

DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2019.04.032

富硒碎米芥不同提取物抗氧化性能研究

Study on antioxidant capacity of selenium-substance form cardamine

杜朝东^{1,2} 朱松^{1,2} 于添³ 丛欣³ 陈尚卫^{1,2}DU Chao-dong^{1,2} ZHU Song^{1,2} YU Tian³ CONG Xin³ CHEN Shang-wei^{1,2}

(1. 江南大学食品科学与技术国家重点实验室, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学食品学院, 江苏 无锡 214122; 3. 恩施德源健康科技发展有限公司, 湖北 恩施 445000)

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology of Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China; 2. The School of Food Science and Technology of Jiangnan University, Wuxi, Jiangsu 214122, China; 3. Enshi Deyuan Health Technology Development Limited Company, Enshi, Hubei 445000, China)

摘要:为进一步开发利用恩施董叶碎米芥,通过比较测定 3 种碎米芥提取物:碎米芥碱提取物(CE)、碎米芥富硒蛋白(SPR)和碎米芥富硒多肽(SPI)对 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基(DPPH·)、羟自由基(OH·)、2-联氨-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸自由基(ABTS⁺·)和超氧阴离子自由基(O₂⁻·)的清除能力,考察 3 种富硒碎米芥提取物的体外抗氧化性能,并与富硒酵母(SY)、无机硒(IS)和非富硒多肽与无机硒混合物(SPIS)进行比较。结果表明:SPI 清除 4 种自由基能力最强,其对 DPPH·、OH·、ABTS⁺· 和 O₂⁻· 的清除率分别为 87.5%, 50.3%, 99.7%, 45.7%, IS 清除 4 种自由基能力最弱,均不超过 14%。通过比较 SPR、SPI、CE、SY、IS 和 SPIS 对 4 种自由基的清除率及半抑制浓度(IC₅₀),发现有机硒清除自由基的能力强于无机硒。

关键词:碎米芥;多肽;蛋白质;抗氧化;有机硒

Abstract: The 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl free radical (DPPH·), hydroxyl free radical (OH·), 2, 2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) free radical (ABTS⁺·) and superoxide radical (O₂⁻·) scavenging ability were selected as the four indicators to evaluate the in vitro antioxidant properties of different selenium-containing substances, and compared with selenium-enriched yeast (SY) and non-selenium-enriched peptides and inorganic selenium mixture (SPIS). The results showed that SPI had the strongest ability to scavenge four kinds of free radicals, and its DPPH·, OH·, ABTS⁺· and O₂⁻· scavenging rates were

87.5%, 50.3%, 99.7% and 45.7%. The weakest sample was IS, and its radicals scavenging rates was no more than 14%. By comparing the scavenging rates and semi-inhibitory concentration (IC₅₀) of four radicals of SPR, SPI, CE, SY, IS and SPIS, it was found that the ability to scavenge free radicals of organic selenium was stronger than inorganic selenium.

Keywords: cardamine; peptides; protein; antioxidant; organic selenium

硒作为人体必需的微量元素,具有抗氧化^[1-2]、抗肿瘤^[3]等生物活性。有研究^[4-5]发现,硒作为体内抗氧化蛋白的重要组成部分,在清除活性氧、抑制自由基对细胞的损害等方面起着重要的作用。可以通过调节体内硒的含量来调节体内硒蛋白的活性。雷红灵等^[6]发现碎米芥硒蛋白在小鼠体内能够明显地提高体内硒酶含量,降低丙二醛含量,具有较强的抗氧化活性。

董叶碎米芥作为一种十字花科超富硒植物,其硒含量高达 1 414 mg/kg,远高于富硒酵母^[7]、富硒小麦^[8]、富硒大豆^[9]等。董叶碎米芥幼嫩的茎叶可以食用,当植株成熟后,其硒含量达到最高,但由于此时植株具有特殊气味令人难以接受,直接食用较少^[10]。有学者^[11-12]通过溶剂提取方式对董叶碎米芥进行加工利用,制得高硒含量、气味可接受的碎米芥提取物。目前对董叶碎米芥提取物的研究主要集中在其硒蛋白的功能性及硒的形态上^[13-15],对碎米芥粗提物和碎米芥硒多肽的生物活性研究甚少。富硒物质的体外抗氧化活性是研究其生物活性重要组成部分,通过研究碎米芥富硒提取物的体外抗氧化活性,能够比较几种碎米芥提取物的抗氧化活性强弱。

本试验以恩施董叶碎米芥为原料,通过不同方法制得 CE、SPR、SPI,并比较 CE、SPR、SPI、SY、IS 和 SPIS 6 种含硒物质在相同硒含量下体外清除 DPPH·、OH·、

基金项目:国家自然科学基金面上项目(编号:31871794);食品科学与技术国家重点实验室自主研究课题(编号:SKLF-ZZB-201809)

作者简介:杜朝东,男,江南大学在读硕士研究生。

通信作者:朱松(1979—),男,江南大学副研究员,硕士,博士。
E-mail: zhulong@jiangnan.edu.cn

收稿日期:2019-01-07

ABTS⁺·和O₂⁻·的能力,为茎叶碎米荠的深入研究及抗氧化产品的研发提供理论依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与amp;仪器

1.1.1 材料与amp;试剂

董叶碎米荠、富硒酵母:湖北省恩施德源健康科技发展有限公司;

氢氧化钠、硼氢化钾、铁氰化钾、氢氧化钾、无水乙醇、硫酸亚铁、水杨酸、30%过氧化氢、过硫酸钾、三羟甲基氨基甲烷:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

盐酸、硝酸、高氯酸:优级纯,国药集团化学试剂有限公司;

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼、2-联氨-双-3-乙基苯并噁唑啉-6-磺酸:纯度>99%,美国Sigma公司。

1.1.2 主要仪器设备

冷冻干燥机:SCIENTZ-10N型,宁波生物科技有限公司;

多功能水浴振荡器:SHA-B型,天津赛得利斯实验分析仪器制造厂;

可见分光光度计:721N型,上海仪电分析仪器有限公司;

台式低速离心机:TD6型,湖南赫西仪器装备有限公司;

原子荧光光谱仪:AF-600型,北京瑞利分析仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 CE的制备 将碎米荠整株烘干打粉,过80目筛,称取4.000 0 g碎米荠粉末,按照料液比1:40 (g/mL)加入正己烷50℃搅拌脱脂4 h,抽滤,将粉末用0.1 mol/L的NaOH溶液,按照料液比1:40 (g/mL)在50℃下搅拌提取8 h,2 850×g离心10 min,上清液旋蒸浓缩4倍体积后冷冻干燥得到碎米荠提取物。

1.2.2 SPR的制备 参考1.2.1,在上清液旋蒸浓缩4倍体积后用1 mol/L的HCl溶液调节pH至等电点(pH 2.9),4℃静置过夜,2 850×g离心10 min,经沉淀冷冻干燥得到碎米荠富硒蛋白。

1.2.3 SPI的制备 称取4.000 0 g碎米荠蛋白,按照料液比1:20 (g/mL)加入去离子水,碱性蛋白酶400 μL,温度55℃,pH 8.0,酶解3 h,90℃灭酶10 min,3 000 r/min离心10 min,冷却至温度50℃,用盐酸调节pH至7.0,加入中性蛋白酶400 μL,酶解3 h,90℃灭酶10 min,3 000 r/min离心10 min,上清液经超滤(超滤膜孔径为5 kDa)收集透过液,旋蒸浓缩4倍体积后冷冻干燥得到碎米荠多肽。

1.2.4 SPIS的制备 选用非富硒大豆肽与Na₂SeO₃,制

备方法在文献[16]基础上略有修改,将大豆肽与Na₂SeO₃的质量比改为9:1。

1.2.5 总硒含量的测定 参考GB 5009.93—2017,略有改动:负高压270 V,灯电流60 mA,辅助气流量(Ar1)300 mL/min,载气流量(Ar2)800 mL/min,原子化方式为火焰法,辅助阴极电流80 mA,原子化温度300℃,载流为10% HCl溶液,KBH₄浓度10 g/L,读数时间15 s。

1.2.6 有机硒含量的测定 采用高效液相色谱串联原子荧光光谱仪(HPLC-AFS)的方法测定样品中的无机硒,详细条件如下:负高压320 V,原子化温度300℃,灯电流90/0 mA(主/辅),泵1转速30 r/min,泵2转速20 r/min,辅助气流量(Ar1)100 mL/min,载气流量(Ar2)600 mL/min,流动相为40 mmol/L的KH₂PO₄和20 mmol/L的KCl等量均匀混合,消解液为0.15%的KI溶液,载流为10% HCl溶液,KBH₄浓度20 g/L,色谱柱为PRP-X100 10 μm 4.1 mm×250 mm,采用等度洗脱的方式,流速1.0 mL/min,柱温25℃。按式(1)计算有机硒含量。

有机硒含量(mg/kg) = 总硒含量(mg/kg) - 无机硒含量(mg/kg)。 (1)

1.2.7 DPPH·清除率的测定 参考圣志存等[17]的方法,改动如下:用无水乙醇代替无水甲醇配置DPPH溶液,DPPH溶液浓度由0.15 mmol/L改为0.1 mol/L,将待测样品溶液与的DPPH溶液混合比例由1:3改为1:1。

1.2.8 ABTS⁺·清除率的测定 参考董竹平等[18]的方法,改动如下:将ABTS⁺工作液的添加量由1.5 mL增加至4 mL。

1.2.9 O₂⁻·清除率的测定 参考孙雪萍等[19]的方法,改动如下:Tris-HCl缓冲液添加量由5 mL改为4 mL,在加入邻苯三酚后,由4 min内每30 s测一次改为25℃恒温5 min,加入0.1 mL浓度为8%的HCl终止反应再测定吸光度。

1.2.10 OH·清除率的测定 参考李亚男等[20]的方法,改动如下:在加入H₂O₂后,37℃恒温时间由30 min延长至60 min。

1.3 数据分析

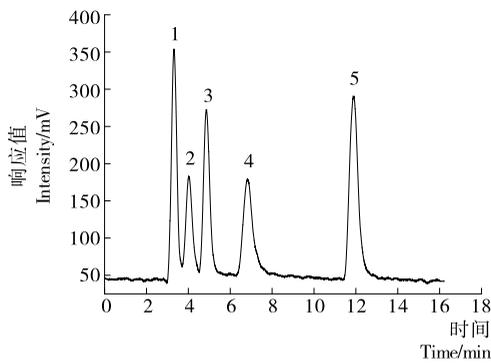
每个样品设置3个平行试验,使用SPSS 23对试验数据进行数据处理,使用Origin 9.0作图。

2 结果与分析

2.1 不同样品中总硒及有机硒含量的测定

由于样品中不同价态硒的种类众多,直接检测各价态硒的含量较为困难,所以采用HPLC-AFS法,先用HPLC将不同价态的硒分离[21],然后经AFS测定不同价态硒的含量。由于一些含硒物质没有标准物质,且某些

有机硒分离较困难,而无机硒种类较少,分离简单,所以采用总硒减无机硒的方式间接测定有机硒含量^[22]。图 1 为 5 种常见硒形态的色谱分离图,其中对无机硒[Se(IV)、Se(VI)]与有机硒(SeCys₂、MeSeCys、SeMet)的分离效果较好,能够对无机硒进行定量。如表 1 所示,通过比较每种含硒物质之间的总硒及有机硒含量差异,发现 IS 和 SPIS 的总硒含量和无机硒远远高于其他 4 种含硒物质,而 SPI、SPR、CE 和 SY 的有机硒含量远高于 IS 和 SPIS,在 3 种碎米荠提取物中 CE 的有机硒含量最高,其次为 SPI。通过比较每种含硒物质的总硒及有机硒含量,发现 IS 和 SPIS 未检测出有机硒,其硒的形态主要以无机硒形式存在,CE 中含有少量的无机硒,而 SPI、SPR 和 SY 中的硒主要以有机硒的形式存在。说明在提取得到的含硒物质中通过纯化可降低无机硒含量,使产物中的硒以有机硒形式存在。



1. SeCys₂ 2. MeSeCys 3. Se(IV) 4. SeMet 5. Se(VI)

图 1 硒形态混合标准溶液色谱图

Figure 1 The chromatogram of different selenium form mixed standard solution

表 1 不同含硒物质总硒及有机硒含量

Table 1 The content total selenium and organic selenium in different selenium sources mg/kg

| 样品 | 总硒含量 | 有机硒含量 |
|------|---------------|-----------|
| SPI | 3 890±130 | 3 860±70 |
| SPR | 2 450±80 | 2 450±60 |
| SY | 1 890±70 | 1 890±40 |
| CE | 7 330±140 | 7 080±110 |
| IS | 458 000±2 000 | 未检出 |
| SPIS | 42 500±800 | 未检出 |

2.2 不同含硒物质抗氧化性

2.2.1 清除 DPPH·能力 由图 2 所示,不同含硒物质清除 DPPH·能力随硒浓度的增大而增加,清除能力强弱依次为:SPI>CE>SY>SPR>SPIS>IS。其中 SPI 对 DPPH·的清除能力高于其他 5 种含硒物质且差异较大。CE、SPI、SPR 和 SY 中硒主要以有机硒的形态存在^[10],而

SPIS 和 IS 中硒以无机硒的形态存在。另外 SPI、CE、SPR、SPIS 和 SY 的清除 DPPH·的 IC₅₀分别为 1 194, 3 368, 4 835, 37 586, 2 983 μg/L。说明在试验浓度范围内有机硒清除 DPPH·能力强于无机硒。其中相同浓度下 SPI 抗氧化能力最强,可能是多肽分子量较小,活性成分充分暴露,与自由基接触,从而降低自由基含量^[21];姚昭等^[22]以大鼠为试验动物,研究有机硒与无机硒的抗氧化能力的不同,发现有机硒较无机硒能明显增强大鼠体内谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活性,显著的增强大鼠体内抗氧化能力。

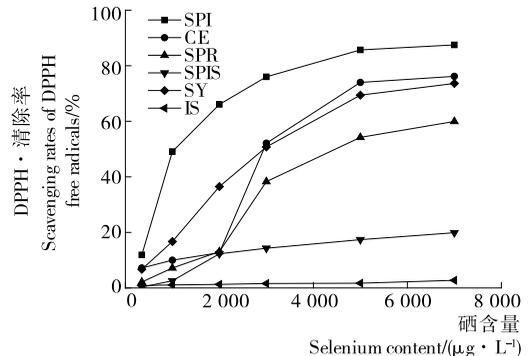


图 2 不同含硒物质对 DPPH·清除能力比较

Figure 2 The DPPH radicals scavenging ability of different selenium sources

2.2.2 清除 ABTS⁺·能力 由图 3 所示,不同含硒物质清除 ABTS⁺·能力随硒浓度的增大而增加, SPI、CE、SY、SPR、SPIS、IS 对 ABTS⁺·的清除能力依次减弱。SPI、CE、SPR、SPIS、SY、IS 清除 ABTS⁺·的 IC₅₀分别为 914.3, 2 253, 11 957, 42 414, 10 900, 160 332 μg/L。其中 SPIS 和 IS 的 ABTS⁺·清除能力在相同浓度下相差不大,但二者的抗氧化能力均明显弱于 SPI、CE、SY 和 SPR。所以导致其清除自由基能力较强。郑时莲等^[23]也发现亚硒酸钠清除 ABTS⁺·的能力远远低于硒酵母等物质。

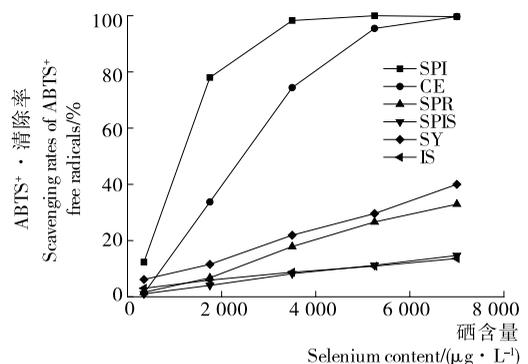


图 3 不同含硒物质对 ABTS⁺·清除能力比较

Figure 3 The ABTS⁺ radicals scavenging ability of different selenium sources

2.2.3 清除 $O_2^- \cdot$ 能力 如图 4 所示,不同含硒物质清除 $O_2^- \cdot$ 能力随硒浓度的增大而增加且差异显著,各样品清除 $O_2^- \cdot$ 能力强弱依次为:SPI、CE、SY、SPR、SPIS、IS,其中 SPI 在硒含量为 $7\ 000\ \mu\text{g/L}$ 时清除率为 45.7%。SPI、CE、SY、SPR 对 $O_2^- \cdot$ 的清除能力远强于 SPIS 和 IS。此外 SPI、CE、SPR 和 SY 清除 $O_2^- \cdot$ 的 IC_{50} 分别为 $7\ 575$ 、 $15\ 671$ 、 $26\ 710$ 、 $26\ 298\ \mu\text{g/L}$ 。表明在一定浓度范围内含有机硒的样品对 $O_2^- \cdot$ 的清除能力优于相同硒含量的无机硒。这与李改平等^[24]发现的无机硒的抗氧化效果远不及有机硒的情况相符合。

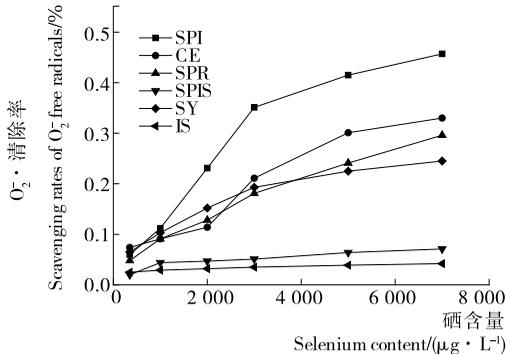


图 4 不同含硒物质对 $O_2^- \cdot$ 清除能力比较
Figure 4 The $O_2^- \cdot$ radicals scavenging ability of different selenium sources

2.2.4 清除 $OH \cdot$ 能力 如图 5 所示,在测定浓度范围内,6种物质对 $OH \cdot$ 的清除率随硒浓度的增加而增强,其中 SPI 清除 $OH \cdot$ 的能力最强,在硒含量为 $7\ 000\ \mu\text{g/L}$ 时为 50.3%,其次为 CE,然后依次为 SY、SPIS、SPR,IS 对 $OH \cdot$ 清除率最低为 3.7%。各组分对 $OH \cdot$ 清除能力差异较大,且以 SPI 清除能力最强,其中由于 CE 为碎米芥直接提取物,未进行分离纯化,其成分复杂,既含有蛋白、多糖等大分子物质,又含有少量多酚、黄酮类物质,可能由于其中抗氧化成分较多^[25]。而 SY 为富硒酵母,测定时主要为其水提液中自由基清除剂与自由基反

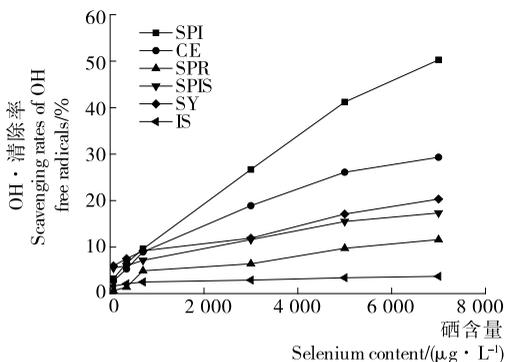


图 5 不同含硒物质对 $OH \cdot$ 清除能力比较
Figure 5 The $OH \cdot$ radicals scavenging ability of different selenium sources

应。SPR 为经纯化后的硒蛋白,具有一定能与自由基反应的基团,但其活性部位未能充分地与自由基反应,所以 SPR 的抗氧化能力与 SPI 相比要弱。SPIS 和 IS 抗氧化能力较弱,可能是由于其中的硒为无机硒,而大豆多肽与无机硒螯合后其抗氧化能力强于同含量的大豆多肽或无机硒,但增强效果有限^[26]。

3 结论

通过测定 6 种含硒物质的有机硒含量发现, SPI、SPR、CE 和 SY 中的硒主要以有机硒存在,而 IS 和 SPIS 中主要以无机硒的形态存在。对各含硒物质进行抗氧化分析,结果表明各含硒物质均具有清除自由基的能力,且其抗氧化能力随浓度的升高而逐渐增强;在相同硒含量下,富含有机硒的物质比只含无机硒的物质抗氧化能力强。在碎米芥含硒物质中, SPI 的抗氧化活性最强,具有较高的研究和生产价值。

有机硒具有较强的抗肿瘤、抗疲劳等生物活性,而碎米芥提取物中有机硒含量较高,但对其含硒提取物,特别是硒多肽的功能性研究较少,其抗肿瘤、抗疲劳等生物活性还有待探索。

参考文献

- [1] NATHALIE P, ALAIN L, MATHIEU R, et al. Selenoprotein N: an endoplasmic reticulum glycoprotein with an early developmental expression pattern[J]. *Human Molecular Genetics*, 2003, 12(9): 1 045-1 053.
- [2] WHANGER P. Selenoprotein W: a review[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2001, 57(13): 1 846-1 852.
- [3] COMBS G, GRAY W. Chemopreventive Agents: Selenium[J]. *Pharmacology and Therapeutics*, 1998, 79(3): 179-192.
- [4] CHU F F, DOROSHOW J H, ESWORTHY R S. Expression, characterization, and tissue distribution of a new cellular selenium-dependent glutathione peroxidase, GSHPx-GI[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268(4): 2 571-2 576.
- [5] 潘洁敏, 贾伟平. 硒蛋白 P 的研究进展[J]. *中华医学杂志*, 2013, 93(10): 794-796.
- [6] 雷红灵, 方响亮, 周大寨. 茎叶碎米芥硒蛋白的体内抗氧化作用研究[J]. *西北农林科技大学学报: 自然科学版*, 2015, 43(1): 201-205.
- [7] 丁文靖, 刘力, 祝晓蕾. 硒酵母的研制及分析[J]. *食品与发酵工业*, 1992(5): 73-74, 72.
- [8] 匡恩俊, 迟凤琴, 张久明, 等. 叶面喷硒对不同作物籽粒硒含量及产量的影响[J]. *中国土壤与肥料*, 2018(4): 139-142.
- [9] 付永霞, 黄歆好, 胡锦蓉, 等. 加工方式对富硒大豆制品中硒含量的影响[J]. *食品科技*, 2018, 43(8): 170-175.
- [10] 石爱华, 黄思勇, 陈体强, 等. 人工栽培茎叶碎米芥生物学

- 特征及其营养成分比较[J]. 中国野生植物资源, 2018, 37(1): 31-36.
- [11] CUI Li-wei, ZHAO Jia-ting, CHEN Jiu-yu, et al. Translocation and transformation of selenium in hyperaccumulator plant *Cardamine ensiensis* from Enshi, Hubei, China[J]. *Plant and Soil*, 2018, 425(1): 577-588.
- [12] 曹斌. 恩施碎米荊含硒蛋白分离提取、初步纯化、体外抗氧化活性研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2016: 35-51.
- [13] YUAN Lin-xi, ZHU Yuan-yuan, LIN Zhi-qing, et al. A novel selenocystine-accumulating plant in selenium-mine drainage area in enshi, china [J]. *Plos One*, 2013, 8(6): e65615.
- [14] 吕昊. 含硒蛋白运动补剂缓解运动性疲劳作用研究[J]. 食品研究与开发, 2016, 37(21): 172-175.
- [15] 刘坤媛, 田秀丽, 秦治国. 壶瓶碎米荊中含硒蛋白结构特性及其缓解运动性疲劳的作用[J]. 食品科学, 2015, 36(9): 160-165.
- [16] 包怡红, 王芳, 王文琼. 大豆多肽硒螯合物的制备及抗氧化活性分析[J]. 食品科学, 2013, 34(16): 27-32.
- [17] 圣志存, 吴双, 王安平, 等. 珊瑚菌子实体和菌丝体营养成分与抗氧化活性的比较[J]. 现代食品科技, 2018, 34(5): 62-67, 40.
- [18] 董竹平, 李超, 扶雄. 不同品种辣木叶多糖的理化性质和抗氧化活性研究[J]. 现代食品科技, 2018, 34(1): 38-44.
- [19] 孙雪萍, 徐艳, 刘布鸣, 等. 沙虫蛋白酶解产物抗氧化与免疫调节活性的研究[J]. 现代食品科技, 2017, 33(4): 67-72.
- [20] 孙亚男, 李文香, 胡欣蕾, 等. 杏鲍菇多肽提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2017, 33(4): 144-149.
- [21] 王梅, 张红香, 邹志辉, 等. 原子荧光光谱法测定富硒螺旋藻片中不同形态、价态的硒[J]. 食品科学, 2011, 32(6): 179-182.
- [22] 姚昭, 李红艳, 张云龙, 等. 有机硒、无机硒、V_E单独使用及有机硒与 V_E联用对大鼠体内抗氧化能力的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(15): 272-276.
- [23] 郑时莲, 潘瑶, 张云龙, 等. 不同形态硒、维生素 E、紫萝卜提取物体外抗氧化协同作用研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(19): 86-90.
- [24] 李改平, 刘子川, 王梦亮. 有机硒和无机硒对小鼠抗氧化作用比较研究[J]. 山西中医学院学报, 2001, 2(3): 19-21.
- [25] ZHANG Zhong-hao, WU Qiu-yan, CHEN Chen, et al. Comparison of the effects of selenomethionine and selenium-enriched yeast in the triple-transgenic mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Food and Function*, 2018, 9(7): 3 965-3 973.
- [26] 黄延盛, 吴小勇, 宁初光, 等. 富硒大豆蛋白的酶解及抗氧化性能研究[J]. 中国食品工业, 2013(8): 63-66.

(上接第 126 页)

- [35] XIA Xiu-fang, KONG Bao-hua, LIU Qian, et al. Physicochemical change and protein oxidation in porcine longissimus dorsi as influenced by different freeze-thaw cycles[J]. *Meat Science*, 2009, 83(2): 239-245.
- [36] HANSEN E, JUNCKER D, HENCKEL P, et al. Oxidative stability of chilled pork chops following long term freeze storage[J]. *Meat Science*, 2004, 68(3): 479-484.
- [37] BENJAKUL S, BAUER F. Biochemical and physicochemical changes in catfish (*Silurus glanis* Linne) muscle as influenced by different freeze-thaw cycles[J]. *Food Chemistry*, 2001, 72(2): 207-217.
- [38] FERNANDEZ-SEGOVIA I, ESCRICHE I, FUENTES A, et al. Microbial and sensory changes during refrigerated storage of desalted cod (*Gadus morhua*) preserved by combined methods[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2007, 116(1): 64-72.
- [39] 付湘晋. 白鲢鱼脱腥及其低盐鱼糜制备的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2009: 38-51.

(上接第 151 页)

- [8] 赫君菲. 建立凝固型酸奶质构参数对感官性质的预测模型[D]. 扬州: 扬州大学, 2013: 19-20.
- [9] 雷勇刚. 大豆酸奶流变学特性及微观结构的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2013: 3-4.
- [10] 白卫东, 沈颖, 刘晓艳, 等. 响应面优化荔枝酒混菌发酵工艺的研究[J]. 河南工业大学学报: 自然科学版, 2013, 12(1): 58-59.
- [11] 陈龙飞, 王敏, 范柳萍, 等. 响应面法优化玛咖全粉直接压片法研究[J]. 食品与机械, 2017, 33(2): 173-174.
- [12] 黄达明, 张雪, 管国强, 等. 响应面法优化混菌发酵豆粕的条件研究[J]. 食品工业科技, 2014, 15(13): 226-227.
- [13] 陈杰华, 蒋益虹, 王颖滢, 等. 酶法生产紫马铃薯饮料的工艺研究[J]. 中国食品学报, 2012, 31(4): 1-62.
- [14] 杨莹莹. 凝固型紫甘薯酸奶发酵工艺优化及质构特性和风味的研究[D]. 烟台: 烟台大学, 2013: 20-21.
- [15] 王微. 凝固型原味酸奶质地及微观结构的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2007: 17-18.
- [16] 林海知. 凝固型酸豆乳品质改良及冷藏稳定性研究[D]. 杭州: 浙江工商大学, 2011: 58-61.
- [17] 范瑞, 许静, 顾宗珠, 等. 酸乳货架期内理化特性的研究[J]. 中国乳品工业, 2008, 36(8): 26-29.
- [18] 李全阳, 夏文水. 酸乳流变学特性的初步研究[J]. 食品与发酵工业, 2003, 27(12): 35-39.