

海带快速液化工艺优化及其产物分析

Optimization of rapid liquefaction process of kelp and its products analysis

常丽荣¹

赵祥忠²

姚艳艳¹

王晓辉¹

CHANG Li-rong¹ ZHAO Xiang-zhong² YAO Yan-yan¹ WANG Xiao-hui¹

(1. 威海长青海洋科技股份有限公司, 山东 荣成 264300; 2. 齐鲁工业大学, 山东 济南 250353)

(1. Weihai Changqing Ocean Science Thechnology Co., Ltd., Rongcheng, Shandong 264300, China;

2. Qilu University of Technology, Ji'nan, Shandong 250353, China)

摘要:以海带液化率为技术指标,利用生物酶解技术制备海带酶解液,并优化各酶解条件,包括海带粉颗粒度、料液比、反应温度、反应时间、pH,同时利用高效液相色谱法(HPLC)和高效凝胶渗透色谱法(HPGPC)分别对海带酶解液中的单糖组成和寡糖聚合度进行分析。结果表明,海带快速液化最佳工艺条件为:原料粒度 100 目,料液比 1:12 (g/mL), pH 8.0,反应温度 50 °C,反应时间 12 h,在该条件下测得海带液化率为 71%。经分析海带酶解液的干物质中非糖杂质含量为 54.8%,寡糖含量为 18.9%,中性单糖含量 27.2%;寡糖中 6 糖以上的寡糖含量占比较大;单糖中甘露糖醛酸含量最高。该制备方法工艺简单、操作方便、效率高,同时能将大分子物质降解成小分子物质,更有利于动植物吸收,可拓展其利用领域。

关键词:海带;快速液化;高效液相色谱法(HPLC);高效凝胶渗透色谱法(HPGPC)

Abstract: Kelp liquefaction rate as technical index, by biological enzymolysis technology, the enzymatic hydrolysis conditions were optimized, such as granularity, substrate concentration, reaction temperature, reaction time and pH, and the monosaccharide composition and oligosaccharide polymerization degree of kelp enzymatic hydrolysate were also analyzed separately by the high performance liquid chromatography (HPLC) and high performance gel permeation chromatography (HPGPC). The result suggested that the optimum conditions of rapid liquefaction of kelp were as followed: the size of raw material 100 mesh, the ratio of material to liquid 1:12 (g/mL), pH 8, reaction temperature 50, and reaction time 12 h. Under this condition, the liquefaction rate of kelp could reach to 71%. Analysis

results of monosaccharide composition and oligosaccharide polymerization degree of kelp enzyme solution; the contents of non saccharide impurities, oligosaccharides and monosaccharides were 54.8%, 18.9%, 27.2%, respectively, in the dry matter of kelp enzymolysis liquid; the content of oligosaccharide above 6 sugar were larger than 3~6 sugar; the content of uronic acid was the highest in monosaccharide. In this paper, the kelp enzyme solution has the advantages of simple process, convenient operation, high enzymolysis efficiency, and small molecular substances degraded from large molecules are more conducive absorption to animal and plant. The method expand the application field of kelp enzyme solution.

Keywords: kelp; rapid liquefaction; high performance liquid chromatography (HPLC); high performance gel permeation chromatography (HPGPC)

中国海洋资源丰富,尤其是大型经济藻类的加工及其高值化利用已成为海洋资源综合利用的重要领域之一。海带是一种具有多种保健功能的大型经济褐藻,在中国分布广泛,其海产量和养殖产量居亚洲之最^[1]。海带中含有丰富的多糖物质,具有显著的调节免疫^[2-3]、抗病毒^[4]、抗肿瘤^[5]、抗凝血^[6]和抗氧化^[7-8]等功能活性,但由于分子量、溶解度低、不利于动植物吸收等缺点,影响其使用范围。随着海带多糖的降解产物,单糖或寡糖的生物学活性研究的深入,发现海带经降解后的产物在医药、食品、化妆品、农业等方面也具有广阔的应用前景^[9-11]。

近年来,生物酶解技术在海藻组分提取、营养物质研究及产品开发等方面得到大量应用^[12-14],尤其是褐藻胶裂解酶的大量研究,为海带的酶法降解提供了重要的工具酶^[15-16]。海带中除褐藻胶外,还含有蛋白质、纤维素、岩藻多糖等大分子物质,目前,针对海带中某一种大分子物质的酶法降解研究比较多,例如海带中褐藻胶的降解^[15]或岩藻多糖的降解^[17],而单一酶并不能实现海带的快速降解。有研究^[18]利用降解菌群可以实现海带的降解,但降解时间较

基金项目:山东省重点研发计划项目(编号:2015GSF115033)

作者简介:常丽荣,女,威海长青海洋科技股份有限公司中级工程师,硕士。

通信作者:赵祥忠(1969—),男,齐鲁工业大学副教授,硕士。

E-mail:13506416163@163.com

收稿日期:2017-06-09

长。本试验以海带为原料,通过复合酶法将海带快速液化,并对快速液化工艺条件进行优化,以期对海带的精深加工和综合利用提供依据。

1 材料与方方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

干海带:威海长青海洋科技股份有限公司;

褐藻复合降解酶(含褐藻胶裂解酶):40 U/mL,诺维信创新与发展中心;

古罗糖醛酸(G)、甘露糖醛酸(M)、葡萄糖(Glc)、甘露糖(Man)、半乳糖(Gal)、葡萄糖醛酸(GlcA)、半乳糖醛酸(GalA)、氨基葡萄糖(GlcN)、氨基半乳糖(GalN)、阿拉伯糖(Ara)、木糖(Xyl)、鼠李糖(Rha)、岩藻糖(Fuc)各单糖对照品及1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(PMP): $\geq 99\%$,美国Sigma-Aldrich公司;

BDS Hypersil C₁₈色谱柱(250 mm \times 4.6 mm,5 μ m):美国Thermo Scientific公司;

三氟乙酸、甲醇、盐酸、氢氧化钠等:分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

高效液相色谱仪:UltiMate 3000型,美国Thermo Fisher公司;

离心机:L535-1型,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;

水浴锅:DK-S24型,上海森信实验仪器有限公司;

搅拌机:JJ-1型,常州国华电器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 海带粉的制备 海带洗净、晾晒、干燥后,利用粉碎机粉碎,再分别过不同目数(20,50,100,150,300目)的筛网将海带粉分级保存。

1.2.2 海带液化率的测定 称取50 g海带粉,按一定的料液比混匀后,加已配置好的广泛缓冲液^[19]调节pH,加复合酶后置于一定温度下搅拌反应一定时间,在4 000 r/min离心10 min,取上清液称重并测固形物,根据式(1)计算海带液化率。

$$c = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

c ——海带液化率, %;

m_1 ——干海带粉重, g;

m_2 ——烘干海带渣重, g。

1.2.3 单因素试验设计

(1) 颗粒度对海带液化率的影响:分别取20,50,100,150,300目的海带粉,按1:12(g/mL)的加水比例制成海带浆,加复合酶100 μ L,50 $^{\circ}$ C反应12 h,4 000 r/min离心10 min,得海带酶解液,测上清重量及固形物含量,并计算海带液化率。

(2) 料液比对海带液化率的影响:取100目海带粉50 g,分别按1:10,1:11,1:12,1:13,1:14(g/mL)加水量制

成海带浆,加复合酶100 μ L,50 $^{\circ}$ C反应12 h,4 000 r/min离心10 min,得海带酶解液,测上清重量及固形物含量,并计算海带液化率。

(3) 反应温度对海带液化率的影响:取100目海带粉50 g,按1:12(g/mL)比例制成海带浆,不调pH,加复合酶100 μ L,测定40,45,50,55,60 $^{\circ}$ C时海带液化率,选择最适反应温度。

(4) 反应时间对海带液化率的影响:取100目海带粉50 g,按1:12(g/mL)比例制成海带浆,不调pH,加复合酶100 μ L,50 $^{\circ}$ C反应6,8,10,12,14 h后,测得海带液化率,选择最适的反应时间。

(5) pH对海带液化率的影响:取100目海带粉50 g,用广泛缓冲液配制pH为6.0,7.0,8.0,9.0的海带浆,料液比1:12(g/mL),加复合酶100 μ L,50 $^{\circ}$ C反应12 h,测得海带液化率,确定该酶的最适反应pH值。

1.2.4 海带快速液化工艺条件的优化试验 综合考虑单因素试验结果,对反应温度、pH和反应时间进行三因素三水平L₉(3⁴)正交试验,得出最优的海带快速液化工艺条件。

1.2.5 海带酶解液中寡糖聚合度的测定 采用高效凝胶渗透色谱(HPGPC)法。取一定量的海带酶解液进行冷冻干燥,并收集冻干粉。精密称取供试品,用流动相配制成10 mg/mL的溶液,过0.22 μ m微孔滤膜,按下述色谱条件进行分离。

色谱柱:SuperdexTM寡糖分析专用柱;流动相:0.1 mol/L碳酸氢铵溶液,柱温:35 $^{\circ}$ C,进样量:20 μ L;检测器:示差折光检测器。经与自制褐藻寡糖对照品进行比较,确定寡糖的聚合度,按归一化方法计算各聚合度寡糖的相对质量百分含量。

1.2.6 海带酶解液中单糖组成的测定 采用柱前衍生高效液相色谱(PC-HPLC)法。

(1) 样品降解及衍生化:取海带酶解样品适量,用2 mol/L三氟乙酸(TFA)完全水解。取降解液100 μ L,在碱性条件下按文献^[20]的方法与PMP进行衍生反应,经氯仿萃取处理后,柱前衍生高效液相色谱(PC-HPLC)分析。

(2) PC-HPLC色谱条件:柱温30 $^{\circ}$ C;流动相为体积比83:17磷酸盐缓冲液(pH 7.0)—CH₃CN溶液;流速0.8 mL/min;检测器为二极管阵列检测器(DAD,245 nm)^[21]。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验

2.1.1 颗粒度对海带液化率的影响 由图1可知,海带粉越细液化率越高,这是由于海带粉颗粒度越小,褐藻多糖等大分子释放的越多,通过褐藻复合降解酶的作用使其液化成小分子溶于水,使得液化率越高。综合考虑设备及生产过程海带粉碎成本,选择100目海带粉为原料进行后续试验。

2.1.2 料液比对海带液化率的影响 由图2可知,溶剂越多液化率越高,但酶解液固形物低,工业化生产时还需浓缩到

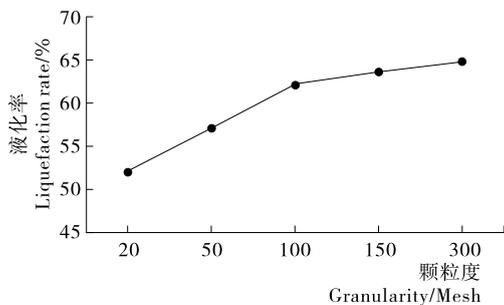


图 1 颗粒度对海带液化率的影响

Figure 1 Effect of particle size on liquefaction rate of kelp

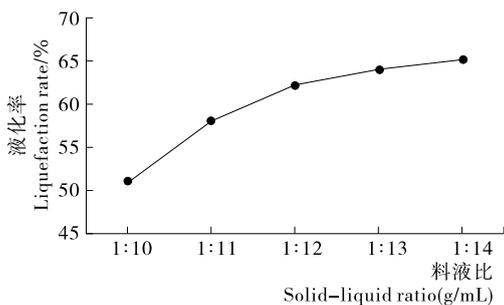


图 2 料液比对海带液化率的影响

Figure 2 Effect of solid-liquid ratio on liquefaction rate of kelp

适合的浓度,耗时、耗能且增加生产成本。根据实际生产情况,当料液比为 1:12 (g/mL) 时酶解液无需浓缩处理可直接用于后期生产。因此,选择料液比为 1:12 (g/mL) 进行后续试验。

2.1.3 反应温度对海带液化率的影响 由图 3 可知,随着反应温度的升高,液化率先上升后逐渐下降,50 °C 时达到最大值。这是因为在一定温度范围内,随温度的升高,酶活愈高,液化率也随之上升;但当温度超过该范围后,酶活被破坏,液化率随之下降。因此,反应温度应控制在 50 °C 左右。

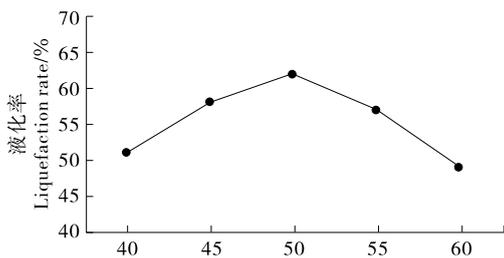


图 3 反应温度对海带液化率的影响

Figure 3 Effect of reaction temperature on the liquefaction rate of kelp

2.1.4 反应时间对海带液化率的影响 由图 4 可知,海带液化率随着酶解反应时间的延长逐渐增加,12 h 后液化率增加的不明显,这是由于原料海带中的多糖等成分已基本全部降解。综合考虑海带液化率和能源问题,酶解反应时间应控制在 12 h 左右。

2.1.5 pH 值对海带液化率的影响 由图 5 可知,海带液化率随着 pH 值的增加先上升后下降,pH 8.0 时液化率达到最大值。因此,酶解 pH 控制在 8.0 左右。

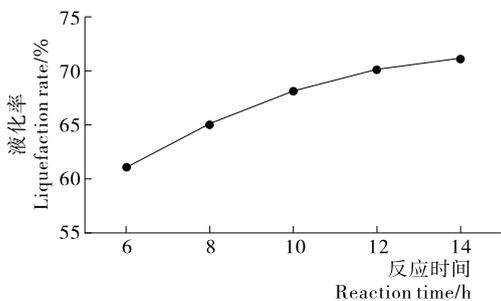


图 4 反应时间对海带液化率的影响

Figure 4 Effect of reaction time on the liquefaction rate of kelp

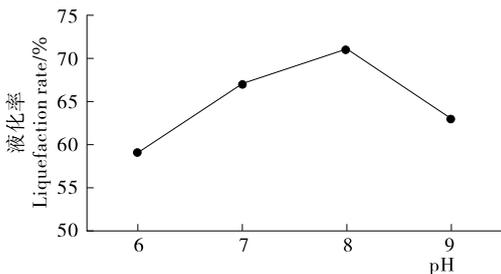


图 5 pH 对海带液化率的影响

Figure 5 Effect of pH on the liquefaction rate of kelp

2.2 海带快速液化工艺优化的正交试验

2.2.1 正交试验结果 根据单因素试验结果,同时考虑生产成本,选择海带粉颗粒度为 100 目、料液比为 1:12 (g/mL),仅对反应温度、pH 和反应时间进行了三因素三水平 $L_9(3^3)$ 正交试验,以确定 3 种因素对海带液化率的综合影响。试验因素水平见表 1,正交试验结果和方差分析结果见表 2.3。

由表 2 可知,海带快速液化的最佳工艺条件为: $A_2B_2C_3$, 即反应温度为 50 °C, pH 为 8.0, 反应时间为 12 h, 该条件下海带液化得率为 71%。由极差 R 及方差分析(表 3)得出:影响海带快速液化率的主次因素依次是 $pH >$ 反应温度 $>$ 反应时间。其中,反应温度和 pH 对海带快速液化率有极显著影响,反应时间对试验结果有显著影响。

2.2.2 验证实验 根据试验结果进行验证实验,最佳实验条件结合正交试验结果中的最佳组合,即 100 目海带粉按 1:12 (g/mL) 的加水比例配成海带浆,加酶量为 2% (以海带粉重量计),反应温度为 50 °C, pH 为 8.0, 反应时间为 12 h, 经过 3 组平行实验,所得海带液化得率为 71.4%, 与正交表中可见的最佳组合试验结果基本一致,能够重复出最优结果,

表 1 海带快速液化工艺试验因素水平表

Table 1 Factors and levels in the orthogonal test of kelp rapid liquefaction process $L_9(3^3)$

水平	A 反应温度/°C	B pH	C 反应时间/h
1	45	7.0	8
2	50	8.0	10
3	55	9.0	12

表2 海带快速液化工艺正交试验结果

Table 2 Results on orthogonal test of kelp rapid liquefaction process

试验号	A	B	C	空列	海带液化率/%
1	1	1	1	1	57
2	1	2	2	2	64
3	1	3	3	3	58
4	2	1	2	3	62
5	2	2	3	1	71
6	2	3	1	2	58
7	3	1	3	2	57
8	3	2	1	3	60
9	3	3	2	1	53

K_1	59.67	58.67	58.33	60.33	
K_2	63.67	65.00	59.67	59.67	
K_3	56.67	56.33	62.00	60.00	
R	7.00	8.67	3.67	0.66	

表3 海带快速液化工艺正交试验方差分析†

Table 3 Variance analysis of the orthogonal test relating to kelp rapid liquefaction process

变异来源	平方和	自由度	均方和	F 值
A	74.00	2	37.00	111**
B	120.67	2	60.33	181**
C	20.67	2	10.33	31*
误差	0.67	2	0.33	
总变异	216	8		

† $F_{0.05}(2,2)=19$ 。

因此确定正交试验最佳组合是： $A_2B_2C_3$ 。

本研究虽与仇哲^[22]的酶解效果评价标准不同,但比其利用菌株 H0-5 产酶降解海带的时间减少了 50%;反应温度与徐扬等^[23]优化的最佳酶解反应温度相同,比刘志新等^[24]研究的略低;徐扬等^[23]、刘志新等^[24]和董学前等^[25]提取海带多糖酶解 pH 分别为 4.0,4.5,4.8,而本研究所用酶适合 pH 为碱性,更有利于褐藻胶的释放,提高海带液化得率。

2.3 海带酶解液寡糖聚合度与单糖组成的测定结果

按最优工艺组合制备的海带酶解液进行聚合度组成分析和单糖组成分析见图 6、7。

图 6 色谱结果采用归一化积分法计算,分析得出:酶解液中的寡糖主要为 3~6 糖和 6 糖以上的寡糖以及杂质,其中 3~6 糖的寡糖聚合度相对百分含量依次为 1.7%,0.2%,0.3%,0.3%;6 糖以上的寡糖含量为 16.4%;中性单糖含量 27.2%;非糖杂质含量 54.8%。本试验中以 3 糖含量最大,与文献^[26]报道一致。

由图 7 可知,酶解液中的主要单糖为古罗糖醛酸、甘露糖醛酸、甘露糖、葡萄糖醛酸、葡萄糖、半乳糖、岩藻糖。各单糖的相对含量为:古罗糖醛酸 8.8%,甘露糖醛酸 30.4%,甘

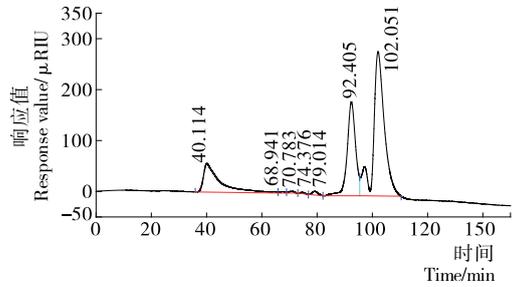


图6 海带酶解液高效凝胶渗透色谱分析

Figure 6 High performance gel permeation chromatography analysis of kelp enzyme solution

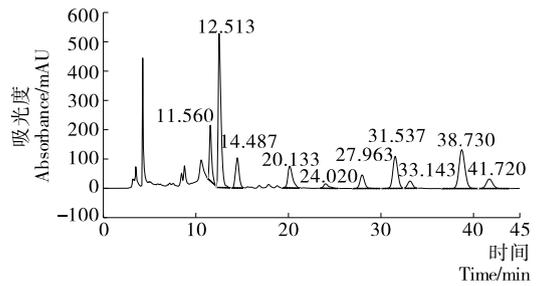


图7 海带酶解液样品柱前衍生高效液相色谱分析

Figure 7 High performance liquid chromatography analysis of kelp enzyme solution samples

露糖 7.7%,葡萄糖醛酸 7.5%,葡萄糖 4.6%,半乳糖 11.3%,岩藻糖 16.8%。甘露糖醛酸的含量最高,说明本试验使用的褐藻胶裂解酶主要作用于 M 段。

3 结论

根据单因素试验、正交试验结合实际生产情况综合得出,海带快速降解的最佳条件为:100 目海带粉按 1 : 12 (g/mL) 料液比配制成 pH 值为 8.0 的海带浆,加酶量为 2% (以海带粉干重量计),50 °C 反应 12 h,海带液化率最高,可达 70% 以上。根据高效凝胶渗透色谱法和高效液相色谱测得的结果可以看出,海带酶解样品中寡糖及单糖总量为 46.1%;单糖中甘露糖醛酸含量最高(30.4%),同时酶解液组分中还含有较高的岩藻糖和半乳糖。本研究利用生物酶解法能够在较短的时间内实现海带粉的快速液化,同时具有操作简单、条件温和、得率较高、产物功能性强等优点,非常有利于产业化生产,可为海带的高值化利用提供理论依据。产物中的寡糖可以用在医药、农业、食品等多种领域进行功能性产品开发,但其功能性还需进一步深入研究。

参考文献

[1] 岳昊,孙英泽,胡婧,等.中国海带产业及国际贸易情况分析[J].农业展望,2013,9(9):65-69.
 [2] 宋武林.海带的主要功能及加工利用研究现状[J].渔业研究,2016,38(1):81-86.
 [3] KIM Ki-Hoon, KIM Yea-Woom, KIM Han Bok, et al. Anti-apoptotic activity of laminarin polysaccharides and their enzymatically hydrolyzed oligosaccharides from *Laminaria japonica* [J]. Biotechnology Letters, 2006, 28(6): 439-446.

- [4] 刘远平, 韩硕, 李钰金. 岩藻聚糖硫酸酯的生物活性研究进展[J]. 安徽农业科学, 2013(2): 42-44.
- [5] 孙抗, 林江, 张婷, 等. 海藻多糖抗肿瘤机制研究综述[J]. 广西中医学院学报, 2012, 15(2): 103-105.
- [6] 田鑫, 李秀霞, 吴科阳, 等. 海藻多糖提取纯化及生物活性的研究进展[J]. 食品与发酵科技, 2015, 51(6): 81-85.
- [7] CHANG Hu-xue, YU Fang, HONG Lin, et al. Chemical characters and antioxidative properties of sulfated polysaccharides from *Laminaria japonica* [J]. Journal of Applied Phycology, 2001, 13(1): 67-70.
- [8] 谢瑾, 林宗毅, 王智荣, 等. 海带多糖酶法降解及其产物生物活性的研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(20): 23-27.
- [9] 董雪敏, 丛培云. 海带岩藻聚糖硫酸酯的饮料开发[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(3): 39-43.
- [10] UENO M, TAMURA Y, TODA N, et al. Sodium alginate oligosaccharides attenuate hypertension in spontaneously hypertensive rats fed a low-salt diet[J]. Clinical and Experimental Hypertension, 2012, 34(5): 305-310.
- [11] 张璐妮, 邵玉, 张玉影, 等. 海带多糖防辐射作用的研究进展[J]. 吉林医药学院学报, 2015, 36(5): 375-377.
- [12] 李斌, 永沛, 刘翼翔, 等. 海带渣中岩藻黄素的酶法提取工艺研究[J]. 食品工业科技, 2014(21): 192-196.
- [13] 刘萌, 刘光明, 刘翼翔, 等. 生物酶法制备海带多酚的工艺研究[J]. 集美大学学报, 2017(1): 21-28.
- [14] 张换, 曾艳, 管于平, 等. 响应面法优化海带多糖的酶法提取工艺及其抗氧化研究[J]. 食品科技, 2013, 38(5): 197-202.
- [15] 王亚. 海洋弧菌 QY105 中褐藻胶裂解酶的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013: 10-16.
- [16] 汤海青, 欧昌荣, 郑晓东. 1 株产褐藻胶裂解酶海洋细菌的分离鉴定及其酶学性质[J]. 浙江大学学报, 2013, 39(4): 387-395.
- [17] 王雪莹. 一种海洋硫酸多糖降解酶降解岩藻聚糖硫酸酯和糖胺聚糖的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014: 17-32.
- [18] 柏超. 海带降解复合菌的选育及其功能研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2012: 14-25.
- [19] ARIYO B T. Alginate oligosaccharides as enhancers of penicillin production in cultures of penicillium chrysogenum[J]. Biotechnology & Bioengineering, 1997, 53(1): 17-20.
- [20] HONDA S, AKAO E, SUZUKI S, et al. High-performance liquid chromatography of reducing carbohydrates as strongly ultraviolet-absorbing and electrochemically sensitive 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone derivatives[J]. Analytical Biochemistry, 1989, 180(2): 351-357.
- [21] 付海宁, 赵峡, 于广利, 等. 盐藻多糖单糖组成分析的几种色谱方法比较[J]. 中国海洋药物, 2008, 27(4): 30-34.
- [22] 仇哲. 海带酶解产物及对海参生长的影响[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2015: 9-15.
- [23] 徐扬, 杨保伟, 柴博华, 等. 超声波-酶法提取海带多糖及其抑菌活性[J]. 农业工程学报, 2010, 26(增刊 1): 356-361.
- [24] 刘志新, 刘金富, 徐凤, 等. 超声波复合酶法提取海带多糖的工艺优化[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(20): 8 467-8 469.
- [25] 董学前, 张艳敏, 张永刚, 等. 复合酶法综合提取海带中褐藻糖胶与海藻酸的研究[J]. 中国食品添加剂, 2017(9): 171-176.
- [26] LIU Yan, JIANG Xiao-lu, LIAO Wei, et al. Analysis of oligogulonic acids with NMR, electrospray ionization-mass spectrometry and high-performance anion-exchange chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 2002, 968(1/2): 71-78.

(上接第 168 页)

- [9] SUN Na, WU Hai-tao, DU Ming, et al. Food protein-derived calcium chelating peptides: A review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2016, 58: 140-148.
- [10] 刘永, 叶娟, 韦寿莲. 罗非鱼鳞胶原蛋白肽铁螯合物制备工艺的优化[J]. 精细化工, 2013, 30(7): 761-765.
- [11] LU Ying, LIU Qi, BAO Iao-lan, et al. Identification and characteristics of iron-chelating peptides from soybean protein hydrolysates using IMAC-Fe³⁺ [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(11): 4 593-4 597.
- [12] 张美玲, 赵新淮. 大豆蛋白水解物的酶法修饰及其亚铁和钙离子的螯合能力[J]. 食品与发酵工业, 2012, 38(12): 26-30.
- [13] 曹银娣, 陈巧云, 熊华, 等. 米蛋白肽铁的螯合条件优化[J]. 食品与发酵工业, 2007, 33(4): 61-64.
- [14] KIM Nam-Ho, JUNG Seung-Hun, KIM Jaehan, et al. Purification of an iron-chelating peptide from spirulina protein hydrolysates[J]. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry, 2014, 57(1): 91-95.
- [15] ADLER-NISSEN J. Control of the proteolytic reaction and of the level of bitterness in protein hydrolysis processes [J]. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 1984, 34(3): 215-222.
- [16] 周慧江. 核桃蛋白源 ACE 抑制剂肽的酶法制备及分离、纯化[D]. 西安: 陕西科技大学, 2013: 40.
- [17] DECKER Eric A, Welch Barbara. Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1990, 38: 674-677.
- [18] WANG Chan, LI Bo, AO Jing. Separation and identification of zinc-chelating peptides from sesame protein hydrolysate using IMAC-Zn²⁺ and LC-MS/MS[J]. Food Chemistry, 2012, 134(2): 1 231-1 238.
- [19] 金杜欣, 刘晓兰, 郑喜群. Alcalase 和 Flavourzyme 协同修饰玉米蛋白制备抗氧化活性蛋白水解物[J]. 食品与机械, 2015, 31(2): 25-31.
- [20] 赵静, 王燕. 辣椒粕分离蛋白酶解工艺条件的优化[J]. 食品与机械, 2016, 32(1): 162-166.
- [21] 曾庆瑞, 钱文举, 王梦瑶, 等. 宽体金线蛭多肽-锌螯合物的制备及其结构表征[J]. 食品与机械, 2016, 32(5): 11-15.
- [22] 崔潇, 江虹锐, 刘小玲, 等. 响应面法优化罗非鱼鱼皮胶原多肽螯合镁的工艺条件的研究[J]. 食品工业科技, 2013, 34(15): 238-241, 245.
- [23] 唐军虎, 康玮丽, 任志艳, 等. 响应面法玉米蛋白肽锌制备条件的优化[J]. 食品工业科技, 2011, 32(3): 294-296, 300.
- [24] 王俊形, 郑喜群, 刘晓兰. 酶解玉米黄粉制备降血压肽的研究[J]. 食品与机械, 2013, 29(3): 212-215.