干法糖基化改性玉米醇溶蛋白产物的物化特性 及在胶囊壳中的应用

Characterization of glycosylation of zein with inulin by
dry-heating and its application in capsule shells

张慧君^{1,2} 陈又铭^{1,2} 官春宇^{1,2}

ZHANG Hui-jun^{1,2} CHEN You-ming^{1,2} GONG Chun-yu^{1,2}

姜宁宁^{1,2} 沙迪昕^{1,2} 王文霞^{1,2}

JIANG Ning-ning^{1,2} SHA Di-xin^{1,2} WANG Wen-xia^{1,2}

(1. 齐齐哈尔大学食品与生物工程学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006;

2. 黑龙江省普通高校农产品加工重点实验室, 黑龙江 齐齐哈尔 161006)

(1. College of Food Bioengineering, Qiqihar, Heilongjiang 161006, China; 2. Key Laboratory of Processing Agricultural Products of Heilongjiang Province, Qiqihar University, Qiqihar, Heilongjiang 161006, China)

摘要:利用菊粉对玉米醇溶蛋白进行干法糖基化改性,通过SDS-PAGE凝胶电泳、热分析(DSC)、傅里叶红外和扫描电子显微镜等手段考察改性前后蛋白的变化。结果表明:SDS-PAGE电泳谱图可确认玉米醇溶蛋白与菊粉进行了有效的接合;傅里叶红外分析也确认糖基化改性后,玉米醇溶蛋白以共价键的形式接入了菊粉糖分子;DSC分析所得玉米醇溶蛋白膜及其改性产物膜的变性温度分别为188.47, 194.02℃;扫描电子显微镜发现改性后膜的表面更加平整,无孔洞。参照《中华人民共和国药典(2015版)》中关于明胶胶囊壳的相关检测指标,对菊粉改性的玉米醇溶蛋白产物制成胶囊壳进行测定,该产品各项指标均达到要求。

关键词:玉米醇溶蛋白;菊粉;糖基化改性;结构特性;胶囊壳

Abstract: This study focuses on improvement mechanical properties of the zein films by glycosylation modifications under dry-heating conditions for capsule shells. The characterization of zein-inulin were analyzed by SDS-PAGE, DSC, FT-IR and SEM. The result indicates that the tensile strength of zein-inulin were 2.46 times of non-modified zein. The formation of conjugates was verified by SDS-PAGE, infrared spectrum, and showed that the zein could joint the inulin by glycosylation with the covalent bound. The thermal denaturation temperature of zein was increased by DSC. It indicates that the ther-

mal stability increases. Zein and zein-inulin films were scanned by SEM. The surface of zein-inulin films' microporous structure disappeared, and the smooth of zein-inulin film was better than of that zein. The capsule shells can be produced from zein and zein-inulin. The inspection items for the capsule shells met the requirements of the Pharmacopoeia of the People's Republic of China 2015 Edition.

Keywords: zein; inulin; glycosylation; characterization; capsule shells

玉米是世界三大粮食作物之一,因产量、可利用价值高且可再生而受到广泛的关注。湿磨法是加工淀粉及其以淀粉为原料深加工产物的主要方法,该方法突出的特点是将玉米的各个组成部分有效地分离,如玉米湿法加工的副产品中,大约可以分离出占原料质量5%~6%的玉米黄粉(Corn Gluten Meal, CGM),其中蛋白质含量约60%,主要成分为玉米醇溶蛋白(zein)等^[1]。

由于玉米醇溶蛋白富含大量疏水性氨基酸,存在溶解性差,口感粗糙及含有色泽和不良气味等问题,长期以来许多工厂将玉米黄粉主要用作低价值动物蛋白饲料,极少在食品工业中应用。但另一方面因为玉米醇溶蛋白的特殊氨基酸结构,使它能在无需添加剂、鞣制剂的条件下制成具有良好阻湿性及阻氧性、透明度高的薄膜。目前,国内外对玉米醇溶蛋白的研究主要集中在果蔬、食品保藏等方面的应用,如玉米醇溶蛋白膜配方及成膜条件的筛选等^[2]。但是这种纯玉米醇溶蛋白制备的膜,其抗拉强度、延展性等机械性能指标不理想,如刚性强、易断裂、柔软性差,因此它的使用受到限制,作为胶囊壁材的资料更少。

基金项目:黑龙江省自然科学基金面上项目(编号:C201455);黑龙江省教育厅基本业务专项“粮头食尾”项目(编号:LTSW201701)

作者简介:张慧君(1969—),女,齐齐哈尔大学副教授,硕士。

E-mail: zhanghuijun1997@163.com

收稿日期:2018-03-21

蛋白质改性即利用各种外界因素改变氨基酸残基和多肽链,使蛋白质分子空间结构和理化性质发生改变,从而获得符合要求的蛋白特性^[3-5]。糖基化改性是近年来常用的、安全的蛋白质改性方法,包括干热法和湿热法。由于湿热法适合制备单糖、双糖或低聚糖-蛋白质共价复合物,但是单糖的性质不如干热法中使用的多糖那么突出。干热法利用蛋白质和多糖发生糖基化反应^[6],可在适当的相对湿度和反应温度范围内使蛋白质中的氨基处于聚集松散状态,且多糖仅有一个还原末端,有利于与羰基发生接枝交联,反应产物的机械性能和功能性都比较好。如原秀玲等^[7]的研究表明海藻酸钠干法糖基化改性乳清蛋白成膜性和膜的机械性有很大改善,林伟静^[8]用糖基化改性花生蛋白后制备膜的机械性能也有明显提高。

菊粉(多聚果糖,inulin)作为功能性多糖,具有促进矿物质吸收、维生素合成和预防癌症等作用^[9]。目前尚未见采用菊粉对纯玉米醇溶蛋白进行改性的相关研究报道,本研究拟利用菊粉在玉米醇溶蛋白上导入羰基,在膜的周围形成立体网络结构,提高膜的抗拉强度,以期制备植物蛋白胶囊壁材料提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

玉米醇溶蛋白:70%乙醇提取,蛋白含量90%,自制;

菊粉:DP>10,纯度>95%,佐源生物工程科技有限公司;

α -淀粉酶: 7×10^4 U/mL,宁夏夏盛实业集团有限公司;

邻苯二甲醛:化学纯,天津市光复精细化工研究所;

十二烷基硫酸钠:电泳级,天津市耀华化学试剂公司;

β -巯基乙醇:分析纯,天津市北联精细化学品开发公司;

硼砂:分析纯,天津市东丽区天大化学试剂厂。

1.2 仪器与设备

质构仪:QTS-25型,美国博乐飞公司;

差示扫描量热仪:Q-20DSC型,美国TA仪器公司;

扫描电子显微镜:s-3400型,日本日立有限公司;

超声波信号发生器:WSL-1000D型,南京顺流仪器有限公司;

真空冷冻干燥机:LYOQUEST-85型,西班牙泰士达公司;

傅里叶变红外光谱分析仪:FI-IR/NIR型,美国PerkinElmer公司;

数显膜测厚仪:GBCY01型,浙江盛泰芯电子科技有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 干法糖基化反应 称取玉米醇溶蛋白,用70%乙醇溶液溶解,配制成8%的玉米醇溶蛋白乙醇溶液,按比例加入一定质量的菊粉,混匀,调节体系pH,超声(500 W,10 min),冻干,打磨成粉,倒入平皿,置于相对湿度为79%的氯化钾溶液、在温度60℃的干燥器内反应一定时间,得到玉米醇溶蛋白-菊粉的糖基化改性产物。

1.3.2 膜和胶囊壳的制备 称取糖基化改性产物,用70%乙醇溶解配成8%的样品溶液,在65℃下磁力搅拌30 min进行溶胶。将溶胶倒入不锈钢模具于70℃烘箱烘干成膜;

将溶胶预热至70℃、在涂有植物油的1#胶囊壳模具上进行蘸胶,烘干后,取出胶囊壳。将烘干后的膜或胶囊壳于温度30℃、相对湿度43%干燥器内平衡48 h,进行测定。

1.3.3 测定项目与方法

(1) 蛋白膜TS测定:将制备的改性膜剪成4 cm×1 cm的长方形状,置于质构仪拉伸探头上,固定好,夹距设定为20 cm,拉伸速度为5 mm/s。抗拉强度按式(1)计算:

$$TS = \frac{F}{L \times W} \quad (1)$$

式中:

TS——抗拉强度,MPa;

F——最大拉力,N;

L——膜样品的厚度,mm(在膜的边缘及中心等位置均匀取10个点,利用测厚仪测定其厚度,取平均值);

W——膜样品的宽度,mm。

(2) 玉米醇溶蛋白改性后的SDS-PAGE凝胶电泳测定:采用聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)法检测,考马斯亮蓝R-250染料,形成蓝色条带。糖基化改性后得到的糖蛋白产物的定性检测使用高碘酸-Schiff试剂法,得到粉红色或浅红色条带。

准确称取玉米醇溶蛋白和玉米醇溶蛋白-菊粉糖基化改性产物的冻干样品(最佳工艺条件下),用70%乙醇溶液溶解,配制成1 mg/mL的样品蛋白溶液,于10 000 r/min离心10 min,取上清液,用分离胶浓度12%,浓缩胶4%,进样10 μ L。恒压控制,浓缩胶80 V,分离胶100 V。至样品带迁移到距离胶板底部1 cm左右停止电泳。同时,以低分子量标准蛋白作为蛋白的标准样品,辣根过氧化物酶作为糖基化产物的标准样品。

(3) 蛋白膜红外光谱扫描:采用傅里叶变红外光谱分析仪测试,扫描范围为500~4 000 cm^{-1} ,扫描范围次数32次,分辨4 cm^{-1} 。

(4) 热力学性质测定:利用差示扫描量热仪(DSC)在20~250℃内扫描,升温速度为10℃/min,测定玉米醇溶蛋白膜和玉米醇溶蛋白-菊粉糖基化改性膜的热性质。

(5) 蛋白膜微观结构测定:将玉米醇溶蛋白膜和共价交联产物膜,剪成0.5 mm²的试验片,进行真空镀金处理,加速电压15 kV。将样品放入扫描电子显微镜(SEM)中观察拍照。

2 结果与分析

2.1 不同种类膜抗拉强度比较

分别测定改性后的玉米醇溶蛋白-菊粉膜、玉米醇溶蛋白膜、明胶膜的抗拉强度,结果见图1。

由图1可知,制备胶囊壳的明胶膜抗拉强度为8.23 MPa、玉米醇溶蛋白膜为4.67 MPa、玉米醇溶蛋白-菊粉膜为11.5 MPa,说明改性后的蛋白膜抗拉强度得到提高。

2.2 SDS-PAGE凝胶电泳分析

图2为玉米醇溶蛋白和、玉米醇溶蛋白与菊粉进行糖基化反应后的考马斯亮蓝染色图和糖蛋白红色染色图,0和0'泳道的标样分别为14 400~97 400 Da的低分子量标准蛋白和辣根过氧化物酶。

图 1 不同膜的抗拉强度

Figure 1 Tensile strength of film

0. 标准蛋白 1. 玉米醇溶蛋白 2. 玉米醇溶蛋白-麦芽糖浆接枝物 3. 玉米醇溶蛋白-麦芽糊精接枝物 4. 玉米醇溶蛋白-菊粉接枝物 0'. 辣根过氧化物酶 1'. 玉米醇溶蛋白 2'. 玉米醇溶蛋白-麦芽糖浆接枝物 3'. 玉米醇溶蛋白-麦芽糊精接枝物 4'. 玉米醇溶蛋白-菊粉接枝物

图 2 SDS-PAGE 考马斯亮蓝和糖蛋白染色图

Figure 2 The electrophoretic profile of the samples stained for zein and zein-inulin

根据文献[10],按照溶解性和分子量,玉米醇溶蛋白可分为 α -玉米醇溶蛋白、 β -玉米醇溶蛋白、 γ -玉米醇溶蛋白和 δ -玉米醇溶蛋白四类。其中 α -玉米醇溶蛋白主要是疏水性氨基酸,约占总玉米醇溶蛋白含量的75%~80%, β -玉米醇溶蛋白和 γ -玉米醇溶蛋白含量约各占总玉米醇溶蛋白的10%,剩下是含量很少的 δ -玉米醇溶蛋白。 α -玉米醇溶蛋白分子量为23~24 kDa和26~27 kDa; β -玉米醇溶蛋白分子量约为17 kDa, γ -玉米醇溶蛋白分子量为27 kDa和18 kDa; δ -玉米醇溶蛋白分子量约为10 kDa。

由图2可知,考马斯亮蓝染色的电泳中,1泳道的条带中为玉米醇溶蛋白组分,其中分子量分布与文献[10]一致,主要集中在 α 玉米醇溶蛋白的24~26 kDa以及少量的 β -玉米醇溶蛋白(17 kDa)和杂蛋白(38 kDa以上)。4泳道为改性后的玉米醇溶蛋白-菊粉,由于菊粉的分子量(341~10 000 Da)远低于玉米醇溶蛋白,因此接枝反应后,第1和第4泳道的条带位置改变不大,糖蛋白在考马斯亮蓝中无明显改变,无法鉴定是否进行了糖基化反应。因此,采用高碘酸希尔法,利用高碘酸的氧化作用与多糖分子进行颜色反应,以辣根过氧化物酶为阳性对照,以检测接枝产物中是否有糖分子的存在。图2中,1'泳道的玉米醇溶蛋白呈现浅浅的红色,说明玉米醇溶蛋白本身含有少量的糖,与李海明[11]的研究结果一致。4'泳道为菊粉改性产物,显示红色条带,

证明糖基化反应生成的交联产物玉米醇溶蛋白-菊粉中有糖基的存在,从而确认玉米醇溶蛋白中导入了菊粉分子。

2.3 蛋白膜 FT-IR 分析

采用玉米醇溶蛋白与菊粉进行干法糖基化,与玉米醇溶蛋白膜作对比,进行傅里叶红外光谱分析,结果见图3。

图 3 玉米醇溶蛋白膜和玉米醇溶蛋白-菊粉膜的 FT-IR 光谱图

Figure 3 FT-IR spectra of zein films and zein-inulin films

由图3可知,当蛋白质与多糖分子以共价链接枝后,蛋白质分子中羟基的含量就会增加,在红外光谱的谱图中会发现羟基的特征吸收峰先后增强。羟基的特征吸收峰有2个,分别是一OH伸缩振动吸收峰(3 700~3 200 cm^{-1})和C—O伸缩振动吸收峰(1 100~1 000 cm^{-1})。蛋白质的特征吸收峰包括酰胺I带—NH弯曲振动(1 690~1 630 cm^{-1})、酰胺II带—NH弯曲振动(1 530~1 560 cm^{-1})和酰胺III带C—N弯曲振动和N—H弯曲振动(1 240~1 450 cm^{-1})。

从图3还可以看出,相比未改性的玉米醇溶蛋白膜,干热法改性玉米醇溶蛋白-菊粉膜在3 290.46 cm^{-1} 处的峰移至3 288.68 cm^{-1} 处、酰胺I带的叔酰胺1 645.99 cm^{-1} 处的峰移至1 643.28 cm^{-1} 处,酰胺II带的仲酰胺1 536.82 cm^{-1} 处的峰移至1 517.18 cm^{-1} 处,酰胺III带的1 242.85 cm^{-1} 处的峰移至1 239.03 cm^{-1} 处,振动吸收峰变小发生蓝移,其中1 643.28 cm^{-1} 处峰的蓝移来自于糖基化反应后玉米醇溶蛋白的 α -螺旋结构减少,减少的 α -螺旋结构部分转化成 β -折叠。对此结果进行分析,推测为:相比纯的玉米醇溶蛋白,干法糖基化改性后的玉米醇溶蛋白-菊粉引入了新的多聚果糖链导致接枝后产物的结构中 β -折叠含量增加,强化了蛋白质分子间及分子内的相互作用,使改性后产物的稳定性增加[12];另外,改性的膜在1 025.15 cm^{-1} 处生成了新的峰,它是C—O伸缩振动吸收峰,即羟基含量增加。这两点说明原来玉米醇溶蛋白经干法糖基化后二级结构发生了变化,与菊粉产生了共价交联。FT-IR测定结果可较好诠释改性膜机械性能提高的机理。

2.4 热性质分析

蛋白质是一种非结晶态的三维结构,其非共价键的相互作用决定了结构的稳定性,使蛋白质具有玻璃态转化行为。玻璃态转化温度取决于蛋白质分子的空间效应和分子间、分子内的相互作用。玉米醇溶蛋白与干法糖基化的DSC扫描结果见图4。

图4 玉米醇溶蛋白和玉米醇溶蛋白-菊粉的DSC图
Figure 4 DSC thermogram of zein and zein-inulin

由图4可知,玉米醇溶蛋白膜的热变性温度约188.47℃,菊粉对玉米醇溶蛋白糖基化改性以后,改性交联产物的热变性温度升高到194.02℃。当玉米醇溶蛋白与菊粉发生了糖基化反应时,玉米醇溶蛋白蛋白的空间结构和键位都会发生一定的变化,从而导致热吸收数据发生变化。热变性温度的提高说明蛋白质的内部结构更加稳定,即通过糖基化的方法对玉米醇溶蛋白改性可提高玉米醇溶蛋白的热稳定性,与红外结果一致。

2.5 蛋白膜 SEM 分析

图5表明了玉米醇溶蛋白膜和玉米醇溶蛋白-菊粉膜的表面微观结构在放大1 000,2 000,5 000,10 000倍后的差异。

a~d. 玉米醇溶蛋白膜放大1 000,2 000,5 000,10 000倍
a'~d'. 玉米醇溶蛋白-菊粉膜放大1 000,2 000,5 000,10 000倍

图5 玉米醇溶蛋白膜和玉米醇溶蛋白-菊粉膜表面的SEM图

Figure 5 Scanning electron micrographs of zein films and zein-inulin films

品质性能优良的膜表面结构没有太多的孔洞、凹陷、突斑和裂纹。如图5所示,以纯玉米醇溶蛋白膜作为对照,利用SEM对玉米醇溶蛋白膜和玉米醇溶蛋白-菊粉膜表面放大1 000倍进行观察,纯玉米醇溶蛋白制备的膜表面存在微小的孔洞结构;糖基化改性后玉米醇溶蛋白-菊粉制备的膜,比较平整、表面微孔结构消失。将玉米醇溶蛋白膜和玉米醇溶蛋白-菊粉膜同时放大2 000,5 000倍时,结果相同。当将玉米醇溶蛋白膜和玉米醇溶蛋白-菊粉膜放大10 000倍时,可以清楚地看到玉米醇溶蛋白膜表面无规则分布着直径大小不一的小孔,玉米醇溶蛋白-菊粉膜表面较光滑、平整、没有孔隙。说明空洞等缺陷是导致膜机械性能差的主要原因,即对膜的抗拉强度造成一定的影响,与图1的结果一致。进一步证明玉米醇溶蛋白经过菊粉干法糖基化改性,菊粉分子和玉米醇溶蛋白分子发生共价接合,使孔洞结构消失。

2.6 胶囊壳的制备

将玉米醇溶蛋白和玉米醇溶蛋白-菊粉制备成胶液、经过模具蘸胶、烘干得到1#胶囊壳,按照《中华人民共和国药典(2015版)》检测其外观、胶囊体胶囊帽的松紧度、干燥失重、灼烧残渣和脆碎度等指标,结果见图6和表1。

图6 胶囊壳的制备

Figure 6 The preparation of capsule shells of zein and zein-inulin

由表1可知,玉米醇溶蛋白胶囊壳由于脆性较大,在脱模过程中胶囊壳出现有裂痕,甚至易碎、导致壳体不完整,外观不合格。而玉米醇溶蛋白-菊粉制备的胶囊壳,各项指标均符合《中华人民共和国药典2015版》的相应标准,壳体没有裂缝,套合后的胶囊体无漏粉现象,表面光滑,质地均匀。胶囊的松紧度、灼烧残渣、脆碎度和干燥失重均合格。

3 结论

本研究采用干法糖基化对玉米醇溶蛋白进行改性,制备了玉米醇溶蛋白-多聚果糖共价接枝产物,研究了糖基化改性对玉米醇溶蛋白结构和机械性能的影响。初步探讨了改性反应的机理。通过SDS-PAGE凝胶电泳、DSC、红外光谱和扫描电镜分析得出,玉米醇溶蛋白以共价键的形式有效地接入多聚果糖分子,使改性蛋白质的化学结构发生改变,膜的孔洞结构消失,提高了抗拉强度。说明利用菊粉对玉米醇溶蛋白糖基化改性是提高胶囊壳机械强度,替代明胶胶囊的有效方法。

本研究从膜的机械性能、红外结构、热力学和微观扫描等方面综合分析,干法糖基化制得胶囊壳的各项指标满足了《中华人民共和国药典》的要求。因此后期拟在干法糖基化的原料方面作进一步的筛选,尽可能选择成本更低,更常见

表 1 检测指标
Table 1 Detection indicator

样品	外观	松紧度	灼烧残渣/%	脆碎度	干燥失重/%
玉米醇溶蛋白制备的胶囊壳	脱模时易产生裂纹,完整度较差,浅黄色,长 18 mm,厚 0.1 mm,无气泡无异味	套帽时易变形破裂、有漏粉现象	0.65	25 粒	19.20
玉米醇溶蛋白-菊粉制备的胶囊壳	脱模后完整,无裂纹,黄色,长 18 mm,厚 0.1 mm,无气泡,无异味	无粘接、无变形破裂和漏粉现象	0.73	0	14.89
药典规定明胶胶囊指标	没有裂缝,表面光滑,质地均匀,无气泡、无异味	无粘接、变形破裂和漏粉	透明胶囊壳 ≤ 1.5 半透明胶囊壳 ≤ 3.0 不透明胶囊壳 ≤ 5.0	50 粒 ≤ 5 粒	12.5~17.5

的食品添加剂类多糖作为糖基化原料。此外,玉米醇溶蛋白具有天然肠溶性,探索改性后的胶囊壳对肠溶效果的变化是今后研究发展的方向。

参考文献

- [1] 赵华, 张英华. 玉米醇溶蛋白制备与应用研究进展[J]. 粮食与饲料工业, 2006(12): 16-17.
- [2] 姚晓敏, 孙向军, 卢杰, 等. 可食性玉米醇溶蛋白膜工艺的研究[J]. 食品工业科技, 2002(1): 20-23.
- [3] 马立娜, 李桂娟, 李娜娜, 等. 复合增塑剂对玉米醇溶蛋白膜性能的影响[J]. 食品与机械, 2012, 28(3): 171-173.
- [4] 林峰, 蔡木易, 易维学. 玉米蛋白深加工现状及发展趋势[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(11): 123-127.
- [5] SOLIMAN E A, FURUTA M. Influence of γ -irradiation on mechanical and water barrier properties of corn protein-based films[J]. Radiation Physiesand Chemistry, 2009, 78(7/8): 651-654.
- [6] SU Jun-feng, ZHEN Huang, YUAN Xiao-yan. Structure and properties of carboxymethyl cellulose/soy protein isolate blend edible films crosslinked by Maillard reactions[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 79(1): 145-153.
- [7] 原秀玲, 王玉华, 蔡丹, 等. 响应面法优化干法糖基化改性乳清蛋白成膜性[J]. 中国食品学报, 2016, 16(7): 105-112.
- [8] 林伟静. 糖基化改性对花生蛋白膜性能的影响及其作用机理[D]. 北京: 中国农业科学院, 2015: 7-8.
- [9] 彭英云, 郑清, 张涛. 菊粉的功能与利用[J]. 食品研究与开发, 2012, 33(10): 236-240.
- [10] 张旭. 玉米醇溶蛋白的制备及醇溶蛋白涂膜的应用[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2007: 4.
- [11] 李海明. 玉米醇溶蛋白糖接枝改性及应用[D]. 杭州: 浙江大学, 2016: 19-20.
- [12] 那治国, 马永强, 韩春然, 等. 米糠谷蛋白干法糖基化改性的研究[J]. 食品科学, 2013, 34(2): 52-57.

(上接第 103 页)

参考文献

- [1] 王鲁娜. 视觉传感器在药品生产日期检测中的应用[D]. 济南: 山东大学, 2008: 84-84.
- [2] 邹文俊. 基于机器视觉技术的啤酒瓶字符自动识别系统的研究[D]. 武汉: 湖北工业大学, 2005: 1-3.
- [3] STEGER C, ULRICH M, WIEDEMANN C. Machine vision algorithms and applications[M]. [S.l.]: John Wiley & Sons, 2007: 2-5.
- [4] 杨攀, 姜立军, 李哲林. 基于机器视觉的螺纹零件头部裂纹检测[J]. 计算机应用与软件, 2013, 30(4): 51-54.
- [5] 张亚军, 齐杏林, 董成基. 基于机器视觉的枪弹钢芯自动检测系统[J]. 兵工自动化, 2012, 31(7): 8-11.
- [6] GUNATILAKE P, SIEQEL M W, JORDAN A G, et al. Image understanding algorithms for remote visual inspection of aircraft surface[C]// Proceedings of the SPIE-TheInternational Society for Optical Engineering. San Jose: [s. n.], 1997: 2-13.
- [7] PYNN J, WRIGHT A, LODGE R. Automatic identification of cracks in road surfaces[C]// Image Processing and ITS Applications, 1999. Seventh International Conference on. [S.l.]: The Institution of Engineering and Technology, 1999: 671-675.
- [8] 彭向前, 陈幼平, 余文勇. 一种基于机器视觉的浮法玻璃质量在线检测系统[J]. 制造业自动化, 2007, 29(12): 50-52.
- [9] 王丹民, 康勇. 钢板表面质量机器视觉检测系统设计[J]. 自动化仪表, 2011, 32(3): 44-46.
- [10] 基于消费者认知的食品标签法规标准研究[J]. 标准应用研究, 2015(1): 12-16.
- [11] 姚海涛, 锁雪萍, 胡象辉, 等. 基于机器视觉的商品生产日期快速检测的研究[J]. 数字技术与应用, 2016(12): 54-55.
- [12] 尹浩, 李峰. 互联网性能测量技术发展研究[J]. 计算机研究与发展, 2016, 53(1): 3-14.
- [13] 冯韬, 于建江. 复杂环境下的网络时延测量方法研究[J]. 科技信息, 2012(22): 27-27.
- [14] 李福建, 张元培. 机器视觉系统组成研究[J]. 自动化博览, 2004, 21(2): 61-63.
- [15] 杨明, 白焯, 王秋良, 等. 面阵 CCD 摄像机光学镜头参数及选用[J]. 大气与环境光学学报, 2005, 18(3): 27-30.
- [16] 黄涛. 模板匹配在图像识别中的应用[J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2005(S2): 327-332.
- [17] 耿国章, 尹立敏, 雷凯, 等. 一种改进的均值金字塔快速搜索算法[J]. 电子器件, 2007, 30(4): 1 394-1 396.
- [18] 冉令峰. 基于垂直投影的车牌字符分割方法[J]. 通信技术, 2012, 45(4): 89-91.
- [19] 陈寅鹏, 丁晓青. 复杂车辆图像中的车牌定位与字符分割方法[J]. 红外与激光工程, 2004, 33(1): 29-33.