金奕霞, 张姣姣, 翟康, 等. 间型脉孢菌发酵丹贝的水酶法提油工艺优化及功能性成分表征 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(4): 303−312. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030243

JIN Yixia, ZHANG Jiaojiao, ZHAI Kang, et al. Optimization of Aqueous Enzymatic Extraction Process and Functional Characterization of *Neurospora intermedia* Fermented-tempeh Oil[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(4): 303−312. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030243

· 工艺技术 ·

间型脉孢菌发酵丹贝的水酶法提油工艺优化及功能性成分表征

金奕霞, 张姣姣, 翟　康, 董明盛*

（南京农业大学食品科学技术学院, 江苏南京 211800）

摘　要: 本研究以间型脉孢菌（*Neurospora intermedia* HJ 2022-06）固态发酵大豆制备的丹贝为原料，选用碱性蛋白酶辅助水酶法提取油脂。基于单因素实验结果，采用 Box-Behnken 响应面试验优化提取工艺参数，并系统表征所得油脂的理化特性、功能成分及抗氧化活性。结果表明，最优工艺条件为：料液比 1∶5（g/mL）、酶添加量 2.0%（w/w）、酶解时间 3.3 h，在此条件下丹贝油提取率达 74.10%±1.77%，与模型预测值 74.74% 高度吻合。与未发酵对照相比，脉孢菌发酵极显著降低了丹贝油的过氧化值（P<0.01），油脂中不饱和脂肪酸占比提高至 82.16%±0.2% 以及降低了 ω-6/ω-3 的比值；异黄酮总量与类胡萝卜素含量分别增加 33.76 倍和 2.05 倍，DPPH、ABTS$^+$自由基清除能力显著增强（P<0.05）。Pearson 相关性分析表明，DPPH 及 ABTS$^+$自由基清除能力增强与类胡萝卜素和异黄酮总量增加显著相关。本研究为固态发酵调控制备功能性油脂提供了新策略。

关键词: 丹贝油, 水酶法, 间型脉孢菌, 脂肪酸组成, 功能成分, 抗氧化活性

中图分类号: TS224.4　　**文献标识码:** B　　**文章编号:** 1002−0306(2026)04−0303−10

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025030243

本文网刊:

Optimization of Aqueous Enzymatic Extraction Process and Functional Characterization of *Neurospora intermedia* Fermented-tempeh Oil

JIN Yixia, ZHANG Jiaojiao, ZHAI Kang, DONG Mingsheng*

（College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 211800, China）

Abstract: In this study, *Neurospora intermedia* HJ 2022-06 was used for the solid-state fermentation of soybeans, following which the tempeh oil was extracted using an alkaline protease-assisted aqueous enzymatic method. A single-factor experimental design was initially used, and the extraction parameters were subsequently optimized using Box–Behnken response surface methodology. Additionally, the physicochemical properties, bioactive components, and antioxidative activities of the extracted oil were comprehensively analyzed. The optimal extraction conditions were determined using a solid-to-liquid ratio of 1∶5 (g/mL), an enzyme concentration of 2.0% (w/w), and a hydrolysis time of 3.3 h. Under these conditions, the oil extraction rate reached 74.10%±1.77%, which closely matched the model-predicted value of 74.74%. Compared with the unfermented control group, fermentation with *Neurospora* resulted in a significant decrease in the peroxide level (P<0.01), an increase in the proportion of unsaturated fatty acids to 82.16%±0.2%, and a decrease in the ω-6/ω-3 fatty acid ratio. Furthermore, the contents of isoflavones and carotenoids increased by 33.76- and 2.05-fold, respectively. The tempeh oil also showed significant improvements in its DPPH and ABTS$^+$ free radical-scavenging capacities (P<0.05). Pearson's correlation analysis revealed strong positive correlations between the enhanced antioxidative activities and elevated carotenoid and isoflavone levels. This study presents a novel and precise strategy for producing functional oils via controlled fermentation by *Neurospora.*

Key words: tempeh oil; aqueous enzymatic method; *Neurospora intermedia*; fatty acid composition; functional components; antioxidant activity

收稿日期: 2025−03−18

作者简介: 金奕霞（2000−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品微生物, E-mail: 1248187020@qq.com。

*** 通信作者:** 董明盛（1961−）, 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品微生物与生物技术, E-mail: dongms@njau.edu.cn。

丹贝(Tempeh),又称为天贝、天培,是一种源自印度尼西亚的大豆发酵食品,迄今有数百年的历史传承,现已成为印尼美食文化的一个重要组成部分[1]。传统丹贝是以大豆为原料,经浸泡、脱皮、煮熟和冷却后接种根霉菌(*Rhizopus* sp.)通过短期固态发酵而成[2]。近年来,随着丹贝作为一种健康食品在世界上广为传播,其生产原料与发酵菌种都发生了显著变化。在原料选择方面,除大豆外,其他豆类[3]、谷物也被用来制作丹贝类产品(Tempeh-type products);在发酵菌种方面,除根霉以外的脉孢菌、毛霉菌[4]等也开始应用于丹贝类产品的制作。其中脉孢菌(*Neurospora* sp.)具有高纤维素酶、蛋白酶和糖苷水解酶活性[5],使其成为丹贝发酵的优选菌种,而且脉孢菌发酵产生大量类胡萝卜素而使丹贝呈现独特的亮橙色,因此被称为红色丹贝(Red tempeh),或脉孢菌发酵丹贝(*Neurospora*- fermented tempeh)。研究表明,丹贝发酵能够改变大豆油中成分组成并赋予丹贝油脂更广泛的健康功能,如发酵不仅能够保留大豆亚油酸、油酸和亚麻酸等多不饱和脂肪酸(PUFAs)成分,使其在维持细胞膜的完整性[6]发挥重要作用,而且发酵还可促进脂溶性异黄酮苷元的释放[7],使丹贝油脂的抗氧化性增强,从而降低心血管疾病、癌症和神经退行性疾病的风险[8]。Limanjaya 等[9]的研究发现,丹贝油脂中 ω-3 脂肪酸占比达 8.37%,具有预防阿尔兹海默病的功能。Tian 等[10]研究表明,相比于未发酵大豆中的油脂,从发酵后大豆中提取出的油脂能显著诱导 HeLa 细胞凋亡,表现出抗肿瘤活性。由此可见,丹贝油脂具有开发成为功能食品的潜力。然而,目前国内外对于丹贝研究主要集中在根霉菌发酵丹贝[11],而对脉孢菌发酵丹贝(简称脉孢菌丹贝)研究相对较少,其油脂的提取方法、组成特性及潜在应用价值均有待深入研究。水酶法作为一种新兴的绿色提取技术,在机械破碎的基础上,使用特定的酶(如纤维素酶、半纤维素酶、蛋白酶、果胶酶、淀粉酶、葡聚糖酶等)对油料进行水解处理。通过降解破坏植物细胞壁以及油料组织的脂多糖、脂蛋白等复合体,促进油脂的释放[12],从而提高提取效率并最大程度地保留油脂中的天然活性成分。与传统提取方法相比,水酶法的最大优势表现为以水、酶为媒介在提取油脂的同时,不影响其他有效成分(如蛋白质、碳水化合物及其水解产物)的分层次利用[13]。基于此,本研究以间型脉孢菌发酵大豆丹贝为原料,用水酶法优化油脂提取工艺参数,并系统评估了脉孢菌发酵对丹贝油脂功能性成分的影响,为功能性油脂分层次、深度开发提供理论依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

黄豆　黑龙江赫慈农业发展有限公司;间型脉孢菌(*Neurospora intermedia* HJ 2022-06)　南京农业大学实验室保存,该菌种从广西传统红菌豆渣中筛选得到,通过基因组学分析证明不含任何致病产毒相关基因;碱性蛋白酶(200000 U/g)、DPPH、ABTS　上海索莱宝公司;大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素、染料木素标准品　纯度 99%,上海源叶生物科技有限公司;β-胡萝卜素、角鲨烯、豆甾醇、α-生育酚标准品　纯度 99%,上海麦克林生化科技股份有限公司;甲醇(色谱纯)、乙腈(色谱纯)、正己烷(色谱纯)、石油醚、无水乙醇、碘化钾、氢氧化钠、氢氧化钾、冰乙酸、三氯甲烷、硫代硫酸钠　分析纯,上海吉至生化科技有限公司。

SW-CJ-1FD 超净工作台　苏净安泰空气技术有限公司;1260 型高效液相色谱仪　美国 Agilent 公司;UV-2450 紫外分光光度计　日本岛津 SHIMADZU 公司;A7890 气相色谱仪　美国 Agilent 公司;64RL 高速冷冻离心机　美国 Beckemm 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 脉孢菌发酵丹贝制作　取黄豆与等质量的水混合后装入广口玻璃瓶罐,121 ℃ 高压蒸汽灭菌 20 min。灭菌后样品冷却至室温,在超净工作台内依次加入 1%(v/w)乳酸和 2%(v/w)间型脉孢菌孢子悬液(孢子浓度为 10^6 CFU/mL),充分混合后于 30 ℃ 培养箱中培养 72 h。鲜丹贝样品和接种后未发酵(对照)的高压杀菌大豆样品放入 50 ℃ 烘箱烘干至恒重,粉碎过 40 目筛,以用于后续处理。

1.2.2 油脂水酶提取法　参考杨柳等[14]的方法稍作修改。将样品粉末与水按一定质量比例混合均匀,将 pH 调整至酶最适活性范围为 9.0±0.2,随后加入一定量的碱性蛋白酶,在 45 ℃ 条件下不断搅拌。反应结束后,于沸水中灭酶 10 min,冷却后以 8000 r/min 离心 10 min,经分液漏斗分离得到四层物质,从上至下分别为游离油、乳状液、水解液和残渣。收集上层游离油,称重。下层残渣则用水洗涤、混匀后,8000 r/min 离心 10 min,收集残渣,烘干,称重。

1.2.3 油脂提取工艺单因素实验　根据杨柳等[14]、Rosenthal 等[15]的研究结果,选择碱性蛋白酶水解样品中的蛋白质,使细胞中的油脂释放出来。该酶的最佳酶活温度为 45 ℃、最适 pH 为 9~10,故在酶解温度和 pH 上不做优化分析,分别对酶解时间、加酶量、料液比的单因素水平进行考察。

1.2.3.1 酶解时间对油脂提取率的影响　设定酶解时间分别为 0、1、2、3 和 4 h,在料液比 1∶5 g/mL,加酶量 2.4% 的条件下,考察酶解时间对丹贝油脂提取率的影响,每组重复 3 次实验。

1.2.3.2 加酶量对油脂提取率的影响　加酶量分别为 0%、0.6%、1.2%、1.8% 和 2.4%,设定酶解时间 3 h,料液比 1∶5 g/mL 的条件下,考察加酶量对丹贝油脂提取率的影响,每组重复 3 次实验。

1.2.3.3 料液比对油脂提取率的影响　料液比分别为 1∶4、1∶4.5、1∶5、1∶5.5 和 1∶6 g/mL,设定加酶量

2.4%，酶解时间 3 h 时，考察料液比对丹贝油脂提取率的影响，每组重复 3 次实验。

1.2.4　响应面设计试验　在单因素实验的基础上，根据 Box-Benhnken 中心组合设计试验，选取酶解时间、加酶量、料液比三个因素，选取三个水平，进行提取工艺优化。

表 1　响应面试验的因素与水平

Table 1　Codes and levels of independent variables used in response surface analysis

因素	水平		
	−1	0	1
A酶解时间(h)	2	3	4
B加酶量(%)	1.2	1.8	2.4
C料液比(g/mL)	1∶4.5	1∶5	1∶5.5

1.2.5　油脂提取率和游离油得率的测定　样品粉末中油脂的质量分数以及残渣中残油量的测定依据 GB 5009.6-2016《食品安全国家标准 食品中脂肪的测定》索氏抽提法进行测定。油脂提取率的计算公式参考杨柳等[14] 的表述方法：

$$油脂提取率(\%)=\frac{T\times\omega-C}{T\times\omega}\times100 \qquad 式（1）$$

式中：T 为样品粉末的质量，g；ω 为样品粉末中油脂的质量分数，%；C 为残渣中的残油量，g

游离油得率的计算公式参考肖晓等[16] 的表述方法：

$$游离油得率(\%)=\frac{m_1}{m_2}\times100 \qquad 式（2）$$

式中：m_1 为丹贝游离油的质量，g；m_2 为丹贝粉的质量，g。

1.2.6　油脂理化性质的测定　酸价的测定参照 GB 5009.229-2016《食品安全国家标准 食品中酸价的测定》；过氧化值的测定参照 GB 5009.227-2016《食品安全国家标准 食品中过氧化值的测定》。

1.2.7　脂肪酸组成测定　脂肪酸的测定参照闻乐嫣等[17] 的方法。称取 20 mg（精确至 0.1 mg）油脂，溶于 2 mL 正己烷中，加入 1 mL 2 mol/L 的 KOH-甲醇溶液，涡旋 30 s 后静置 2 h，5000 r/min 离心 10 min，取上清用于 GC 分析。脂肪酸种类由 37 种脂肪酸标品定性得出，脂肪酸含量采用面积归一化法处理。

气相色谱条件：色谱柱：SPTM-2560 毛细管柱（100 m×0.25 mm×0.2 μm）；进样量 1 μL；载气流量：20 cm/s 的氦；补气流速：30 mL/min 的氮；升温程序：初始温度 100 ℃ 条件下保持 13 min，以 10 ℃/min 的程序升温到 130 ℃，保持 5 min，再以 40 ℃/min 的程序升温到 240 ℃，保持 32 min。

1.2.8　油脂中大豆异黄酮含量测定　在叶韬等[18] 的方法上进行改良。取适量油脂样品，加入 80% 的乙醇，400 W 超声提取 10 min，静置 1 h，10000 r/min 离心 10 min 后，取上清液过 0.22 μm 有机滤膜，上机待测。以大豆苷、黄豆黄苷、染料木苷、大豆苷元、黄豆黄素和染料木素为标准品定性，外标法定量。

液相色谱条件：色谱柱：ZORBAX Eclipse Plus C_{18} 色谱柱（4.60×250 mm，5 μm）；流动相：A 相为 0.1%（v/v）三氟乙酸的水溶液，B 相为乙腈。进样量：20 μL；流速：0.8 mL/min；柱温：25 ℃；检测器：DAD 检测器；检测波长：254 nm。按照以下梯度洗脱：0~10 min，10% B；10~12 min，30% B；12~25 min，55% B；25~26 min，10% B。

1.2.9　油脂中麦角甾醇含量测定　参考金凌云等[19] 的方法，取油样约 0.1 g，置于 25 mL 容量瓶中，用三氯甲烷/甲醇定容至刻度，旋涡振荡 1 min，摇匀，用 0.45 μm 有机微孔滤膜过滤，收集滤液，供高效液相色谱测定。

色谱柱：ODS-2HYPERSI 色谱柱（4.60×250 mm，5 μm）；流动相：100% 甲醇；流速：10 mL/min；检测器：DAD 检测器；检测波长：282 nm。

1.2.10　油脂中豆甾醇、角鲨烯、α-生育酚含量测定　参照甘欢华等[20] 的方法并进行修改。准确取 0.5 g 油样，加入 10 mL 2% 氢氧化钾-甲醇溶液，在 65 ℃ 水浴皂化 1 h，直至油滴消失，停止加热，加入 10 mL 去离子水转移至分液漏斗中，用 10 mL 正己烷提取 3 次，随后用 10% 乙醇水溶液洗涤 3 次。洗涤后除去水分和溶剂，所得样品溶解于色谱级正己烷中，供后续检测分析。同时，制备豆甾醇、角鲨烯和 α-生育酚的混合标准溶液用于定性定量分析。

气相色谱条件：色谱柱：HP-5 毛细管柱（30 m×0.32 mm×0.25 μm）；载气：高纯氮气，纯度 99.99%；分流比：1∶10；进样口温度：250 ℃；升温程序：以 15 ℃/min 的速率从 160 ℃ 升温到 220 ℃，保持 2 min，然后以 5 ℃/min 的速率升温到 280 ℃，保持 20 min；最后以 5 ℃/min 的速率升温到 300 ℃，保持 2 min。FID 检测器：温度 300 ℃，氢气流速 40 mL/min，空气流速 450 mL/min，尾吹气流速 30 mL/min。

1.2.11　类胡萝卜素含量测定　参考刘海丽等[21] 的方法。取油样 200 μL，加入 5 mL 石油醚，超声处理 15 min，室温下避光浸提 2 h，5000 r/min 离心 10 min，在 450 nm 下测定吸光值，并根据 β-胡萝卜素的标准浓度-吸光度曲线计算样品中类胡萝卜素浓度。因为间型脉孢菌能合成 β-胡萝卜素、番茄红素在内的多种类胡萝卜素，以上提取方法不能将其分开，因此该方法求出的是类胡萝卜素的总量。

1.2.12　抗氧化活性评价

1.2.12.1　DPPH 自由基清除率测定　参考 Xu 等[22] 的方法，取一定量的油脂样品和 0.5 mmol/L DPPH 溶液混合在 96 孔板，在室温、暗处静置 30 min，在 517 nm 处测定吸光值，以乙醇为对照样，计算 DPPH 自由基清除率，每次试验重复 3 次，比较各样品清除率平均值。

$$\text{DPPH自由基清除率}(\%)=\left(1-\frac{A_i-A_j}{A_o}\right)\times 100$$

式（3）

其中，A_o 为空白吸光值；A_i 为加入样品的吸光度；A_j 为样品对照的吸光度。

1.2.12.2 $ABTS^+$自由基清除率测定 参考 Li 等[23] 的方法稍作修改。蒸馏水分别配制 7.4 mmol/L ABTS 二铵盐和 2.6 mmol/L 过硫酸钾溶液按 1∶1 混合，暗处反应 12 h 后，稀释至 734 nm 处吸收值为 0.7 左右备用。取一定量油脂样品和 ABTS 溶液在 96 孔板中混合，在 734 nm 处测定吸光值，以乙醇为对照样，计算 $ABTS^+$自由基清除率，每次试验重复 3 次，比较各样品清除率平均值。

$$ABTS^+\text{自由基清除率}(\%)=\left(1-\frac{A_i-A_j}{A_o}\right)\times 100$$

式（4）

其中，A_o 为空白吸光值；A_i 为加入样品的吸光度；A_j 为样品对照的吸光度。

1.3 数据处理

实验统计数据以平均值±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，所有的实验数据均采用 SPSS 25.0 软件进行单因素方差分析，相关性分析采用 Pearson 方法进行评价，以 $P<0.05$ 表示显著性差异，$P<0.01$ 表示极显著性差异；使用 Origin 2021 绘制图表；Design Expert 13 进行 Box Behnken 设计。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

2.1.1 酶解时间对脉孢菌丹贝油脂提取率的影响 由图 1 可知，随着酶解时间延长，丹贝油脂提取率持续上升。当酶解时间超过 3 h 时，提取率增幅不显著（$P>0.05$）。这是因为随着酶解时间的延长细胞结构被打开，酶与底物的作用越来越充分，油脂的释放量逐渐增多[24]。当酶解反应到达一定时间后，由于底物减少及抑制作用增强等反应，油脂的释放就不再进一步增加，提取率趋于稳定。

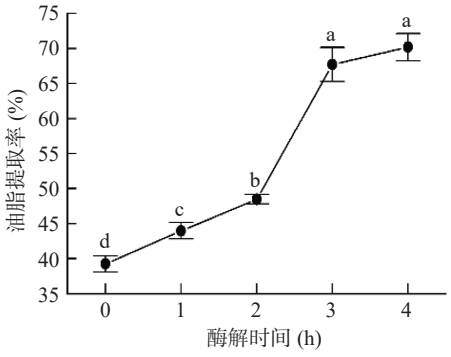


图 1 酶解时间对脉孢菌丹贝油脂提取率的影响

Fig.1 Effect of enzymatic hydrolysis time on the extraction rate of *Neurospora*-tempeh oil

注：不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$），图 2~图 3 同。

2.1.2 加酶量对脉孢菌丹贝油脂提取率的影响 水酶法工艺中，酶的添加量会直接影响到油脂的提取效果以及提取工艺成本，因此选择合适的加酶量非常重要。由图 2 可知，随着酶用量的增加，丹贝油脂提取率由 51.2%±2.01% 上升至 72.3%±1.45%。当酶用量超过 1.2% 时，提取率增加缓慢。这是因为加酶量在一定比例范围内，酶浓度较高时，酶与底物接触机会机率增大，接触较为充分，但到达一定程度时会趋于稳定不再升高，过多的酶无法继续酶解蛋白释放油脂，这与孙禹凡等[25] 的研究结果一致。

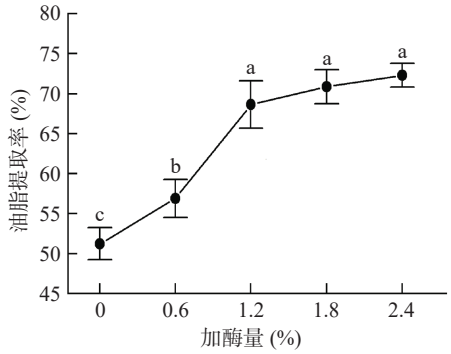


图 2 加酶量对脉孢菌丹贝油脂提取率的影响

Fig.2 Effect of enzyme dosage on the extraction rate of *Neurospora*-tempeh oil

2.1.3 料液比对脉孢菌丹贝油脂提取率的影响 由图 3 可知，丹贝油提取率随着料液比增加而提高，在料液比 1∶5 时到达最高。料液比能通过影响油脂与溶剂的接触效率来影响油脂出油率[26]。当加水量较低时，反应体系中底物质量浓度大，流动性差、黏度高，影响酶解效果。而加水量过多降低了酶与底物的浓度，减少了蛋白酶与底物分子的碰撞几率，从而使酶的作用效果下降。综合考虑，以料液比 1∶5 作为优化料液比时的中心点。

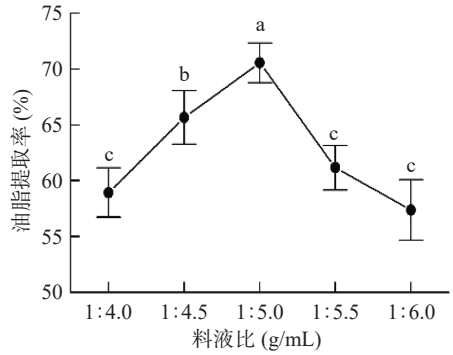


图 3 料液比对脉孢菌丹贝油脂提取率的影响

Fig.3 Effect of solid-liquid ratio on the extraction rate of *Neurospora*-tempeh oil

2.2 水酶法提取脉孢菌丹贝油工艺条件的响应面优化

2.2.1 回归模型的建立与分析 在单因素实验基础上，以油脂提取率（Y）为响应值，酶解时间（A）、加酶量（B）、料液比（C）为因素，采用 Box-Behnken 设计响应面试验来优化丹贝油脂提取的工艺条件。按照

表 1 的设计进行三因素三水平的响应面试验，实验结果见表 2。对表 2 实验数据进行多元回归，得到回归模型：$Y=72.99+7.19A+1.95B-3.47C+1.62AB+01.75AC+0.75BC-9.14A^2-5.45B^2-5.63C^2$。对回归模型进行方差分析，结果如表 3 所示。由表 3 可知，模型极显著（$P=0.0003$），失拟项（$P=0.0517>0.05$）不显著，表明模型合理，具有统计学意义。模型的决定系数（R^2）为 0.9626，调整决定系数（R^2_{adj}）为 0.9144，均接近 1，表明模型拟合情况较好，能够较好地反映实验数据的变化。对各影响因素的极显著性分析表明，酶解过程中影响油脂提取率的主次顺序为：酶解时间>料液比>加酶量，因此用响应面来优化水酶法提取脉孢菌丹贝油脂的工艺是可行的。

表 2　Box-Behnken 设计与结果

Table 2　Design and results of the Box-Behnken

实验号	A: 酶解时间(h)	B: 加酶量(%)	C: 料液比	油脂提取率(%)
1	2	1.2	1∶5	48.44
2	4	1.2	1∶5	64.01
3	2	2.4	1∶5	49.56
4	4	2.4	1∶5	71.6
5	2	1.8	1∶4.5	58.73
6	4	1.8	1∶4.5	65.2
7	2	1.8	1∶5.5	47.74
8	4	1.8	1∶5.5	61.21
9	3	1.2	1∶4.5	64.12
10	3	2.4	1∶4.5	66.08
11	3	1.2	1∶5.5	56.23
12	3	2.4	1∶5.5	61.19
13	3	1.8	1∶5	73.63
14	3	1.8	1∶5	73.22
15	3	1.8	1∶5	72.97
16	3	1.8	1∶5	74.5
17	3	1.8	1∶5	70.64

表 3　响应面回归模型方差分析结果

Table 3　Results of variance analysis of response surface regression model

来源	平方和	自由度	均方	*F*值	*P*值	显著性
模型	1241.94	9	137.99	20	0.0003	**
A酶解时间	414.00	1	414.00	60	0.0001	**
B加酶量	30.54	1	30.54	4.43	0.0735	
C料液比	96.33	1	96.33	13.96	0.0073	**
AB	10.47	1	10.47	1.52	0.2579	
AC	12.25	1	12.25	1.78	0.2245	
BC	2.25	1	2.25	0.3261	0.5858	
A^2	351.53	1	351.53	50.95	0.0002	**
B^2	125.17	1	125.17	18.14	0.0038	**
C^2	133.69	1	133.69	19.37	0.0032	**
残差	48.30	7	6.90			
失拟项	40.03	3	13.34	6.46	0.0517	
纯误差	8.27	4	2.07			
总和	1290.24	16				
	R^2=0.9626		R^2_{adj}=0.9144			

注：*表示$P<0.05$，具有显著差异；**表示$P<0.01$，具有极显著差异。

2.2.2　响应面模型分析与验证　用 Design Expert 13 软件对数据进行分析并绘制响应曲面图，得到图 4。响应曲面图可以反映两个或多个变量的交互作用，响应曲面图中坡度越陡则该影响因素越大，交互作用越显著；响应面下对应的等高线图椭圆越明显则表明因素的交互作用越显著。由图 4 可以看出，各因素交互作用下响应曲面对应的等高线近似圆形，说明各因素交互作用下对丹贝油脂提取率的影响作用不显著。其中酶解时间的陡峭程度大于料液比大于加酶量，表明各因素的影响顺序为：A 酶解时间>B 料液比>C加酶量，各因素交互作用对于脉孢菌丹贝油的提取率影响顺序为：AC>AB>BC，与 *F* 值判定结果一致。在上述回归方程的基础上，预测最优方案为加酶

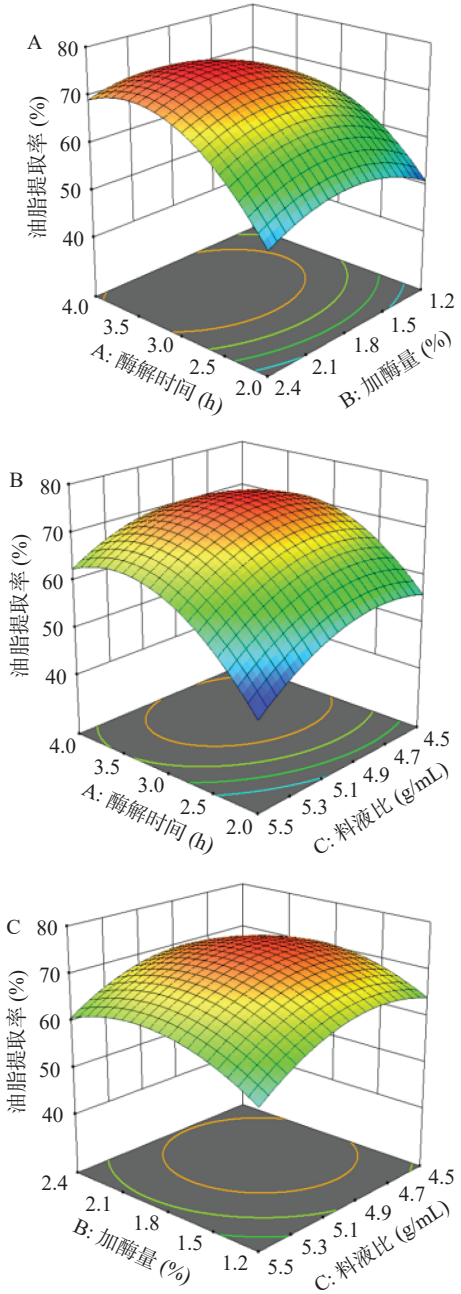


图 4　各因素的交互作用对油脂提取率的影响

Fig.4　Response surface and contour plots showing interactive effects of variables on oil extraction rate

量 2.02%, 酶解时间 3.27 h, 料液比 1∶4.87。在此条件下预测油脂提取率可达 74.74%。考虑实际操作性, 将最佳条件调整为加酶 2%, 酶解时间 3.3 h, 料液比 1∶5。在此条件下进行 3 次平行验证, 油脂提取率可达 74.10%±1.77%, 与预测值接近, 说明优化后的提取工艺参数具有较高的可靠性。

夏梓铭等[27] 采用超临界 CO_2 技术萃取少孢根霉发酵丹贝油量 5.97±0.15 g/100 g, 以及 Limanjaya 等[9] 和 Subali 等[28] 用有机溶剂法提取丹贝油, 油得率分别为 7.14%、6.7%。经过优化工艺后, 脉孢菌丹贝油脂提取率可达 74.10%±1.77%, 且游离油得率可达 8.36%±0.37%(脉孢菌丹贝含油量 18.67%), 显著高于根霉菌发酵丹贝的油得率。这可能是由于该研究所用的大豆含油量较高以及发酵使用菌种的酶系特性不同所致。

2.3 脉孢菌丹贝油的酸值、过氧化值及脂肪酸组成

脉孢菌丹贝游离油和未发酵对照油样见图 5。从图 5 可见, 脉孢菌发酵丹贝油清澈透明, 质地均匀, 无混浊或悬浮物。由于间型脉孢菌产生大量脂溶性类胡萝卜素, 因此脉孢菌丹贝油的颜色呈现明显亮橙色。

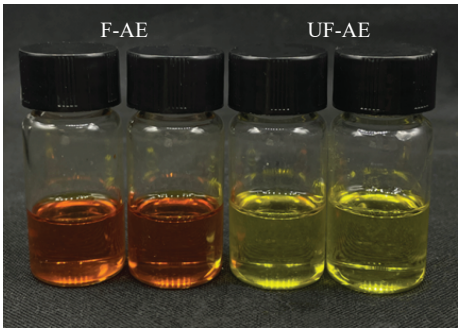


图 5 脉孢菌丹贝油(F-AE)与未发酵大豆油(对照, UF-AE)

Fig.5 *Neurospora*-tempeh oil and unfermented soybean oil (control)

注: F-AE 为水酶法提取脉孢菌丹贝油, UF-AE 为水酶法提取未发酵的大豆油, 图 6 同。

脉孢菌丹贝油酸价、过氧化值及脂肪酸组成见表 4。由表 4 可见, 经过脉孢菌发酵的丹贝油脂酸价(AV)为 5.75±0.20 mg/g, 显著高于未发酵对照(P<0.05)。酸价是衡量油脂中游离脂肪酸含量的重要指标, 脉孢菌丹贝酸价上升是因为在脉孢菌发酵作用下, 大豆油脂被分解成为游离的脂肪酸, 从而导致酸价升高。王立群等[29] 报道, 大豆根霉菌发酵后油脂酸价从 5.66 mg/g 升至 24.42 mg/g, 提高 3.7 倍。与此项研究相比, 脉孢菌丹贝油酸价显然要低, 这可能与间型脉孢菌较低的脂肪酶活性有关[30], 也可能是由于水酶法提取的油脂中游离脂肪酸会部分溶于水中, 使油脂的酸价较低[31]。

过氧化值(PV)是衡量油脂和脂肪酸氧化程度的重要指标, 它表示每千克样品中活性氧的含量。表 4 结果表明, 水酶法提取的油脂过氧化值为 0.019±0.003 g/100 g, 显著低于未发酵对照(P<0.05), 这可能是因为发酵后的脉孢菌丹贝油有一定的抗氧化能力, 暗示脉孢菌丹贝油中存在抗氧化物质。

表 4 脉孢菌丹贝油酸值、过氧化值及脂肪酸组成

Table 4 Acid value, peroxide value and fatty acid composition of *Neurospora*-tempeh oil before and after fermentation

理化指标	未发酵对照(UF-AE)	脉孢菌发酵丹贝油(F-AE)
酸价(AV)(mg/g)	3.18±0.40^b	5.75±0.20^a
过氧化值(PV)(g/100 g)	0.039±0.003^a	0.019±0.003^b
主要脂肪酸种类及占比(%)		
棕榈酸(16:0)	12.91±0.28^a	12.49±0.24^a
硬脂酸(18:0)	4.14±0.05^a	4.20±0.04^a
油酸(18:1)	20.02±0.11^a	19.89±0.37^a
亚油酸(18:2)	52.53±0.19^a	52.67±0.04^a
亚麻酸(18:3n3)	8.58±0.002^a	8.65±0.19^a
花生四烯酸(C20:4n6)	0.05±0.03^a	0.04±0.01^a
EPA(C20:5n3)	ND	0.013±0.02
DHA(22:6n3)	0.006±0.008^a	0.007±0.006^a
饱和脂肪酸(SFA)	17.98±0.003^a	17.83±0.2^a
不饱和脂肪酸(UFA)	82.02±0.05^a	82.16±0.2^a
ω-6脂肪酸	52.60±0.21^a	52.75±0.16^a
ω-3脂肪酸	8.58±0.01^a	8.67±0.21^a
ω-6/ω-3	6.13∶1	6.08∶1

注: 同行不同小写字母表示差异显著(P<0.05), ND表示未检出; F-AE为水酶法提取脉孢菌丹贝油, UF-AE为水酶法提取未发酵的大豆油, 表5~表6同。

脉孢菌丹贝油脂肪酸的主要成分为棕榈酸(C16:0)、硬脂酸(C18:0)、油酸(C18:1)、亚油酸(C18:2)、亚麻酸(C18:3n3)。其中, 亚油酸(C18:2)为主要脂肪酸, 占总脂肪酸的 52.67%±0.04%, 其次是油酸(C18:1)和棕榈酸(C16:0), 亚麻酸和硬脂酸。与未发酵对照相比, 脉孢菌发酵丹贝油的不饱和脂肪酸由 82.02%±0.05% 上升至 82.16%±0.2%, ω-6 在总脂肪酸中的比例从 52.60%±0.21% 上升至 52.75%±0.16%, ω-3 的比例从 8.58%±0.01% 上升至 8.67%±0.21%, ω-6/ω-3 的比值有所减小, 更加适用于人体健康要求, 这与之前 Limanjaya 等[9] 的研究结果一致。此外, 脉孢菌丹贝油检测出了更高的 DHA 含量以及未发酵对照中不存在的 EPA 活性成分。据报道 DHA 和 EPA 作为一种重要的 n-3 多不饱和脂肪酸物质, 可以预防和治疗心血管疾病、预防与治疗癌症、调节中枢神经系统功能和视觉系统, 并可改善大脑的学习和记忆能力[32]。脂肪酸的组成对间型脉孢菌的类胡萝卜素的合成也有一定影响。王瑞琪等[33] 研究发现不饱和脂肪酸高的底物更利于脉孢菌产生类胡萝卜素, 且油酸相较于亚油酸、亚麻酸更明显促进类胡萝卜素的合成, 这是因为多不饱和脂肪酸氧化形成的氧脂素可能影响真菌的生长发育及孢子的产生, 因此较于亚油酸、亚麻酸, 脉孢菌更趋向于利用油酸产生类胡萝卜素, 该发酵后丹贝油脂中油酸含量的降低可能与此有关。

2.4　脉孢菌丹贝油生物活性成分分析

2.4.1　异黄酮种类及含量　由表 5 可知，未发酵对照中异黄酮含量为 3.13±0.80 μg/mL，而脉孢菌丹贝油中异黄酮含量达 105.69±3.20 μg/mL，发酵使总大豆异黄酮总量提高 33.76 倍。Liu 等[34] 通过分析发酵过程中丹贝异黄酮的动态变化，发现随着发酵时间的延长，异黄酮糖苷逐渐下降，而苷元型异黄酮逐渐增长，这是由于微生物发酵产生的 β-葡萄糖苷酶发挥脱糖基化作用，将异黄酮葡萄糖苷转化为异黄酮苷元。Mani 等[35] 指出丹贝中的异黄酮相比大豆异黄酮具有更高的抗肿瘤活性，即相比糖苷型异黄酮，苷元形式的异黄酮利于人体吸收，有广泛的抗癌效果[36]。

表 5　发酵前后脉孢菌丹贝油中 6 种单体异黄酮含量、糖苷型异黄酮总量、苷元型含量总量

Table 5　Contents of six monomeric isoflavones, the total content of glycosidic isoflavones, and the total content of aglycone isoflavones in *Neurospora*-tempeh oil before and after fermentation

异黄酮种类(μg/mL)	未发酵对照(UF-AE)	脉孢菌发酵丹贝油(F-AE)
大豆苷	0.083±0.072	ND
黄豆黄苷	ND	ND
染料木苷	0.23±0.015^{a}	0.18±0.026^{a}
大豆苷元	0.45±0.044^{b}	11.38±0.37^{a}
黄豆黄素	0.43±0.17^{b}	3.90±0.079^{a}
染料木素	1.93±0.63^{b}	90.22±2.79^{a}
糖苷型异黄酮	0.32±0.08^{a}	0.18±0.03^{b}
苷元型异黄酮	2.81±0.84^{b}	105.51±3.22^{a}
异黄酮总量	3.13±0.80^{b}	105.69±3.20^{a}

2.4.2　其他生物活性成分　植物油中含有丰富的生物活性物质，主要包括植物甾醇、角鲨烯、生育酚、类胡萝卜素等。这些物质具有抗氧化、抗衰老、预防心血管疾病等。脉孢菌丹贝油中类胡萝卜素、麦角甾醇等成分含量见表 6。

表 6　发酵前后脉孢菌丹贝油中生物活性物质

Table 6　Bioactive substances in *Neurospora*-tempeh oil before and after fermentation

生物活性物质(μg/mL)	未发酵对照(UF-AE)	脉孢菌发酵丹贝油(F-AE)
类胡萝卜素	121.46±13.03^{b}	249.13±17.64^{a}
麦角甾醇	32.54±1.22^{b}	313.77±1.43^{a}
豆甾醇	350.38±13.9^{a}	370.46±11.73^{a}
角鲨烯	186.98±6.58^{a}	176.87±4.33^{a}
α-生育酚	23.40±0.11^{b}	29.74±1.93^{a}

从表 6 可见，脉孢菌丹贝油中类胡萝卜素含量从 121.46±13.03 μg/mL 增加到 249.13±17.64 μg/mL，是未发酵对照的 2.05 倍。油脂中类胡萝卜素的增加和脉孢菌的发酵有着必然联系，脉孢菌产生的类胡萝卜素大多为 β-胡萝卜素，含有少量番茄红素和叶黄质等[37]，在水酶法提油的过程中，菌体胞内的脂滴载运着类胡萝卜素同时也进入了丹贝油脂中，使得脉孢菌油脂中类胡萝卜素显著增加。唐刚等[38] 利用固态发酵优化间型脉孢菌产类萝卜素，经优化后物料中类胡萝卜素产量可达 81.94 μg/g，而该研究中油脂中的类胡萝卜素含量显著高于固态发酵产物中类胡萝卜素的含量，说明通过水酶法提取能使脉孢菌产生的类胡萝卜浓缩于油脂中。

麦角甾醇对于人体来说具有增强抵抗力、抗氧化、抗肿瘤、抑菌的功效[39]。表 6 中发酵后脉孢菌丹贝油样中的麦角甾醇得到显著提高，提高了 281.23±0.51 μg/mL，其产生与发酵及脉孢菌生物量的增长密切相关。周丹等[40] 用超临界 CO_2 萃取法萃取灵芝孢子油，其中麦角甾醇的含量可达 1.75 mg/g，与灵芝孢子油相比，脉孢菌丹贝油中的麦角甾醇含量稍低，这是因为丹贝油脂中仍以大豆油为主要成分，而微生物油脂仅占一小部分。

豆甾醇、角鲨烯、α-生育酚是大豆油中常见的生物活性物质。豆甾醇是一种具有显著抗肿瘤作用的天然植物甾醇[41]，角鲨烯和 α-生育酚则有降低胆固醇，清除自由基的功能[42]。Xia 等[43] 研究发现发酵大豆油中的豆甾醇、角鲨烯、α-生育酚的含量相比未发酵均有所提高，该结果与其研究大致相符，但角鲨烯含量相比发酵前微量减少，结果的差异可能和发酵菌株的不同有关。

2.5　脉孢菌丹贝油抗氧化性及其与生物活性成分的相关性分析

采用 DPPH 与 $ABTS^{+}$自由基清除能力反映脉孢菌丹贝油与未发酵对照的抗氧化性能，结果见图 6。

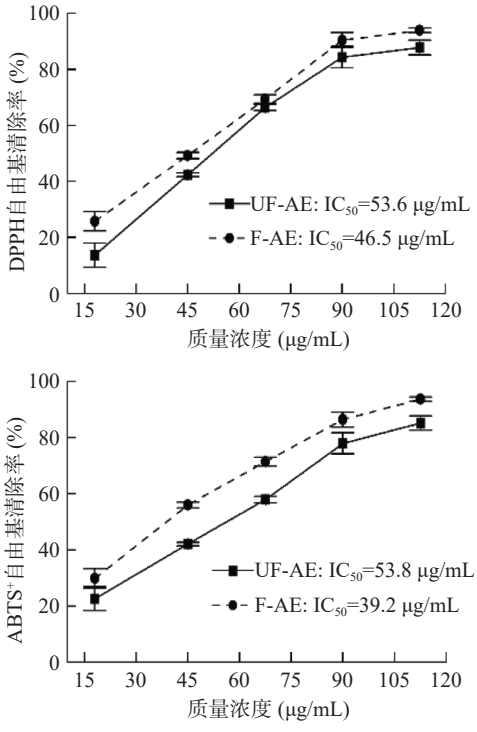


图 6　脉孢菌发酵丹贝油对 DPPH、$ABTS^{+}$自由基的清除活性

Fig.6　Scavenging effects of *Neurospora*-tempeh oil on DPPH and $ABTS^{+}$ free radicals

由图 6 可以看出，与未发酵对照相比，脉孢菌发酵丹贝油表现出更强的抗氧化活性。随着浓度升高，脉孢菌丹贝油和未发酵对照的 DPPH、ABTS$^+$的自由基清除率都在升高，表明样品用量与自由基清除能力存在明显量效关系。由图 6 中可见，丹贝油脂对 DPPH 自由基和 ABTS$^+$自由基的半数清除率浓度(IC_{50})分别为 46.5、39.2 μg/mL，都低于未发酵对照组，说明脉孢菌丹贝油是一种更强的自由基清除剂。

为探究脉孢菌丹贝油抗氧化性活性与其中的生物活性物质之间的相关，采用皮尔逊相关系数描述两个定距变量之间的联系与紧密程度，结果见图 7。图 7 可知，脉孢菌丹贝油 4 个活性物质含量与 2 个抗氧化活性指标存在显著线性关系。DPPH 自由基 IC_{50} 值与类胡萝卜素、异黄酮含量呈高度线性的负相关且显著(P<0.05)，ABTS$^+$自由基 IC_{50} 值与类胡萝卜素、麦角甾醇、α-生育酚含量呈高度线性的负相关且显著(P<0.05)。其中类胡萝卜素的含量与 DPPH 自由基 IC_{50} 值、ABTS$^+$自由基 IC_{50} 值的相关系数分别为 0.72、0.84，在脉孢菌丹贝油抗氧化性能中的相关系数最高，是主要的抗氧化活性成分。发酵后脉孢菌丹贝油中类胡萝卜素的显著增加为脉孢菌丹贝油脂提供了更好的氧化稳定性。赵文恩[44] 研究类胡萝卜素清除活性氧自由基的机理，证明类胡萝卜素具有淬灭单线态氧，阻止脂质过氧化的功能。周丹红等[45] 在食用油中添加了番茄红素，有效阻止了油脂变质，提高油脂自身的稳定性。大豆异黄酮等黄酮类物质利用酚羟基电子转移和脱氢反应，抑制自由基链式反应[46]，且其具有较高的热稳定性。麦角甾醇、α-生育酚等的增加同样具有明显的抗氧化效果。综上所述，脉孢菌丹贝油脂的抗氧化效应是多种抗氧化化合物质通过不同机制协同作用的结果。这些生物活性物质的存在不仅保护油脂本身具有更强的氧化稳定性，更为机体服用提供更高的营养价值。

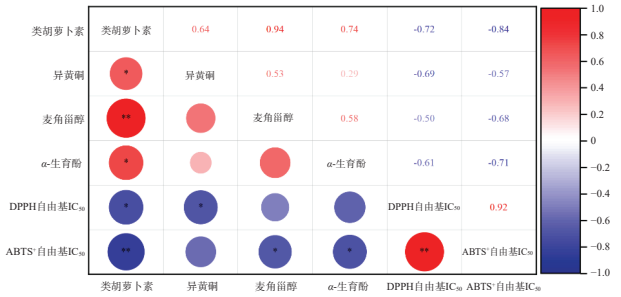


图 7 脉孢菌丹贝油脂中生物活性成分的皮尔逊相关系数及其相关性分析

Fig.7 Pearson correlation coefficients of bioactive components in the oil of *Neurospora* tempeh and the results of correlation tests

注：*表示 P<0.05，**表示 P<0.01。

3 结论

本研究采用水酶法提取脉孢菌丹贝油脂，并分析探讨了发酵前后丹贝油脂的变化。在提取工艺上成功构建了水酶法提取脉孢菌丹贝油脂的工艺体系，并优化出最佳提取条件。加酶量为 2%、酶解时间达 3.3 h、料液比 1∶5 时，脉孢菌丹贝油脂的提取率可达 74.10%±1.77%。与未发酵的大豆油相比，脉孢菌丹贝油脂具有更丰富的营养价值，如更合理的 ω-6/ω-3 比例、异黄酮、类胡萝卜素、麦角甾醇含量等。DPPH 自由基清除率、ABTS$^+$自由基清除率实验证实，脉孢菌丹贝油脂具有更高的抗氧化活性。Pearson 相关性分析表明，类萝卜素的含量与 DPPH 自由基 IC_{50} 值、ABTS$^+$自由基 IC_{50} 值的相关系数分别为 0.72、0.84，在脉孢菌丹贝油抗氧化性能中的相关系数最高，是主要的抗氧化活性成分。该研究可作为医药和健康食品领域的功能性食用油，为功能型油脂的开发与应用提供理论依据。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] TEOH S Q, CHIN N L, CHONG C W, et al. A review on health benefits and processing of *tempeh* with outlines on its functional microbes[J]. Future Foods, 2024, 9: 100330.

[2] 谢元澄, 马瑶, 沈毅, 等. 丹贝固态发酵过程时间序列分析与预测[J]. 食品科学, 2016, 37(21): 164−169. [XIE Yuancheng, MA Yao, SHEN Yi, et al. Time series analysis and prediction of the solid-state fermentation process of tempeh[J]. Food Science, 2016, 37(21): 164−169.]

[3] 武悦, 赵婧, 王坤, 等. 黑豆丹贝发酵前后香气、酚类物质及抗氧化活性分析[J]. 核农学报, 2021, 35(2): 396−405. [WU Yue, ZHAO Jing, WANG Kun, et al. Aroma, phenols and antioxidant activities of black bean tempeh before and after fermentation[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2021, 35(2): 396−405.]

[4] HUANG Lu, WANG Chenxi, ZHANG Yongzhu, et al. Degradation of anti-nutritional factors and reduction of immunoreactivity of tempeh by co-fermentation with *Rhizopus oligosporus* RT-3 and *Actinomucor elegans* DCY-1[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2019, 54(5): 1836−1848.

[5] MAINI R V, RODRIGUEZ-VALERON N, OLAIZOLA G M, et al. From lab to table: Expanding gastronomic possibilities with fermentation using the edible fungus *Neurospora intermedia*[J]. International Journal of Gastronomy and Food Science, 2023, 34: 100826.

[6] ASTUTI M, MELIALA A, DALAIS F S, et al. Tempe, a nutritious and healthy food from Indonesia[J]. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 2000, 9(4): 322−325.

[7] ROMULO A, SURYA R. Tempe: A traditional fermented food of Indonesia and its health benefits[J]. International Journal of Gastronomy and Food Science, 2021, 26: 100413.

[8] DAMANIK R N S, PRATIWI D Y W, WIDYASTUTI N, et al. Nutritional composition changes during tempeh gembus processing[J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2018, 116(1): 012026.

[9] LIMANJAYA E C, SUBALI D, YANTI Y. The anti-Alzheimer compounds from tempeh oil in LPS-induced neuronal Schwann cells[J]. Journal of Ethnic Foods, 2022, 9(1): 45.

［10］ TIAN Ying, HE Xuanhui, LIU Shijun, et al. Comparative analysis of lipid profile and *in vitro* cytotoxic activity of fermented and unfermented soybean extracted by supercritical CO_2 extraction［J］. Journal of Functional Foods, 2017, 34: 369−378.
［11］ MARTÍN-MIGUÉLEZ J M, BROSS J, PRADO D, et al. Review: *Rhizopus* sp. beyond tempeh. An Occidental approach to mold-based fermentations［J］. International Journal of Gastronomy and Food Science, 2025, 39: 101090.
［12］ SUN Mingmei, XU Xiao, ZHANG Qiuqin, et al. Ultrasonic-assisted aqueous extraction and physicochemical characterization of oil from *Clanis bilineata*［J］. Journal of Oleo Science, 2018, 67(2): 151−165.
［13］ 郝倩, 岳昊. 大豆油水酶法提取技术研究进展［J］. 中国油脂，2024, 49(9): 23−27,49. ［HAO Qian, YUE Hao. Research progress on aqueous enzymatic extraction technology of soybean oil［J］. China Oils and Fats, 2024, 49(9): 23−27,49.］
［14］ 杨柳, 江连洲, 李杨, 等. 蛋白酶对水酶法提取大豆油脂及蛋白质的影响研究［J］. 食品工业科技，2009, 30(10): 240−243. ［YANG Liu, JIANG Lianzhou, LI Yang, et al. Effect of different protease on the extraction yield of oil and protein with aqueous enzymatic method［J］. Science and Technology of Food Industry, 2009, 30(10): 240−243.］
［15］ ROSENTHAL A, PYLE D L, NIRANJAN K. Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction［J］. Enzyme and Microbial Technology, 1996, 19(6): 402−420.
［16］ 肖晓, 宋嘉鑫, 夏君霞, 等. 核桃油复合酶法提取及纳米乳液制备［J］. 食品科技，2025, 50(2): 228−235. ［XIAO Xiao, SONG Jiaxin, XIA Junxia, et al. Complex enzymatic extraction of walnut oil and preparation of nanoemulsion［J］. Food Science and Technology, 2025, 50(2): 228−235.］
［17］ 闻乐嫣, 毛建梅, 安小凤, 等. 毛叶山桐子果实化学成分及脂肪酸动态分析与评价［J］. 食品科学，2022, 43(4): 198−207. ［WEN L Y, MAO J M, AN X F, et al. Dynamic analysis and evaluation of chemical constituents and fatty acids of idesia polycarpa var. vestita diels fruit［J］. Food Science, 2022, 43(4): 198−207.］
［18］ 叶韬, 陈志娜, 叶倩文, 等. 不同杀菌方式对即食豆干大豆异黄酮及品质特性的影响［J］. 食品科学，2020, 41(7): 124−130. ［YE Tao, CHEN Zhina, YE Qianwen, et al. Effect of different sterilization methods on isoflavone profile and quality characteristics of ready-to-eat dried soybean curd(tofu)［J］. Food Science, 2020, 41(7): 124−130.］
［19］ 金凌云, 陈言枧, 曹素芳, 等. 高效液相色谱测定灵芝孢子油番茄红素复合制剂中麦角甾醇含量的方法及验证［J］. 中国食用菌，2023, 42(4): 63−66,74. ［JIN Lingyun, CHEN Yanjian, CAO Sufang, et al. Method and validation of high performance liquid chromatography for determination of ergosterol in *Ganoderma lucidum* spore oil and lycopene complex preparation［J］. Edible Fungi of China, 2023, 42(4): 63−66,74.］
［20］ 甘欢华, 张斌, 刘钟栋, 等. 气相色谱法同时快速测定大豆油脱臭馏出物中的生育酚、植物甾醇和角鲨烯含量［J］. 中国油脂，2021, 46(5): 39−42,70. ［GAN Huanhua, ZHANG Bin, LIU Zhongdong, et al. Simultaneous and rapid determination of tocopherol, phytosterol and squalene in soybean oil deodorized distillate by gas chromatography［J］. China Oils and Fats, 2021, 46(5): 39−42, 70.］
［21］ 刘海丽, 余晓斌. 三孢布拉霉中类胡萝卜素合成与脂肪酶活力的关系［J］. 工业微生物，2008, 38(3): 17−21. ［LIU Haili, YU Xiaobin. Effects of lipase activity on carotenoid production by *Blakeslea trispora*［J］. Industrial Microbiology, 2008, 38(3): 17−21.］
［22］ XU Duoxia, HAO Jia, WANG Zhenhua, et al. Physicochemical properties, fatty acid compositions, bioactive compounds, antioxidant activity and thermal behavior of rice bran oil obtained with aqueous enzymatic extraction［J］. LWT, 2021, 149: 111817.［Link-Out］.
［23］ LI Haiyan, ZHU Huipeng, YAO Qiuying, et al. Composition, physicochemical property and stability of canola seed oil: Impact of different pretreatment［J］. Food Bioscience, 2025, 64: 105933.
［24］ 包怡红, 郭阳. 响应面试验优化超声波辅助水酶法提取松籽油工艺及其氧化稳定性［J］. 食品科学，2016, 37(22): 60−68. ［BAO Yihong, GUO Yang. Optimization of ultrasonic-assisted aqueous enzymatic extraction of pine nut oil and its oxidative stability［J］. Food Science, 2016, 37(22): 60−68.］
［25］ 孙禹凡, 齐宝坤, 廖一, 等. 微波辅助生物解离法提取大豆油工艺及作用机理研究［J］. 中国油脂，2019, 44(7): 16−22. ［SUN Yufan, QI Baokun, LIAO Yi, et al. Microwave-assisted and enzyme-assisted aqueous extraction process of soybean oil and its mechanism［J］. China Oils and Fats, 2019, 44(7): 16−22.］
［26］ 陈小静, 闻乐嫣, 向旭雯, 等. 水酶法提取毛叶山桐子油的工艺优化及其品质分析［J］. 中国油脂，2024, 49(12): 1−6. ［CHEN Xiaojing, WEN Leyan, XIANG Xuwen, et al. Optimization and quality analysis of *Idesia polycarpa* var. *vestita* Diels oil extracted by aqueous enzymatic extraction［J］. China Oils and Fats, 2024, 49(12): 1−6.］
［27］ 夏梓铭, 田瑛, 何轩辉, 等. 响应面法优化天贝油脂超临界 CO_2 萃取工艺［J］. 国际药学研究杂志，2017, 44(8): 800−806. ［XIA Ziming, TIAN Ying, HE Xuanhui, et al. Response surface methodology applied to the optimization for supercritical CO_2 extraction of the lipids from tempeh［J］. Journal of International Pharmaceutical Research, 2017, 44(8): 800−806.］
［28］ SUBALI D, LAY B W, YANTI. Down-regulation of genes related to photoaging and inflammation in UVBirradiated mice premature skin photoaging by linoleic acid-rich tempeh oil［J］. Food Research, 2019: 768−776.
［29］ 王立群, 于洪祥, 马世华, 等. 根霉发酵大豆食品的研究：脂类营养成分的测定［J］. 东北农业大学学报，2005, 36(1): 5−7. ［WANG Liqun, YU Hongxiang, MA Shihua, et al. The research on *Rhizopus* fermenting soybean food: Measurement of content of lipids nutrition matter in Tempe［J］. Journal of Northeast Agricultural University, 2005, 36(1): 5−7.］
［30］ AROOJ S, IFTIKHAR T, MUSTAFA S, et al. Optimization of critical medium components for lipase production by *Neurospora crassa* in solid state fermentation［J］. Biomass Conversion and Biorefinery, 2025, 15(2): 3099−3112.
［31］ 李杨, 张雅娜, 王欢, 等. 水酶法提取大豆油与其他不同种大豆油品质差异研究［J］. 大豆科技，2019(S1): 355−360,366. ［LI Yang, ZHANG Yana, WANG Huan, et al. The different in quality of EAEP oil anddifferent categories of soybean oil［J］. Soybean Science & Technology, 2019(S1): 355−360,366.］
［32］ SCHACKY C V. Importance of EPA and DHA blood levels in brain structure and function［J］. Nutrients, 2021, 13(4): 1074.
［33］ 王瑞琪, 陈钢, 熊文能, 等. 油酸促进粗糙脉孢菌发酵高产番茄红素的条件优化［J］. 中国油脂，2022, 47(2): 96−103. ［WANG Ruiqi, CHEN Gang, XIONG Wenneng, et al. Optimization of fermentation conditions of *Neurospora crassa* in the presence of oleic acid for promoting lycopene production［J］. China Oils and Fats, 2022, 47(2): 96−103.］
［34］ LIU W T, HUANG C L, LIU R H, et al. Changes in

isoflavone profile, antioxidant activity, and phenolic contents in Taiwanese and Canadian soybeans during tempeh processing[J]. LWT, 2023, 186: 115207.

[35] MANI V, MING L C. Tempeh and other fermented soybean products rich in isoflavones[M]. Fermented foods in health and disease prevention. Academic Press, 2017: 453−474.

[36] BILIR B, SHARMA N V, LEE J, et al. Effects of genistein supplementation on genome-wide DNA methylation and gene expression in patients with localized prostate cancer[J]. International journal of oncology, 2017, 51(1): 223−234.

[37] 邓永平, 车鑫, 艾瑞波, 等. 好食脉孢霉发酵产类胡萝卜素的鉴定、抗氧化性及稳定性研究[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(4): 15−20. [DENG Yongping, CHE Xin, AI Ruibo, et al. Identification, antioxidant and stability of carotenoids from a GRAS fungus *Neurospora sitophila*[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(4): 15−20.]

[38] 唐刚, 陈育如, 刘友芬. 间型脉孢菌产类胡萝卜素研究[J]. 南京师范大学学报(工程技术版), 2009, 9(1): 73−77. [TANG Gang, CHEN Yuru, LIU Youfen. Study on carotenoids production by *Neurospora intermedia*[J]. Journal of Nanjing Normal University (Engineering and Technology Edition), 2009, 9(1): 73−77.]

[39] ZHENG Zuguo, ZHANG Yiping, ZHANG Xiaoyu, et al. Ergosterol alleviates hepatic steatosis and insulin resistance *via* promoting fatty acid *β*-oxidation by activating mitochondrial ACSL1 [J]. Cell Reports, 2025, 44(1): 115203.

[40] 周丹, 曾竟轩, 何日凤, 等. 高压超临界 CO_2 萃取茶籽油、核桃油及灵芝孢子油及其对质量的影响研究[J]. 中国粮油学报, 2024, 39(6): 133−140. [ZHOU Dan, ZENG Jingxuan, HE Rifeng, et al. Evaluation of high-pressure supercritical CO_2 extraction of *Camellia* oil, walnut oil, *Ganoderma lucidum* spores oil and effects on oil quality[J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2024, 39(6): 133−140.]

[41] BAKRIM S, BENKHAIRA N, BOURAIS I, et al. Health benefits and pharmacological properties of stigmasterol[J]. Antioxidants, 2022, 11(10): 1912.

[42] 徐向华, 张欣, 于瑞祥, 等. 高效液相色谱法同时测定植物油中角鲨烯、生育酚和甾醇烯[J]. 食品科学, 2015, 36(16): 141−147. [XU Xianghua, ZHANG Xin, YU Ruixiang, et al. Simultaneous determination of squalene, tocopherols and steradienes in vegetable oils by HPLC[J]. Food Science, 2015, 36(16): 141−147.]

[43] XIA Ziming, LI Yongzhong, LI Ruihong, et al. Supercritical CO_2 extraction of fermented soybean lipids against erastin-induced ferroptosis in rat pheochromocytoma cells[J]. Food Chemistry, 2022, 377: 132051.

[44] 赵文恩. 类胡萝卜素抗氧化性质的研究[J]. 郑州大学学报(工学版), 2003, 24(1): 38−46. [ZHAO Wenen. The antioxidant properties of carotenoids[J]. Journal of Zhengzhou University of Technology, 2003, 24(1): 38−46.]

[45] 周丹红, 蔡红, 徐基贵, 等. 番茄红素在食用油中的稳定性及抗氧化机理研究[J]. 广东农业科学, 2009, 36(6): 124−126. [ZHOU Danhong, CAI Hong, XU Jigui, et al. Studies on the stability of lycopene and its antioxidant mechanism in the edible oil[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2009, 36(6): 124−126.]

[46] 孟新静, 杨旭, 孟德尚, 等. 大豆次生代谢产物结构、生物活性及其作用机制研究进展[J]. 食品科学, 2024, 45(20): 35−47. [MENG Xinjing, YANG Xu, MENG Deshang, et al. Structures, biological activities and action mechanisms of secondary metabolites from soybean: A review[J]. Food Science, 2024, 45(20): 35−47.]