

苦瓜渣蛋白提取工艺优化及其体外抑制 K562 细胞增殖作用研究

Optimization of extraction technology of protein from *Momordica charantia* residue and its inhibitory effect on proliferation of K562 cells in vitro

李镁娟^{1,2} 郝景灏³ 马甜甜⁴ 时国庆⁴

LI Mei-juan^{1,2} HAO Jing-hao³ MA Tian-tian⁴ SHI Guo-qing⁴

张新武¹ 黄继红¹

ZHANG Xin-wu¹ HUANG Ji-hong¹

(1. 河南省食品工业科学研究所有限公司, 河南 郑州 450053; 2. 国家轻工业食品质量监督检测郑州站, 河南 郑州 450053; 3. 河南牧业经济学院, 河南 郑州 450000; 4. 郑州轻工业学院, 河南 郑州 450002)

(1. Henan Province Food Industry Research Institute Co., Ltd., Zhengzhou, Henan 450053, China;

2. The State Light Industry Food Quality Supervision and Detection Station, Zhengzhou City, Zhengzhou, Henan 450053, China;

3. Henan University of Animal Husbandry & Economy, Zhengzhou, Henan 450000, China;

4. Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou, Henan 450002, China)

摘要:采用单因素结合均匀设计优化了苦瓜渣蛋白盐溶法提取工艺,并对蛋白粗提物进行了体外抑制 K562 细胞增殖能力测定。结果表明,最优工艺条件为:盐浓度 0.25 mol/L、时间 3.59 h、pH 为 9、液料比 10.36 : 1 (mL/g)、温度 25 °C、提取 2 次。该条件下实际提取率为 9.28%。在试验浓度范围内,苦瓜渣粗蛋白对 K562 细胞生长具有明显的抑制作用,并呈量效关系。

关键词:苦瓜渣;蛋白;提取工艺;K562 细胞;增殖抑制

Abstract: Single factor combined with uniform design were used to optimized the extraction process of protein from *Momordica charantia* residue by salt dissolving method, and the inhibitory activity in vitro K562 cell proliferation of crude extract was determined by MTT assay. The test results showed that the optimal conditions were as followed: salt concentration of 0.25 mol/L, time 3.59 h, pH=9, ratio of liquid-material 10.36 : 1 (mL/g) and the temperature of 25 °C, extracting twice. Under this condition, the actual extraction rate was 9.28%. In the range of experimental concentration, the crude protein from *Momordica charantia* residue had a significant inhibitory effect on proliferation of K562 cells in vitro, and showed

dose-effect relationship.

Keywords: *Momordica charantia* residue; protein; extraction process; K562 cell; proliferation inhibition

苦瓜(*Momordica charantia* L.)为葫芦科苦瓜属植物苦瓜的果实^[1],其鲜榨汁液具有良好的清热解暑、辅助降血糖功效,可用于生产相关的食品和保健食品^[2]。榨汁后的苦瓜果渣还含有大量黄酮^[3]、多糖^[4]、皂苷^[5]以及多种具有不同生理功能的活性蛋白,诸如:对病毒和真菌具有广谱抗性的核糖体失活蛋白^[6]、具有降糖功能的植物胰岛素^[7-8]、具有降脂功能的多肽^[9]、植物凝集素^[10]等等。

关于苦瓜蛋白的相关研究^[11-13]很多,但大多聚焦在其生物活性方面,基于应用目的的提取工艺研究较为少见,提取时使用的原料基本上都是苦瓜籽。钟维康等^[14]曾以苦瓜渣为原料,利用木瓜蛋白酶水解作用获得水解多肽,但并未提取苦瓜蛋白。稀盐和缓冲系统的水溶液对蛋白质稳定性好、溶解度大,是提取蛋白最常用的溶剂,合适的盐浓度不仅能蛋白质不易变性,还能促进蛋白质的溶解^[15]。本试验拟选取食盐溶液为提取溶剂,在单因素试验基础上,利用均匀设计优化苦瓜渣蛋白提取工艺,并对其体外抗白血病细胞 K562 增殖作用进行初步测定,以期对苦瓜渣的综合利用和深度开发提供试验依据。

基金项目:郑州市国际科技合作与交流项目(编号:141PGJHZ546)

作者简介:李镁娟,女,河南省食品工业科学研究所有限公司工程师。

通信作者:黄继红(1965—),女,河南省食品工业科学研究所有限公司教授级高工。E-mail:huangjih1216@126.com

收稿日期:2017-08-28

1 材料和方法

1.1 试验材料、试剂及仪器

K562 细胞株:郑州大学生物工程系提供;
新鲜苦瓜:购于郑州陈寨蔬菜批发市场;
RPMI1640 培养基:美国 Gibco 公司;
胎牛血清:中国医学科学院;
其余试剂均为国产分析纯;
榨汁机:JYZ-E6T 型,九阳股份有限公司;
磁力搅拌恒温水槽:SMDJ-0505 型,南京舜玛仪器设备有限公司;

pH 计:pHS-3 型,上海仪电科学仪器股份有限公司;
凯氏消化仪:K-424 型,瑞士步琦有限公司;
二氧化碳培养箱:BPN-80CH(UV)型,上海一恒公司;
超净工作台:SW-CJ-1FD 型,苏州净化设备厂;
酶标仪:BIO-RAD680 型,美国伯乐公司。

1.2 试验方法

1.2.1 原料预处理 新鲜苦瓜 1 000 g,洗净沥干后用榨汁机压榨,重复 4 次,得新鲜苦瓜渣,置 4 ℃ 冰箱中备用。

1.2.2 蛋白及水分含量测定 取一定质量的新鲜苦瓜和处理好的苦瓜渣按照 GB 5009.5—2010 所述凯氏定氮法测定蛋白含量,按照 GB 5009.3—2010 所述直接干燥法测定水分含量。

1.2.3 提取工艺及提取率计算 称取一定质量处理好的原料,放入烧瓶中,加入提取溶剂,于 SMDJ-0505 型磁力搅拌恒温水槽中恒温搅拌提取,过滤,滤液浓缩至近干转入消化瓶中消化后测定蛋白含量,按式(1)计算提取率:

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

式中:

c ——提取率, %;

m_1 ——提取液中蛋白质的质量, mg;

m_2 ——苦瓜渣中蛋白质的质量, mg。

1.2.4 提取工艺优化

(1) 单因素试验设计:参照文献[16]设定提取条件,分别考察提取次数(1, 2, 3, 4 次),食盐浓度(0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25, 0.30, 0.35 mol/L), pH 值(3, 5, 7, 9, 11, 13)、提取时间(1, 3, 5, 7, 9, 11 h)、提取温度(4, 15, 25, 35, 50, 70 ℃)和液料比[3:1, 6:1, 9:1, 12:1, 15:1, 18:1 (mL/g)]等影响因素对苦瓜渣蛋白提取率的影响。考察某一因素时,仅改变该因素条件,其它因素条件固定。考察时,各因素的固定条件分别为:提取次数 2 次,食盐浓度 0.15 mol/L, pH 值 7、提取时间 4 h、提取温度 25 ℃、液料比 12:1 (mL/g)。

(2) 均匀试验设计:在单因素试验基础上,以苦瓜渣蛋白提取率为考察指标,选取 pH、时间、液料比和盐浓度 4 个因素进行均匀试验优化。

1.3 体外抑制 K562 细胞增殖活性测定

1.3.1 细胞培养 K562 细胞在 10% 胎牛血清 RPMI1640 培养液中, 37 ℃、5% CO₂、饱和湿度条件下培养箱中常规

培养。

1.3.2 苦瓜渣蛋白预处理 按照最佳优化条件提取,粗提液经丙酮沉淀后得苦瓜渣粗蛋白,用培养液溶解后过滤除菌备用。

1.3.3 活性测定 取对数生长期的 K562 细胞,以 1×10^5 个/mL 密度接种于 96 孔板中,每孔接种 100 μ L。分别以粗蛋白终浓度(1, 5, 10, 50 μ g/mL)处理,另设空白组(只加培养液)和对照组(不加药),每组设置 6 个平行,培养 72 h 后,加入 MTT,继续培养 4 h,离心,弃去上清液,每孔加入 150 μ L DMSO 使结晶充分溶解,用酶标仪于 570 nm 波长测吸光值,空白调零,按式(2)计算细胞活力:

$$V = \frac{A_1}{A_2} \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

V ——细胞活力, %;

A_1 ——试验组吸光值;

A_2 ——对照组吸光值。

1.4 数据处理

均匀设计试验结果使用 Mathematica 9.0 软件处理,单因素试验和活性测定结果采用 SPSS 12.0 软件进行方差分析,数据以 means(平均值) \pm SD(标准偏差)表示。

2 结果与讨论

2.1 蛋白及水分含量测定

对于本试验所选原料,经测定新鲜苦瓜含蛋白 1.59%、水分 94.01%;渣中含蛋白 1.71%、水分 90.04%。由此可知,苦瓜榨汁后,其所含蛋白主要留存在苦瓜渣中,苦瓜渣干物质中蛋白含量约为 17.17%,从中提取蛋白具有经济价值和实际意义。

2.2 单因素试验

2.2.1 浸提次数对苦瓜渣蛋白提取率的影响 由图 1 可知,浸提 2 次以后,再增加浸提次数对蛋白提取率增加的影响不大,从经济上考虑,浸提次数选择 2 次较为适宜。

2.2.2 温度对苦瓜渣蛋白提取率的影响 由图 2 可知,温度对蛋白提取率的影响可分为 3 个阶段:

(1) 4~25 ℃ 时,随着温度的升高,蛋白提取率明显增加,这是因为随着温度的升高,分子运动速度加快,有利于蛋

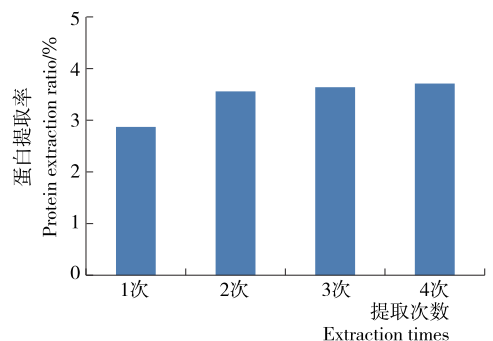


图 1 提取次数对蛋白提取率的影响
Figure 1 Effect of extraction times on protein extraction ratio

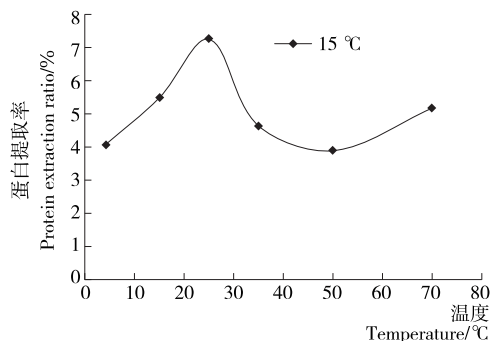


图 2 温度对蛋白提取率的影响

Figure 2 Effect of temperature on protein extraction ratio

白质从苦瓜渣中溶出。

(2) 25~50 °C 时, 随着温度的升高, 蛋白质提取率明显降低, 可能是温度较高, 导致一部分蛋白发生凝胶作用^[17], 不能溶入提取溶剂, 从而降低了提取率。

(3) 50~70 °C 时, 随着温度的升高, 蛋白质提取率又呈上升趋势, 可能是较高的温度导致部分蛋白变性, 溶解于水中。为了更多地得到生物活性良好的苦瓜蛋白, 25 °C 是较优的提取温度。

2.2.3 酸碱度对苦瓜渣蛋白提取率的影响 由图 3 可知, 酸碱度对提取率的影响可分为 3 个方面: ① 酸性条件下, 随着 pH 的升高, 蛋白质提取率明显增加; ② pH 7~11 时, 提取率受酸碱度影响不大; ③ pH 11~13 时, 随着 pH 的升高, 蛋白质提取率增大。说明苦瓜渣中所含蛋白质主要为酸性蛋白质, 但碱性过强, 容易导致蛋白质构象的不可逆变化^[18-19], 适宜的 pH 范围应为 7~11。

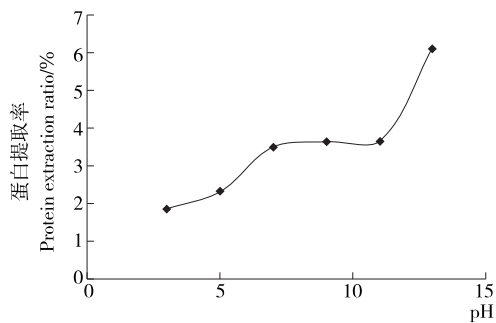


图 3 酸碱度对蛋白提取率的影响

Figure 3 Effect of pH on protein extraction ratio

2.2.4 液料比对苦瓜渣蛋白提取率的影响 由图 4 可知, 蛋白质提取率在液料比为 3:1~9:1 (mL/g) 阶段随液料比的增加而上升, 而在液料比为 9:1~18:1 (mL/g) 阶段随着液料比的增加而减少。一般活性物质的提取, 随着液料比的变大, 提取率会逐渐变大, 在苦瓜蛋白的提取过程中, 由于这类物质稳定性较差, 较大的料液比可能导致提取液中糖类、多元醇、明胶、氨基酸和某些盐类的浓度降低, 从而引起苦瓜蛋白的聚集, 导致提取率下降^[20]。因此, 9:1 (mL/g) 是较优的液料比。

2.2.5 提取时间对苦瓜渣蛋白提取率的影响 由图 5 可知, 在提取开始阶段, 提取率上升较快, 这是因为在提取刚开始

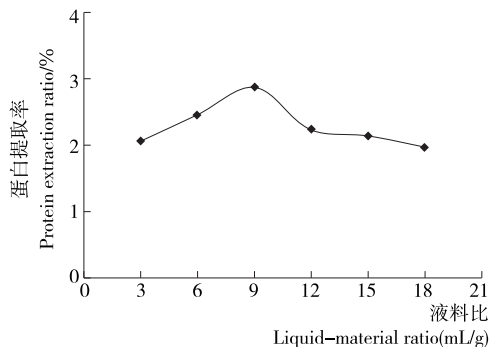


图 4 液料比对蛋白提取率的影响

Figure 4 Effect of Liquid-material ratio on protein extraction ratio

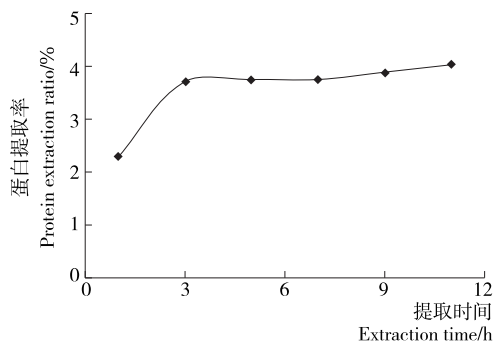


图 5 提取时间对蛋白提取率的影响

Figure 5 Effect of extraction time on protein extraction ratio

时, 苦瓜渣和提取溶剂间蛋白质的浓度差较大^[21], 提取 3 h 之后浓度差变小, 提取率增加变缓。从经济和效率上考虑, 3 h 是较适宜的提取时间。

2.2.6 食盐浓度对苦瓜渣蛋白提取率的影响 由图 6 可知, 在试验范围内, 苦瓜渣蛋白的溶解能力随食盐浓度的升高呈现先增加后减小的趋势。在 0.05~0.25 mol/L 时, 随着食盐浓度的升高, 盐溶现象明显, 在 0.25 mol/L 达到最高; 在 0.25~0.35 mol/L 时, 随着食盐浓度的升高, 苦瓜渣蛋白溶解能力缓慢降低。据报道^[15], 对于蛋白的提取, 通常 0.15 mol/L 的盐浓度较为适宜, 对于苦瓜渣蛋白来说, 0.25 mol/L 的浓度效果较好, 可能与提取温度及苦瓜榨汁后其它物质浓度降低等有关。

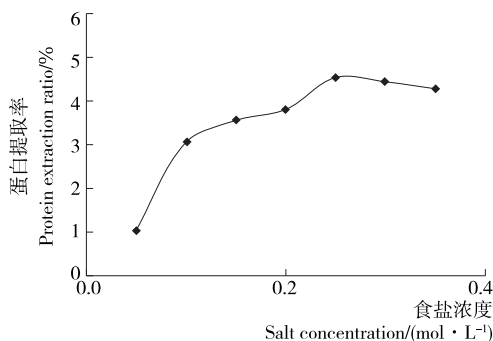


图 6 食盐浓度对蛋白提取率的影响

Figure 6 Effect of salt concentration on protein extraction ratio

2.3 均匀设计试验

在天然产物的提取过程中,一次提取往往不够充分,多次提取经济效益不佳,通常采用2次提取,苦瓜渣蛋白也符合这种情况。在苦瓜渣蛋白提取的过程中,发现室温附近蛋白提取率较高,考虑到能耗和经济效益,温度选择25℃,对影响提取率的食盐浓度、温度、pH和液料比进行均匀设计优化,试验设计及结果见表1。

利用Mathematica 9.0对均匀设计试验结果进行处理,得到回归函数参数见表2,方差分析见表3。

表1 苦瓜渣蛋白提取均匀试验设计及结果

Table 1 Design and Results of uniform test for extracting protein from *Momordica charantia* residue

| 试验编号 | X ₁ 盐浓度/ (mol·L ⁻¹) | X ₂ pH | X ₃ 时间/ h | X ₄ 液料比 (mL/g) | Y 提取率/% |
|------|---|-------------------|-------------------------|------------------------------|---------|
| 1 | 1(0.20) | 2(6.5) | 3(3.00) | 6(12:1) | 5.359 5 |
| 2 | 2(0.22) | 4(7.5) | 6(4.00) | 5(11:1) | 6.325 5 |
| 3 | 3(0.25) | 6(8.5) | 2(2.67) | 4(10:1) | 8.353 4 |
| 4 | 4(0.27) | 1(6.0) | 5(3.67) | 3(9:1) | 6.702 8 |
| 5 | 5(0.30) | 3(7.0) | 1(2.33) | 2(8:1) | 6.618 5 |
| 6 | 6(0.32) | 5(8.0) | 4(3.33) | 1(7:1) | 7.854 0 |

表2 均匀设计试验回归函数参数表[†]

Table 2 Regression function parameter table of uniform design test

| 来源 | 系数估计 | 标准差 | 统计量 | 检验统计量的概率值 |
|--------------------------------|--------------------------|--------------------------|-----------|-----------|
| 参数为1 | 13.440 6 | 0.165 9 | 81.003 0 | 0.007 86 |
| X ₂ ⁵ | 8.133 7×10 ⁻⁶ | 3.448 1×10 ⁻⁸ | 235.892 0 | 0.002 70 |
| X ₃ ² | -0.612 0 | 0.015 98 | -38.297 7 | 0.016 62 |
| X ₄ ^{0.99} | -1.579 3 | 0.034 68 | -45.534 7 | 0.013 98 |
| X ₃ X ₄ | 0.424 9 | 0.010 61 | 40.045 8 | 0.015 89 |

[†] 相关系数R²为0.999 986,修正的相关系数为0.999 93,方差σ²的估计值s²为0.000 083 507。

表3 均匀设计试验回归函数方差分析表

Table 3 Regression function variance analysis table of uniform design test

| 方差分析 | 自由度 | 平方和 | 均方偏差 | F比 | 检验统计量的概率值 |
|------|-----|--------------------------|--------------------------|----------|-----------|
| 模型 | 4 | 5.969 4 | 1.492 4 | 17 870.9 | 0.005 610 |
| 误差 | 1 | 8.351 0×10 ⁻⁵ | 8.351 0×10 ⁻⁵ | | |
| 总和 | 5 | 5.969 5 | | | |

由表2可知,pH对提取率影响极显著,提取时间和液料比影响显著,主要次序为:pH>液料比>时间;提取时间和液料比有交互作用,并对提取率有显著影响。

按照Mathematica 9.0程序运行出来的结果,从表2可以得线性回归方程:

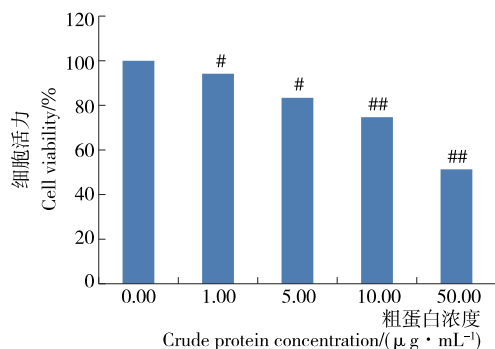
$$Y = 13.440 6 + 8.133 7 \times 10^{-6} X_2^5 - 0.612 0 X_3^2 - 1.579 3 X_4^{0.99} + 0.424 9 X_3 X_4$$

$$1.579 3 X_4^{0.99} + 0.424 9 X_3 X_4 \quad (3)$$

在测试条件范围内,经计算得最佳优化条件为:盐浓度0.25 mol/L、时间3.59 h、pH 9、液料比10.36:1(mL/g)。在此条件下苦瓜渣蛋白提取率为9.70%。按照最佳优化条件做验证实验(n=3),得到蛋白质实际平均提取率为9.28%,与理论值的相对误差4.33%,比均匀设计试验的6组数值都高。说明均匀试验优化结果可靠。

2.4 体外抑制 K562 细胞增殖活性

粗提液经丙酮沉淀后,体外抑制 K562 细胞增殖活性测定结果见图7。



#. 与对照组相比 P<0.05 ##. 与对照组相比 P<0.01

图7 苦瓜渣蛋白体外抑制 K562 细胞增殖作用

Figure 7 Inhibitory effect of protein from *Momordica charantia* residue on proliferation of K562 cells in vitro (n=6)

由图7可知,在试验浓度范围内,苦瓜渣粗蛋白对 K562 细胞生长具有明显的抑制作用,随着浓度的提高,细胞活力逐渐下降,呈明显的剂量-一效应关系。

3 结论

榨汁后的苦瓜渣中还含有丰富的蛋白质,对其进行提取具有经济价值和实际意义。盐溶法能从苦瓜渣中有效提取生物活性蛋白,单因素结合均匀设计可科学预测最优工艺条件。提取得到的苦瓜渣粗蛋白经测定具有良好的体外抑制白血病细胞 K562 增殖活性,是否具有降糖、抗氧化、抗病毒等其它生物活性尚待进一步试验确定。

参考文献

[1] 苗明三,孙艳红,纪晓宁,等. 苦瓜总皂苷对实验动物糖尿病模型的影响[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(7): 845-847.
 [2] 揭光泽,付爱丽,吴剑明. 联合运动干预结合饮用苦瓜汁对T2DM患者的实验研究[J]. 体育科技文献通报, 2015, 23(5): 16-18.
 [3] 吕雅. 苦瓜中黄酮和多糖的提取及生物活性研究[D]. 广州: 广东工业大学, 2014: 4.
 [4] 任莉莉. 果蔬渣真菌液化与果蔬汁组配饮品研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2007: 14-19.
 [5] 李健,黄艳,陈姝娟,等. 苦瓜皂苷生物活性的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(3): 144-146.

(下转 162 第页)

为静刀片数量的增加缩小了出料通道,增加了能耗损失。

结合工程实践,综合分析发现, $n=9\ 000\ \text{rad}/\text{min}$, $Z_r=216$, $T=3$ 是较为优化的结构工艺参数。

4 结论

本试验采用试验研究结合数值分析的方法,通过理论研究结合因次分析,研究了湿法超细粉碎技术在制备全豆豆浆中的应用,结论如下:

(1) 超细粉碎后,纤维颗粒平均体积尺寸随循环次数、静刀片数量以及转速的增加而降低。

(2) 切割深度决定了粉碎后纤维颗粒的尺寸极限,当循环次数达到 3 次以后,继续增加循环次数对粉碎后颗粒尺寸的影响较小。

(3) 基于工程应用,获得了用于计算粉碎后纤维颗粒尺寸 D_0 以及功耗 W 的经验公式,计算误差 $\leq 15\%$ 。

(4) 综合考虑,获得了湿法超细粉碎制备全豆豆浆的优化工艺参数: $n=9\ 000\ \text{rad}/\text{min}$, $Z_r=216$, $T=3$ 。选取该工艺参数制得的全豆豆浆,纤维粒度为 $72\ \mu\text{m}$ (约为 200 目)。该粒度下的纤维颗粒,口感柔和,没有粗砺感,能够在满足口感的基础上提高对膳食纤维的吸收。

(5) 湿法超细粉碎纤维物料的微观机理仍不明确,特别是纤维物料的力学特性与粉碎后纤维颗粒尺寸的关系有待深入研究。

参考文献

- [1] 李琳,王宸之,赵庚九,等.干法制浆工艺对豆浆品质的影响[J].食品与机械,2017,33(5):188-193.
- [2] MESSINA M, HILAKIVI C L. Early intake appears to be the key to the proposed protective effects of soy intake against breast cancer[J]. Nutrition and Cancer, 2009, 61(2): 792-798.
- [3] BATT H P, THOMAS R L, RAO A. Characterization of isoflavones in membrane-processed soy protein concentrate [J]. Journal of Food Science, 2003, 68(1): 401-404.
- [4] 孙海燕,胡家恕,汪俏梅. 苦瓜的核糖体失活蛋白[J]. 细胞生物学杂志, 2004, 26(3): 247-250.
- [5] KHANNA P, JAIN S, PANAGARIYA A, et al. Hypoglycemic activity of polypeptide-p from a plantsource [J]. Journal of Natural Products, 1981, 44(6): 648-655.
- [6] 伍曾利. 苦瓜多肽降血糖功能研究[J]. 轻工科技, 2013(7): 13-14.
- [7] 王东红,吴雨真,殷军港. 苦瓜多肽对 SD 大鼠降血脂作用研究[J]. 大家健康, 2015, 8(9): 18.
- [8] 王贻莲,陈燕平,黄伟,等. 苦瓜活性组分物质抑菌活性测定[J]. 植物保护, 2008, 34(2): 67-71.
- [9] 赵声兰,陈朝银. 天然食物中的抗艾滋病有效成分[J]. 食品与机械, 2007, 23(3): 166-170.
- [10] 熊术道,尹丽慧,李景荣,等. 苦瓜蛋白抗肿瘤作用及其分子机制[J]. 中草药, 2008, 39(3): 408-411.
- [11] 黄贤生,王仁,马小峰,等. 苦瓜蛋白通过阻止核因子 κB 核转位抑制炎症因子生成[J]. 中国动脉硬化杂志, 2013, 21(7):

- [4] 张娟,闫瑞霞,孙志洪,等. 全豆豆浆与传统豆浆感官品质和营养成分对比[J]. 大豆科学, 2017, 36(3): 459-462.
- [5] 谢怡斐,田少君,马燕,等. 超微粉碎对豆渣功能性质的影响[J]. 食品与机械, 2014, 30(2): 7-11.
- [6] 张娟,杨栋梁,周媛,等. 全豆豆浆的加工工艺研究[J]. 大豆科学, 2016, 35(6): 1 013-1 017.
- [7] 霍建治,王建光,吴超义,等. 低胰蛋白酶抑制剂全豆豆浆的研制[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(14): 251-253, 288.
- [8] 顾笑笑,张茂龙,赵龙,等. 全谷物冲调粉高效加工技术研究[J]. 食品与机械, 2013, 29(6): 207-210.
- [9] 王秀丽,张茂龙,高青令,等. 超细粉碎技术在全枣制浆中的应用研究[J]. 食品科技, 2014, 39(1): 51-55.
- [10] 赵龙,卢慧,王秀丽,等. 黑莓浓浆饮品的加工工艺研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(3): 233-240.
- [11] 张学建,王立慧,赵龙,等. 超细粉碎技术在现调饮品装置中的应用[J]. 食品与机械, 2013, 29(4): 102-106.
- [12] 张茂龙,陈锡春,高青令,等. 高速切割技术及其在鲜湿豆渣超细粉碎中的应用[J]. 食品与机械, 2010, 26(5): 105-108, 154.
- [13] 杨满盈,张裕中. 剪切技术在鲮鱼加工副产物超细制浆中的应用研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(16): 302-305.
- [14] 戴宁,张茂龙,张裕中. 农产品湿法超细粉碎技术与大豆全利用产品开发[J]. 食品科学, 2011, 32(S1): 91-96.
- [15] 张裕中,臧其梅. 食品加工技术装备[M]. 北京:中国轻工业出版社, 1999: 118-120.
- [16] 王小龙,张裕中,张茂龙. 不同湿法粉碎装置的粉碎能耗及豆浆特性的研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(19): 97-100.
- [17] SHARMA P, CHAKKARAVARTHI A, SINGH V, et al. Grinding characteristics and batter quality of rice in different wet grinding systems[J]. Journal of Food Engineering, 2008, 88(4): 499-506.
- [18] 赵瑞林. 浅谈搅拌设备功率计算公式对推进式搅拌器的适用范围[J]. 铀矿冶, 2000, 19(3): 184-149.
- [19] 沈培玉,赵浩,张裕中. 农产品物料高速切割粉碎流场数值模拟与试验[J]. 农业机械学报, 2010(9): 60-65.

(上接第 148 页)

- [6] 孙海燕,胡家恕,汪俏梅. 苦瓜的核糖体失活蛋白[J]. 细胞生物学杂志, 2004, 26(3): 247-250.
- [7] KHANNA P, JAIN S, PANAGARIYA A, et al. Hypoglycemic activity of polypeptide-p from a plantsource [J]. Journal of Natural Products, 1981, 44(6): 648-655.
- [8] 伍曾利. 苦瓜多肽降血糖功能研究[J]. 轻工科技, 2013(7): 13-14.
- [9] 王东红,吴雨真,殷军港. 苦瓜多肽对 SD 大鼠降血脂作用研究[J]. 大家健康, 2015, 8(9): 18.
- [10] 王贻莲,陈燕平,黄伟,等. 苦瓜活性组分物质抑菌活性测定[J]. 植物保护, 2008, 34(2): 67-71.
- [11] 赵声兰,陈朝银. 天然食物中的抗艾滋病有效成分[J]. 食品与机械, 2007, 23(3): 166-170.
- [12] 熊术道,尹丽慧,李景荣,等. 苦瓜蛋白抗肿瘤作用及其分子机制[J]. 中草药, 2008, 39(3): 408-411.
- [13] 黄贤生,王仁,马小峰,等. 苦瓜蛋白通过阻止核因子 κB 核转位抑制炎症因子生成[J]. 中国动脉硬化杂志, 2013, 21(7): 583-588.
- [14] 钟维庚,阮美娟,殷利娟,等. 苦瓜渣酶解制备多肽的研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(1): 240-242.
- [15] 汪少芸. 蛋白质纯化与分析技术[M]. 北京:中国轻工业出版社, 2014: 1-109.
- [16] 王春霞,蒲彪,蒋燕,等. 藤椒冷榨油饼粕中黄酮类物质的提取及体外抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2017, 33(1): 137-142.
- [17] 杨玉雯,袁美兰,陈丽丽,等. 河蚬中水溶性蛋白的提取及其抗氧化性质[J]. 食品科学, 2015, 36(6): 96-102.
- [18] 吴晓红,华美玲,石媛,等. 响应面法优化脱脂松仁水溶性蛋白提取工艺[J]. 油料蛋白, 2010, 35(8): 34-37.
- [19] 王晓然. 马胎盘水溶性蛋白提取工艺及其保健功能研究[D]. 乌鲁木齐:新疆医科大学, 2013: 9.
- [20] 田庚元,张孝先,沈春镒. 天花粉蛋白溶液构象与稳定性及生物活性的关系[J]. 化学学报, 1992, 50(9): 914-917.
- [21] 李小凡. 香菇柄中水溶性蛋白及活性肽的研究[D]. 太原:山西大学, 2015: 10.