

超声协同酶法提取杏鲍菇中 可溶性膳食纤维及抗氧化活性研究

苗敬芝^{1,2},董玉玮^{1,2},秦杰^{1,2}

(1.徐州工程学院食品工程学院,江苏徐州 221111;

2.江苏省食品资源开发与质量安全重点实验室,江苏徐州 221111)

摘要:以杏鲍菇为原料,采用超声协同酶法提取杏鲍菇中可溶性膳食纤维,探讨超声功率、超声时间、料液比、酸性纤维素酶和酸性蛋白酶加酶量对可溶性膳食纤维得率影响,通过正交实验优化提取工艺条件,并对其抗氧化活性进行研究。结果表明,超声协同酶法提取最佳工艺条件为:酸性纤维素酶1.5%、酸性蛋白酶3.0%、时间25min、功率200W、料液比1:35,杏鲍菇中可溶性膳食纤维提取率为12.52%±0.22%。杏鲍菇中可溶性膳食纤维对·OH、·O₂⁻和DPPH均表现出较强的清除力,在一定浓度范围内,清除率随浓度增大而升高,·OH 0.6mg/mL清除率为76.22%,·O₂⁻ 0.7mg/mL清除率为74.18%,DPPH 0.6mg/mL清除率为76.15%,其对NO₂⁻有一定的清除作用,0.7mg/mL清除率为62.70%,但其清除能力均低于V_C。

关键词:杏鲍菇,超声,酶法,可溶性膳食纤维,抗氧化活性

Study on ultrasonic-enzymatic extraction and antioxidant activities of soluble dietary fiber of pleurotus eryngii

MIAO Jing-zhi^{1,2}, DONG Yu-wei^{1,2}, QIN Jie^{1,2}

(1.College of Food (Biology) Engineering, Xuzhou Institute of Technology, Xuzhou 221111, China;

2.Key Construction Laboratory of Food Resource Development, Quality and Safety of Jiangsu Province, Xuzhou 221111, China)

Abstract: Ultrasonic-enzymatic extractions of water-soluble dietary fiber of pleurotus eryngii and its functionality were discussed. The effects of ultrasonic power, ultrasonic time, material/liquid rate, the amount of cellulase and acidic protease on yield of soluble dietary fiber were discussed. The extraction conditions were optimized by orthogonal test. Antioxidant activities of soluble dietary fiber were studied. The results showed that the optimal extracting conditions of ultrasonic-enzymatic method were 1.5% cellulase, 3.0% acid protease, solid/liquid ratio 1:35, ultrasonic 25min, 200W. Extraction rate of soluble dietary fiber of pleurotus eryngii was 12.52%±0.22%. Soluble dietary fiber of pleurotus eryngii was characterized by higher ability to scavenge ·OH, ·O₂⁻ and DPPH. The scavenging ability increased with higher concentrations. The scavenging rate of hydroxyl free radicals at 0.6mg/mL was 76.22%. The scavenging rate of superoxide anion free radicals at 0.7mg/mL was 74.18%. The scavenging rate of DPPH free radicals at 0.6mg/mL was 76.15%. The scavenging rate of nitrite ion at 0.7mg/mL was 62.70%. But all of the scavenging rates were lower than vitamin C.

Key words: pleurotus eryngii; ultrasonic; enzymic method; soluble dietary fiber; antioxidant activity

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)10-0168-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.10.026

膳食纤维是指不能被人体内源酶消化的非淀粉多糖及木质素等植物性成分总称^[1],包括纤维素、半纤维素、木质素、果胶等,还包括蜡质、角质、软木质等其他少量组成成分。根据膳食纤维溶解性,分为可溶性膳食纤维(Soluble Dietary Fiber, SDF)和不溶性膳食纤维(Insoluble Dietary Fiber, IDF)两类。膳食纤维虽不能提供能量,但对预防疾病和保障人体健康

起着重要作用,是理想的功能性保健食品原料,被医学界、营养界专家称为继糖类、蛋白质、脂肪、维生素、矿物质和水之后的“第七大营养素”^[2]。

杏鲍菇是近年来开发栽培成功的集食用、药用、食疗于一体的珍稀食用菌新品种。杏鲍菇子实体营养丰富,含蛋白质、氨基酸、矿物质、维生素等^[3-5],具有杏仁和鲍鱼香味,故称杏鲍菇。杏鲍菇中可溶性膳

收稿日期: 2014-08-14

作者简介: 苗敬芝(1964-),女,本科,教授,研究方向:食品生物技术。

基金项目: 国家科技富民强县专项行动计划项目(BN2011209)。

食纤维含量丰富,有利于双歧杆菌等有益菌的生长与繁殖,可改善肠胃功能,具有降血糖、降血脂、降低胆固醇、抗氧化抗衰老、增强机体免疫力等功效^[6-7]。可溶性膳食纤维提取方法常用的有酸法、碱法、酶法、微波法和超声波法等^[8-10],但目前鲜见从杏鲍菇中提取可溶性膳食纤维的研究报道。本实验以杏鲍菇为原料,采用超声协同酶法提取杏鲍菇中可溶性膳食纤维,探讨杏鲍菇中可溶性膳食纤维提取工艺条件,研究其抗氧化活性,为杏鲍菇的综合开发利用提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

杏鲍菇 徐州市七里沟农贸市场;酸性纤维素酶活力(40000U/g)、酸性蛋白酶活力(50000U/g) 上海丹尼悦生物科技有限公司;柠檬酸、柠檬酸钠、亚硝酸钠、对氨基苯磺酸、盐酸萘乙二胺、硫酸亚铁、邻苯三酚、抗坏血酸、水杨酸等 均为国产分析纯试剂;1,1-二苯基-2-苦味肼基自由基 国药集团化学试剂有限公司。

HH-4型数显恒温水浴锅 上海梅香仪器有限公司;EL204型电子天平 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;PHS-3C精密pH计 雷磁仪器厂;SHB-III S循环水式多用真空泵 郑州长城科工贸有限公司;722可见分光光度计 上海精密科学仪器有限公司;TU-1810紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司。

1.2 实验方法

1.2.1 超声协同酶法提取杏鲍菇中可溶性膳食纤维

1.2.1.1 工艺流程 杏鲍菇→洗净→切片→烘干→粉碎,过筛→称取杏鲍菇样品→按一定料液比加柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液→加酸性纤维素酶和酸性蛋白酶→超声→过滤,取滤液,醇沉→过滤→滤渣干燥,称重。

1.2.1.2 操作要点 杏鲍菇清洗,切片,60℃烘干,粉碎,过60目筛,备用。准确称取杏鲍菇样品1g于50mL烧杯中,按一定料液比加柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液调节pH4.8,加酸性纤维素酶和酸性蛋白酶,超声,真空过滤,取滤液,加入4倍体积95%乙醇静置12h,过滤,滤渣用78%乙醇洗涤,于70℃烘箱中干燥至恒重,称量得SDF。

$$\text{SDF提取率}(\%) = \frac{\text{提取的SDF质量}(\text{g})}{\text{杏鲍菇样品质量}(\text{g})} \times 100$$

1.2.2 超声协同酶法单因素实验

1.2.2.1 酸性纤维素酶加酶量对提取率影响 分别选择酸性纤维素酶1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0%,料液比1:30,调节pH4.8,酸性蛋白酶1.5%,超声功率150W,时间10min,测定杏鲍菇SDF提取率。

1.2.2.2 酸性蛋白酶加酶量对提取率影响 分别选择酸性蛋白酶1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0%,料液比1:30,调节pH4.8,酸性纤维素酶1.5%,超声功率150W,时间10min,测定杏鲍菇SDF提取率。

1.2.2.3 料液比对提取率影响 分别选择料液比1:20、1:25、1:30、1:35、1:40,调节pH4.8,酸性纤维素酶1.5%,酸性蛋白酶2.0%,超声功率150W,时间

10min,测定杏鲍菇SDF提取率。

1.2.2.4 超声时间对提取率影响 分别选择超声时间10、15、20、25、30min,料液比1:30,调节pH4.8,酸性纤维素酶1.5%,酸性蛋白酶2.0%,测定杏鲍菇SDF提取率。

1.2.2.5 超声功率对提取率影响 分别选择超声功率150、175、200、225、250W,料液比1:30,调节pH4.8,酸性纤维素酶1.5%,酸性蛋白酶2.0%,时间10min,测定杏鲍菇SDF提取率。

1.2.3 超声协同酶法正交实验 在单因素的基础上,为考察酸性纤维素酶和酸性蛋白酶加酶量、超声时间、超声功率、料液比四因素的综合效应对可溶性膳食纤维提取率的影响,确立四因素三水平的正交实验因素水平,见表1。

表1 超声协同酶法提取正交实验因素水平表
Table 1 The factors and levels of orthogonal test of ultrasonic-enzymatic method

水平	因素			
	A 酸性纤维素酶+酸性蛋白酶(%)	B 料液比	C 时间(min)	D 功率(W)
1	1.5+3.0	1:30	20	175
2	2.0+2.5	1:35	25	200
3	2.5+2.0	1:40	30	225

1.2.4 杏鲍菇中可溶性膳食纤维抗氧化活性实验

1.2.4.1 •OH清除作用测定^[11]根据Fenton反应体系模型,在反应体系中加入具有清除•OH的物质,与水杨酸竞争•OH,使有色物质生成量减少。在相同体积反应体系中加入不同浓度的杏鲍菇可溶性膳食纤维溶液,用蒸馏水做空白实验,在510nm处测定吸光度,计算出不同浓度杏鲍菇可溶性膳食纤维溶液清除•OH的能力。以相同浓度V_c作对比。

$$\text{清除率}P(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_3}\right) \times 100$$

式中,A₁:0.5mL水杨酸-乙醇+1.0mL样液+0.5mL Fe²⁺+5.0mL H₂O₂;A₂:0.5mL水杨酸-乙醇+1.0mL样液+0.5mL蒸馏水+5.0mL H₂O₂;A₃:0.5mL水杨酸-乙醇+1.0mL蒸馏水+0.5mL Fe²⁺+5.0mL H₂O₂。

1.2.4.2 •O₂清除作用测定^[12] 采用邻苯三酚自氧化法测定,取0.05mol/L Tris-HCl缓冲液4.0mL,于25℃水浴中保温20min,分别加入不同质量浓度1mL样液和1mL 25mmol/L邻苯三酚溶液,混匀于25℃水浴中反应5min,加入8%的HCl 100μL终止反应,325nm处测定吸光度(A)。用蒸馏水做空白实验。以相同浓度V_c作对比。

$$\text{清除率}P(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_3}\right) \times 100$$

式中,A₁:4mL Tris-HCl+1mL样液+2mL邻苯三酚;A₂:4mL Tris-HCl+1mL样液+2mL蒸馏水;A₃:4mL Tris-HCl+1mL蒸馏水+2mL邻苯三酚。

1.2.4.3 DPPH清除作用测定^[13] 取不同质量浓度样品溶液4mL于试管中,依次加入2mL 0.2mmol/L DPPH溶液,25℃水浴中反应20min,在517nm处测定吸光度

(A₁)。以蒸馏水做空白实验。以相同浓度V_C作对比。

$$\text{清除率}P(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_3}\right) \times 100$$

式中, A₁: 4mL样液+2mL DPPH; A₂: 4mL样液+2mL 95%的乙醇; A₃: 4mL蒸馏水+2mL DPPH。

1.2.4.4 NO₂⁻清除作用测定^[14] 精密吸取10μg/mL亚硝酸钠溶液0.0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9mL于50mL容量瓶中,分别加入4g/L对氨基苯磺酸溶液2.0mL,混匀,静置5min,再加入2g/L盐酸萘乙二胺溶液1mL,加水至刻度,混匀,静置15min,在波长538nm处测定吸光度,绘制标准曲线。

吸取1mL样品液,加入10μg/mL的亚硝酸钠溶液1.0mL,以相同质量浓度V_C溶液做对比,计算NO₂⁻量及样品对NO₂⁻的清除率。

$$\text{NO}_2^- \text{清除率}(\%) = (\rho - \rho_0) / \rho \times 100$$

式中, ρ: 未加入样品液前由标准曲线计算得到的NO₂⁻的量(μg/mL); ρ₀: 加入样品液后由标准曲线计算得到的NO₂⁻的量(μg/mL)。

1.2.5 数据处理 采用Excel 2010软件对数据进行作图和统计分析,所有数据用平均数±标准差(x±s)表示。

2 结果与分析

2.1 单因素实验

2.1.1 酸性纤维素酶加酶量对提取率影响 由图1可知,可溶性膳食纤维提取率随着酸性纤维素酶加酶量的增加而提高,当酸性纤维素酶为2.0%时,提取率最大为7.90%,后随着加酶量的增加,提取率逐渐降低,这表明酶与底物之间存在一个适宜的比例,因此酸性纤维素酶2.0%时为最佳。

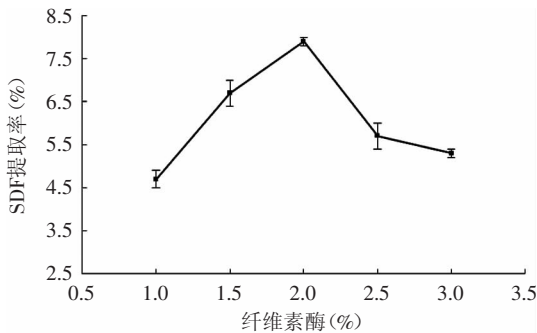


图1 酸性纤维素酶加酶量对可溶性膳食纤维提取率的影响
Fig.1 Effect of acid cellulase volume on extraction of SDF

2.1.2 酸性蛋白酶加酶量对提取率影响 由图2可知,随着酸性蛋白酶加酶量的增加可溶性膳食纤维提取率提高,当酸性蛋白酶2.5%时,达到最高为7.99%,后随着加酶量的增加,提取率降低,说明加酶量较低时,酶解不完全,加酶量较高时,酶与底物接触面积过剩,反而降低了反应速度,提取率降低,故酸性蛋白酶2.5%时为最佳。

2.1.3 料液比对提取率影响 由图3可知,随着料液比增加,提取率逐渐增高,当料液比为1:35时,达到最高为8.27%,后随着料液比的增加,提取率降低,说明酶和超声波要有合适的作用空间破坏细胞,使部

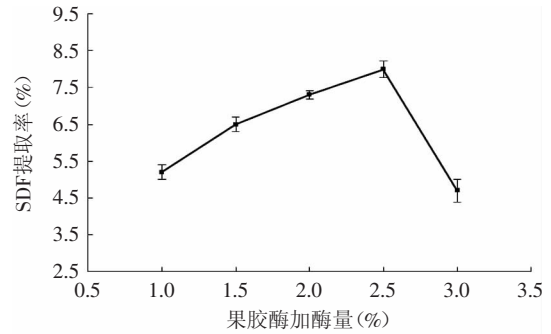


图2 酸性蛋白酶加酶量对可溶性膳食纤维提取率的影响
Fig.2 Effect of acid proteinase volume on extraction of SDF

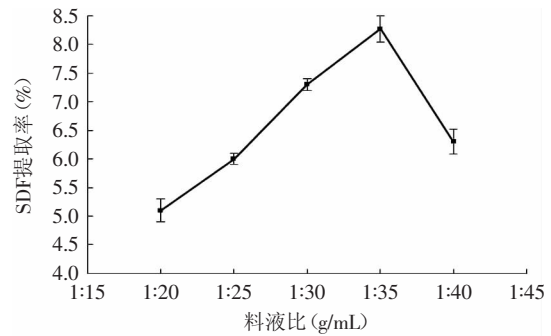


图3 料液比对可溶性膳食纤维提取率的影响
Fig.3 Effect of solid/liquid ratio on extraction of SDF

分IDF转化为SDF,当料液比较低时,IDF转化为SDF较少,当料液比较大时,部分SDF溶解损失,故料液比1:35时为最佳提取条件。

2.1.4 超声时间对提取率影响 由图4可得知,提取率随着超声时间的增加而提高,当时间为25min时,达到最大为9.26%,后随着时间的延长,提取率降低,时间短,大分子物质纤维素和蛋白质水解不完全,SDF提取率较低,时间太长,部分半纤维素水解,故最佳超声时间为25min。

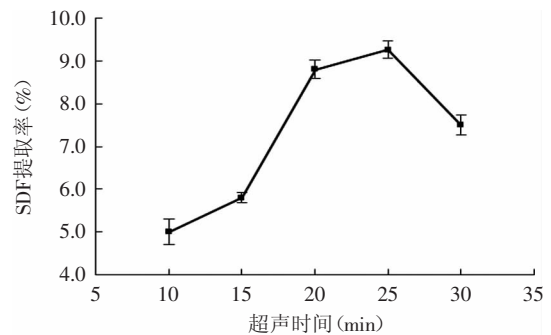


图4 超声时间对可溶性膳食纤维提取率的影响
Fig.4 Effect of ultrasonic time on extraction of SDF

2.1.5 超声功率对提取率影响 由图5可知,提取率随着超声功率的增加而提高,当超声功率为200W时,达到最高为9.64%,后随着功率增加,提取率降低,开始随着超声波机械剪切和空化效应的增强,SDF提取率提高,功率超过200W时部分半纤维素结构破坏,故超声功率200W时为最佳提取条件。

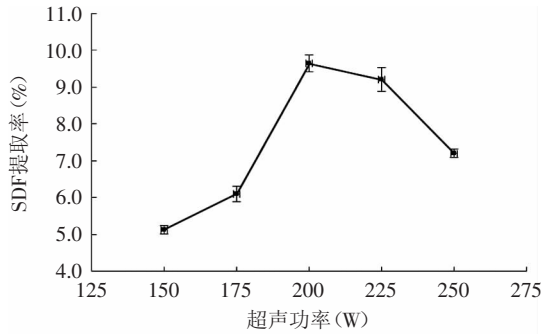


图5 超声功率对可溶性膳食纤维提取率的影响

Fig.5 Effect of ultrasonic power on extraction of SDF

2.2 超声协同酶法工艺条件优化

通过正交实验,优化超声协同酶法提取杏鲍菇中可溶性膳食纤维工艺条件,结果见表2。

表2 超声协同酶法提取杏鲍菇中可溶性膳食纤维正交实验结果

Table 2 Results of orthogonal test of ultrasonic-enzymatic method

实验号	A	B	C	D	SDF提取率 (%)
1	1	1	1	1	8.68
2	1	2	2	2	12.42
3	1	3	3	3	10.23
4	2	1	2	3	11.01
5	2	2	3	1	9.27
6	2	3	1	2	8.73
7	3	1	3	2	10.88
8	3	2	1	3	9.66
9	3	3	2	1	9.52
K ₁	31.33	30.57	27.07	27.47	
K ₂	29.01	31.35	32.95	32.31	
K ₃	30.06	28.48	30.38	31.03	
极差R	2.32	2.87	5.88	4.84	
因素主→次	C>D>B>A				
最佳组合	A ₁ B ₂ C ₂ D ₂				

由表2可知,各因素对杏鲍菇可溶性膳食纤维提取率的影响顺序为C>D>B>A,即超声时间>超声功率>料液比>加酶量。最佳组合是A₁B₂C₂D₂,按最佳组合,即酸性纤维素酶1.5%+酸性蛋白酶3.0%、料液比1:35、时间25min、功率200W条件下重复实验3次,得杏鲍菇中可溶性膳食纤维提取率为12.52%±0.22%。

2.3 杏鲍菇中可溶性膳食纤维抗氧化活性实验结果

2.3.1 杏鲍菇中可溶性膳食纤维对·OH的清除效果

如图6可知,杏鲍菇中可溶性膳食纤维对·OH清除效果比较明显,在0.1~0.9mg/mL质量浓度范围内,清除率随可溶性膳食纤维浓度增大而升高,当浓度为0.6mg/mL时清除率为76.22%,之后清除率变化缓慢,但均低于相同浓度V_C对·OH清除率。

2.3.2 杏鲍菇中可溶性膳食纤维对·O₂⁻的清除效果

由图7可知,杏鲍菇中可溶性膳食纤维对·O₂⁻清除效果较明显,在0.1~0.9mg/mL浓度范围内,清除率随可溶性膳食纤维浓度增大而升高,当浓度为0.7mg/mL

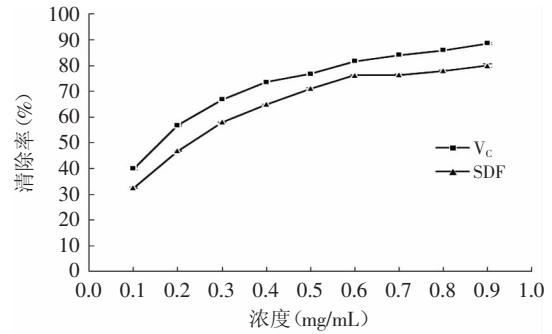


图6 杏鲍菇中可溶性膳食纤维对·OH清除率影响

Fig.6 Effect of SDF on ·OH scavenging rate

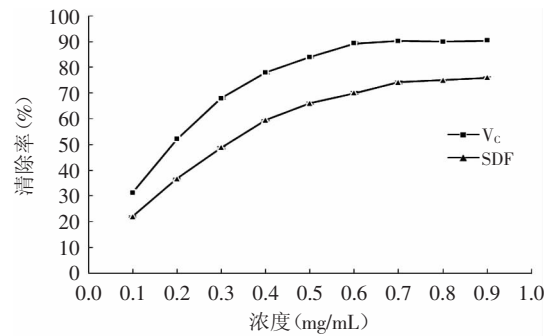


图7 杏鲍菇中可溶性膳食纤维对·O₂⁻清除率影响

Fig.7 Effect of SDF on ·O₂⁻ scavenging rate

时清除率为74.18%,但均低于同浓度的V_C清除率。

2.3.3 杏鲍菇中可溶性膳食纤维对DPPH的清除效果 由图8可知,杏鲍菇中可溶性膳食纤维对DPPH有明显清除效果,一定浓度范围内,清除率随可溶性膳食纤维浓度增大而升高,当浓度为0.6mg/mL时清除率为76.15%,但均明显低于V_C清除率。

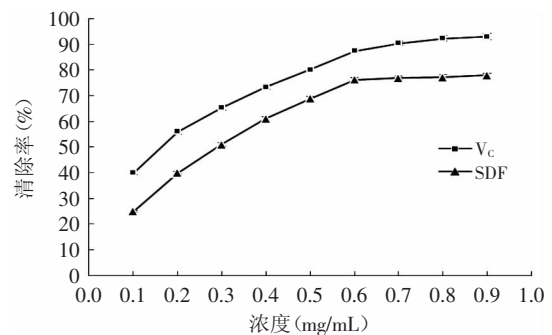


图8 杏鲍菇中可溶性膳食纤维对DPPH清除率影响

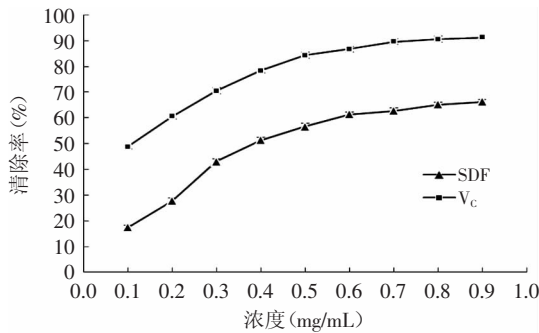
Fig.8 Effect of SDF on DPPH scavenging rate

2.3.4 杏鲍菇中可溶性膳食纤维对NO₂⁻的清除效果

由图9可知,杏鲍菇中可溶性膳食纤维对NO₂⁻清除效果较明显,在一定浓度范围内,清除率随可溶性膳食纤维浓度增大而升高,当浓度为0.7mg/mL时清除率为62.70%,但均明显低于V_C清除率。

3 结论

3.1 通过正交实验,优化提取条件,超声协同酶法最佳工艺条件为酸性纤维素酶1.5%,酸性蛋白酶3.0%,时间25min,功率200W,料液比1:35,杏鲍菇中

图9 杏鲍菇中可溶性膳食纤维对NO₂⁻清除率影响Fig.9 Scavenging effect of SDF on NO₂⁻

可溶性膳食纤维提取率为12.52%±0.22%。

3.2 杏鲍菇中可溶性膳食纤维对·OH、·O₂⁻和DPPH均表现出较强的清除力,在一定浓度范围内,清除率随浓度增大而升高,·OH 0.6mg/mL清除率为76.22%,·O₂⁻ 0.7mg/mL清除率为74.18%,DPPH 0.6mg/mL清除率为76.15%,其对NO₂⁻有一定的清除作用,0.7mg/mL清除率为62.70%,但其清除能力均低于V_c。

3.3 从杏鲍菇中提取的可溶性膳食纤维具有良好的抗氧化活性,可作为一种新的天然绿色食品抗氧化剂,添加到乳制品、饮料、面包等食品中,既增加了产品的保健功能,又提高了杏鲍菇的附加值,具有广阔的开发前景。

参考文献

[1] MECA G, MENEGHELLI G, RITIENI A, et al. Influence of different soluble dietary fibers on the bioaccessibility of the minor Fusarium mycotoxin beauvericin[J]. Food and Chemical Toxicology, 2012, 50(5):1362-1368.
[2] SYNITSYA A, MÍČKOVÁ K, SYNITSYA A, et al. Glucans

from fruit bodies of cultivated mushrooms Pleurotus ostreatus and Pleurotus eryngii: Structure and potential prebiotic activity[J]. Carbohydrate Polymers, 2009, 76(4):548-556.

[3] 李树锦,李海强,孙国娟,等. 杏鲍菇多糖研究进展[J]. 现代农业科技, 2012(4):43-45.

[4] 凡军民,谢春芹,史俊,等. 杏鲍菇多糖提取工艺条件的研究[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(6):251-253.

[5] 熊文飞,陈日春,宋洪波. 酶解法提取杏鲍菇有效成分工艺的优化[J]. 福建农业大学学报:自然科学版, 2012, 41(4):540-545.

[6] 张化朋,张静,刘阿娟,等. 杏鲍菇营养成分及生物活性物质分析[J]. 营养学报, 2013, 35(3):307-309.

[7] XIAONAN L, BO Z, RONGSHAN L, et al. Extraction and antioxidant activities of intracellular polysaccharide from pleurotus sp. mycelium[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2010, 47(2):116-119.

[8] 吴素蕊,郑淑彦,桑兰,等. 金针菇脚可溶性膳食纤维提取工艺研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(11):300-303.

[9] 李小平,魏朝阳,张薇,等. 纤维素酶解提高红薯水溶性膳食纤维含量的研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(11):198-201.

[10] 黄群,杨万根,余佶,等. 超声波辅助碱法提取杜仲籽粕可溶性膳食纤维的工艺优化[J]. 食品科学, 2013, 34(22):70-74.

[11] 何念武,杨兴斌,田灵敏,等. 黄瓜多糖的体外抗氧化活性[J]. 食品科学, 2011, 32(19):70-74.

[12] 王雅,苗敬芝,董玉玮. 超声波协同复合酶法提取杏鲍菇多糖及抗氧化活性的研究[J]. 食品工业, 2014, 35(3):134-137.

[13] 苗敬芝,冯金和,董玉玮. 超声结合酶法提取生姜中水溶性膳食纤维及其功能性研究[J]. 食品科学, 2011, 32(24):120-125.

[14] 张俊生,陈莉华,朱士龙,等. 节节草多糖的体外抗氧化活性[J]. 食品科学, 2013, 34(5):86-89.

(上接第167页)

chromatographic column[J]. Advances in Chemical Engineering, 2013, 781:1508-1512.

[8] 吴燕燕,田倩,尚军,等. 合浦珠母贝抗氧化肽的性质及应用研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(11):123-126, 130.

[9] 刘秋风,吴成业,苏永昌,等. 龙须菜中硫琼脂的体外抗氧化评价及降血糖、降血脂活性的动物实验[J]. 南方水产科学, 2013, 9(3):57-66.

[10] Rajapakse N, Mendis E, Jung W K, et al. Purification of a radical scavenging peptide from fermented mussel sauce and its antioxidant properties[J]. Food Research International, 2005, 38:175-182.

[11] Jia J, Ma H, Zhao W, et al. The use of ultrasound for enzymatic preparation of ACE-inhibitory peptides from wheat germ protein[J]. Food Chemistry, 2010, 119(1):336-342.

[12] Liu D, Li X N, Qin Z J, et al. Study on the processing technique of enzyme hydrolysis Eupolyphaga sinensis peptide and immunoregulatory effect[J]. Journal of Chinese medicinal materials, 2012, 35(9):1382-1385.

[13] Damm M, Nussold C, Cantillo D, et al. Can electromagnetic fields influence the structure and enzymatic digest of proteins/A critical evaluation of microwave-assisted proteomics protocols[J]. Journal of Proteomics, 2012, 75(18):5533-5543.

[14] 尚军. 合浦珠母贝肉寡肽的制备及其抗氧化活性研究[D]. 湛江:广东海洋大学, 2010.

[15] 李菊芳,魏芳,陈洪,等. 微波辅助分步酶解菜籽粕制备菜籽多肽的研究[J]. 中国油脂, 2010(3):18-22.

[16] Hua L, Low T Y, Sze S K. Microwave-assisted specific chemical digestion for rapid protein identification[J]. Proteomics, 2006, 6(2):586-591.

[17] F Javier Izquierdo, Elena Penas, M Luisa Baeza, et al. Effects of combined microwave and enzymatic treatments on the hydrolysis and immunoreactivity of dairy whey proteins[J]. International Dairy Journal, 2008(18):918-922.

[18] 李菊芳,董绪燕,魏芳,等. 微波/超声波及固定化酶技术在食品蛋白高效水解中的应用研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2009, 11(6):86-92.