

木瓜脂肪酶规模化制备及其酶解奶油的风味分析

刁周剑, 张银, 罗铭秋, 宝吕, 林影

(华南理工大学生物科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 木瓜乳中含有丰富的酶类, 其中木瓜脂肪酶 (*Carica papaya* lipase, CPL) 作为天然固定化酶备受关注。目前尚无规模化制备 CPL 的工艺报道, 限制了其在工业上的应用。本文通过板框过滤分离木瓜乳中的木瓜蛋白酶和木瓜脂肪酶, 然后通过喷雾干燥规模化制备 CPL, 并优化了喷雾干燥的物料入口温度。在最优的入口温度 135 °C 条件下, CPL 的得率为 4.12%, 脂肪酶回收率为 88.53%, 比酶活为 167.60 U/g。研究考察了 CPL 的酶学性质。结果表明, CPL 水解甘油三酯的最适反应 pH 为 9.0, 最适反应温度为 45 °C。基于 CPL 对甘油三酯的水解特性将其作为催化剂酶解奶油制备奶味香基。感官分析结果表明制备的酶解奶油酸味和奶酪味突出, 风味独特。固相萃取-气相色谱质谱联用分析得到其酸含量为总挥发物质的 73.28%。该酶制剂制备方法可以大规模高效的制备 CPL, 获得的 CPL 可以作为制备奶味香基的生物催化剂。

关键词: 木瓜脂肪酶; 规模化制备; 奶制品加工; 感官分析; 挥发性脂肪酸

文章编号: 1673-9078(2017)6-234-239

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.6.035

Large-scale Preparation of *Carica Papaya* Lipase and Flavor Analysis of Milk Fat Hydrolysis Products Derived from *C. Papaya* Lipase

DIAO Zhou-jian, ZHANG Kun, LUO Ming-qiu, BAO Lv, LIN Ying

(School of Bioscience and Bioengineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: *Carica papaya* latex is rich in enzymes, and *Carica papaya* lipase (CPL) as a natural immobilized lipase. Currently, there are no reports concerning large-scale preparation of CPL, which limits its industrial application. Here, a plate-and-frame filter was used to separate and extract papain and CPL from *C. papaya* latex, and spray drying was performed for large-scale preparation of CPL following optimization of the inlet temperature for spray drying. Results showed that CPL yield was 4.12%, total lipase recovery was 88.53%, and specific lipase activity was 167.60 U/g at an optimum inlet temperature of 135 °C. Investigation of CPL enzymatic properties revealed that the optimal temperature and pH for triglyceride hydrolysis were 45 °C and 9.0, respectively. Based on the hydrolytic properties of CPL during triglyceride hydrolysis, CPL was also used as the catalyst for the lipolysis of milk fat for the preparation of dairy flavor base. Sensory analysis showed that the prepared hydrolyzed milk fat exhibited specific and prominent sour and cheese flavors. The result of solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry showed that acids accounted for 73.28% of the volatiles. This enzyme-preparation method can be used for efficient large-scale preparation of CPL, with the obtained CPL as a potential biocatalyst for the preparation of dairy flavor base.

Key words: *Carica papaya* lipase (CPL); large-scale preparation; dairy product processing; sensory analysis; volatile fatty acid

木瓜乳中具有木瓜蛋白酶, 木瓜肽酶 B, 木瓜凝乳蛋白酶 A, 木瓜凝乳蛋白酶 B 等丰富的酶类, 其中木瓜蛋白酶已被广泛的应用于食品、医药、日化等行业。1991 年 Giordani 等首先报道了木瓜乳具有水解甘油三酯的功能, 并且发现其具有水解功能的主要成份是番木瓜乳中的水不溶的成分即木瓜脂肪酶 (*Carica papaya* lipase, CPL)。因为它与木瓜中的水不溶的类似于橡胶的物质以矩阵的形式嵌和, 人们称之为“天然

收稿日期: 2016-09-17

基金项目: 东莞市产学研合作项目 (东科[2014]183 号)

作者简介: 刁周剑 (1989-), 男, 研究生, 研究方向: 酶工程

通讯作者: 林影 (1962-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 酶学与酶工程

固定化酶^[1]。CPL 是木瓜蛋白酶生产的副产物, CPL 以固体形式存在降低了木瓜蛋白酶的纯度。CPL 不仅存在于木瓜乳中, 也存在于番木瓜树的枝和叶中。由于病毒和细菌等疾病, 番木瓜树必须在 1~2 年间翻新种植, 造成世界范围类的 700 万 t 的废弃物, 严重的影响环境^[2], 因此, 木瓜脂肪酶的回收及应用拓展具有重要的意义。目前 CPL 的提取方法主要是通过缓冲液反复洗涤去除木瓜乳中的水溶性蛋白酶类, 离心回收 CPL, CPL 的得率为木瓜乳重量的 2.50% 左右, 脂肪酶酶活为 350 U/g^[3]。该方法虽然可以完全去除木瓜乳中的水溶性的酶类, 但是需要耗费大量的水电, 且处理量小, 难以适应工业化的要求。

CPL 已经被报道应用于催化合成人造母乳替代物^[4]、结构酯^[5]、芳香酯^[6]、生物柴油^[7,8]和药物中间体的手性拆分^[9]等。奶味香基是具有奶香气的添加剂,是食品工业中使用最为广泛的食用香精之一,主要用于糖果、蜜饯、饮料、冰淇淋及焙烤食品等的增香。此外,奶味香基还可用于饲料工业中^[10]。酶法制备奶味香基主要是指以稀奶油和牛奶等为原料,通过脂肪酶的作用将甘油三酯酶解成饱和及不饱和脂肪酸、酮酸和羟酸,形成多种风味成分的前体物质,经过自然的氧化、断裂和内酯化等反应生成一系列风味物质。因此以奶油为原料,通过脂肪酶水解作用得到酶解奶油,再加以适当修饰,即可得到天然奶味香精。脂肪酶已被报道应用于制备奶味香基,尤其是诺维信生产的商品酶 Palatase 20000L^[11,12]。同时,脂肪酶,蛋白酶和其它酶复配的复合酶制剂对提高奶味香基的香气丰度具有重要的作用^[13]。本文通过板框过滤和喷雾干燥两步法分离制备 CPL 和木瓜蛋白酶,重点考察了制得的 CPL 的酶学性质,基于 CPL 水解甘油三酯的特性,将其应用于天然奶味香基的制备,并对制得的奶味香基进行了风味及成份分析。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

稀奶油,雀巢公司; Palatase 20000L, 丹麦诺维信公司; 木瓜乳, 东莞华琪生物有限公司提供; 单硬脂酸甘油酯(≥60%), 阿拉丁公司; 其它试剂均由本地供应商提供, 均为分析纯。

1.2 主要仪器与设备

IKA 高温小摇床、碱式滴定管、气相色谱质谱联用仪 DSQ II, 美国 Thermo 公司; 固相微萃取头, 75 μm CAR/PDMS; VW-0.42/7 无油空气压缩机; 50 L 储罐; LZJ 玻璃转子流量计; BMS0.5/290-UB 增强聚丙烯板框压滤机; DFQR-20 型实验喷雾干燥机。

1.3 实验方法

1.3.1 CPL 的规模化制备

VW-0.42/7 无油空气压缩机(排气压力 0.7 MPa, 容积流量 0.42 m³/min) 接连 A27W-10T 弹簧式安全阀 TS 提供板框过滤机的压力。带 3251.072.090 压力传感器和 LZJ 玻璃转子流量计的 50 L 储罐通过压力表控制板框过滤机的压力大小。新鲜的木瓜乳液倒入罐体中, 通过管道连接罐底部和板框过滤机。使用 BMS0.5/290-UB 增强聚丙烯板框压滤机(过滤面积 0.5 m², 滤

室总容积 7.5 L) 和 80 目的滤布过滤木瓜乳, 滤饼形成前, 浑浊的滤液重复过滤直至滤液变为不含乳白色固形物的浅黄色液体, 收集滤液, 滤板内部的固体成份以滤饼形式回收, 即为木瓜脂肪酶。使用 DFQR-20 型实验喷雾干燥机(规格 Φ1100-2800), 出料口温度控制在 68 °C~72 °C 之间, 直接喷雾干燥滤液获取木瓜蛋白酶, 滤渣与等体积的水搅拌混合, 喷雾干燥获取木瓜脂肪酶。

得率(%)=喷干木瓜脂肪酶重量/木瓜乳的重量×100%

酶活回收率(%)=(喷干木瓜脂肪酶重量×比酶活)/(木瓜乳的重量×比酶活)×100%

1.3.2 CPL 水解活力检测

CPL 的脂肪酶活力检测按照《GB/T 23535-2009》标准所述方法。每个条件下进行 3 次平行试验。

1.3.3 木瓜蛋白酶的蛋白酶活力检测

本方法参考 1985 年美国药典 21 版测定木瓜蛋白酶的活力方法而制定。蛋白酶在一定的温度与 pH 条件下, 水解酪素底物, 然后加入三氯乙酸终止酶反应, 并使未水解的酪素沉淀除去, 滤液对紫外光有吸收, 可用紫外分光光度法测定, 根据吸光度计算其酶活力。木瓜蛋白酶的酶活力定义: 在适宜的温度测定条件下, 木瓜蛋白酶每分钟水解酪蛋白释出的三氯乙酸可溶物, 此可溶物可用 280 nm 波长的紫外光测定, 此可溶物在 280 nm 的吸光度与 1 μg 的酪氨酸的吸光度相当时, 所需酶量为酶活力的一个单位。

1.3.4 CPL 酶解乳脂制备奶味香基

按照 CPL 水解甘油三酯的最适 pH 和温度设定 CPL 酶解乳脂的 pH 和温度。在 250 mL 反应瓶内加入 50 g 稀奶油, 单硬脂酸甘油酯 250 mg, 底物与缓冲液的比例为 2:1, 60 °C 加热溶解, 然后加入一定量的 CPL, 不加酶的用做阴性对照, 一定温度下, 空气浴恒温摇床中, 摇床转速 200 r/min, 恒温反应一定时间, 然后 85 °C 灭酶 30 min, 取少量反应产物计算其酸价。Palatase 20000L 酶解制备的奶味香基作为对照, Palatase 20000L 酶解制备奶味香基的条件按照黎海彬等^[12]优化的条件为基础进行一定的修订即: pH 8.0, 酶解温度 50 °C, 反应时间 6 h, 酶添加量为 0.25%(以底物干重计), 底物与缓冲液的比例为 2:1。

1.3.5 奶味香基的风味剖面分析(气味)

酶解样品室温放置 24 h 平衡香气, 之后称取 10.0 g 的样品于 50 mL 样品瓶中, 在 40 °C 水浴锅中放置 15 min 使其溶解进行感官评价。评价小组由 10 人组成, 男性 5 人, 女性 5 人, 采用 6 分法即 1~6 分从气味由弱到强的方法对酶解奶油的奶味、干酪味、酸味、

酸败味分别进行感官评价。以没有添加酶的原材料为阴性对照, Palatase 20000L 酶解制备的奶味香基为对照, 并将得到的结果进行风味剖面分析。

1.3.6 奶味香基挥发性成分检测方法

样品预处理方法: 将 8 mL 奶味香基样品加入 20 mL 顶空进样瓶中。45 °C 下保温平衡 20 min 后, 用 75 μm CAR/PDMS 萃取头在 45 °C 下萃取 40 min, 萃取结束后在 GC 进样口 250 °C 下解析 3 min。两个样品间萃取头用 270 °C 老化 10 min, 以防止样品间相互污染。

检测方法: 样品分别通过 TR-5ms 弹性石英毛细色谱柱 (30 m×0.25 mm×0.25 μm) 和 TR-wax 弹性石英毛细色谱柱 (30 m×0.32 mm×0.25 μm) 进行分离; 程序升温条件为起始温度 40 °C, 以 5 °C/min 升到 120 °C, 保持 2 min, 再以 7 °C/min 升至 220 °C, 保持 5 min; 载气为高纯氦气 (1.0 mL/min); 分流比 10:1。质谱条件: 电子轰击电离 (EI) 离子源, 电子能量 70 eV; 电子倍增器电压 350 V; 离子源温度 230 °C; 传输线温度 250 °C; 质量范围 35~350 *m/z*; 扫描速度 3.00 scans/s。

化合物的鉴定根据 NIST08 数据库, 对比标准物质 RI 并参考相关文献完成, 化合物的保留指数 (Retention Index, RI) 通过正构烷烃 (C6-C26) 计算得到。

1.4 数据统计分析

实验数据采用 EXCEL 软件进行统计分析。数据均采用均值±标准差 ($\bar{x}\pm SD$) 的表示方式。

2 结果与分析

2.1 木瓜脂肪酶分离与规模化制备

酶的规模化制备是酶工业化应用的基础。本文结

表 1 不同的物料入口温度对 CPL 制备的影响

Table 1 Effect of different inlet temperatures on CPL recovery

入口温度/°C	得率/%	比酶活/(U/g)	脂肪酶回收率/%	含水量/%
115	3.28	159.03	76.27	6.33
125	3.56	155.11	78.36	5.96
135	4.12	167.60	88.47	5.14

由表 1 可见, 物料入口温度越高, CPL 的得率越高, 脂肪酶的总回收率也越高。入口温度越高, 料液在喷雾干燥时雾化的液滴与热空气充分接触后, 雾滴干燥速度越快, 水分蒸发速度越快, 水分含量越低, 越不易黏壁, 所以得率就会越高。同时, 入口温度越高蒸干的时间就越短, 高温对 CPL 的酶活力影响就越

合东莞华琪生物科技有限公司木瓜蛋白酶的提取工艺设计木瓜脂肪酶的提取制备工艺:

-20 °C 冷冻木瓜乳溶解→压力储罐→板框过滤→分别回收滤渣与滤液→滤渣喷雾干燥→木瓜脂肪酶

2.1.1 板框过滤条件的选择

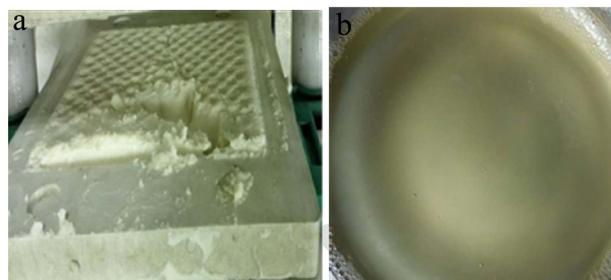


图 1 木瓜乳板框过滤分离

Fig.1 Separation and extraction of *C. papaya* latex, using a plate-and-frame filter

注: 图 a 为滤饼: 湿木瓜脂肪酶; 图 b 为滤液: 木瓜蛋白酶。

板框过滤固液分离过程中内部流场和滤饼形成是一个动态的过程, 研究采取的工艺条件为: 新鲜的木瓜乳液倒入压力储罐中, 罐体底部管道与板框过滤机 (过滤面积 0.5 m², 滤室总容积 7.5 L 和滤布 80 目) 连接过滤。通过两段进料压力控制工艺设计及试验, 结果表明: 第一段低压进料形成滤饼, 进料压力为 0.12 MPa, 耗时 2~3 h, 滤饼形成前, 浑浊的滤液回流储罐; 第二段为中压进料过滤分离, 进料压力为 0.18 MPa, 耗时 3~4 h。在该条件下 6 h 能处理 30 kg 的木瓜乳, 收集滤饼为湿木瓜脂肪酶, 而不含乳白色固形物的浅黄色滤液则为木瓜蛋白酶, 如图 1 所示。

2.1.2 喷雾干燥条件优化

喷雾干燥技术是目前最常用的物料粉末化干燥方法之一, 它可以减少对粉体产品的热效应, 保持生物活性。喷雾干燥机的物料入口温度决定了物料的水含量、是否粘壁和物料的生物活性等。

小, 总脂肪酶回收率就越高。

在最优物料入口温度条件下, 木瓜脂肪酶的得率为木瓜乳总重的 4.12%, 木瓜脂肪酶的比酶活为 167.60 U/g, 木瓜脂肪酶的酶活力回收率为 88.53%, 同时测得喷干的木瓜脂肪酶中有蛋白酶酶活, 为 1.59×10⁶ U/g, 蛋白酶酶活力回收率为 27.52%。同样

的工艺喷雾干燥滤液，木瓜蛋白酶的得率为木瓜乳总重量的 8.02%。木瓜蛋白酶的比酶活为 2.01×10^6 U/g，蛋白酶酶活力回收率为 54.34%。

研究表明：通过板框过滤和喷雾干燥两步法分离制备木瓜脂肪酶与蛋白酶，回收率高，但该方法制备得到的 CPL 中含有部分木瓜蛋白酶类。

2.2 CPL 的酶学特性分析

CPL 的酶学性质研究是 CPL 应用的基础。我们研究了温度和 pH 对 CPL 的影响，得到其催化反应的最适反应温度和 pH。

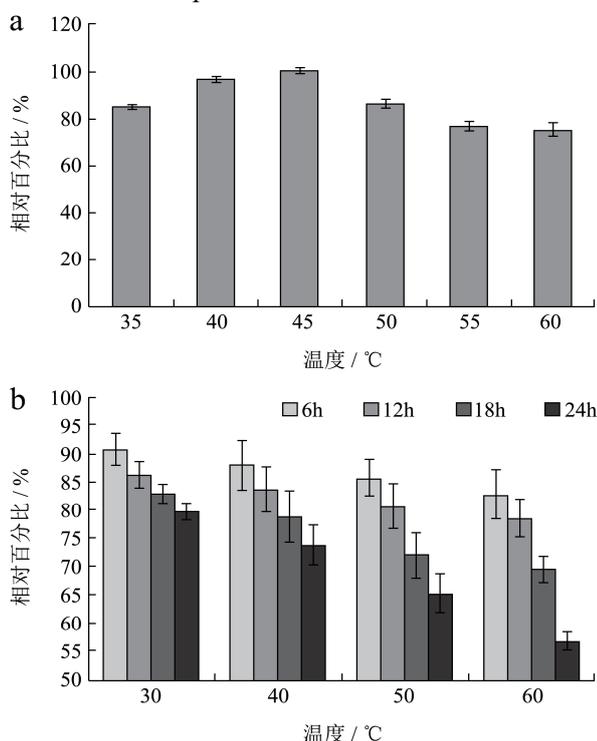


图 2 温度对 CPL 催化甘油三酯水解反应的影响 (a); CPL 的温度稳定性 (b)

Fig.2 Effect of temperature on triglyceride hydrolysis by CPL (a); Temperature stability of CPL (b)

以橄榄油为底物，我们研究了在 35~60 °C 范围内温度对 CPL 催化活力的影响，发现其最适催化温度是 45 °C，结果如图 2a。在 pH 6~12 的范围内研究了 pH 对 CPL 催化活力的影响，结果表明，CPL 的最适催化反应 pH 为 9.0 (图 3a)。此外，CPL 在 30、40、50 和 60 °C 水浴中保温 24 h，每隔 6 h 取样测定酶活力，结果发现 CPL 在 40 °C 中保温 24 h，酶活力仍保持 75% 以上 (图 2b)。CPL 在 pH 中的稳定性研究发现，CPL 在 pH 6~10 范围内，在相应的缓冲液中放置 12 h，相对酶活力仍然保持在在 80% 以上，如图 3b 所示。

在最适温度和 pH 条件下，依据《GB/T 23535-2009》规定方法测定 CPL 的水解酶活为 167.60

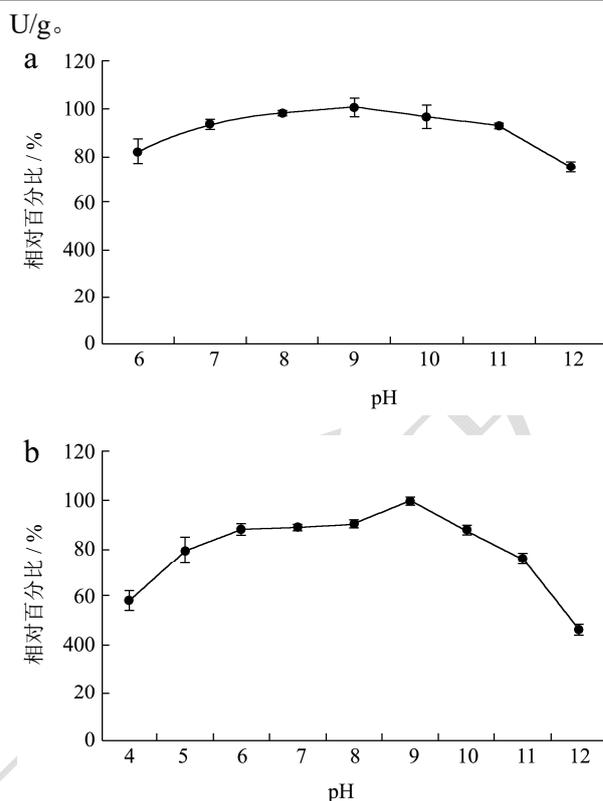


图 3 pH 对 CPL 催化甘油三酯水解反应的影响 (a); CPL 的 pH 稳定性 (b)

Fig.3 Effect of pH on triglyceride hydrolysis by CPL (a); pH stability of CPL (b)

2.3 CPL 催化酶解制备奶味香基

脂肪酶及蛋白酶的复合酶制剂已经被报道用于制备奶味香基，且较单独的脂肪酶制备的奶味香基香气丰富。上述规模化制备的 CPL 具有较高的水解甘油三酯的活力，脂肪酶酶活力为 167.60 U/g，蛋白酶酶活力为 1.59×10^6 U/g，可以直接作为复合酶制剂酶解奶油制备奶味香基。按照 CPL 水解橄榄油的最适 pH 和水解温度设定 CPL 催化酶解奶油反应的 pH 和温度，其中：pH 为 9.0，水解温度为 45 °C。综合考虑酶解油脂的酸值和香气评价，确定酶的添加量为乳脂重量的 1.50%。Palatase 20000L 为诺维信公司生产的液体单一脂肪酶(由基因工程修饰的米曲霉深层发酵生产的 1,3 位特异性的黑根毛霉脂肪酶)，在酶解乳脂领域有着广泛的应用，作为本实验的对照样品进行分析。

2.3.1 CPL 催化酶解制备奶味香基的酸值

按照 GB/T 5530-1998 测定酶解奶油的酸值。CPL 催化得到酶解奶油的酸价为 29.36 ± 1.17 mg KOH/g，Palatase 20000 催化酶解解奶油的酸价为 17.86 ± 0.83 mg KOH/g。

2.3.2 CPL 催化酶解制备奶味香基的香气评价

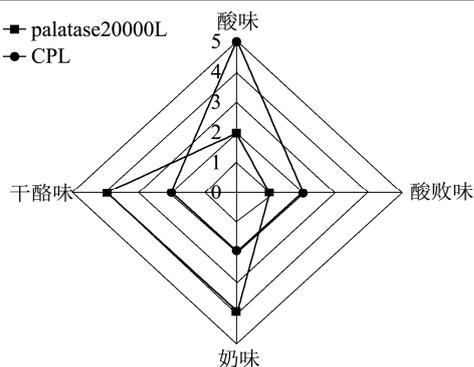


图4 奶味香基的香味评价

Fig.4 Sensory evaluation of dairy flavor base

通过香味主观分析方法分析结果发现：CPL 酶解制备的奶味香基具有独特的香气，其中酸味，干酪味较重。而 Palatase 20000L 酶解制备的奶味香基酸味不突出，奶味中有香甜味，整体的协调性较好，如图 4 所示。

2.3.3 CPL 酶解制备奶味香基的挥发性成份分析

表 2 CPL 和 Palatase 20000L 酶解制备奶味香基的主要挥发性成份

Table 2 Main volatile components of dairy flavor bases prepared by hydrolysis using CPL and Palatase 20000L

成份	相对含量/%	
	CPL	Palatase 20000L
2-(氮杂环丙烷-1-基)乙胺	0.76 ^a	0.65
乙醇	1.51	1.26
正己烷	1.43	3.94
乙酸	0.94	1.44
3-羟基-2-丁酮	0.13	0.32
丙酸乙酯		0.11
3-甲基丁醇	0.13	
甲苯		0.14
2,3-丁二醇	6.05	29.37
六甲基环三硅氧烷	0.14	
乙氧基三乙基硅烷	0.48	0.34
丁酸	23.52	9.92
2-庚酮	2.3	1.41
戊酸	1.9	1.27
戊酸乙酯		0.5
己酸甲酯	0.51	0.13
苯甲醛	0.26	0.1
3-己烯酸丁酯	0.12	0.12
己酸乙酯	0.61	14.42
甲酸甲酯	0.23	
3-甲基-戊酸		0.59

柠檬烯	4.27	19.34
己酸	36.73	0.2
庚酸		0.62
1,2-甲基-4 乙烯基苯	2.21	0.6
庚酸乙酯		0.14
辛酸	9.26	5.48
辛酸乙酯		2.7
邻苯二甲酸		0.3
癸酸	0.93	0.77
癸酸乙酯		0.36
合计	94.42	96.54

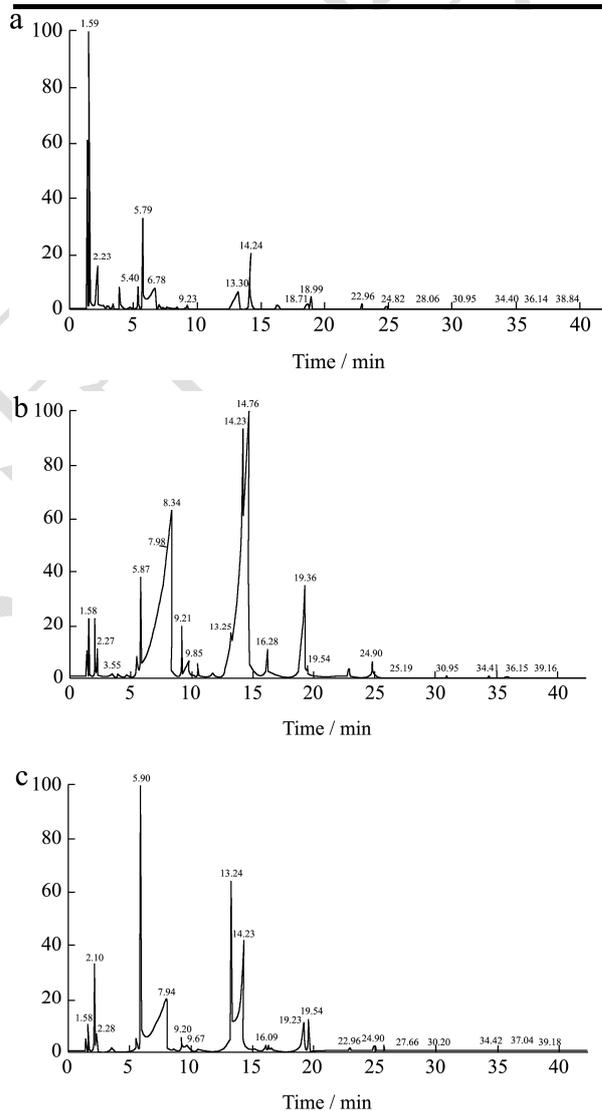


图5 奶味香基样品固相微萃取总离子图

Fig.5 TIC of the dairy flavor base obtained from solid-phase microextraction.

注：a 表示稀奶油原料的 TLC；b 表示 CPL 酶解稀奶油的 TLC；c 表示 Palatase 20000L 酶解稀奶油的 TLC。

以原材料稀奶油作为对照样品 a，商品酶 Palatase 20000L 酶解制备的奶味香基为对照样品 b。CPL 酶解

制备的样品 c, 全部样品室温放置 3 d 平衡香气后分析其挥发性成份。

由图 5 可见, 相对于原材料稀奶油, CPL 酶解制备的奶味香基和 Palatase 20000L 酶解制备的奶味香基, 其挥发性成份的强度都有很大的提升。酶解奶味香基中, 偶数碳的脂肪酸对香气贡献较大, 尤其是丁酸。由表 2 可见, CPL 酶解产物挥发性成份中酸的含量较高, 占总挥发性物质的 73.28%, 其中丁酸含量占总挥发性物质的 23.52%, 己酸含量占 36.73%。Palatase 20000L 酶解产物挥发性成份中酸的含量较少, 仅为总挥发性物质的 20.0%, 酯的含量较高, 为总挥发性物质的 18.48%且种类更加丰富。己酸乙酯的含量达到了 14.42%, 更有癸酸乙酯、辛酸乙酯、庚酸乙酯和戊酸乙酯等 CPL 酶解奶油中未检测出的酯类。这与 CPL 的酶解奶油酸味较重, Palatase 20000L 酶解奶油奶味中有香甜味的香气感官评价相符。

3 结论

本文通过板框过滤和喷雾干燥两步法实现了规模化分离制备木瓜脂肪酶和蛋白酶, 并且基于 CPL 的水解特性将其应用于奶味香基的制备, 获得了风味独特的奶味香基。木瓜脂肪酶作为一种天然的固定化酶, 它来源于天然的木瓜乳, 赋予其独特的食品安全性; 为木瓜蛋白酶生产的副产物, 为进一步降低木瓜蛋白酶的生产成本起到积极的作用。木瓜脂肪酶主要分布在木瓜乳中, 在番木瓜树的树枝和叶中也有分布, 来源广泛; 由于 CPL 具有较好的 pH、温度耐受性; 甘油三酯水解活性; 1,3-sn 选择性等特性, 加工工艺简单, 使其具有更加广泛的应用前景。

参考文献

- [1] Dominguez de Maria Pablo, Sinisterra Jose V, Tsai Shau-Wei, et al. Carica papaya lipase (CPL): An emerging and versatile biocatalyst [J]. Biotechnology Advances, 2005, 24(5): 493-499
- [2] Tecelao C, Rivera I, Sandoval G, et al. Carica papaya latex: A low-cost biocatalyst for human milk fat substitutes production [J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2012, 114(3): 266-276
- [3] 尤朋永. 木瓜脂肪酶的制备、性质及应用研究[D]. 上海: 华东理工大学, 2012
YOU Peng-yong. Carica Papaya lipase purification and its application [D]. Shanghai: East China University, 2012
- [4] Armendariz-Ruiz M, Mateos-Diaz E, Rodriguez-Gonzalez J A, et al. Carica papaya by-products as new biocatalysts for the synthesis of oleic acid esters [J]. Biocatalysis and Biotransformation, 2015, 33(4): 216-223
- [5] You Peng-yong, Qiu Jian, Su Er-zheng, et al. Carica papaya lipase catalysed resolution of β -amino esters for the highly enantioselective synthesis of (S)-dapoxetine [J]. European Journal of Organic Chemistry, 2013, 2013(3): 557-565
- [6] Rodrigues J, Canet A, Rivera I, et al. Biodiesel production from crude *Jatropha* oil catalyzed by non-commercial immobilized heterologous *Rhizopus oryzae* and *Carica papaya* lipases [J]. Bioresource Technology, 2016, 213: 88-95
- [7] Campillo-Alvarado G, Tovar-Miranda R. Recent advances and applications of the lipolytic activity of *Carica papaya* latex [J]. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2013, 90(3): 49-60
- [8] Rodrigues J, Canet A, Rivera I, et al. Biodiesel production from crude *Jatropha* oil catalyzed by non-commercial immobilized heterologous *Rhizopus oryzae* and *Carica papaya* lipases [J]. Bioresource Technology, 2016, 213: 88-95
- [9] Rivera I, Mateos J C, Marty A, et al. Lipase from *Carica papaya* latex presents high enantioselectivity toward the resolution of prodrug (R,S)-2-bromophenylacetic acid octyl ester [J]. Tetrahedron Letters, 2013, 54(40): 5523-5526
- [10] 孔凌, 包清彬, 刘超, 等. 酶解奶油增香物的制备工艺及应用 [J]. 香味剂探索, 2014, 1: 53-56
KONG Ling, BAO Qing-bin, LIU Chao, et al. Preparation technology of creamy flavor agent and application [J]. Flavour Additive Explore, 2014, 1: 53-56
- [11] 张宁, 赵金利, CYRIL Suseno, 等. 不同脂肪酶酶解奶油制备奶味香基的研究 [J]. 中国油脂, 2015, 40(4): 74-78
ZHANG Ning, ZHAO Jin-li, CYRIL Suseno, et al. Preparation of flavor through lipolysis of milk fat by different kinds of lipases [J]. China Oils and Fats, 2015, 40(4): 74-78
- [12] 黎海彬, 姚正晓, 刘慧娟, 等. 响应面法优化乳脂肪酶解的工艺 [J]. 食品科学, 2013, 34(14): 110-112
LI Hai-bin, YAO Zheng-xiao, LIU Hui-juan, et al. Optimization of enzymatic lipid hydrolysis of cream by response surface methodology [J]. Food Science, 2013, 34(14): 110-112
- [13] 张惠丹, 汪薇, 白卫东, 等. 复合酶水解奶油制备天然奶味香基的工艺研究 [J]. 中国酿造, 2015, 34(4): 141-145
ZHANG Hui-dan, WANG Wei, BAI Wei-dong, et al. Preparation of natural milky flavor by cream hydrolysis using compounds enzyme [J]. China Brewing, 2015, 34(4): 141-145

现代食品科技