度, 导致蛋白质与游离的油脂重新乳化, 清油收率随之降低。同时, 过高的液料比会增大生产成本, 也会增加后续乙醇回收以及油脂精炼的难度, 因此选择液料比 3:1 mL/g 为宜。

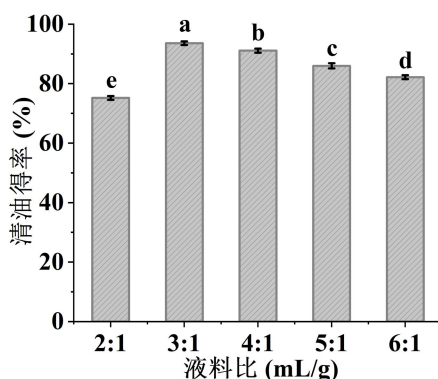


图 3-4 液料比对清油收率的影响

Figure 3-4 Effect of liquid- to-solid ratio on the yield of clear oil

3.4.5 萃取温度对油脂清油收率的影响

如图 3-5 所示, 随着萃取温度的逐渐升高, 大豆的清油收率也显著提高。当萃取温度为 40℃时, 清油收率为 72.47%; 当温度升高至 70℃, 清油收率显著增高至 97.60%。萃取温度的上升有利于加剧萃取混合物内的分子运动, 加速油脂的溶解与溶出, 使得油脂更加容易游离、降低渣相的残油量、提高清油收率。且温度的升高导致蛋白质分子结构展开, 降低了蛋白质与油脂的结合能力, 减少乳化油的产生。但当萃取温度超过 80℃时清油收率反而降低, 这一结果与其他研究结果相似: 只有在一定温度范围内, 清油收率持续上升, 之后的速度会稳定或降低^[66]。这可能是因为温度较高时蛋白质变性程度加深形成不溶性聚集体^[67], 溶解性降低, 阻碍了油脂的分离与释放。过高的萃取温度也可能会导致乙醇溶液

的挥发，降低萃取液中的乙醇浓度增加体系粘度，因此萃取温度为 70℃时提油效果最佳。

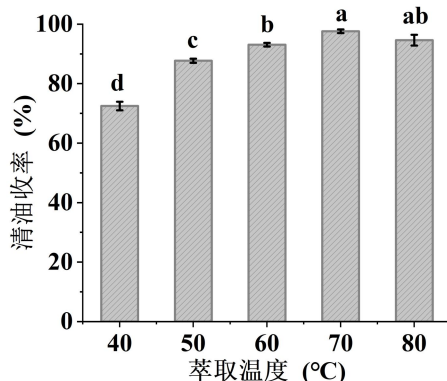


图 3-5 萃取温度对清油收率的影响

Figure 3-5 Effect of extraction temperature on the yield of clear oil

3.4.6 萃取时间对油脂清油收率的影响

如图 3-6 所示为萃取时间对大豆清油收率的影响。由图可知，随着萃取时间的不断增加，清油收率也呈现稳步上升的趋势。当萃取时间从 0.5 h 提高到 1.5 h 时，清油收率从 85.79%显著提高至 96.69%。萃取时间过短不利于充分反应，清油收率较低。而萃取时间过长也可能导致蛋白质变性程度过高，进一步将油脂包裹起来形成不溶性聚集体，降低清油收率。另一方面萃取时间过长会增加生产过程中的能耗，导致生产成本升高；变性的蛋白质营养价值受到影响，不利于脱脂豆粕的回收再利用，因此萃取时间选择 2 h 为宜。

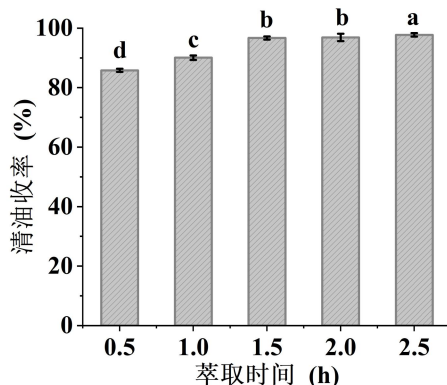


图 3-6 萃取时间对清油收率的影响

Figure 3-6 Effect of extraction time on the yield of clear oil

3.4.7 振荡速度对油脂清油收率的影响

如图 3-7 可见振荡速度为 100 r/min 时，混合物体系内分子运动较慢，导致

油脂不能充分从原料中被提取出来，所以清油收率相对较低。当振荡速度提升到 120 r/min 及以上时，促进了大豆粉与乙醇溶液之间的萃取效率，使得油脂能够更有效地从原料中分离出来，从而提高了清油收率。当振荡速度继续增加时，清油收率无显著变化，说明振荡速度的变化对清油收率的影响有限。

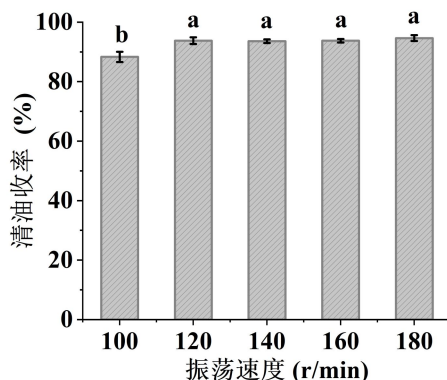


图 3-7 振荡速度对清油收率的影响

Figure 3-7 Effect of oscillation speed on the yield of clear oil

3.4.8 大豆油水相萃取工艺的响应面优化

3.4.8.1 模型建立及其方差分析

Box-Behnken 设计是一种高效的响应面设计，特别侧重于以最少的运行次数确定实验变量和总体实验误差的影响。因此依据单因素实验的结果，选取对清油收率影响比较显著的四个因素作为自变量采用响应面法设计实验方案，分别为乙醇体积分数（A）、液料比（B）、萃取温度（C）、萃取时间（D），清油收率（Y）作为响应值。

表 3-3 为响应面优化实验的设计及结果。根据表 3-2 的结果，利用 Design-Expert 软件对响应值和各自变量进行回归拟合，得到大豆清油收率的二次多项式回归方程如下：

$$Y=95.94-8.07\times A-1.88\times B+2.65\times C-4.68\times D-1.34\times A\times B+2.34\times A\times C-8.97\times A\times D+5.44\times B\times C+2.09\times B\times D+1.62\times C\times D-13.16\times A^2-11.55\times B^2-13.54\times C^2-14.57\times D^2$$

式中：Y-大豆清油收率（%），A-乙醇体积分数（%），B-液料比（mL/g），C-萃取温度（℃），D-萃取时间（h）。

表 3-3 响应面优化实验的设计与结果

Table 3-3 Design and results of response surface optimization experiments

实验编号	A 乙醇体积分数 /%	B 液料比 /mL/g	C 萃取温度 /°C	D 萃取时间/h	Y 清油收率 /%
1	-1 (30)	-1 (2:1)	0 (70)	0 (2.0)	83.13
2	1 (60)	-1	0	0	70.71
3	-1	1 (4:1)	0	0	75.63
4	1	1	0	0	57.85
5	0 (45)	0 (3:1)	-1 (60)	-1 (1.5)	73.41
6	0	0	1 (80)	-1	78.43
7	0	0	-1	1 (2.5)	55.18
8	0	0	1	1	66.67
9	-1	0	0	-1	72.47
10	1	0	0	-1	72.19
11	-1	0	0	1	81.39
12	1	0	0	1	45.21
13	0	-1	-1	0	76.73
14	0	1	-1	0	59.70
15	0	-1	1	0	70.33
16	0	1	1	0	75.04
17	-1	0	-1	0	77.34
18	1	0	-1	0	57.59
19	-1	0	1	0	75.86
20	1	0	1	0	65.45
21	0	-1	0	-1	71.23
22	0	1	0	-1	72.11
23	0	-1	0	1	62.99
24	0	1	0	1	72.24
25	0	0	0	0	95.06
26	0	0	0	0	93.63
27	0	0	0	0	95.06
28	0	0	0	0	98.30
29	0	0	0	0	97.67

注：汽爆压力 1.5 MPa、维压时间 15 s、振荡速度 140 r/min。

对表 3-3 的响应面实验数据进行回归分析，得到回归分析表 3-4 讨论了自变量因素对清油收率的影响。此外，还使用回归分析建立了各因素与结果响应之间的数学模型，对加工参数进行优化，以获得水相萃取大豆油的最优条件^[68]。

由表 3-4 数据可知，在回归模型中， $F=20.40$ ， $P<0.0001$ ，说明该二次多项式方程差异极显著。而失拟项 $P=0.0587>0.05$ ，说明失拟项差异不显著、该回归方程符合实验结果。相关系数 R^2 描述了数据与模型的拟合程度。如果 R^2 的值接近

1, 则模型是有意义的^[69], 该模型的相关系数 $R^2=0.9533$, 说明该模型的预测值可以很好地解释实际实验结果的真实值, 与真实值具有高度的相关性。模型的调整决定系数 R_{Adj}^2 为 0.9065, 说明该模型测试误差比较好, 与实际实验的拟合程度较好^[70]。该模型的 C_v 值为 5.41%代表了实验的精准度, 该 C_v 值越小表示预测值越可靠。因此, 选取的四个因素得到的回归方程可以对大豆的清油收率进行预测。由该模型可知对清油收率的影响大小依次为: 乙醇浓度>萃取时间>萃取温度>液料比。

表 3-4 回归分析表

Table 3-4 Regression analysis table

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	4591.50	14	327.96	20.40	< 0.0001	**
A-乙醇浓度	781.18	1	781.18	48.58	< 0.0001	**
B-液料比	42.38	1	42.38	2.64	0.1268	
C-萃取温度	84.43	1	84.43	5.25	0.0380	*
D-萃取时间	262.83	1	262.83	16.35	0.0012	**
AB	7.18	1	7.18	0.45	0.5148	
AC	21.81	1	21.81	1.36	0.2636	
AD	322.20	1	322.20	20.04	0.0005	**
BC	118.16	1	118.16	7.35	0.0169	*
BD	17.51	1	17.51	1.09	0.3143	
CD	10.47	1	10.47	0.65	0.4333	
A^2	1122.71	1	1122.71	69.82	< 0.0001	**
B^2	864.93	1	864.93	53.79	< 0.0001	**
C^2	1189.60	1	1189.60	73.98	< 0.0001	**
D^2	1376.73	1	1376.73	85.62	< 0.0001	**
残差	225.12	14	16.08			
失拟项	209.67	10	20.97	5.43	0.0587	
纯误差	15.45	4	3.86			
总误差	4816.62	28				
$R^2=0.9533$ $R_{Adj}^2=0.9065$ $C_v=5.41\%$						

注: *表示 $P<0.05$, 即差异显著; **表示 $P<0.01$, 即差异极显著。

3.4.8.2 响应面图分析

响应面图是响应值对各因素所构成的三维空间曲面图^[71], 从图 3-8 中可看出各个因素交叉组合对响应值清油收率的影响。在 3D 模型图中, 图形变化幅度越大表明这两个因素的交互作用对清油收率的影响越明显, 图中可以较为轻易地找到曲面图的最高点, 说明清油收率容易得到最高值。从图 3-8 可以得出, 图 C_1

的交互作用对清油收率的影响最显著，随着萃取时间和乙醇体积分数的升高，大豆油的清油收率呈现先增高后降低的趋势。

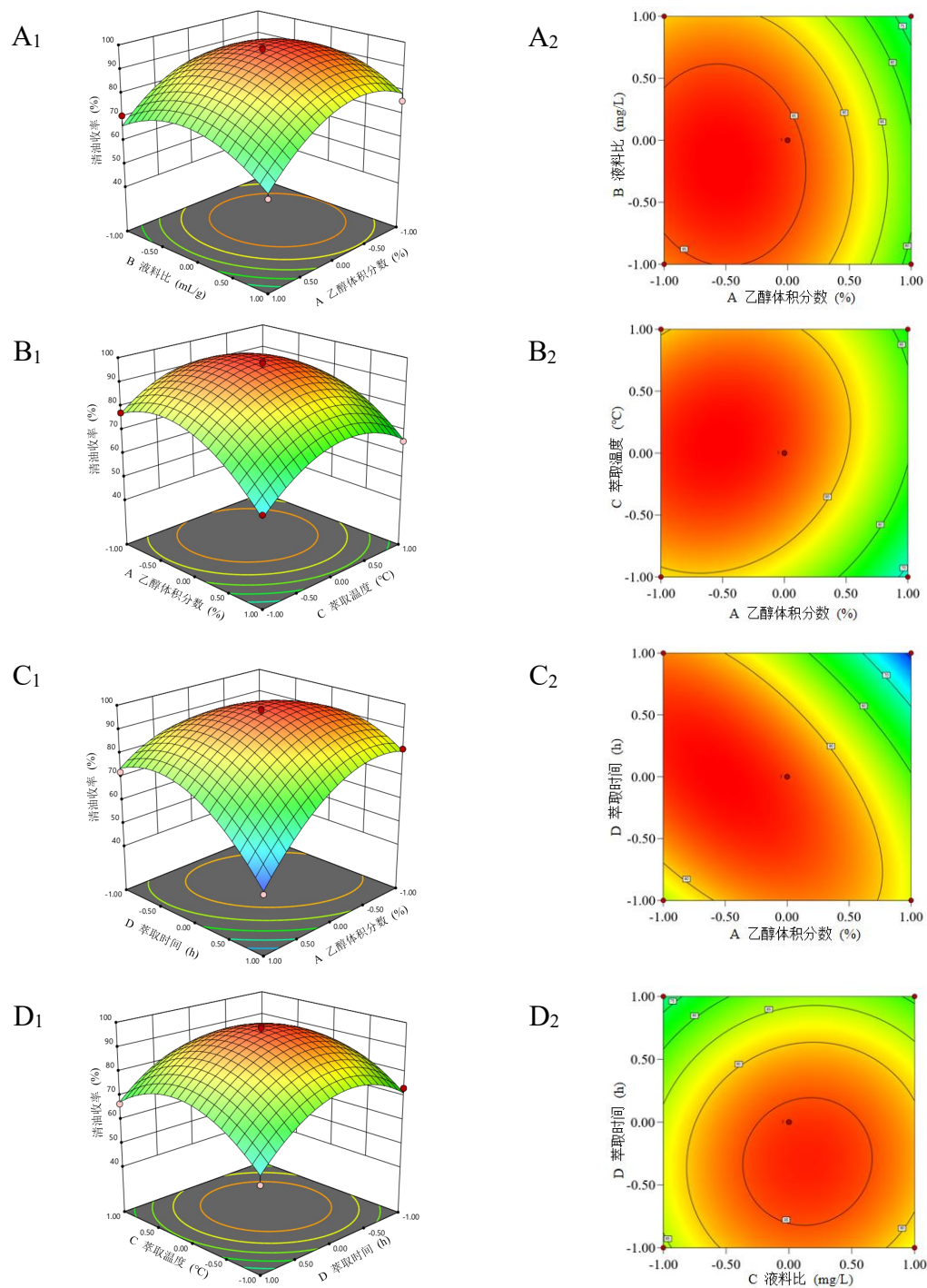


图 3-8 乙醇体积分数、液料比、萃取温度、萃取时间之间的交互作用对清油收率的响应面图及等高线图的影响。

Fig. 3-8 The effects of the interaction among ethanol volume fraction, liquid-solid ratio, extraction temperature and extraction time on the response surface and contour map of the yield of clear oil were studied.

使用响应面进行交叉实验的最终目的是为了根据单因素实验结果,优化实验条件并通过软件预测得到最佳响应值。为了验证预测的响应值是否准确,对其进行了验证实验,并与预测的响应值进行了对比。根据响应面优化实验得到的回归方程,对其求一阶偏导数,得到萃取工艺的最佳条件为:乙醇体积分数 40.92%,液料比 2.94:1,萃取温度 70.58℃,萃取时间 1.96 h。为实验方便,将上述条件规整化,得到实际条件为:乙醇体积分数 41%,液料比 3:1,萃取温度 71℃,萃取时间 2 h。理论上按照优化条件得到的清油收率最高可达 97.36%。

建立回归模型的根本目标在于精确预测并优化最大响应值。本研究通过响应面法成功构建了预测模型,并据此进行了最佳提油条件的验证实验。验证实验的清油收率为 97.62%,与优化条件的清油收率接近,因此证明了响应面优化实验的结果比较可靠。

表 3-5 验证及对比实验结果

Table 3-5 validation and comparison test results

实验组别	乙醇体积分数/%	液料比/mL/g	萃取温度/℃	萃取时间/h	清油收率/%
基础条件	45	3:1	70	2	95.06±0.34
优化条件	40.92	2.94:1	70.58	1.96	97.36±0.98
验证实验	41	3:1	71	2	97.62±0.50

3.5 本章小结

在一定的范围内,改变汽爆压力及维压时间能够优化汽爆工艺,通过破坏细胞壁结构来提高清油收率。但过高的汽爆压力同样会促使大豆内部的理化性质发生复杂的变化,同样会导致油脂提取过程受阻,最终使得油脂得率不升反降。因此本章旨在优化汽爆调质水相萃取大豆油的工艺。通过单因素实验,研究了粉碎次数、乙醇体积分数、液料比、萃取温度、萃取时间和振荡速度等因素对清油收率的影响。结果表明,适当粉碎次数增加到 4 次、选择 45%的乙醇体积分数、3:1 的液料比、70℃的萃取温度、2 h 的萃取时间和 120~180 r/min 的振荡速度有利于提高清油收率。在此基础上,利用响应面法建立了清油收率的二次多项式回归方程,确定了影响清油收率的主要因素顺序为乙醇浓度>萃取时间>萃取温度>液料比。通过响应面图分析,得到最佳工艺条件为乙醇体积分数 41%,液料比 3:1,萃取温度 71℃,萃取时间 2 h,此时清油收率可达 97.62%。验证实验结果与模型预测值相近,证明了模型的准确性和可靠性。本研究为提高大豆油的水相萃取效

率提供了优化工艺参数，对大豆油提取工艺的改进具有重要指导意义。

第4章 汽爆调质对粒度分布和物料分配的影响

4.1 引言

在大豆加工领域，提高大豆油水相萃取效率一直是研究的关键方向。前两章研究已表明，汽爆调质结合乙醇水提法在大豆油萃取方面展现出一定优势，通过优化工艺参数可有效提升清油收率。然而，目前对于汽爆调质提高大豆油水相萃取效率的内在机制尚未深入研究。深入探究这一问题，对进一步优化萃取工艺、提高大豆资源利用率意义重大。

前两章研究表明，汽爆调质作为一种预处理手段，能够改变大豆的物理和化学性质。其原理是利用饱和蒸汽在高压下渗透进入物料细胞间隙和内部，短时间保压后瞬间泄压，产生的机械剪切力可破坏物料结构、解离内部组织。在大豆加工中，这一过程可能对大豆的细胞结构、油脂和蛋白质的存在状态产生显著影响，进而影响油水相萃取效率。但还需进一步研究油脂萃取过程中，各相油脂以及物料的分配规律。

在大豆油萃取过程中，清油收率、油脂品质以及残油率是衡量萃取效果的重要指标。汽爆调质后，清油收率显著提高，油脂品质也有所变化，残油率降低。然而，目前缺乏对这些变化内在联系的深入分析。此外，在实际生产中，大豆油萃取工艺的优化需要综合考虑多个因素。除了汽爆调质和萃取工艺参数外，还需关注大豆原料的特性、后续加工过程对油脂和豆粕品质的影响等。了解汽爆调质提高萃取效率的原因，有助于在实际生产中更精准地调控工艺参数，实现大豆油萃取的高效、优质生产，同时提高豆粕的综合利用价值。

本章节旨在深入剖析汽爆调质提高大豆油水相萃取效率的原因。通过研究浸泡、汽爆及乙醇溶液对清油收率的影响，探究不同处理方式之间的协同作用。同时，分析不同烘干时间对大豆含水量及豆粉粒径分布的影响，明确其对萃取效率的影响规律。进一步研究汽爆调质对萃取后各相粒度分布、油脂分配和物料分配的影响，从微观和宏观多个层面揭示汽爆调质提高萃取效率的内在机制，为大豆油萃取工艺的进一步优化和工业化应用提供坚实的理论基础，推动大豆加工产业

的可持续发展。

4.2 材料与设备

4.2.1 实验原料

大豆，购于万达城市名人连锁超市（芜湖，中国），含有 $9.06\% \pm 0.16\%$ 的水分、 $18.02\% \pm 0.47\%$ 的油脂及 $32.56\% \pm 0.93\%$ 的蛋白质。

4.2.2 实验试剂

表 4-1 实验试剂

Table 4-1 Experimental reagents

试剂名称	生产厂家	规格
无水乙醇	国药集团化学试剂有限公司	分析纯
浓氨水	国药集团化学试剂有限公司	分析纯
乙醚	国药集团化学试剂有限公司	分析纯

4.2.3 主要实验设备

激光粒度分析仪(MS2000)，英国马尔文仪器有限公司；高速均质机(FA25)，上海弗鲁克流体机械制造有限公司。

4.3 实验方法

4.3.1 大豆含水量对豆粉粒径分布的影响

将经过汽爆调质的大豆分别于 55°C 烘箱中烘干 0、3、6、9、12 h，使用高速粉碎机粉碎 5 次，每次 30 s。

(1) 按照烘箱法（AOAC 法，Ca 2c-25）测定不同烘干时间下大豆粉中的含水量。

准确称取 0.2 g 的待测样品，加入 10 mL 45%体积分数的乙醇溶液，漩涡振荡 30 s 共 3 次后令样品分散均匀，用胶头滴管吸取一定量的溶液，测定样品的粒度分布情况，每个样平行测五组取平均值。激光粒度仪参数设定为：测定模式为手动，分散模式为多分散，超声强度 20 W，转速 2000 r/min。

4.3.2 浸泡、汽爆及乙醇体积分数对清油收率的影响

(1) 以未浸泡、未汽爆的大豆为原料，分别以蒸馏水及 45%体积分数的乙醇溶液作为萃取剂，提油后计算样品的清油收率。

(2) 以未浸泡、1.0 MPa 压力下维压 15 s 的大豆为原料，分别以蒸馏水及

45%体积分数的乙醇溶液作为萃取剂，提油后计算样品的清油收率。

(3) 以用蒸馏水浸泡 2 h、未汽爆的大豆为原料，分别以蒸馏水及 45%体积分数的乙醇溶液作为萃取剂，提油后计算样品的清油收率。

(4) 以用蒸馏水浸泡 2 h、1.0 MPa 压力下维压 15 s 的大豆为原料，分别以蒸馏水及 45%体积分数的乙醇溶液作为萃取剂，提油后计算样品的清油收率。

4.3.3 大豆汽爆调质对乙醇水萃取混合物各相粒度分布的影响

(1) 大豆粉的粒度分布

参考 4.3.2 的方法称取 0.2 g 大豆粉，均匀分散于乙醇溶液中，测定其粒度分布。

(2) 萃取混合物的粒度分布

参考 4.3.2 的方法，用胶头滴管吸取 2 mL 萃取混合物均匀分散于乙醇溶液中，测定其粒度分布。

(3) 第一次离心后的水相的粒度分布

参考 4.3.2 的方法吸取 20 mL 第一次离心后的水相于离心管中，测定其粒度分布。

(4) 渣相的粒度分布

参考 4.3.2 的方法称取 0.2 g 豆粕，均匀分散于乙醇溶液中，测定其粒度分布。

4.3.4 汽爆调质对萃取混合物各相油脂分配的影响

萃取结束后，计算萃取混合物各相中油脂质量占原料豆粉中总油脂质量的百分比，总油质量为清油、乳化油、水相油及残渣油质量之和。根据索氏提取法（AOAC Method, 995.19）测定残渣油及总油的含量。按照 2.3.3 所述的方法计量清油的质量，水相油的测定参考 Ni^[72]等的罗兹哥特里法。根据豆粉原料中总油的质量与其他各相油脂质量之和的差值得到乳化油的质量^[10]。

水相含油量的测定方法：将离心后的水相缓缓倾斜倒于具塞量筒中计算水相的体积，用移液枪吸取 10 mL 水相于具塞试管中，加入 1.25 mL 浓氨水摇匀后水浴加热 20 min，使样品中的蛋白质等非脂成分与氨充分反应，破坏脂肪球膜。冷却后加入 10 mL 95%体积分数的乙醇，进一步使非脂成分溶解，同时降低脂肪在水中的溶解度，使脂肪更容易游离出来。接着加入 50 mL 乙醚-石油醚的混合溶液萃取样品中的油脂，静置 1 h 直至水相与乙醚-石油醚萃取液分层。使用胶

头滴管吸取上层的乙醚-石油醚萃取液于干净的烧瓶中，旋转蒸发除去乙醚及石油醚。将烧瓶置于烘箱中烘干至恒重，于室温下冷却后计算烧瓶+油脂的质量。

$$Y(\text{水相油}) = (m_2 - m_1) \times 100 / m$$

式中： m 为 10 mL 样品的质量，g； m_1 为烧瓶质量，g； m_2 为烧瓶+油脂的质量，g。

4.3.5 汽爆调质对萃取混合物各相物料分配的影响

采取 2.3.3 的方法称取 100 g 大豆粉进行大豆油的萃取，萃取结束后计算乳化油、清油、水相（水相中的油脂及固形物）、残渣（包括残渣中的油脂、蛋白质、碳水化合物、水分及易挥发物）各部分的质量。参考 4.3.3 的方法计算各相中油脂的含量。在 55℃烘箱中烘干 12 h 计算水相固形物及残渣的质量，

4.3.6 数据处理方法

每组数据至少测定三次，结果表示为平均值±标准差。采用 SPSS19.0 进行单因素方差分析（ANOVA）和邓肯多元极差检验（Duncan's multiple range test）显著性分析（ $P < 0.05$ ），用 Origin 2019b 软件作图。

4.4 结果与分析

4.4.1 不同烘干时间对大豆含水量及豆粉粒径分布的影响

如图 4-1A 所示，随着烘干时间的延长，大豆的水分含量呈现出下降趋势。图 4-1B 中，当烘干时间增加为 3 h、6 h 时，粒径分布曲线的峰值位置和形状有所变化，小粒径峰向左偏移。当烘干时间达到 9 h、12 h，粒径分布变化不显著，说明烘干时间以及大豆含水量对大豆粉的粒度分布的影响较小，还需要进一步处理来达到后续高清油收率的要求。

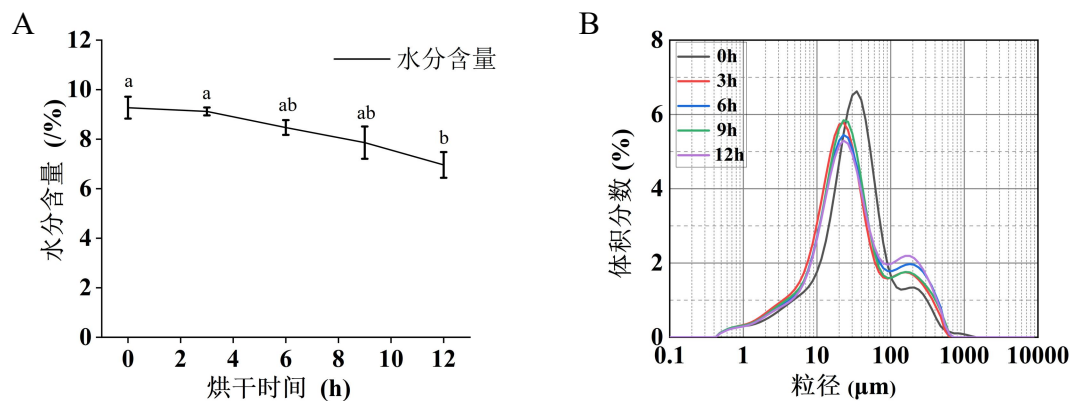


图 4-1 不同烘干时间对大豆含水量及豆粉粒径分布的影响

Figure 4-1 Effects of different drying times on the moisture content of soybeans and the particle size distribution of soybean flour

注：图 A 为汽爆调质后不同烘干时间对大豆含水量的影响；图 B 为大豆粉的粒度分布随大豆含水量的变化对大豆粉粒度分布的影响。

4.4.2 浸泡、汽爆及乙醇体积分数对清油收率的影响

大豆油提取过程中，清油收率是衡量萃取效率的关键指标。因此需要通过设置不同对照组，来研究浸泡、汽爆及乙醇溶液对大豆清油收率的影响。从图 4-1 可知，无论是否进行汽爆或者浸泡处理，乙醇溶液均能够显著提高清油收率。不浸泡不汽爆（NN）、不浸泡汽爆（NE）、浸泡不汽爆（SN）、浸泡汽爆（SE）组清油收率分别从 0.11%、0.89%、0.30%、3.56% 显著提高至 56.49%、84.24%、61.91%、97.93%，这表明乙醇溶液能有效促进大豆油的溶出，乙醇的强破乳能力能有效地破除顽固的乳化油、提高清油收率。

由不浸泡汽爆（NE）组可以发现，蒸馏水萃取的清油收率仅为 0.89%，说明单独汽爆几乎没有效果。结合 45% 体积分数的乙醇溶液萃取的清油收率达到 84.24%，汽爆增益乙醇的效果约提高 27.75%。说明说明汽爆调质能够破坏大豆细胞结构，使包裹在细胞内的油脂更易游离在细胞外，乙醇溶液具有显著的破乳效果，二者结合能大幅增加清油收率。

浸泡处理也发挥了一定作用。对比浸泡不汽爆（SN）组和不浸泡不汽爆（NN）组，在采用 45% 乙醇萃取时，浸泡的增益效果为 5.42%。浸泡使大豆组织吸水膨胀，细胞结构变得相对疏松，有助于乙醇溶液更好地渗透到大豆内部，增大与油脂的接触面积，进而提高清油收率。

但当浸泡与汽爆调质两种处理方式结合（SE 组）、45% 乙醇萃取时，清油

收率达到最高为 97.93%。这表明浸泡和汽爆调质在提高清油收率方面具有协同作用，浸泡为汽爆调质更好地破坏细胞结构创造了条件，汽爆调质进一步增强了浸泡对细胞结构的改变，两者共同作用使油脂更易溶出，显著提升了清油收率。

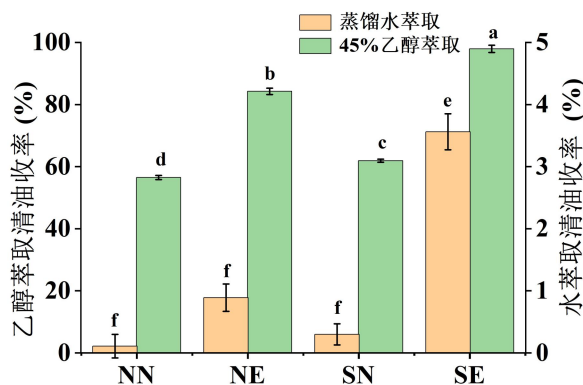


图 4-2 浸泡、汽爆及乙醇溶液对清油收率的影响

Figure 4-2 Effects of soaking, steam explosion and ethanol solution on the yield of clear oil

注：NN、NE、SN、SE 分别代表不浸泡不汽爆、不浸泡汽爆、浸泡不汽爆、浸泡汽爆。；
浸泡条件：与蒸馏水按 3:1 mL/g 液料比浸泡 2 h；汽爆条件：汽爆压力 1.0 MPa、维压时间 15 s。

4.4.3 汽爆调质对萃取混合物各相粒度分布的影响

大豆汽爆调质对油脂水相萃取各相粒度分布的影响见图 4-3。不管是否汽爆调质，大豆粉的粒度分布均表现为双峰（图 4-3A），但汽爆后两峰的峰位粒径均减小，而且汽爆使得大粒径峰的体积分数降低、峰变窄，而小粒径峰的体积分数增大、峰变宽。汽爆后大豆粉的所有粒径参数均明显减小（表 4-2），特别是 D_{90} 从 325.54 μm 减小到 85.79 μm ， $D[4,3]$ 从 102.14 μm 减小到 31.40 μm 。上述结果说明，大豆汽爆调质使粉碎后的大豆粉颗粒更加细小，显著增加了固体和液相之间的接触面积，从而有利于油脂溶出进入水相，这可能是汽爆使大豆组织结构变得更为疏松所致。

未经汽爆调质的大豆，其萃取混合物只在 26.30 μm 处有一个明显的粒度分布峰（图 4-3B），而汽爆调质后的萃取混合物出现两个粒度分布峰，小粒径峰出现在 22.91 μm ，大粒径峰出现在 150.49 μm ，且小粒径峰的体积分数远高于大粒径峰。从粒径分布参数来看，汽爆调质后萃取混合物的所有粒度参数均无显著变化（ D_{90} 在数值上的增大，是因对照的单峰变为汽爆后的双峰），但由于汽爆调质后的大豆粉在萃取前粒径明显更小，因此汽爆调质明显增大了萃取过程中豆

粉的膨胀程度。膨胀程度的增大,表明大豆组织结构更加疏松,蛋白吸水更充分,油脂容易被置换出来。

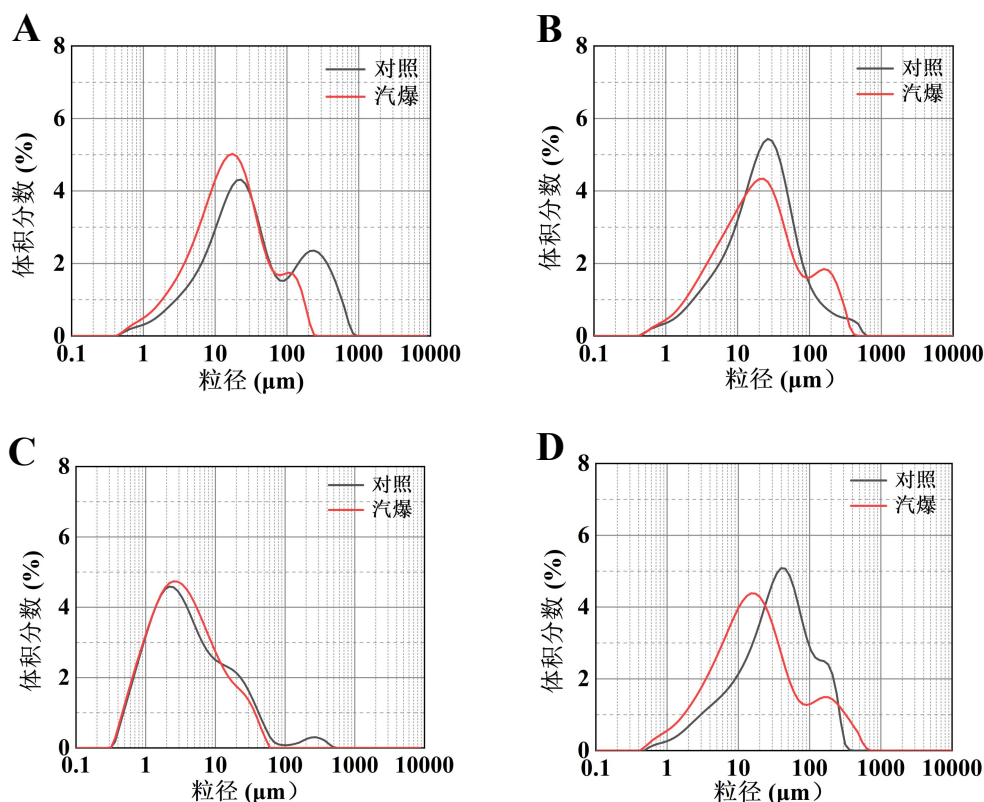


图 4-3 汽爆调质对大豆油水相萃取各相粒度分布的影响

Figure 4-3 Effects of steam-explosion conditioning on the particle size distribution of each phase in aqueous extraction of soybean oil

注: A-D 分别代表大豆粉, 萃取混合物, 水相, 豆粕的粒度分布

对于萃取混合物的水相来说, 汽爆调质并没有改变峰左侧的粒径分布 (图 4-3C), 但峰右侧粒径有增减呈交叉态势, 中间粒径区域体积分数有所增大, 但变化幅度都不大, 这一点从粒径分布参数上也有明确的体现, 即汽爆调质后水相的粒径分布参数没有明显变化, 说明大豆汽爆调质对水相溶出物的粒径影响不大。

不管是否经过汽爆调质, 水相萃取后所得大豆粕的粒度分布都呈双峰 (图 4-3D), 但汽爆调质将小粒径峰的峰位粒径从 $42.26\ \mu\text{m}$ 降低到 $16.26\ \mu\text{m}$, 而大粒径峰的峰位粒径在 $163.25\ \mu\text{m}$ 保持不变。汽爆调质使得豆粕所有粒径分布参数均明显降低 (表 4-2), 特别是 D_{90} 和 $D[4,3]$ 大幅减小, 进一步说明大豆经汽爆调质后变得更加细小, 利于油脂的溶出, 残油量低, 粕颗粒变小。综上所述, 汽

爆调质显著降低了豆粉和豆粕的粒径，缩短了油脂溶出的路程，有利于油脂的高效溶出。

表 4-2 汽爆调质大豆油水相萃取各相粒度分布参数的影响

Table 4-2 Effects of steam-explosion conditioning on the particle size distribution parameters of each phase in aqueous extraction of soybean oil

样品		D ₁₀ /μm	D ₅₀ /μm	D ₉₀ /μm	D[3,2] /μm	D[4,3] /μm
大豆粉	对照	5.33±0.73 ^{ab}	30.94±4.44 ^b	325.54±1.43 ^b	12.03±1.22 ^b	102.14±3.67 ^b
	汽爆	3.30±0.20 ^d	16.59±0.69 ^d	85.79±5.26 ^{cd}	7.75±0.31 ^d	31.40±1.38 ^d
萃取混合物	对照	4.22±0.32 ^c	23.40±1.22 ^c	89.57±2.99 ^{cd}	9.74±0.52 ^c	43.20±0.51 ^c
	汽爆	3.72±0.17 ^{cd}	21.67±0.90 ^c	121.07±9.91 ^{cd}	8.99±0.43 ^c	43.94±1.95 ^c
离心后水相	对照	0.95±0.01 ^e	3.46±0.22 ^e	21.49±1.90 ^d	2.29±0.06 ^e	7.78±0.59 ^e
	汽爆	0.92±0.01 ^e	3.35±0.09 ^e	17.78±0.32 ^d	2.20±0.02 ^e	6.81±0.11 ^e
豆粕	对照	5.71±0.52 ^a	42.18±4.31 ^a	623.90±3.29 ^a	14.02±1.24 ^a	194.08±4.78 ^a
	汽爆	5.02±0.12 ^b	32.51±1.36 ^b	207.85±2.28 ^{bc}	12.35±0.32 ^b	109.77±4.42 ^b

4.4.4 汽爆调质对萃取混合物各相油脂分配的影响

为研究大豆油水相萃取效率提高的原因，比较了汽爆调质对大豆油水相萃取各相中油脂分配的影响。汽爆调质对萃取混合物各相油脂分配的影响如表 4-3 所示，汽爆调质样品萃取混合物离心各相中，乳化油、水相油和渣相油的比例均显著减少，而清油从 61.91% 大幅增加至 96.62%，表明汽爆处理能够明显降低油脂的乳化、水相中油脂的溶解及粕残油，特别是乳化油比例的降低幅度最大，从而大幅提高了清油比例。但汽爆预处理提高清油收率的内在原因有待进一步研究。

表 4-3 汽爆调质对萃取混合物各相油脂分配的影响

Table 4-3 Effects of steam-explosion conditioning on the oil distribution in each Phase of the

Extraction Mixture				
样品	清油/%	乳化油/%	水相油/%	渣相油/%
对照	61.91±0.77 ^b	14.85±0.57 ^a	9.86±0.48 ^a	13.38±0.61 ^a
汽爆	96.62±0.50 ^a	0.97±0.21 ^b	1.09±0.52 ^b	1.32±0.28 ^b

注：萃取条件为浸泡 2 h、液料比 3:1 mL/g、萃取温度 70℃、萃取时间 2 h、振荡速度 140 r/min。

4.4.5 汽爆调质对萃取混合物各相物料分配的影响

汽爆调质对萃取混合物各相物料分配影响如表 4-4 所示，汽爆调质后，清油质量从对照组的 11.16 g 显著提高至 17.41 g，乳化油、水相油及残渣油的质量均下降。汽爆调质有利于破坏大豆细胞结构，将水相等的油脂含量更多地转化为清

油。汽爆调质后残渣蛋白质量从 43.66 g 降低至 41.74 g，说明汽爆促使部分蛋白质变性，影响其在残渣中的含量。

水相固形物质量和碳水化合物质量分别从 7.12 g、29.86 g 升高至 8.88 g、30.01 g，汽爆作用对这两者质量的影响较小。汽爆调质通过改变各相物料组成和分布，提高了清油收率和油脂品质，降低了残油率，汽爆破坏了大豆细胞，使油脂充分释放，降低了残油率，提高了油脂利用率，同时减少了后续豆粕加工时油脂去除的难度，提升了豆粕品质以便豆粕的回收利用。

表 4-4 汽爆调质对萃取混合物各相物料分配的影响

Table 4-4 Effect of steam-explosion conditioning on the material distribution in each phase of the extraction mixture

样品	清油/g	乳化油/g	水相油/g	水相固 形物/g	残渣油/g	残渣蛋白/g	残渣碳水 化合物/g	残渣水分 /g
对照	11.16±0.77 ^b	2.68±0.09 ^a	1.78±0.48 ^a	7.12±0.02 ^b	2.41±0.61 ^a	43.66±0.88 ^a	29.86±0.47 ^b	1.33±0.03 ^a
1.0 MPa 15s	17.41±0.50 ^a	0.17±0.21 ^b	0.20±0.52 ^b	8.88±0.16 ^a	0.24±0.28 ^b	41.74±1.15 ^b	30.01±0.01 ^a	1.35±0.02 ^a

4.5 本章小结

本章深入探究了汽爆调质提高大豆油水相萃取效率的原因。通过研究浸泡、汽爆及乙醇溶液对清油收率的影响，发现乙醇水溶液能显著降低乳化，汽爆调质与乙醇溶液结合可大幅提高清油收率，且浸泡和汽爆调质在提高清油收率上具有协同作用。浸泡使大豆组织疏松，为汽爆破坏细胞结构创造条件，汽爆进一步增强这一效果，促使油脂更易溶出；对不同烘干时间下大豆含水量及豆粉粒径分布的分析表明，烘干时间对二者有一定影响。随着烘干时间延长，大豆水分含量下降，粒径分布曲线在 3~6 h 出现变化，9~12 h 变化不显著，表明其对粒度分布影响较小，需进一步处理以满足高清油收率要求；通过萃取过程中各相含油量的测定，发现汽爆调质使乳化油、水相油和渣相油的含量显著减少，清油收率显著增高；同时汽爆调质也改变了各相物料的组成和分布，豆粕中蛋白质含量保存较好。这些结果从粒度分布、油脂分配和物料分配等角度，说明了汽爆调质能提高大豆油水相萃取效率，有利于破坏顽固乳化油的形成从而增大清油的溶出，豆粕也含有较高的利用价值，通过后续实验对豆粕蛋白的结构进一步探究。

第 5 章 汽爆调质对大豆子叶中油体聚集及豆粕蛋白结构的影响

5.1 引言

在明确汽爆调质能够提高大豆油水相萃取效率，并对相关工艺进行优化后，深入探究其内在机制对进一步提升大豆加工技术水平至关重要。虽然前文已从粒度分布、油脂及物料分配等宏观角度剖析了汽爆调质提高萃取效率的原因，但仅停留在这些层面还不足以全面理解该技术的改善机制。

大豆的微观结构以及蛋白质、油脂的存在状态和结构特征，是影响萃取效率的关键微观因素。从微观视角出发，研究汽爆调质对大豆组织切片中油体和蛋白质的微观形态、豆粕蛋白的结晶结构、二级结构、热稳定性等方面的影响，能够为揭示汽爆调质提高萃取效率的深层次原因提供直接证据。

本章节将综合运用光学显微镜、扫描电镜、X 射线衍射、光谱分析等多种技术手段，深入分析汽爆调质对大豆微观结构和蛋白结构的影响。通过这些研究，旨在从微观层面揭示汽爆调质提高大豆油水相萃取效率的根本原因，为完善大豆加工理论体系、进一步优化汽爆调质技术在大豆加工中的应用提供坚实的理论依据。

5.2 材料与设备

5.2.1 实验原料

大豆，购于万达城市名人连锁超市（芜湖，中国），含有 $9.06\% \pm 0.16\%$ 的水分、 $18.02\% \pm 0.47\%$ 的油脂及 $32.56\% \pm 0.93\%$ 的蛋白质。

5.2.2 实验试剂

表 5-1 实验试剂

Table 5-1 Experimental reagents

试剂名称	生产厂家	规格
无水乙醇	国药集团化学试剂有限公司	分析纯
油红O	国药集团化学试剂有限公司	显微镜用
考马斯亮蓝 G-250	国药集团化学试剂有限公司	显微镜用
磷酸二氢钾	国药集团化学试剂有限公司	分析纯
磷酸氢二钾	国药集团化学试剂有限公司	分析纯

5.2.3 主要实验设备

显微镜（LW200CA），上海市测维光电技术有限公司；电脑超薄切片机（KD-3358），金华市科迪仪器设备有限公司；X-射线衍射仪（D8 FOCUS），德国 Bruker 公司；傅里叶变换红外光谱仪（IRPretige-21），日本岛津公司；荧光分光光度计（RF-5301PC），日本岛津公司；通用电泳仪（BIO-RAD），美国伯乐公司；差示扫描量热仪（DSC2500，TA 仪器），美国纽卡斯尔公司。

5.3 实验方法

5.3.1 大豆组织切片中油体状态的光学显微镜观察

使用切片机将大豆切成 60 μm 的薄片，将大豆薄片置于载玻片上，用 0.5% 的油红 O 染液染色 3 min^[73,74]，用吸水纸吸去多余染液。然后用 25% (v/v) 的乙醇水溶液将样品脱色至无红色液体流出。将染色后的样品置于光学显微镜下观察油体分布情况。

5.3.2 大豆组织切片中蛋白质存在状态的光学显微镜观察

参考 5.3.1 的方法，使用考马斯亮蓝染液对大豆组织切片中的蛋白质进行染色，在光学显微镜下观察蛋白质的分布情况。

5.3.3 大豆组织切片中油体和蛋白质的双染色光学显微镜观察

使用 5.3.1、5.3.2 的方法对大豆切片进行双染色，同时观察大豆组织切片中油体以及蛋白质的分布情况。

5.3.4 豆粕微观结构形态的扫描电镜观察

用棉签蘸取少许豆粕粉末，均匀地撒落在样品台的导电胶上，用洗耳球轻轻

地吹去多余样品，喷金 10 nm，使用冷场发射扫描电子显微镜进行观察。

5.3.5 豆粕蛋白 X 射线衍射分析 (XRD)

参考 Ziteng^[75]等的方法，称取适量的待测样品放入干净的试样槽中，通过按压令样品中间厚、四周薄且表面光滑。使用 X 射线衍射仪分析豆粕蛋白晶体结构的变化，实验条件：电压为 40 kV，电流为 30 mA，8 °/min 的扫描速度，扫描范围为 4~70 °，分辨率 0.02 °。

5.3.6 豆粕蛋白傅里叶红外光谱分析 (FTIR)

参考 Xue^[76,77]等的方法，称取 1 mg 豆粕至玛瑙研钵中，加入 130°C 下烘干 4 h 的溴化钾 100 mg，充分混合后研磨细腻，采用 IRPrestige-21 傅里叶变换红外光谱仪测定样品的红外光谱。红外光谱从 4000 cm⁻¹ 至 400 cm⁻¹ 收集，扫描 512 次，分辨率为 2 cm⁻¹。然后进行基线校正、平滑处理。酰胺 I 带 (1600~1700 cm⁻¹) 和酰胺 III 带 (1220~1350 cm⁻¹) 光谱用于分析蛋白质的二级结构。利用 PeakFit 4.12 软件对蛋白质酰胺 I 区和酰胺 III 区进行去卷积和峰拟合，并计算 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规卷曲结构的相对含量。

5.3.7 豆粕蛋白紫外光谱分析 (UV)

参考陈姑^[78]等的方法，准确称取 0.02 g 的待测样品，加入 50 mL 0.05 mol/L pH=7 的磷酸盐缓冲溶液，配制 0.4 mg/mL 大豆蛋白溶液，之后将蛋白溶液旋涡振荡 1 min 令其充分溶解。以磷酸缓冲溶液为空白对照，将样品溶液倒入比色皿，置于紫外分光光度计中测定待测样品的紫外吸收光谱，扫描波长范围为 200~800 nm。

5.3.8 豆粕蛋白内源荧光光谱分析

参考陈骥^[79,80]等的方法，称取待测样品，加入 0.01 mol/L 的磷酸盐缓冲溶液配制成 0.4 mg/mL 的大豆蛋白溶液，使用荧光分光光度计测定样品的内源荧光光谱。设定样品在 295 nm 处激发，扫描发射光谱为 300~400 nm，激发和发射狭缝为 5 nm，扫描速度 600 nm/min，数据间隔为 0.2 nm。

5.3.9 豆粕蛋白十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE)

使用 4% 的丙烯酰胺浓缩胶和 12% 的分离胶进行 SDS-PAGE 实验，分析大豆蛋白及其结合物的亚基组成。在还原条件下 (包含 2% β -巯基乙醇) 将样品与 SDS-PAGE 样品缓冲液 (1:1, v/v) 混合并于 100°C 下水浴加热 5 min，10000 $\times$ g

离心 10 min, 取 10 μL 上清液上样。样品上样体积为 20 μL 。电泳在 90 V 电压下运行 30 min, 然后在 120 V 下运行 80 min。电泳结束后, 将凝胶用 0.025% 的考马斯亮蓝 G250 溶液染色。然后在含有 45% 甲醇和 10% 乙酸的脱色液中脱色, 反复脱色直到条带清晰为止。

5.3.10 豆粕蛋白热稳定性分析 (DSC)

准确称取 4 mg 样品粉末至小铝盒中, 使用差示扫描量热仪记录变性温度 (T_d) 和变性焓 (ΔH)。测定参数为: 升温范围 30°C~180°C, 升温速率 10°C/min, 吹扫气体为氮气, 流速 50 mL/min^[81]。以空铝盒作为对照。

5.3.11 数据处理方法

每组数据至少测定三次, 结果表示为平均值 $\pm$ 标准差。采用 SPSS19.0 进行单因素方差分析 (ANOVA) 和邓肯多元极差检验 (Duncan's multiple range test) 显著性分析 ($P < 0.05$), 用 Origin 2019b 软件作图。

5.4 结果与分析

5.4.1 大豆组织切片中油体状态的单染色光学显微镜观察

对照组大豆细胞为长条栅状, 细胞之间首尾相连 (图 5-1A), 排列整齐而紧密, 细胞间隙很小, 细胞结构完整。尽管对照组大豆细胞间也有聚合形成的油滴, 但油滴较小且数量较少, 更多的油脂仍然以微小的油体被包裹在细胞内部 (图 5-1A), 油脂分布较为均匀, 因此在萃取过程中油脂要进入水相需要克服较大的障碍, 而且小油滴和油体进入水相后更易形成乳液, 不利于清油的释放。大豆经汽爆调质后, 细胞体积有所增大 (图 5-1B), 排列变得更加疏松, 细胞间隙明显增大, 部分细胞被破坏, 利于油脂溶出。值得注意的是, 汽爆调质后大豆细胞内的油脂被挤压融合成更大的油滴, 且大油滴数量较多 (图 5-1B), 这有助于进入水相后形成清油; 而且, 呈现圆形或椭圆形的大油滴超过了细胞边界 (图 5-1B), 表明大油滴是游离于胞外的, 而细胞内单独存在的油体数量减少, 这与 Ni^[72]等对玉米胚芽油的研究结果类似。因此, 大豆经汽爆调质后再进行油脂水相萃取, 清油收率大幅增加, 其原因可归咎于汽爆调质使得油体之间在很大程度上发生了聚集融合而形成较大油滴, 游离于细胞之外, 进入水相后更容易形成清油。

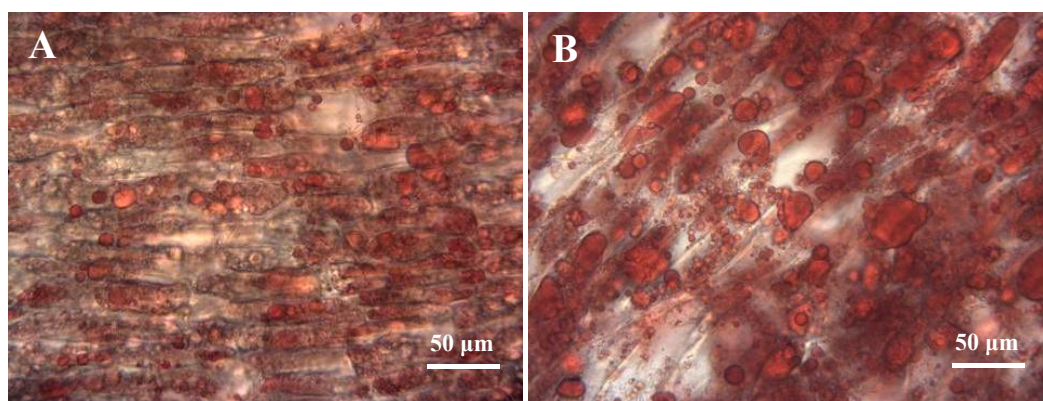


图 5-1 汽爆调质对大豆子叶中油脂聚集状态的影响

Figure 5-1 Effect of steam explosion conditioning on oil accumulation in soybean cotyledons

注：A-对照大豆切片，B-汽爆大豆切片

5.4.2 大豆组织切片中蛋白质存在状态的单染色光学显微镜观察

汽爆调质对大豆子叶中蛋白质的影响如图 5-2 所示。观察对照组图 5-2A 可知，对照组的大豆细胞结构相对完整，细胞无明显变形现象、呈现较为紧密的排列状态；对照组的蛋白质均匀遍布于大豆细胞中，在细胞内呈现较为一致的状态，未观察到明显的聚集或分散现象。观察图 5-2B 可知，汽爆调质后大豆细胞结构出现显著变化，细胞排列不再紧密。汽爆后的细胞破裂，出现了融合现象，而且细胞内的蛋白质出现了扩散现象，可能是蒸汽爆破产生的水蒸气进入细胞间隙导致蛋白质迁移。同时，汽爆仓内的高温高压作用导致蛋白质的空间结构以及在细胞内的分布状态出现了变化。综上所述，大豆经汽爆调质处理后，有利于细胞排列状态由紧密转换为疏松的状态，蛋白质空间结构发生变化有利于油脂的游离，进而提高大豆油的清油收率。

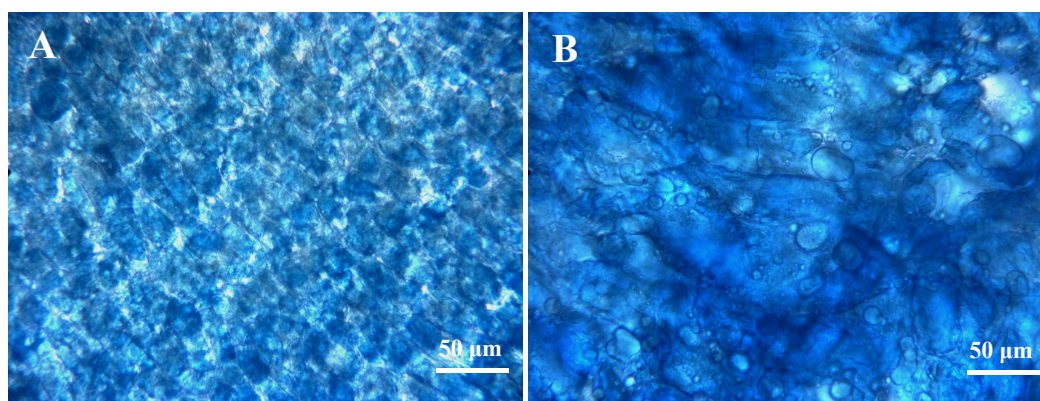


图 5-2 汽爆调质对大豆子叶中蛋白质聚集状态的影响

Figure 5-2 Effect of steam-explosion conditioning on the aggregation state of proteins in soybean cotyledons

注：A-对照大豆切片，B-汽爆大豆切片

5.4.3 大豆组织切片中油体和蛋白质的双染色光学显微镜观察

使用光学显微镜对对照组与汽爆组大豆切片进行染色观察，可清晰发现二者存在显著差异。在油脂分布方面，对照组中的油滴（红色部分）粒径较小，在细胞内呈现较为稳定、有序的分布状态。汽爆后大粒径油滴显著增多并且出现了明显的聚集现象，说明汽爆调质作用改变了油脂原本的分布与形态。对照组的蛋白质在细胞内有序排列、颜色均为深蓝色，但汽爆后的蛋白质颜色深浅不一，说明汽爆可能导致蛋白质失去稳定性。汽爆调质作用对大豆细胞中的油脂和蛋白质以及细胞形象产生了多方面影响，打破了油脂和蛋白质原有的稳定分布状态，改变了油脂形态并促使蛋白质变性，同时对细胞形态造成不可逆的破坏。这些变化可能会进一步影响大豆大豆油的清油收率以及豆粕蛋白的功能特性。

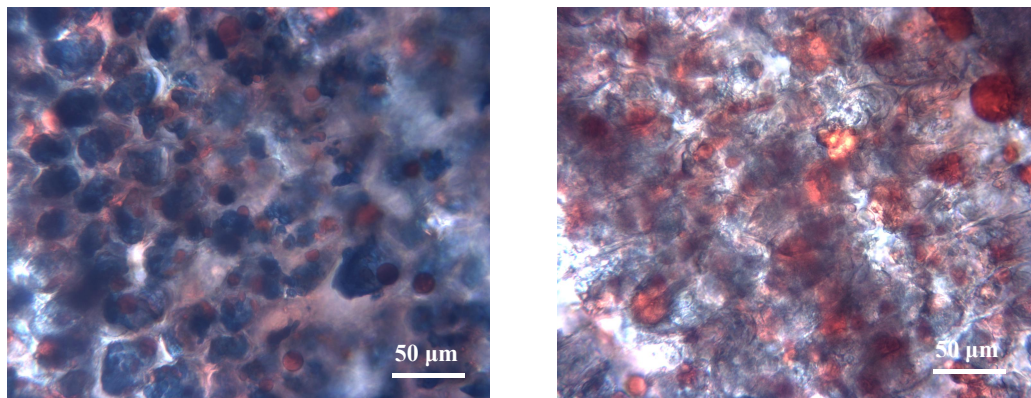


图 5-3 大豆中油脂及蛋白质的双染色法观察

Figure 5-3 Observation of oil and protein in soybeans by double-staining method

注：A-对照大豆切片，B-汽爆大豆切片；红色部分为油红 O 将油脂染为红色，蓝色部分为考马斯亮蓝将蛋白质染为蓝色。

5.4.4 豆粕微观结构形态的扫描电镜观察

汽爆调质对豆粕微观形态结构的影响见图 5-4。对照组豆粕大颗粒较多（图 5-4A₁），表面较为致密、光滑、充盈（图 5-4A₂），豆粕表面结构较为完整无明显塌陷及孔隙。可能是对照组的豆粕含有较多的油脂，细胞结构收到的破坏较小导致的。与对照组相比，经过汽爆调质处理的豆粕小颗粒数量显著增多（图 5-4B₁），粒径较为均匀。豆粕表面出现了较多微孔，细胞形成了空洞。汽爆后的豆粕看起来也比较粗糙、干燥，这可能是汽爆调质产生的水蒸气破坏了细胞结构，油脂游离残油降低导致的。由于颗粒尺度的减小和微孔的产生，促进了溶剂向大豆组织内部的渗透，增加了油脂与溶剂的接触面积，从而有助于油脂萃取效率的提高。

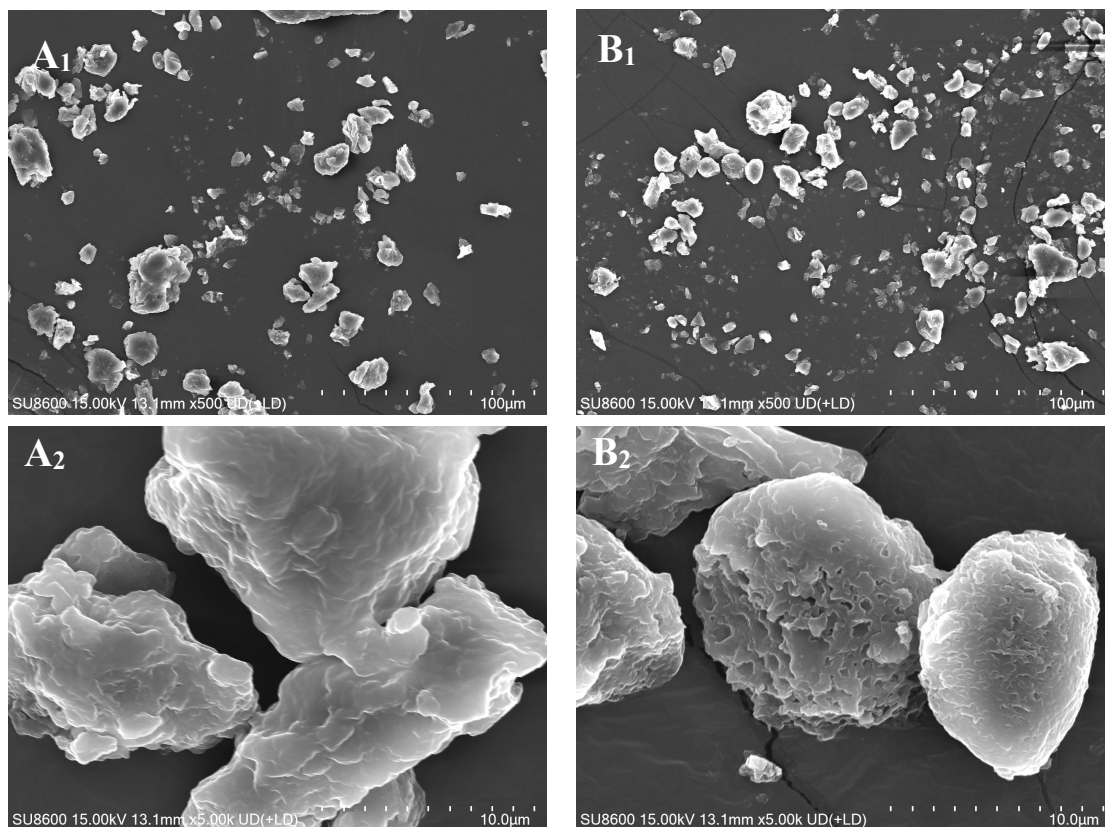


图 5-4 汽爆调质对豆粕形态结构的影响

Figure 5-4 Effect of steam-explosion conditioning on the morphological structure of soybean meal

注：A₁-A₂、B₁-B₂ 分别代表对照和汽爆调质后得到的豆粕

5.4.5 豆粕蛋白 X 射线衍射分析 (XRD)

通常分析 X 射线晶体衍射在图谱上峰位以及相对强度的变化，来确定被测样品的空间排列，从而探究蛋白质的结构变化。XRD 的相对强度反应了蛋白质中有序结构的比例，其中 $2\theta=20^\circ$ 为典型的蛋白质半结晶峰^[82]，从图 5-5 中可以看出，大豆经过汽爆调质处理后，豆粕蛋白在 20° 的相对强度与对照组相比有所下降，但峰的宽度以及位置无显著变化。说明汽爆调质可能导致大豆蛋白中的一部分有序结构被破坏，蛋白质分子结构部分伸展趋于无序状态。蒸汽爆破产生的高温高压作用，可能破坏了氢键、疏水相互作用。

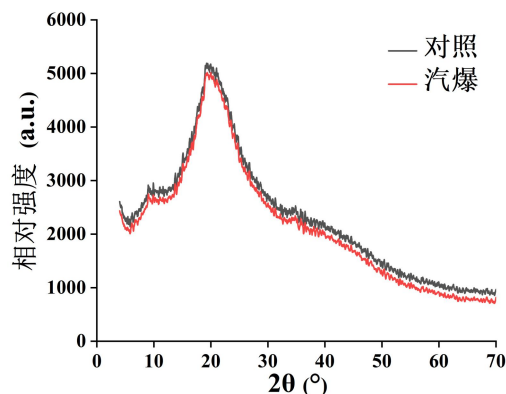


图 5-5 汽爆调质对豆粕 XRD 图谱的影响

Figure 5-5 Effect of steam-explosion conditioning on XRD patterns of soybean meal

5.4.6 豆粕蛋白傅里叶红外光谱分析 (FTIR)

红外光谱是分子选择性地吸收某波长的红外光, 导致分子中振转能级发生跃迁形成的光谱^[83]。傅里叶变换红外光谱常用来表征蛋白质的二级结构, 也可用来表征某些官能团及化学键的变化。酰胺 I 带 ($1600\sim 1700\text{ cm}^{-1}$ 附近的吸收峰) 可用来评价蛋白质的二级结构, 主要与 C=O 伸缩振动和 C-N 伸缩振动有关^[62]。 1542 cm^{-1} 附近的吸收峰对应蛋白质的酰胺 II 带 (图 5-6), 与 N-H 弯曲振动有关。 $1220\sim 1350\text{ cm}^{-1}$ 的吸收峰对应蛋白质的酰胺 III 带, 对应 C-N 的拉伸振动和 N-H 的弯曲振动^[84]。汽爆后, 酰胺 I、II 和 III 带的吸收峰的位置和峰值强度没有发生明显变化, 说明豆粕蛋白质的构象没有明显变化。红外光谱 $1800\sim 1000\text{ cm}^{-1}$ 的波数范围是大豆球蛋白和 β -伴大豆球蛋白的图谱区域, 蛋白质在 1072 cm^{-1} 处产生的特征峰代表亚砷的含量^[85], 汽爆后该吸收峰向 1060 cm^{-1} 的方向发生了蓝移, 说明蛋白质中亚砷的含量减少, 这可能是蛋白质氧化促使亚砷分解导致的。 2861 cm^{-1} 和 2927 cm^{-1} 附近的吸收峰代表蛋白质甲基和亚甲基的 C-H 伸缩振动^[86], 汽爆后吸收峰位置无显著变化, 但峰强度降低, 代表这些基团更加游离。蛋白质在 3448 cm^{-1} 处产生的特征峰代表 O-H、N-H 拉伸振动和氢键^[87,88], 氢键的强弱反映水分子的 O-H 伸缩振动或吸附水量的大小^[89]。汽爆后峰值强度降低, 说明汽爆作用导致蛋白质中氢键的数量减少^[88], 豆粕蛋白的结构稳定性有所降低。蛋白质的二级结构包括 β -折叠 ($1600\sim 1640\text{ cm}^{-1}$)、无规则卷曲 ($1640\sim 1650\text{ cm}^{-1}$)、 α -螺旋 ($1650\sim 1660\text{ cm}^{-1}$) 和 β -转角 ($1660\sim 1700\text{ cm}^{-1}$)^[90-92], 与荞麦蛋白、豌豆蛋白等植物蛋白一样, 大豆蛋白也具有较低的 α -螺旋含量以及较高的 β -折叠含量^[93,94], 各二级结构含量的变化见表 5-1。大豆汽爆调质后豆粕蛋白的 α -螺旋、 β -

折叠和 β -转角含量均明显降低，而无规则卷曲含量升高^[95]，可能是汽爆过程中的热效应和机械效应导致豆粕蛋白的结构被破坏^[96]，蛋白质分子结构变得不稳定处于部分展开状态^[97]。

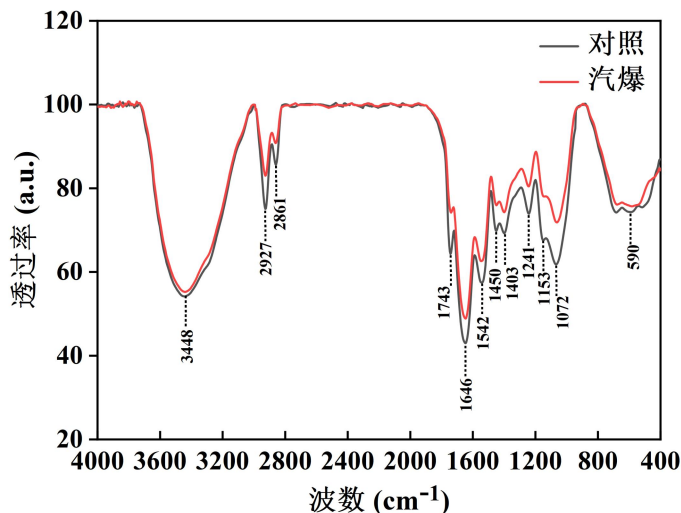


图 5-6 汽爆调质对豆粕蛋白红外光谱的影响

Figure 5-6 Effect of steam-explosion conditioning on the FTIR spectrum of soybean meal protein

表 5-1 由酰胺 I 带和酰胺 III 带计算的豆粕蛋白带二级结构的相对含量

Table 5-1 Relative contents of the secondary structure of soybean meal protein bands calculated from amide I bands and amide III bands

处理	α -螺旋/%	β -折叠/%	β -转角/%	无规则卷曲/%
对照	20.79 $\pm$ 0.99 ^a	29.19 $\pm$ 0.20 ^a	34.62 $\pm$ 0.24 ^a	15.40 $\pm$ 0.36 ^b
汽爆	17.84 $\pm$ 0.80 ^b	27.72 $\pm$ 0.15 ^b	28.34 $\pm$ 2.05 ^b	26.10 $\pm$ 0.67 ^a

5.4.7 豆粕蛋白紫外光谱分析 (UV)

紫外光谱技术是一种常见的蛋白质表征方法，以获得蛋白质在不同波长下的紫外吸收光谱图。当蛋白发色基团暴露在蛋白质的表面时，其接触溶剂的极性将发生改变，进一步改变紫外吸收光谱，通过紫外光谱的变化程度来检测蛋白质的变性程度。汽爆调质处理对豆粕蛋白紫外吸收光谱的影响如图 5-7 所示，在 200~400 nm 的波长范围内，汽爆调质处理后的蛋白质与对照组相比吸光度更高。一般来说，蛋白质中的芳香族氨基酸（包括色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸）能够在紫外区域产生吸收峰^[98]，进而分析蛋白质结构的变化。经过汽爆调质后，蛋白质的结构发生了一定的变化，使得原本埋藏于蛋白质分子内部的芳香族氨基酸残基裸露在分子表面^[99]，造成豆粕蛋白的吸光度上升。在 280 nm 附近的波长代

表示了酪氨酸及色氨酸残基，汽爆调质后的豆粕蛋白与对照组相比，吸收度有明显差异，这可能是汽爆调质导致豆粕蛋白中这一部分氨基酸残基所处的环境被改变^[79]，原本埋藏于蛋白质内部的芳香族氨基酸残基裸露在外，最终影响了蛋白质结构。

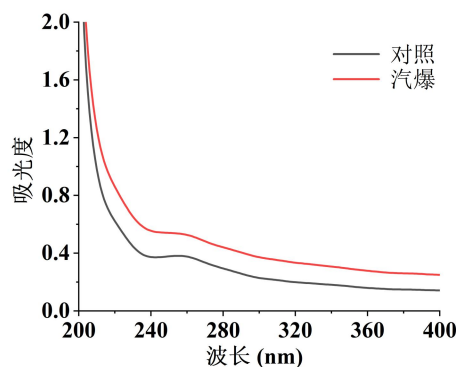


图 5-7 汽爆调质对豆粕 UV 图谱的影响

Figure 5-7 Effect of steam-explosion conditioning on UV spectra of soybean meal

5.4.8 豆粕蛋白内源荧光光谱分析

在对蛋白质结构变化的研究中，通常选择内源荧光光谱法对汽爆调质前后的色氨酸残基微环境变化展开检测。由于内源荧光对蛋白质分子中的色氨酸残基微环境极为敏感^[100]，因而可以探究蛋白质分子空间结构的变化。样品在 295 nm 处被激发，以此来排除酪氨酸残基的影响^[101]。在 300~400 nm 的波长范围内，经过汽爆处理的豆粕蛋白的荧光强度普遍高于对照组。汽爆后的荧光强度的峰值为 343.6 nm，而对照组的峰值在 339.4 nm 处，说明荧光强度增加并且发生了红移，蛋白质的侧链受到汽爆影响而拉伸，位于疏水侧链的色氨酸残基转移至溶剂中。

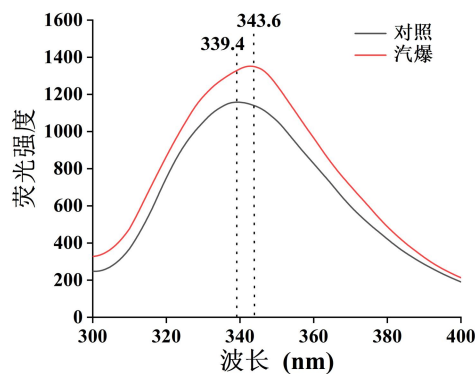
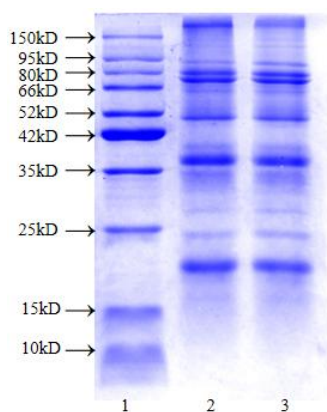


图 5-8 汽爆调质对豆粕内源荧光光谱的影响

Figure 5-8 Effect of steam-explosion conditioning on the intrinsic fluorescence spectrum of soybean meal

5.4.9 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE)

SDS-PAGE 可以用来观察汽爆调质后, 豆粕蛋白分子量以及蛋白质组成的变化。对照组中, 可见多个清晰的蛋白质条带, 分布在不同的分子量位置。而汽爆处理前后的泳道 2 与 3 相比, 整体条带数量和强度均没有明显变化^[60]。总体而言, 汽爆调质处理对豆粕蛋白质的组成和结构无显著影响, 蛋白质未发生显著的降解或结构改变^[102]。汽爆没有改变蛋白分子量, 未引起明显的分子聚集, 蛋白变性不明显, 这可能也是其功能性质得以保留的原因, 这些结果为进一步开发利用水相豆粕、改善豆粕品质提供了支持。



1-标准蛋白, 2-汽爆前, 3-汽爆后

图 5-9 汽爆调质对豆粕凝胶电泳图谱的影响

Figure 5-9 Effect of steam-explosion conditioning on the gel electrophoresis pattern of soybean meal

5.4.10 豆粕蛋白的热稳定性 (DSC)

DSC 可通过变性温度 (T_d) 和变性焓 (ΔH) 反映蛋白质的结构变化。变性温度越高表示使蛋白质变性需要的能量就越高, 蛋白质的结构就越稳定^[103]; 焓值表示维持蛋白质折叠结构的键能。如图 5-10 所示, 不同的 DSC 图谱代表了样品变性温度的变化趋势, 对照组的样品显示出了比汽爆调质处理样品更高的变性温度需求, 对照组的变性温度为 112.67°C , 汽爆调质处理后将样品的变性温度降低至 111.77°C , 变性焓从 12.96 J/g 下降到 8.23 J/g , 表明经汽爆调质后蛋白发生了一定程度的变性, 豆粕蛋白中双键、三键和分子间结构的数量减少, 蛋白分子结构部分伸展^[62]。但是, 变性温度降低值小于 1°C , 表明汽爆调质对蛋白质热稳定性的影响是有限的。

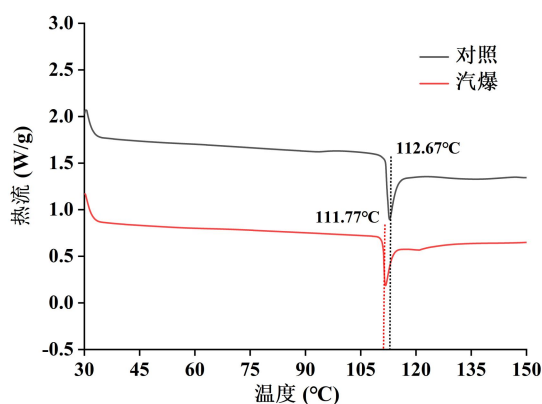


图 5-10 汽爆调质对豆粕蛋白热性质的影响

Figure 5-10 Effects of steam explosion conditioning on the thermal properties of soybean meal

protein

5.5 本章小结

本章从大豆子叶中油体聚集及豆粕蛋白结构等微观层面分析了汽爆调质提高大豆油水相萃取效率的原因。通过光学显微镜观察发现，汽爆调质使大豆细胞结构疏松，油体聚集融合成大油滴游离于胞外，蛋白质空间结构改变且分布发生弥散伸展，这些都有利于油脂与蛋白的分离。扫描电镜观察表明，汽爆调质后的豆粕小颗粒增多，表面出现微孔，有助于溶剂渗透和油脂溶出。XRD、UV、FTIR、内源荧光光谱、SDS-PAGE 和 DSC 等分析结果显示，汽爆调质破坏了大豆蛋白的部分有序结构，使蛋白分子发生一定程度伸展。综合各项实验结果，汽爆调质通过改变大豆细胞结构、油脂和蛋白质的分布及结构，从而提高了大豆油水相萃取效率，有利于揭示大豆汽爆调质对油脂水相萃取的作用机制。

第 6 章 结论与展望

6.1 结论

本研究采用汽爆调质辅助乙醇水萃取大豆油及获得低变性豆粕蛋白,通过响应面优化、粒度分布、显微镜观察、红外光谱 (FTIR)、扫描电镜 (SEM) 等手段,在工艺建立与优化、萃取效率提高原因剖析、豆粕蛋白质的功能性质等方面取得了一些发现,建立了一个高效、绿色、环保的大豆油萃取工艺。具体研究结果如下:

(1) 建立了汽爆调质辅助乙醇水溶液高效萃取大豆油的新工艺。通过系统考察汽爆调质条件(浸泡时间、汽爆压力、维压时间)对大豆油水相萃取效率和油脂品质的影响,发现浸泡时间、汽爆压力和维压时间对清油收率的影响显著。在一定范围内,提高汽爆压力和维压时间可破坏大豆细胞结构,促进油脂释放,提高清油收率。但过高的汽爆压力可能会使大豆内部理化性质改变,阻碍油脂溶出。适当延长浸泡时间导致大豆吸水膨胀,扩大细胞间隙,有利于汽爆时水蒸气渗透和扩散,进一步提高清油收率。但是浸泡时间过长会影响汽爆后大豆结构的完整性,不利于油脂萃取。确定汽爆调质条件为:浸泡时间 2 h、汽爆压力 1.0 MPa、维压时间 15 s,在此条件下清油收率可达到 97.60%。所得油脂的酸价 (0.13 mg KOH/g)、过氧化值 (2.41 mmol/kg) 和折光指数 (1.4726) 均符合国家一级大豆油标准。采用真空法将所得油脂在 0.06 MPa 真空下处理 1.5 h,可以将油脂的水分及挥发物含量从 1.02%降低到 0.11%,符合一级大豆油国家标准。

(2) 以清油收率为考察指标,通过单因素探究了乙醇体积分数、液料比、萃取温度、萃取时间、振荡速度等因素的作用效果。在单因素实验的基础上,利用响应面法建立了清油收率的二次多项式回归方程,确定了影响清油收率的主要因素为:乙醇浓度>萃取时间>萃取温度>液料比。通过响应面图分析,得到最佳工艺条件为乙醇体积分数 41%,液料比 3:1,萃取温度 71℃,萃取时间 2 h,此时验证实验的清油收率可达 97.62%。验证实验结果与模型预测值相近,证明了模型的准确性和可靠性,建立了汽爆调质辅助乙醇水溶液高效萃取大豆油的新工艺。

(3) 从豆粉粒度分布、油脂和物料分配角度揭示汽爆调质提高清油收率的原因。汽爆调质显著降低了豆粉和豆粕的粒径。大豆粉粒径 D_{90} 从 $325.54\ \mu\text{m}$ 显著减小到 $85.79\ \mu\text{m}$ ，增大了大豆粉与乙醇溶液的接触面积，油脂更容易从组织中释放出来，加快了油脂溶出速度；豆粕粒径减小，缩短了油脂溶出的路程，减少了油脂在粕中的残留，从而提高了清油收率。汽爆调质改变了萃取混合物各相的粒度分布，萃取混合物出现双峰、小粒径峰体积分数增大、以及大粒径峰变窄，进一步说明汽爆使大豆组织结构变得更为疏松，蛋白吸水更充分，油脂容易被置换出来。汽爆调质改变了萃取混合物各相的物料分配，显著降低了乳化油、水相油和渣相油的含量，清油比例从对照组的 61.91% 提高至 96.62%。这些变化促使大豆油萃取过程中物料分配更有利于清油的形成和分离，提高了油脂的萃取效率。

(4) 从大豆子叶中油体聚集等微观角度分析汽爆调质提高清油收率的原因。豆粕扫描电镜显示，汽爆后豆粕颗粒出现了许多微孔，颗粒尺寸减小；通过对大豆切片的显微观察发现，汽爆调质促使大豆细胞膨胀甚至破裂，细胞间隙增大。汽爆后小油滴聚集融合成大油滴游离于细胞间隙中，在后续萃取过程中进入水相形成清油；蛋白质在细胞内的分布从均匀分布变得更加弥散伸展，有利于油脂与蛋白质进一步分离。说明汽爆调质有利于油脂与蛋白的分离，并增大豆粉与乙醇水的接触面积，从而有助于油脂萃取效率的提高。

(5) 通过对豆粕中蛋白质功能性质和结构变化等角度揭示汽爆调质提高萃取效率的原因。研究发现：汽爆调质导致豆粕蛋白发生部分变性，但变性程度较小。豆粕可溶性蛋白含量降低，可能是在萃取过程中乙醇溶解了更多可溶性蛋白进入水相，因此粕中减少；持水性增大，持油性和表面疏水性降低，有利于油脂与豆粕的分离，降低了残油率（1.32%）；乳化性和起泡性降低，减少了乳化油的产生，破坏了蛋白质与油脂的复合体，增加了大豆油的清油收率。对 XRD 图谱的研究发现汽爆调质破坏了大豆蛋白中的部分有序结构，使蛋白质分子结构伸展，无序程度增加；FTIR 分析显示豆粕蛋白的二级结构发生变化， α -螺旋、 β -折叠和 β -转角含量降低，无规则卷曲含量升高；UV 和内源荧光光谱分析表明蛋白质结构发生改变，部分芳香族氨基酸残基暴露，色氨酸残基微环境发生了一定变化；蛋白质的变性温度降低值少于 1°C （DSC），说明豆粕蛋白的热稳定性受

汽爆调质影响较小。这些蛋白结构和功能性质的变化，共同作用提高了大豆油水相萃取效率，且蛋白质变性程度较小，有利于豆粕蛋白进一步高值化利用。

综上所述，本研究采用的汽爆调质辅助乙醇水萃取大豆油工艺具有成本低、绿色环保等优点，优于污染环境的传统有机溶剂萃取法、成本较高的水酶法和超临界萃取法，成功地建立了一种大豆油新型水相萃取工艺。研究了大豆汽爆调质对油脂水相萃取中清油收率和油脂品质的影响，并从粒度分布、显微形态、蛋白结构和性质等方面研究了汽爆调质提高水相萃取效率的内在原因。汽爆调质显著提高了大豆油水相萃取的清油收率，并且所得油脂的色泽、酸价、过氧化值和水分及挥发物含量均符合大豆油国家一级标准。汽爆调质后的大豆粉变得更加细腻，蛋白质亲水性提高，有利于将油脂置换出来。同时汽爆促使大豆组织细胞破裂，促进了小油滴聚集融合成大油滴，降低了粕残油，蛋白质变性程度较低、蛋白质功能性质大部分得以保留，有利于豆粕蛋白的高值化利用。可见，大豆汽爆调质辅助乙醇水萃取大豆油工艺是高效可行的。相比于正己烷萃取法，具有生产操作安全、工艺环保、产品健康的优势，具有广阔的应用前景。

6.2 展望

本研究围绕汽爆调质在大豆油水相萃取及豆粕蛋白利用方面获得了一些结论，但仍有诸多方面值得进一步探索，为大豆加工产业的可持续发展提供更多的支撑。后续可进一步研究如何转化为大规模生产，解决工业化生产中存在的规模放大、乙醇回收、水相中固形物利用等问题。该研究主要针对大豆油萃取和豆粕蛋白的功能性质进行研究，但大豆还含有大豆异黄酮、大豆皂苷、膳食纤维等多种具有潜在价值的成分。可对豆粕中的营养成分展开进一步研究，提高豆粕的经济效益。本文对油脂品质的研究较少，后续实验可进一步研究提高大豆油的风味及香气，进一步满足人们对高品质大豆油的需求。本研究为大豆油脂的高效绿色加工提供了新的思路和方法，但在工艺优化、资源综合利用、产品品质提升和作用机制等方面仍有进一步的研究空间。通过深入研究，有望推动大豆加工产业朝着高效、绿色、可持续的方向健康发展。

参考文献

- [1] 郑祖庭. 2023 年国内外大豆市场回顾及 2024 年展望[J]. 黑龙江粮食, 2024, (02), 23-26+12.
- [2] 林凤岩, 黄永娜, 褚洪俊, 等. 我国大豆蛋白加工产业现状及发展趋势[J]. 中国油脂, 2023, 48(11), 33-37+56.
- [3] 李建科, 孟永宏, 刘柳, 等. 我国食品工业副产物资源化利用现状[J]. 食品科学技术学报, 2021, 39(06), 1-13.
- [4] 向星宇, 吴雪, 许建双, 等. 中国大豆进口贸易现状及对策研究[J]. 黑龙江粮食, 2024, (11), 26-28.
- [5] 倪倩. 采用水相酶法对冷榨大豆饼提取大豆油和大豆蛋白的研究[D]. 武汉工业学院, 2008. 硕士学位论文.
- [6] 钱俊青. 低含油量油料（大豆）酶法提取油脂的研究[D], 浙江大学, 2001. 博士学位论文.
- [7] Song, X., Zhang, Y., Yan, L., etc. A Study on Correlation and Variability of Fatty Acid Composition Contents of Soybean Cultivars[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2010, 25(S2), 68-73.
- [8] Shokryzadan, P., Rajion, M.A., Meng, G.Y., etc. Conjugated linoleic acid: A potent fatty acid linked to animal and human health[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2017, 57(13), 2737-2748.
- [9] 宫萱. 大鲈骨胶原蛋白的纯化、表征、抗氧化活性的研究以及休闲食品的开发利用[D], 上海海洋大学, 2023. 硕士学位论文.
- [10] Dilzer, A., Park, Y. Implication of conjugated linoleic acid (CLA) in human health[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2012, 52(6), 488-513.
- [11] 朱秀清, 曾剑华, 房媛媛, 等. 纤维素酶结合碱性蛋白酶提高冷榨大豆出油率的工艺优化[J]. 中国油脂, 2019, 44(05), 13-17.
- [12] 常云鹤, 冯红霞, 周笑犁, 等. 高压氢化法氢化大豆油的研究[J]. 农产品加工, 2019, (10), 1-4+9.

- [13] 李琳何. 挤压辅助水酶法提取菜籽油工艺研究[D], 湖南农业大学, 2020. 硕士学位论文.
- [14] 张元生, 张欢, 马丽娜, 等. 正戊烷浸出大豆油的工艺研究[J]. 粮油加工 (电子版), 2014, (07), 36-40.
- [15] 赵国志, 刘喜亮, 刘智锋. 异丙醇溶剂浸出新工艺简介[J]. 粮油加工与食品机械, 2005, (11), 12-14.
- [16] 张祎, 胡珂青, 何梦, 等. 糖效应辅助水剂法提取文冠果籽油工艺优化及其特性分析[J]. 中国油脂, 2017, 42(01), 1-5.
- [17] 杨辉. 茶油提取新工艺及其品质的研究[D], 南昌大学, 2012. 硕士学位论文.
- [18] 李清华, 夏仙亦, 于修焯, 等. 盐效应辅助水剂法提取南瓜籽油及其理化特性研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(24), 286-289.
- [19] Suhag, R., Dhiman, A., Deswal, G., etc. Microwave processing: A way to reduce the anti-nutritional factors (ANFs) in food grains[J]. LWT - Food Science and Technology, 2021, 150, 111960.
- [20] Rosenthal, A., Pyle, D., Niranjana, K., etc. Combined effect of operational variables and enzyme activity on aqueous enzymatic extraction of oil and protein from soybean[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2001, 28(6), 499-509.
- [21] 肖仁显. 山核桃油的提取工艺及其氧化稳定性研究[D], 浙江大学, 2012. 硕士学位论文.
- [22] Yang, L., Yan, Z., Xiaonan, S., etc. Ultrasound-Assisted Aqueous Enzymatic Extraction of Oil from Pomegranate Seeds[J]. Waste and Biomass Valorization, 2018, 9(1), 1-11.
- [23] 刘媛媛, 李鹏飞, 杨瑞金, 等. 水酶法提取葵花籽油工艺及机理[J]. 食品工业科技, 2018, 39(24), 151-156+163.
- [24] 杨瑞金, 倪双双, 张文斌, 等. 水媒法提取食用油技术研究进展[J]. 农业工程学报, 2016, 32(09), 308-314.

- [25] 迟延娜, 张文斌, 杨瑞金, 等. 顽固乳状液的破乳处理提高花生游离油提取率[J]. 农业工程学报, 2014, 30(08), 257-264.
- [26] 李杨, 齐宝坤, 隋晓楠, 等. 水酶法提取大豆油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+89.
- [27] 倪双双. 蒸汽闪爆辅助乙醇水提法提取玉米胚芽油和蛋白质[D], 江南大学, 2016. 硕士学位论文.
- [28] Wan, F., Feng, C., Luo, K., etc. Effect of steam explosion on phenolics and antioxidant activity in plants: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2022, 124, 13-24.
- [29] 宋媛媛. 乙醇辅助水酶法提取牡丹籽油工艺研究[D], 江南大学, 2018. 硕士学位论文.
- [30] Fu, X., Chen, H. Air-steam explosion enhancing the extraction efficiency of chlorogenic acid from leaves of *Eucommia ulmoides* Oliver[J]. Separation and Purification Technology, 2015, 146, 317-325.
- [31] Wang, Z., Deng, Z., Yu, C., etc. Effects of steam explosion on raspberry leaf structure and the release of water-soluble nutrients and phenolics[J]. Food Chemistry, 2024, 445, 138708.
- [32] Cheng, A., Hou, C., Sun, J., etc. Effect of steam explosion on phenolic compounds and antioxidant capacity in adzuki beans[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020, 100(12), 4495-4503.
- [33] Zhang, S., Zheng, L., Ai, B., etc. Effect of steam explosion pretreatment on quality of tea seed (*Camellia oleifera* Abel.) oil obtained by aqueous extraction[J]. Food Science, 2019, 40(11), 124-130.
- [34] Yu, G., Guo, T., Huang, Q. Preparation of rapeseed oil with superhigh canolol content and superior quality characteristics by steam explosion pretreatment technology[J]. Food Science & Nutrition, 2020, 8(5), 2271-2278.
- [35] Ricard, B., Paola, N., Rubén, D., etc. Application of emerging technologies to obtain legume protein isolates with improved techno-functional properties and health effects[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2022, 21(3), 2200-2232.

- [36] Qin, J., Shao, J., Yin, T., etc. The role of Maillard reaction in increasing affinity between soybean protein isolate and phloretin and its effects on protein functionality[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2025, 306(P1), 141281.
- [37] Ashaolu, T.J. Applications of soy protein hydrolysates in the emerging functional foods: a review[J]. *International Journal of Food Science and Technology*, 2020, 55(2), 421-428.
- [38] 励慧敏, 韩锦华. 大豆蛋白和大豆低聚糖的应用[J]. *农村新技术*, 2009, (22), 25-27.
- [39] 秦仁炳, 王晴, 朱嘉铭, 等. 大豆分离蛋白对面条品质和消化特性的影响[J]. *河南科技学院学报(自然科学版)*, 2025, 53(01), 31-40.
- [40] 郭红彦. 银杏营养贮藏蛋白质的分离鉴定及特性研究[D], 南京林业大学, 2007. 博士学位论文.
- [41] 张润光. 石榴采后果实品质劣变机理及其防控机制研究[D], 陕西师范大学, 2018. 博士学位论文.
- [42] Jeong, M.-S., Cho, S.-J. Effect of pH-shifting on the water holding capacity and gelation properties of mung bean protein isolate[J]. *Food Research International*, 2024, 177, 113912.
- [43] Ghribi, A.M., Gafsi, I.M., Blecker, C., etc. Effect of drying methods on physico-chemical and functional properties of chickpea protein concentrates[J]. *Journal of Food Engineering*, 2015, 165, 179-188.
- [44] 许英一, 马鑫蕊, 徐艳霞, 等. 不同种类糖对燕麦蛋白糖基化产物功能性质及结构的影响[J]. *中国油脂*, 2023, 48(02), 48-54.
- [45] Rivera, Á.E.R., Ulloa, J.A., Silvas, J.E.U., etc. Physicochemical, techno-functional, biochemical and structural characterization of a protein isolate from groundnut (*Arachis hypogaea* L.) paste treated with high-intensity ultrasound[J]. *Food Chemistry*, 2025, 464(P3), 141848.
- [46] Cano-Medina, A., Jimenez-Islas, H., Dendooven, L., etc. Emulsifying and foaming capacity and emulsion and foam stability of sesame protein concentrates[J]. *Food Research International*, 2011, 44(3), 684-692.

- [47] 方海砚, 苑歆, 刘友明, 等. 羟自由基氧化对鲢鱼肌原纤维蛋白结构的影响[J]. 食品工业科技, 2020, 41(04), 6-12.
- [48] Wang, S., Guo, Y., Xie, D., etc. The underlying reasons for the efficient extraction of peanut oil by aqueous ethanol combined with roasting conditioning pretreatment[J]. Food Chemistry, 2024, 447, 138934.
- [49] Chelh, I., Gatellier, P., Santé-Lhoutellier, V. Technical note: A simplified procedure for myofibril hydrophobicity determination[J]. Meat Science, 2006, 74(4), 681-683.
- [50] 窦勇博. 白芦笋下脚料多糖提取、结构表征及其应用研究[D], 齐鲁工业大学, 2020. 硕士学位论文.
- [51] Zhao, B., Wang, C., Zeng, Z., etc. Study on the extraction process of pectin from grapefruit peel based on steam explosion technology[J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2021, 792(1), 012008.
- [52] 吴东兴, 钱勋, 詹亚名. 油脂精炼脱臭真空系统的影响因素及优化改进的探讨[J]. 粮食与食品工业, 2023, 30(01), 1-5+11.
- [53] 邓楠楠. 不同超声模式对芡实蛋白结构、功能特性及其酶解物抗氧化活性的影响[D], 江苏大学, 2021. 硕士学位论文.
- [54] 张功圣. 多糖糖基化大豆蛋白质功能特性及在食品加工中应用研究进展[J]. 大豆科技, 2021, (03), 23-28.
- [55] Du, T., Liu, Y., Ma, J., etc. Effect of ultrasonic pretreatment on the gel properties and structure of flaxseed gum-soybean protein isolate composite gels[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(13), 83-90.
- [56] Yin, Y., Xu, J., Shi, Z., etc. Research on the preparation of soy protein isolate and whey protein isolate composite nanoparticles and their characteristics in high internal phase Pickering emulsions[J]. Food Chemistry, 2025, 477, 143476.
- [57] S, R.J.M., Harry, G., Ton, v.V. Influence of pH and ionic strength on heat-induced formation and rheological properties of soy protein gels in relation to denaturation and their protein compositions[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(21), 6064-6071.

- [58] Diftis, N., Kiosseoglou, V. Stability against heat-induced aggregation of emulsions prepared with a dry-heated soy protein isolate-dextran mixture[J]. Food Hydrocolloids, 2006, 20(6), 787-792.
- [59] 赵钜阳, 袁惠萍, 孙昕萌, 等. 槲皮素、芦丁与大豆分离蛋白非共价作用机制及其功能性和消化性研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(15), 73-80.
- [60] Malik, M.A., Sharma, H.K., Saini, C.S. High intensity ultrasound treatment of protein isolate extracted from dephenolized sunflower meal: Effect on physicochemical and functional properties[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 39, 511-519.
- [61] 彭辉, 宁程茜, 胡传荣, 等. 两种方法提取花生蛋白功能特性的对比研究[J]. 食品工业, 2015, 36(11), 171-175.
- [62] Das, D., Panesar, P.S., Saini, C.S. pH shifting treatment of ultrasonically extracted soybean meal protein isolate: Effect on functional, structural, morphological and thermal properties[J]. Process Biochemistry, 2022, 120, 227-238.
- [63] 张雪飞. 热诱导聚合乳清蛋白功能特性及其机理研究[D], 吉林大学, 2019. 硕士学位论文.
- [64] Shiling Yuan, G.X. Advance of crude oil demulsifier[J]. China Surfactant Detergent & Cosmetics, 2000, (01), 36-39.
- [65] Xu, Y., Zhang, L., Bailina, Y., etc. Effects of ultrasound and/or heating on the extraction of pectin from grapefruit peel[J]. Journal of Food Engineering, 2014, 126, 72-81.
- [66] Zúñiga, M.E., Soto, C., Mora, A., etc. Enzymic pre-treatment of guevina avellana mol oil extraction by pressing[J]. Process Biochemistry, 2003, 39(1), 51-57.
- [67] 孙旦, 华欲飞, 李兴飞. 热处理对水媒法制备的亚麻籽分离蛋白挥发性风味成分和功能性质的影响[J]. 中国油脂, 2020, 45(10), 28-34.
- [68] 杨端. 响应面优化微波辅助提取哈密瓜籽油的工艺研究[J]. 中国粮油学报, 2024, 39(04), 77-81.

- [69] Lestari, W.D., Adyono, N., Faizin, A.K., etc. Optimization of the cutting process on machining time of ankle foot as transtibial prosthesis components using response surface methodology[J]. *Results in Engineering*, 2024, 21, 101736.
- [70] 高瑞萍, 梁明艳, 涂鸿阳. 响应面优化超声辅助葵花籽油提取番茄红素[J]. *重庆工商大学学报(自然科学版)*, 2024, 1-11.
- [71] 刘晏玮. 预处理方式对蓝蛤酶解特性及酶解液呈味特性的影响[D], 渤海大学, 2019. 硕士学位论文.
- [72] Ni, S., Zhao, W., Zhang, Y., etc. Efficient and eco-friendly extraction of corn germ oil using aqueous ethanol solution assisted by steam explosion[J]. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 2016, 53(4), 2108-2116.
- [73] Koga, D., Kusumi, S., Shodo, R., etc. High-resolution imaging by scanning electron microscopy of semithin sections in correlation with light microscopy[J]. *Microscopy*, 2015, 64(6), 387-394.
- [74] Stuhr, N.L., Nhan, J.D., Hammerquist, A.M., etc. Rapid lipid quantification in *Caenorhabditis elegans* by oil Red O and Nile red staining[J]. *Bio-protocol*, 2022, 12(5), e4340.
- [75] Ziteng, L., Sai, Y., Shicheng, D., etc. Relationship between flexibility and interfacial functional properties of soy protein isolate: Succinylation modification[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2022, 102(14), 6454-6463.
- [76] Xue, H., Xu, M., Liao, M., etc. Effects of tea and *Illicium verum* braise on physicochemical characteristics, microstructure, and molecular structure of heat-induced egg white protein gel[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 110, 106181.
- [77] 邓伟莉, 武淑芬, 李超, 等. 亚麻籽水溶蛋白与姜黄素复合物的制备与表征[J]. *中国食品添加剂*, 2024, 35(10), 56-63.
- [78] 陈姑, 姜竹茂, 位正鹏, 等. 低温等离子体处理加速罗非鱼肌原纤维蛋白的氧化及结构改变[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(04), 88-95.

- [79] 陈骐, 罗小雪, 池云峰, 等. 黑米花青素对大豆 7S/11S 蛋白结构及界面功能特性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(07), 166-173.
- [80] 姚钢, 李冰, 孙福伟, 等. γ 射线对胚芽米蛋白结构、乳化特性和食用品质的影响[J]. 食品科学技术学报, 2022, 40(02), 62-71.
- [81] Jean-Luc, M., Nicolas, S., Ali, A., etc. Thermal denaturation of pea globulins (*Pisum sativum* L.)-molecular interactions leading to heat-induced protein aggregation[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(6), 1196-1204.
- [82] Zhang, Z.S., Fang, C.Q., Liu, D.H., etc. Preparation and characterization of the protein edible film extracted from the migratory locust (*Locusta migratoria*)[J]. Food Packaging and Shelf Life, 2022, 33, 100899.
- [83] 刘晓宇. 复合材料的制备及其表面增强拉曼光谱性能研究[D], 中北大学, 2018. 硕士学位论文.
- [84] 邓玉娣, 霍蔼倩, 黎锬华, 等. 双歧杆菌复合微胶囊的工艺优化、表征及功能特性分析[J]. 食品工业科技, 2019, 40(06), 147-156.
- [85] 宁俊帆, 郭玉宝, 宋睿, 等. 稻米陈化中谷蛋白变化光谱解析及其对功能性质的影响[J]. 光谱学与光谱分析, 2021, 41(11), 3431-3437.
- [86] Yan, Z., Li, Q., Zhang, P. Soy Protein Isolate and Glycerol Hydrogen Bonding Using Two-Dimensional Correlation (2D-COS) Attenuated Total Reflection Fourier Transform Infrared (ATR FT-IR) Spectroscopy[J]. Applied Spectroscopy, 2017, 71(11), 2437-2445.
- [87] 张琳婧, 钱楠, 俞步涛, 等. 用于干预溃疡性结肠炎的异甘草素纳米颗粒研究[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(24), 70-79.
- [88] Liu, G., Hu, M., Du, X., etc. Correlating structure and emulsification of soybean protein isolate: Synergism between low-pH-shifting treatment and ultrasonication improves emulsifying properties[J]. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2022, 646, 128963.
- [89] Bailey, M., Miller, B.G., Telemo, E., etc. Specific immunological unresponsiveness following active primary responses to proteins in the

- p weaning diet of piglets[J].
- International Archives of Allergy and Immunology*
- , 1993, 101(3), 266-271.
- [90] 范金磊. 小麦面筋蛋白-大米淀粉模型面团的制备、结构性质及应用研究[D], 合肥工业大学, 2021. 硕士学位论文.
- [91] 黄素艳, 曹荣, 刘楠, 等. 提取方式对微拟球藻蛋白理化性质和功能特性的影响[J]. *食品工业科技*, 2025, 46(01), 87-96.
- [92] 王缓. 麦麸多糖提取物对鱼糜凝胶理化特性的影响[D], 南京财经大学, 2023. 硕士学位论文.
- [93] Byler, D.M., Susi, H. Examination of the secondary structure of proteins by deconvolved FTIR spectra[J]. *Biopolymers*, 1986, 25(3), 469-487.
- [94] Siu-Mei, C., Ching-Yung, M. Conformational study of globulin from common buckwheat (*Fagopyrum esculentum moench*) by fourier transform infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(20), 8046-8053.
- [95] 李少辉. 物理预处理—可控酶解联合改性蚕蛹蛋白的研究[D], 江苏科技大学, 2017. 硕士学位论文.
- [96] Dong, X., Wang, J., Raghavan, V. Impact of microwave processing on the secondary structure, in-vitro protein digestibility and allergenicity of shrimp (*Litopenaeus vannamei*) proteins[J]. *Food Chemistry*, 2021, 337, 127811.
- [97] Diaz, O., Candia, D., Cobos, A. Effects of ultraviolet radiation on properties of films from whey protein concentrate treated before or after film formation[J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 55, 189-199.
- [98] 钟比真, 涂宗财, 王辉. 微波场中卵清蛋白糖基化产物不均匀性的光谱分析[J]. *光谱学与光谱分析*, 2017, 37(06), 1896-1901.
- [99] 聂歆玫. 电场处理对豌豆蛋白结构、功能及挥发性风味物质的影响[D], 扬州大学, 2023. 硕士学位论文.
- [100] Jian, W., He, J., Sun, Y., etc. Comparative studies on physicochemical properties of bovine serum albumin-glucose and bovine serum albumin-mannose conjugates formed via Maillard reaction[J]. *LWT - Food Science and Technology*, 2016, 69, 358-364.

- [101] Parisi, M., Mazzini, A., Sorbi, R.T., etc. Unfolding and refolding of porcine odorant binding protein in guanidinium hydrochloride: equilibrium studies at neutral pH[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 2003, 1652(2), 115-125.
- [102] Laemmli, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4[J]. *Nature*, 1970, 227(5259), 680-685.
- [103] Johnson, C.M. Differential scanning calorimetry as a tool for protein folding and stability[J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2013, 531(1-2), 100-109.

攻读硕士学位期间取得的成果

- 1、Effect of steam explosion pretreatment on the aqueous extraction efficiency of soybean oil. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2025, 104, 104080.(本人第一)
- 2、一种从低含油量硬质油料大豆中水相萃取油脂方法及其应用 202411159536.8.
(导师第一，本人第二)
- 3、The underlying reasons for the efficient extraction of peanut oil by aqueous ethanol combined with roasting conditioning pretreatment. Food Chemistry, 2024, 447: 138934. (本人第六)
- 4、Effects of the roasting-assisted aqueous ethanol extraction of peanut oil on the structure and functional properties of dreg proteins. Foods, 2024, 13: 758.(本人第五)

致 谢

硕士三年的学习生涯如同白驹过隙，在学术的漫漫征途中，我心怀无尽感恩。

我要诚挚地感谢我的导师郭玉宝教授，在本研究的每一个阶段，您都给予了悉心的指导与支持。从研究方向的确定到实验方案的设计，再到结果的分析与论文的撰写，您的专业知识和严谨态度如明灯照亮我前行的道路。您不仅传授我们学术知识，更教会我们如何思考、如何研究，同时也会在生活上关心我们。

感谢我的师兄汪思诚、师姐刘昕煜、同门王馨雨以及师妹陆倩、李勤勤，在实验忙碌的日子里，你们给予我精神上的鼓励和支持。当实验遇到困难，心情低落时，你们的陪伴和安慰让我重拾信心。在我为论文绞尽脑汁时，你们耐心倾听我的烦恼，为我提供宝贵的建议和帮助。感谢我的室友杨云云、祝琼、以及董雨露，我的好朋友陈取明和张玉茹，在这三年的生涯中我们一起探讨实验，丰富课外生活，是你们让我的硕士生活变得丰富多彩。愿大家既有前程可奔赴，亦有岁月可回首。

我还要感谢我的家人，一直以来对我的理解与包容。在我为学业和研究全身心投入的日子里，你们默默承担起生活的琐碎，让我没有后顾之忧。你们的爱和支持是我不断前进的动力，让我有勇气面对各种挑战。

最后感谢百忙之中抽出宝贵时间参与论文评审、答辩的专家、教授、老师们，向你们致以诚挚的谢意。

王真真
于安徽工程大学
2025 年 5 月