

网络出版时间:2016-01-08 10:22 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2016.02.026
网络出版地址:<http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20160108.1022.052.html>

复合酶法提取五味子果肉中总酚的工艺研究

张悦怡^{1,2},赵岩¹,蔡恩博¹,杨鹤¹,刘双利¹,张连学¹

(1 吉林农业大学 中药材学院,吉林 长春 130118;2 吉林人参研究院,吉林 长春 130021)

[摘要] 【目的】采用复合酶辅助法提取五味子果肉中的总酚类物质,为五味子的综合利用提供参考。【方法】以五味子果肉为原料,从9种生物酶中优选出果胶酶、纤维素酶、中性蛋白酶和漆酶4种酶,在单因素(酶解时间、酶解温度、酶解pH、酶添加量)试验基础上,采用正交试验及方差分析确定复合酶法提取五味子果肉总酚的最佳条件。【结果】单因素试验结果显示,随着酶解时间和pH的增加,4种酶处理五味子果肉总酚提取率总体呈先上升后下降的趋势。随着酶解温度和酶添加量的增加,果胶酶、纤维素酶、中性蛋白酶处理五味子果肉总酚提取率呈先上升后下降趋势,而漆酶处理总酚提取率与以上三者不同。通过正交试验,得到五味子果肉总酚提取的最佳条件为添加1.0%果胶酶、3.0%纤维素酶、3.0%中性蛋白酶、5.0%漆酶(以上均为质量分数),pH 5.0,酶解时间20 min,温度30℃,在此条件下五味子果肉总酚的提取率为2.83%,高于单酶处理总酚提取率,是无酶工艺(1.19%)的2.38倍。【结论】得到的复合酶辅助提取法能够明显提高五味子果肉总酚提取率,且工艺简单,可用于规模化生产。

[关键词] 五味子果肉;复合酶;总酚;提取

[中图分类号] Q949.95;S567

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2016)02-0187-06

Extraction technology of total phenol from flesh of *Schisandra chinensis* by compound enzymatic hydrolysis

ZHANG Yue-yi^{1,2}, ZHAO Yan¹, CAI En-bo¹, YANG He¹,
LIU Shuang-li¹, ZHANG Lian-xue¹

(1 College of Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China;
2 Jilin Ginseng Institute, Changchun, Jilin 130021, China)

Abstract: 【Objective】The total phenol was extracted of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill flesh by compound enzyme hydrolysis method to improve the utilization of Schisandra. 【Method】Pectinase, cellulose, neutral protease and laccase were selected from 9 enzymes and orthogonal experiments and variance analyses were conducted to determine the optimum conditions for phenol extraction based on tests of single factor (hydrolysis time, hydrolysis temperature, pH, enzyme dosage). 【Result】With the increase of hydrolysis time and pH, treatment of Schisandra fruit with the selected 4 enzymes increased the total phenol extraction yield first but decreased subsequently. As the increase of hydrolysis temperature and enzyme dosage, treatment of Schisandra fruit by pectinase, cellulose, and neutral protease increased total phenol extraction yield first and decreased subsequently, while total phenol extraction yield after laccase treatment was

[收稿日期] 2014-07-09

[基金项目] 国家公益性行业科研专项(201303111);吉林省科技发展计划项目(20140204013YY, 20150307012YY)

[作者简介] 张悦怡(1990—),女,吉林长春人,硕士,主要从事天然药物化学成分与生物活性研究。

E-mail:cherishleforever@163.com

[通信作者] 赵岩(1979—),男,吉林长春人,副教授,博士,主要从事天然药物化学成分与生物活性研究。

E-mail:zhyjlu79@163.com

different from the other three. The optimum conditions were: pectinase 1.0%, cellulose 3.0%, neutral protease 3.0%, laccase 5.0%, pH 5.0, time 20 min, and temperature 30 °C. Under the optimal conditions, the yield of total phenol was 2.83%, which was 2.38 times that of the traditional process (1.19%). 【Conclusion】 Enzyme-assisted method was efficient and time-saving with simple operation and good stability. It can be used for industrial production.

Key words: *Schisandra chinensis* fruits; compound enzymes; total phenol; extraction

五味子为木兰科植物五味子 (*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill) 的干燥成熟果实, 俗称北五味子, 其味酸甘、性温, 具有收敛固涩、益气生津、补肾宁心等功效^[1]。现代药理研究表明, 五味子有保肝益肾、保护心脑血管、镇痛、镇静、催眠、抗衰老、抗肿瘤、降血糖和增强免疫等作用^[2-3]。五味子作为一种新型的“药食同源”功能性保健食品, 其果实已成为新兴食品工业的一种重要原料。近年来, 市场上有多款五味子产品问世, 如五味子保健饮料、果醋、果酒等^[4-6]。这些产品的生产均以五味子鲜果为原料, 随着人们对保健食品的认可度不断提高, 市场上对五味子的需求量逐年剧增, 使得加工过程中产生了大量五味子果渣, 这些果渣均被遗弃而未能充分利用, 对环境也造成了严重影响^[7]。

大量研究证明, 五味子中含有多种生物活性成分, 如木脂素、酚类成分、氨基酸、维生素等^[8], 而多酚物质具有广泛的生物活性, 包括抗氧化、抗辐射、清除自由基、抗突变、抗衰老、抗肿瘤、抗病毒、舒张血管、抗菌等作用^[9-11]。因此, 充分利用五味子加工果渣具有广阔的发展前景。

生物酶作为一种特殊的以蛋白质形式存在的生物催化剂, 在啤酒、果汁果酒、纺织、饲料、皮革、酒精生产等行业均得到了广泛应用, 更以其特异、高效、绿色环保等特点而备受青睐。目前, 对五味子多糖的提取研究主要是用单酶方法^[12], 其原理是利用酶对细胞壁及细胞质中大分子的降解, 促使植物有效成分释放; 该方法反应条件温和, 是一种高效、环保的植物有效成分提取技术^[13-15], 提取条件温和、能耗低、无污染^[16]。因此, 本研究将果胶酶、纤维素酶、中性蛋白酶和漆酶按科学的配比制成复合酶, 对原料五味子果肉进行预处理, 将五味子种子与果肉分离, 分析复合酶提取条件下五味子果肉酚类成分的提取率, 以期为五味子的综合应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材 料

五味子购于当地药材市场, 经吉林农业大学张

连学教授鉴定为木兰科植物五味子 (*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill) 的成熟果实, 将果肉和种子分离, 阴干, 分别粉碎, 备用。

1.2 试剂与仪器

主要试剂有: 没食子酸, 北京百灵威科技有限公司生产; 福林酚试剂, 合肥博美生物生产; 中温淀粉酶(3 000 U/g)、中性蛋白酶(20 万 U/g)、 α -淀粉酶(1 万 U/g)、木瓜蛋白酶(200 万 U/g)、纤维素酶(26 万 U/g)、甘露聚糖酶(20 万 U/g)、果胶酶(4 万 U/g)、木聚糖酶(30 万 U/g)、漆酶(2 万 U/g), 由苏州昆蓝生物科技有限公司提供。其他试剂均为分析纯。

主要仪器包括: 港威超声仪(江苏省张家港市港威超声电子有限公司)、流水式中药粉碎机(中国浙江温岭市大海药材器械厂)、百灵 LA114 型电子天平(常熟市百灵天平仪器有限公司)、UV-754 紫外可见分光光度计(山东高密彩虹分析仪器有限公司)、HH-W-600 型数显恒温水箱(金坛市江南仪器厂)。

1.3 方 法

1.3.1 单酶优选试验 精密称取五味子果肉 0.25 g, 置于 100 mL 三角瓶中, 分别加入中温淀粉酶、中性蛋白酶、 α -淀粉酶、木瓜蛋白酶、纤维素酶、甘露聚糖酶、果胶酶、木聚糖酶、漆酶 9 种生物酶, 在酶解温度为 50 °C、pH 6.0 条件下酶解 30 min, 以总酚提取率为指标, 以无酶样品作为对照, 优选作用较强的 4 种单酶, 进行单因素试验。

1.3.2 单因素试验 根据预试验结果, 以酶解时间、酶解温度、酶解 pH 以及酶添加量进行单因素试验, 分别考察以上 4 个因素对总酚提取率的影响。

(1) 酶解时间对总酚提取率的影响。在酶解温度 50 °C、pH=6.0、酶添加量均为 1% (质量分数, 下同) 条件下, 考察果胶酶、纤维素酶、中性蛋白酶和漆酶不同酶解时间(0, 10, 20, 30, 60 min) 对总酚提取率的影响。

(2) 酶解温度对总酚提取率的影响。在酶解时间为 20 min、pH=6.0, 酶添加酶量均为 1% 条件

下,考察果胶酶、纤维素酶、中性蛋白酶和漆酶在不同酶解温度(30, 40, 50, 60 °C)对总酚提取率的影响。

(3)酶解 pH 对总酚提取率的影响。在果胶酶、纤维素酶、中性蛋白酶和漆酶酶解温度分别为 40, 40, 50, 30 °C, 酶解时间为 20 min, 酶添加量均为 1% 的条件下, 考察酶解 pH(3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0)对总酚提取率的影响。

(4)酶添加量对总酚提取率的影响。在果胶酶、纤维素酶、中性蛋白酶和漆酶酶解温度分别为 40,

40, 50 和 30 °C, pH 分别为 5.0, 5.0, 4.0, 5.0, 酶解时间均为 20 min 条件下, 考察不同酶添加量(0, 0.5%, 1.0%, 3.0% 和 5.0%, 均为质量分数)对总酚提取率的影响。

1.3.3 多因素正交试验 在单因素试验的基础上, 为了优化提取工艺, 选取果胶酶、纤维素酶、中性蛋白酶、漆酶添加量以及 pH、酶解时间、酶解温度 7 个因素, 设计 L₈(2⁷) 正交试验, 确定复合酶法提取五味子果肉总酚的最佳条件, 优化提取工艺, 试验重复 3 次, 结果取平均值。

表 1 五味子果肉总酚提取工艺的 L₈(2⁷) 正交试验设计中的因素与水平

Table 1 Factors and levels of L₈(2⁷) SFTP design for orthogonal experiments

水平 Level	因素 Factor						
	果胶酶 添加量/% Pectinase (A)	纤维素酶 添加量/% Cellulase (B)	中性蛋白酶 添加量/% Neutral protease (C)	漆酶添加量/% Iaccase (D)	pH (E)	时间/min Time (F)	温度/°C Temperature (G)
1	1.0	1.0	1.0	3.0	4.0	20	30
2	3.0	3.0	3.0	5.0	5.0	30	50

1.3.4 总酚提取率的测定 采用比色法测定五味子果肉中的总酚含量:精密吸取样品溶液 0.5 mL, 置于 25 mL 量瓶中, 加入福林酚试剂 2.5 mL、碳酸钠溶液(75 g/L)2 mL, 于 50 °C 水浴加热 5 min, 冷却后用蒸馏水定容, 然后在 760 nm 测定供试品质量浓度。提取率采用外标一点法^[17]进行计算, 公式如下:

$$\text{提取率} = \frac{\rho \times v \times D}{m} \times 100\%.$$

式中: ρ 供试品质量浓度(mg/mL), v 为供试品体积

(μ L), D 为稀释倍数, m 为供试品的质量(g)。

2 结果与分析

2.1 五味子果肉总酚提取生物酶的优选

由图 1 可知, 与无酶处理(对照)相比, 9 种酶对五味子果肉总酚提取率均有不同程度的提升作用, 并以果胶酶、纤维素酶、中性蛋白酶和漆酶 4 种酶效果较好, 故选择该 4 种酶作为五味子果肉总酚提取用生物酶。

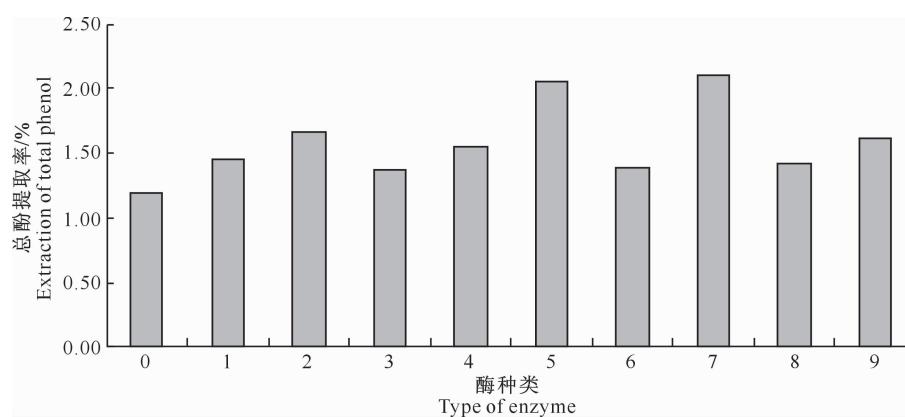


图 1 9 种酶对五味子果肉总酚提取率的影响

0. 无酶; 1. 中温淀粉酶; 2. 中性蛋白酶; 3. α -淀粉酶; 4. 木瓜蛋白酶; 5. 纤维素酶; 6. 甘露聚糖酶; 7. 果胶酶; 8. 木聚糖酶; 9. 漆酶

Fig. 1 Effect of 9 enzymes on extraction rate of total phenol

0. No enzyme; 1. Medium temperature amylase; 2. Neutral protease; 3. α -amylase; 4. Papain;
5. Cellulose; 6. Mannose; 7. Pectinase; 8. Xylanase; 9. Laccase

2.2 五味子果肉总酚提取的单因素试验结果

2.2.1 酶解时间 酶解时间对五味子果肉总酚提

取率的影响如图 2 所示。由图 2 可知, 随着酶解时间的延长, 总酚提取率也不断上升, 至 20 min 时 4

种酶处理的五味子总酚提取率达到最大值;此后总酚提取率随着时间的延长而下降。可知酶解时间以 20 min 为宜。

2.2.2 酶解温度 酶解温度对五味子果肉总酚得率的影响如图 3 所示。由图 3 可知,随着温度的升高,果胶酶、纤维素酶和漆酶处理五味子果肉总酚提

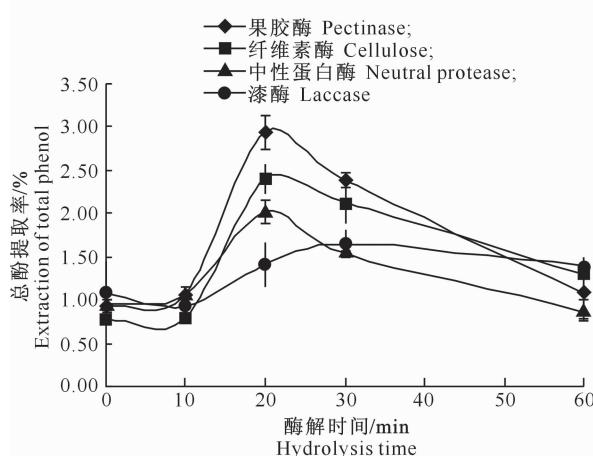


图 2 酶解时间对五味子果肉总酚提取率的影响

Fig. 2 Effect of hydrolysis time on extraction rate of total phenol

2.2.3 酶解 pH pH 值对五味子果肉总酚提取率的影响如图 4 所示。由图 4 可知,在 pH 为 3.0~7.0 时,随 pH 升高,4 种酶处理五味子果肉总酚提取率均呈先升后降趋势,其中中性蛋白酶在 pH 为 4.0 时,总酚提取率达到最高;果胶酶、纤维素酶、漆酶均在 pH 为 5.0 的弱酸性条件下有较好的酶解效果,此时总酚提取率均较高。

2.2.4 酶添加量 酶添加量对五味子果肉总酚提

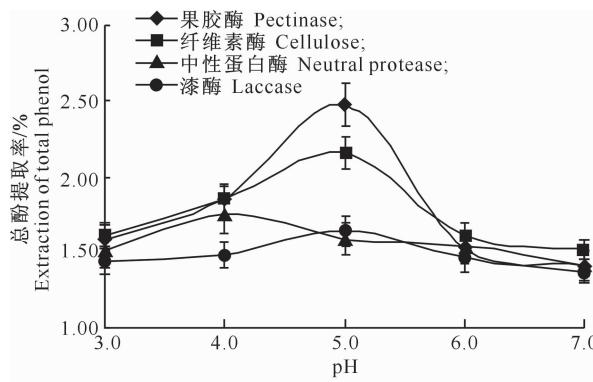


图 4 酶解 pH 值对五味子果肉总酚提取率的影响

Fig. 4 Effect of pH on yield of total phenol

2.3 五味子果肉总酚提取多因素正交试验的结果

由表 2 和表 3 可以看出,各因素对五味子果肉总酚提取率影响的大小依次为果胶酶添加量、中性

取率都逐渐增大,分别在 40, 40 和 50 °C 达到最高值,之后随温度的继续升高总酚提取率均降低;在 30~60 °C 时,漆酶处理五味子果肉总酚提取率随着酶解温度的升高而下降,因此在 30 °C 时,其总酚提取率最高。

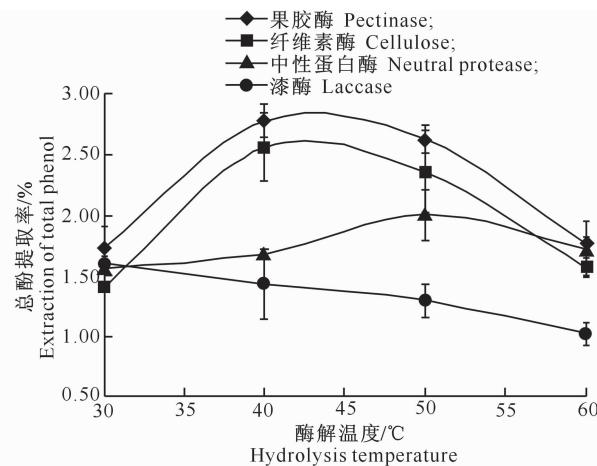


图 3 酶解温度对五味子果肉总酚提取率的影响

Fig. 3 Effect of hydrolysis temperature on yield of total phenol

取率的影响如图 5 所示。由图 5 可知,添加酶后样品总酚提取率比无酶样品均有明显增加,且随着酶添加量的增加,果胶酶、纤维素酶和中性蛋白酶均在添加量为 1.0% 时总酚提取率达到最高;随着添加量的增加,漆酶处理五味子果肉总酚提取率持续升高,在本试验条件下,当其添加量为 5.0% 时,总酚提取率达到最高。

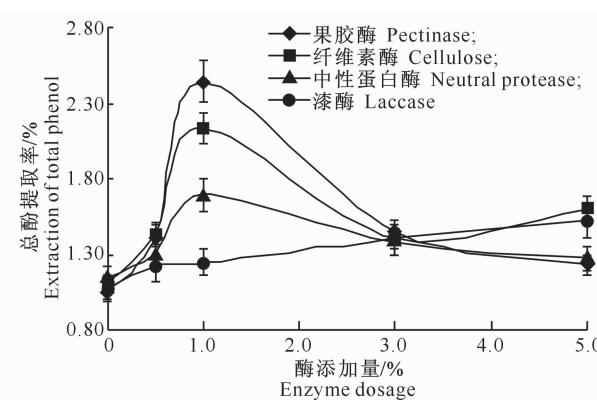


图 5 酶添加量对五味子果肉总酚提取率的影响

Fig. 5 Effect of enzyme dosage on yield of total phenol
蛋白酶添加量、酶解时间、纤维素酶添加量、pH 值、酶解温度、漆酶。综合考虑原辅料成本及能耗等因素,确定复合酶法提取五味子果肉的最佳工艺条件

为, $A_1B_2C_2D_2E_2F_1G_1$, 即果胶酶添加量 1.0%, 纤维素酶添加量 3.0%, 中性蛋白酶添加量 3.0%, 漆酶添加量 5.0%, pH 5.0, 酶解时间 20 min, 温度 30

℃。进一步开展验证试验, 在此条件下五味子果肉总酚提取率为 2.83%, 是无酶工艺(1.19%)的 2.38 倍。

表 2 五味子果肉总酚提取工艺优化的 $L_8(2^7)$ 正交试验结果Table 2 Results of $L_8(2^7)$ orthogonal experiments

试验号 No.	因素 Factor							总酚提取率/% Extraction ratio of total phenol
	果胶酶 添加量/% Pectinase (A)	纤维素酶 添加量/% Cellulase (B)	中性蛋白酶 添加量/% Neutral protease (C)	漆酶 添加量/% Iaccase (D)	pH (E)	时间/min Time (F)	温度/℃ Temperature (G)	
1	1.0	1.0	1.0	3.0	4.0	20	30	2.71
2	1.0	1.0	1.0	5.0	5.0	30	50	2.74
3	1.0	3.0	3.0	3.0	4.0	30	50	2.77
4	1.0	3.0	3.0	5.0	5.0	20	30	2.83
5	3.0	1.0	3.0	3.0	5.0	20	50	2.74
6	3.0	1.0	3.0	5.0	4.0	30	30	2.66
7	3.0	3.0	1.0	3.0	5.0	30	30	2.68
8	3.0	3.0	1.0	5.0	4.0	20	50	2.71
K_1	2.063	2.013	2.010	2.025	2.013	2.047	2.020	
K_2	1.998	2.047	2.050	2.035	2.047	2.012	2.040	
R	0.065	0.034	0.040	0.010	0.034	0.035	0.020	

表 3 五味子果肉总酚提取工艺优化正交试验结果的方差分析

Table 3 Variance analysis for $L_8(2^7)$ orthogonal experiments

方差来源 Sources of variance	离差平方和 Sum of squares of deviations	自由度 Degree of freedom	F 比值 F ratio	F 临界值 F critical-value
果胶酶添加量 Pectinase	0.008	1	3.111	3.590
纤维素酶添加量 Cellulase	0.002	1	0.778	3.590
中性蛋白酶添加量 Neutral protease	0.003	1	1.167	3.590
漆酶添加量 Iaccase	0.000	1	0.000	3.590
pH	0.002	1	0.778	3.590
时间 Time	0.002	1	0.778	3.590
温度 Temperature	0.001	1	0.389	3.590
误差 Error	0.02	7		

3 结 论

本试验采用复合酶辅助提取法对五味子果肉中酚类成分的提取工艺进行了优化, 使五味子果肉中的总酚提取率得到了大幅度的提高。通过正交试验, 得出复合酶辅助提取法的最佳工艺参数为: 果胶酶添加量 1.0%, 纤维素酶添加量 3.0%, 中性蛋白酶添加量 3.0%, 漆酶添加量 5.0%, pH 5.0, 酶解时间 20 min, 温度 30 ℃。五味子果肉主要成分为多酚类, 该工艺中的中性蛋白酶能够高效水解蛋白质, 漆酶能够催化木质素类成分降解, 纤维素酶能够催化水解纤维素, 而果胶酶具有针对果胶的解酯、水解、破裂作用, 在本研究最佳提取条件下, 五味子果肉总酚提取率为 2.83%, 是无酶工艺(1.19%)的 2.38 倍。因此 4 种酶相互作用, 使五味子果肉总酚提取率高于单一酶作用效果, 更高于无酶工艺, 基于酚类的显著作用, 其大量、高效率生产为五味子新产品

(食品、药品、保健食品)的研究与开发奠定了基础。

[参考文献]

- [1] 田洋. 五味子有效成分提取工艺研究进展 [J]. 农业科技与装备, 2011, 203(5): 29-30.
Tian Y. Research on extraction process of effective components in *Schisandra chinensis* [J]. Agricultural Science & Technology and Equipment, 2011, 203(5): 29-30. (in Chinese)
- [2] Alexander Panossian, Georg Wikman. Pharmacology of *Schisandra chinensis* Bail: An overview of Russian research and uses in medicine [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2008, 118(2): 183-212.
- [3] 史琳, 王志成, 冯叙桥. 五味子化学成分及药理作用的研究进展 [J]. 药物评价研究, 2011, 34(3): 208-212.
Shi L, Wang Z C, Feng X Q. Advances in studies on chemical constituents and pharmacological activities of *Schisandrae chinensis* [J]. Drug Evaluation Research, 2011, 34 (3): 208-212. (in Chinese)
- [4] 陈雅君, 李英俊. 北五味子复合保健饮料研制初报 [J]. 东北农

- 业大学学报,1998,29(2):195-200.
- Chen Y J, Li Y J. Early developed on compound health beverage of fructus *Schisandrae chinensis* [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 1998, 29(2): 195-200. (in Chinese)
- [5] 刘长姣,于徊萍,袁术,等.五味子果汁饮料的研制 [J].安徽农业科学,2011,39(29):18253-18255.
- Liu C J, Yu H P, Yuan S, et al. Research of *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill juice beverage [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2011, 39(29): 18253-18255. (in Chinese)
- [6] 马荣山,代启靖,韩韬.发酵型五味子蜂蜜果酒的研制 [J].食品研究与开发,2010,31(6):122-125.
- Ma R S, Dai Q J, Han T. On the Process of Fermented *Schisandra chinensis* (Turcz.) Bail. and honey Fruit Wine [J]. Food Research and Development, 2010, 31(6): 122-125. (in Chinese)
- [7] 权美平.超声波辅助提取五味子果渣总酚工艺优化 [J].黑龙江畜牧兽医;科技版,2014,4(1):142-144.
- Quan M P. Optimum technique of extracting total phenol from *Schisandra chinensis* by supersonic wave [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2014, 4(1): 142-144. (in Chinese)
- [8] 任丽佳,李林,殷放宙,等.五味子抗肿瘤活性成分及作用机制研究进展 [J].中国药理学通报,2012,28(1):140-142.
- Ren L J, Li L, Yin F Z, et al. Research on antitumor active ingredients and action mechanism of *Schisandra chinensis* [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2012, 28(1): 140-142. (in Chinese)
- [9] 马永强,李安,那治国,等.酶法提高蓝莓果花色苷与总酚溶出率的工艺条件研究 [J].农产品加工学刊,2012,4(4):48-53.
- Ma Y Q, Li A, Na Z G, et al. Enzyme process to improve the dissolution rates of anthocyanins and total phenol in blueberry [J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2012, 4(4): 48-53. (in Chinese)
- [10] 严娟,蔡志翔,张斌斌,等.桃果肉总酚提取和测定方法的研究 [J].江苏农业学报,2013,29(3):642-647.
- Yan J, Cai Z X, Zhang B B, et al. Extraction and determination of total phenol in peach mesocarp [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2013, 29(3): 642-647. (in Chinese)
- [11] Zi X, Feyes D K, Agarwal R, et al. Anticarcinogenic effect of a flavonoid antioxidant, silymarin, in human breast cancer MDAMB468: Induction of G1 arrest through an increase in Cpl/p21 concomitant with a decrease in kinase activity of cyclin-dependent kinases and associated cyclins [J]. Clin Cancer Res, 1998, 4(4): 1055-1064.
- [12] 可成友,梁宏斌,边蔷,等.北五味子多糖的酶法提取工艺研究 [J].现代中药研究与实践,2010,24(2):47-49.
- Ke C Y, Liang H B, Bian Q, et al. Study on enzyme extraction processes of the coarse polysaccharide from *Schisandra chinensis* [J]. Research and Practice on Chinese Medicines, 2010, 24(2): 47-49. (in Chinese)
- [13] 官庭辉,李丹,张志翔,等.酶法提取棉籽蛋白的工艺研究 [J].中国油脂,2011,36(3):25-28.
- Guan T H, Li D, Zhang Z X, et al. Enzymatic extraction of cottonseed protein [J]. China Oils and Fats, 2011, 36(3): 25-28. (in Chinese)
- [14] 王金水,李涛,焦健.水酶法提取青稞蛋白工艺研究 [J].食品工业科技,2010,31(9):267-269.
- Wang J S, Li T, Jiao J. Study on extraction of hulless barley protein using aqueous enzymatic method [J]. Science and Technology of Food Industry, 2010, 31(9): 267-269. (in Chinese)
- [15] 逯与运,麻成金,黄群,等.响应面优化超声波辅助水酶法提取蜡梅籽蛋白 [J].中国食物与营养,2010(9):59-63.
- Lu Y Y, Ma C J, Huang Q, et al. Study on extraction of plum seed protein using aqueous enzymatic method by the response surface [J]. Food and Nutrition in China, 2010(9): 59-63. (in Chinese)
- [16] 申爱荣,谭著明,李昌珠,等.水酶法提取光皮树油的研究 [J].中国油脂,2010,35(3):6-9.
- Shen A R, Tan Z M, Li C Z, et al. Aqueous enzymatic extraction of *Cornus wilsoniana* fruit oil [J]. China Oils and Fats, 2010, 35(3): 6-9. (in Chinese)