

响应面法优化新疆奶花芸豆 α -淀粉酶抑制剂的提取工艺

于雪慧, 田童童, 张 建*
(石河子大学食品学院, 新疆石河子 832003)

摘要: 利用响应面法研究新疆奶花芸豆中 α -淀粉酶 (α -AI) 抑制剂的提取工艺。在单因素实验的基础上, 选取浸提液体积、pH、浸提时间和浸提温度作为考察因素, 以 α -AI 抑制率作为评价指标, 利用 Box-Behnken 中心组合方法设计四因素三水平响应面分析法, 建立数学模型, 从而确定最佳提取工艺为: 准确称取 5 g 样品, 添加浸提液体积 200 mL, 在 pH3.5、43 °C 下浸提 2.3 h, 此条件下 α -AI 的抑制率达到 85.30%, 与理论预测值 (87.82%) 基本相符。结果表明, 优化得到的提取工艺稳定可行, 为进一步研究和开发利用奶花芸豆奠定了基础。

关键词: 奶花芸豆, α -淀粉酶抑制剂, 响应面分析

Optimization of extraction of alpha-amylase inhibitor from *Phaseolus vulgaris* by response surface methodology

YU Xue-hui, TIAN Tong-tong, ZHANG Jian*

(Food College of Shihezi University, Shihezi 832003, China)

Abstract: Response surface methodology was applied to optimize the extraction conditions of alpha-amylase inhibitor from *Phaseolus vulgaris*. Based on the results of the single factor experiments, the effects of four independent variables (volume of extraction solvent, extraction pH value, extraction time and extraction temperature) on the α -AI inhibition rate were investigated by Box-Behnken experimental design of four factors and three levels. A quadratic polynomial regression equation of the forecasting model was set up. And the optimal extraction parameters to obtain the highest inhibition rate were as follows: the solvent volume was 200 mL, pH3.5, 43 °C and 2.3 h for extraction per time. The inhibition rate under the optimum conditions was found to be 85.30%, which agreed with the predicted value of 87.82%. Results showed that the optimized method was stable and reliable. It could lay the foundation for the research and development of the *Phaseolus vulgaris*.

Key words: *Phaseolus vulgaris*; α -amylase inhibitor; response surface method

中图分类号: TS239

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2017)06-0223-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2017.06.034

α -淀粉酶抑制剂 (α -Amylase Inhibitor, α -AI) 是一种糖苷水解酶抑制剂^[1], 它主要通过抑制唾液及胰 α -淀粉酶的活性, 来阻碍人体所食用的淀粉及其它碳水化合物消化和吸收, 在不影响其他营养物质吸收和代谢的同时, 减少糖分的摄取, 降低脂肪的合成, 起到降糖、减肥的作用。天然的 α -淀粉酶抑制剂主要存在于植物种子的胚乳中, 目前已经从小麦^[2]、豆类^[3-4]、野生苋属^[5]、绿茶^[6]等植物中分离得到 α -淀粉酶抑制剂, 并且在国外已将其作为减肥保健食品进行应用。

奶花芸豆 (*Phaseolus vulgaris*) 属豆科菜豆属一年生草本植物, 种皮呈乳白光亮, 上有鲜红色斑纹^[7]。在我国云、贵、川山区及东北、河北、新疆等地有较大面积种植。其中以新疆生产建设兵团第十师北屯市面

积最大, 现已发展成为新疆的特色豆类农产品^[8]。田童童^[9]等人从奶花芸豆中分离纯化出了铁蛋白; 李慕春^[10]等人利用双波长分光光度法测定出奶花芸豆的总黄酮含量为 2.79 mg/g, 且对奶花芸豆发芽过程中抗氧化活性的变化进行了初步的探索^[11]; 赵林同等人也采用 ICP-OES 法测定出每 100 g 芸豆含蛋白质 23.1 g, 脂肪 1.3 g, 碳水化合物 56.9 g, 钙 76 mg 及丰富的 B 族维生素^[12, 13]。这种难得的高钾、高镁、低钠食品^[14], 目前只是作为一种配料和辅助食品, 精细加工产品少, 附加值低, 价格受市场供求变化大^[15], 不能保证种植农户稳定的收益, 而北屯市 2013 年奶花芸豆的产量已达 4909.61 t, 如何充分利用奶花芸豆提高其附加值, 已成为奶花芸豆产业发展中亟待解决的问题。为此, 本文主要从新疆奶花芸豆中提取

收稿日期: 2016-08-29

作者简介: 于雪慧 (1993-) 女, 硕士研究生, 主要从事食品生物化学方面的研究, E-mail: 417950977@qq.com。

* 通讯作者: 张建 (1979-) 男, 博士, 副教授, 主要从事食品生物化学方面的研究, E-mail: zhangjian0411@163.com。

α -淀粉酶抑制剂, 以期为奶花芸豆新产品的研究、开发提供有益的数据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

奶花芸豆(芸豆2号) 新疆生产建设兵团第十师农业科学研究所提供; α -淀粉酶(3700 U/g) 北京奥博星生物技术有限公司, 生物纯; 可溶性淀粉 天津市永晟精细化工有限公司, 分析纯; 3,5-二硝基水杨酸(dinitrosalicylic acid, DNS) 上海蓝季科技发展有限公司, 分析纯。

ZXR-7080 全自动新型鼓风干燥箱 上海智城分析仪器制造有限公司; RHP-600 高速多功能粉碎机 浙江荣浩工贸有限公司; PHS-3C 型 pH 计 上海仪电科学仪器股份有限公司; DK-8D 数显恒温水浴锅 江苏金坛市医疗仪器厂; BL-206-II 高速冷冻离心机 上海安亭科技仪器厂; UVmini-1240 紫外可见分光光度计 日本岛津公司。

1.2 实验方法

1.2.1 奶花芸豆中 α -AI 提取物的制备

1.2.1.1 奶花芸豆粉的制备 将购买的奶花芸豆筛选除杂, 在室温下浸泡 12 h 后去皮, 在 40 °C 烘箱中干燥后重复粉碎, 过 60 目筛得到奶花芸豆粉, 装袋保存至 4 °C 冰箱内备用。

1.2.1.2 α -AI 的提取方法 称取 5 g 的样品, 加入一定量蒸馏水, 恒温下混合均匀后调节提取液的 pH, 于适当的温度下水浴浸提一定的时间后, 将提取液于 10000 r/min、4 °C 的条件下离心 15 min, 上清液即为 α -AI 粗提液。用 DNS 比色法^[16] 测定其中 α -AI 的含量。

1.2.2 葡萄糖标准曲线的制作 取 6 支试管, 按表 1 进行编号并加入试剂, 混匀后沸水浴反应 5 min 后, 迅速流水冷却, 加入 10 mL 蒸馏水稀释, 以管 1 为空白对照, 在 535 nm 下测各管的吸光值。

表 1 标准曲线的制备

Table 1 The preparation of standard curve

	1	2	3	4	5	6
3 mg/mL 葡萄糖标准溶液(mL)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
蒸馏水(mL)	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2	0
DNS(mL)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0

1.2.3 抑制率的测定 α -淀粉酶液 0.5 mL, 加入等量的样品提取液, 在 37 °C 下水浴保存 10 min, 加入 2% 淀粉溶液 2 mL, 37 °C 水浴保存 5 min 后, 立即加入 0.5 mL 40% NaOH 溶液终止反应, 再加入 1 mL 的 DNS, 沸水浴 5 min, 冷却至室温, 在 535 nm 波长下测定吸光度。按照下列公式计算样品提取液中 α -AI 的抑制百分率。

$$\alpha\text{-AI 抑制率}(\%) = \frac{(A_2 - A_0) - (A_1 - A_0)}{(A_2 - A_0)} \times 100$$

式中: A_0 为空白对照液的吸光度值; A_1 为含样品溶液的吸光度值; A_2 为正常酶溶液反应的吸光度值。

1.2.4 α -淀粉酶抑制活力定义 α -淀粉酶液

0.5 mL, 加入 2 mL 不同浓度的淀粉溶液, 在 37 °C 下水浴反应 10 min 后立即加入 0.5 mL 40% NaOH 溶液终止反应, 再加入 1 mL 的 DNS, 沸水浴 5 min, 冷却至室温, 以蒸馏水为空白对照, 在 535 nm 波长下测定吸光值。

抑制活力定义: 在相同条件下, 1 mL 抑制液抑制 α -淀粉酶消耗淀粉的量(mg), 为一个单位抑制活力 U。比活力 U/mg(蛋白) 定义为单位酶蛋白具有的酶活力单位。计算公式如下:

$$U = \frac{(A_2 - A_1)}{a \times V}$$

式中: A_1 为含样品溶液的吸光度值; A_2 为正常酶溶液反应的吸光度值; V 为加入抑制剂的毫升数; a 为所得淀粉浓度标准曲线的截距。

1.2.5 单因素实验设计

1.2.5.1 浸提液体积对 α -AI 抑制活力的影响 准确称取 5 g 样品, 固定 pH 为 4.0、浸提温度为 40 °C、浸提时间 3.0 h, 研究浸提液体积为 50、100、150、200、250、300 mL 时 α -AI 的抑制率及比活力, 重复 3 次实验。

1.2.5.2 pH 对 α -AI 抑制活力的影响 准确称取 5 g 样品, 固定浸提液体积为 200 mL、浸提温度为 40 °C、浸提时间 3.0 h, 研究 pH 为 2.5、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 时 α -AI 的抑制率及比活力, 重复 3 次实验。

1.2.5.3 浸提时间对 α -AI 抑制活力的影响 准确称取 5 g 样品, 固定浸提液体积为 200 mL、pH 为 4.0、浸提温度为 40 °C, 研究浸提时间为 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 h 时 α -AI 的抑制率及比活力, 重复 3 次实验。

1.2.5.4 浸提温度对 α -AI 抑制活力的影响 准确称取 5 g 样品, 固定浸提液体积为 200 mL、pH 为 4.0、浸提时间 3.0 h, 研究浸提温度为 20、30、40、50、60、70 °C 时 α -AI 的抑制率及比活力, 重复 3 次实验。

1.2.6 响应面实验设计 在单因素实验的基础上, 采用 Design-Expert 软件应用响应面分析法^[17], 选用 Box-Behnken 通过实验数据拟合响应面模型, 以浸提液体积(A), 浸提 pH(B), 浸提时间(C), 浸提温度(D) 为主要影响因素, 以 α -淀粉酶抑制率(Y) 为响应值, 选用 Factors = 4, Runs = 29 的中心组合设计, 确定实验运行顺序, 进行实验并收集数据, 分析实验数据, 优化因素的设置水平, 最终确定最佳提取条件。实验因素水平见表 2。

表 2 响应面实验的因素水平表

Table 2 Factors and levels of response surface experiment

因素	水平		
	-1	0	+1
A 浸提液体积(mL)	150	200	250
B pH	3.5	4.0	4.5
C 时间(h)	1.5	2.0	2.5
D 温度(°C)	35	40	45

1.3 数据处理

实验中每个处理重复三次, 采用 Design-Expert 软件对数据进行分析, 根据 Box-Behnken 中心组合

设计实验,并对结果进行数据分析,应用 Origin 8.0 软件作图。

2 结果与分析

2.1 DNS 比色法测定条件的确定

通过对 DNS 比色测定条件多次设计实验研究,得出最佳 DNS 比色法测定条件为:检测波长 535 nm,添加 1.0 mL 显色剂,沸水浴反应 5 min 后检测效果最佳。

2.2 葡萄糖标准曲线的制作

以葡萄糖标准溶液质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制标准曲线,结果见图 1。

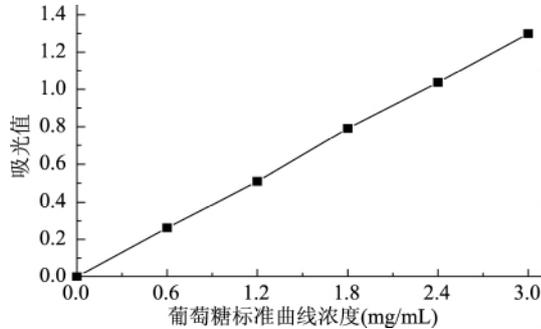


图 1 葡萄糖标准曲线

Fig.1 The standard curve of glucose

由图 1 可知,标准曲线回归方程为 $y = 0.4332x - 0.0005$,相关系数为 $R^2 = 0.9998$,表明葡萄糖的质量浓度与吸光度值在一定范围内 0.6~3.0 mg/mL 有良好的线性关系。

2.3 淀粉浓度标准曲线的制作

以淀粉浓度为横坐标,吸光度为纵坐标做标准曲线,如图 2 所示。

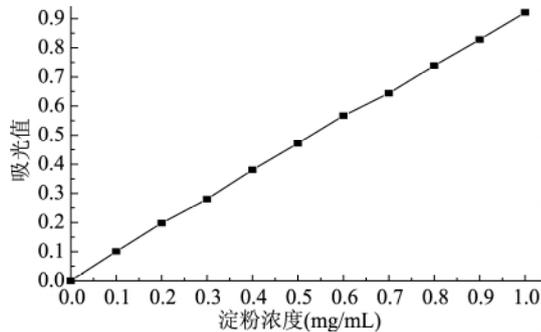


图 2 淀粉浓度标准曲线

Fig.2 The standard curve of starch concentration

由图 2 可知,淀粉浓度标准曲线回归方程为 $y = 0.9136x - 0.0096$,相关系数为 $R^2 = 0.9996$,表明淀粉的质量浓度与吸光度值在一定范围内 0.1~1.0 mg/mL 有良好的线性关系。且得出截距 $a = 0.9136$,比活力计算公式即为:

$$U = \frac{(A_2 - A_1)}{0.9136 \times V}$$

2.4 单因素实验结果与分析

2.4.1 不同浸提液体积对 α -AI 抑制活力的影响 从图 3 可以看出,随着浸提液体积不断的增大, α -AI 抑制率和比活力不断增加,因为在低的固液比

环境下,料液体系分散不均匀,不利于样品的充分溶解,所以此时 α -AI 提取率较低,进而导致反应检测的抑制率较低;当浸提液体积增加到 200 mL 以后,抑制活力不再有明显的变化,此时表明 α -AI 有效成分基本浸出。在实际生产过程中,对于浸提法,溶剂的用量至关重要。用量过少会导致浪费,且提取率低;用量过大不利于后期的浓缩纯化,综上所述,选取 200 mL 浸提液体积为最佳。

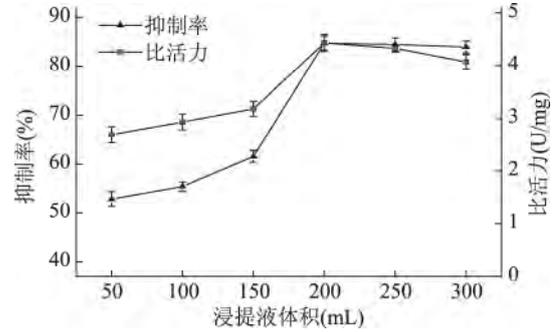


图 3 浸提液体积对 α -AI 抑制活力的影响

Fig.3 Effect of soaking liquid volume on the inhibition activity of α -AI

2.4.2 不同 pH 对 α -AI 抑制活力的影响 从图 4 可以看出,当 pH 小于 3.0 时,随着 pH 的增加 α -AI 抑制率及比活力明显上升;当 pH 在 3~4 时,随 pH 增加 α -AI 抑制率及比活力略有上升,但当 pH 大于 4.0 时 α -AI 抑制率及比活力有所下降。选用酸性溶液更容易使蛋白充分溶出,并且在酸性溶液浸提时样品澄清而透明,能除掉较多的杂蛋白。而在碱性条件下浸提时,溶液呈现黄色不透明状,同时当碱性过强时,容易发生 α -AI 抑制剂发生脱氨、脱羧等情况,引起脱赖反应而产生有毒物质,同时还会产生异味,造成 α -AI 抑制剂的损失,故选取 pH = 4.0 为最适浸提 pH。

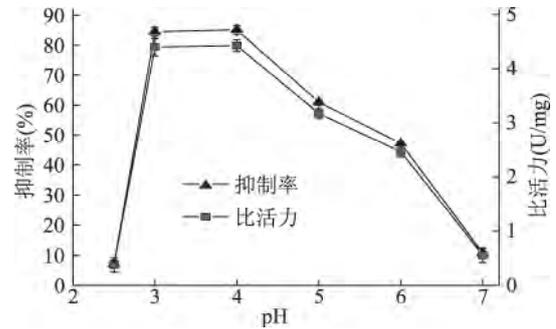


图 4 pH 对 α -AI 抑制活力的影响

Fig.4 Effect of pH on the inhibition activity of α -AI

2.4.3 不同浸提时间对 α -AI 抑制活力的影响 由图 5 可以看出,浸提时间从 0.5 h 到 2.0 h,抑制率及比活力明显上升,从 2.0 h 到 5.0 h 上升效果不明显,说明在 2.0 h 时,活性成分在细胞内外的浓度已达到平衡,从生产周期以及实验室设备考虑,应该降低提取成本,减少时间,故选取 2 h 为最佳浸提时间。

2.4.4 不同浸提温度对 α -AI 抑制活力的影响 由图 6 可以得出,当温度在 20~40 $^{\circ}\text{C}$ 之间时,浸提效果明显增高,40 $^{\circ}\text{C}$ 时抑制效果最好;而从 40~70 $^{\circ}\text{C}$,抑制率及比活力有所下降,但下降幅度不大且仍然具

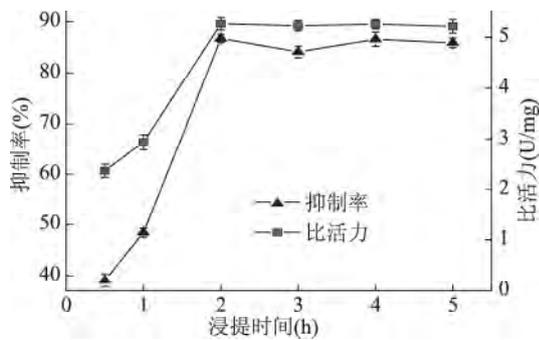
图5 浸提时间对 α -AI抑制活力的影响

Fig.5 Effect of extraction time on the inhibition activity of α -AI

有较高活性,这说明此抑制剂在高温条件没有发生变性,具有较好的热耐受性^[2]。从图6中可看出,适度的增加提取液的温度可以提高浸提效果,故本实验选取40℃为最佳浸提温度。

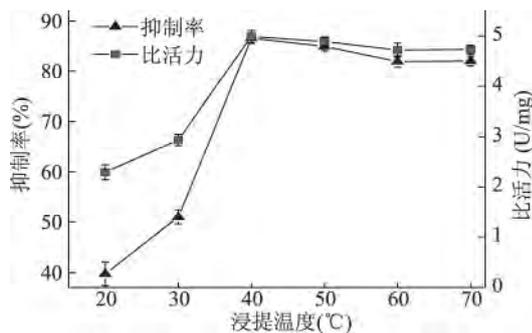
图6 浸提温度对 α -AI抑制活力的影响

Fig.6 Effect of extraction temperature on the inhibition activity of α -AI

2.5 响应面分析实验结果与分析

2.5.1 响应面分析实验设计方案 以浸提液体积(A)、pH(B)、浸提时间(C)、浸提温度(D)为主要影响因素,抑制率(Y)为响应值,进行响应面分析。响应面实验设计因素水平表2,中心组合设计实验及结果见表3,回归方程方差分析结果如表4。

2.5.2 回归方程的建立与检验 运用 Design-Expert 数据统计分析软件对表3实验结果进行多元回归拟合,拟合所得奶花芸豆 α -淀粉酶抑制率(Y)的多元二次回归方程如下:

$$Y = +94.54 - 0.69A + 3.07B + 3.60C + 0.40D + 2.37AB + 0.75AC + 1.75AD - 2.97BC - 0.79BD - 0.43CD - 6.81A^2 - 5.34B^2 - 4.57C^2 - 2.10D^2$$

对该回归模型及其系数进行显著性检验,结果见表4。

由表4可知,模型的F值为78.95, $p < 0.0001$,说明该模型极显著,可较好地描述各因素与响应值之间的真实关系,可以利用该回归方程确定最佳提取参数。失拟项在0.05水平上不显著($p = 0.1984$),说明残差均由随机误差引起。模型校正决定系数 $R^2_{Adj} = 0.9750$,说明模型能解释97.50%响应值的变化;模型的复相关系数为 $R^2 = 0.9875$,说明该模型与实际拟合较好,故适用于提取工艺条件的预测。其中模拟一次项B、C、D项、二次项 A^2 、 C^2 、 D^2 项及交互项AD、

表3 中心组合设计实验及结果

Table 3 Experimental design and results of central composite analysis

实验号	A	B	C	D	Y: 抑制率(%)
1	0	0	0	0	85.61
2	-1	-1	0	0	82.56
3	-1	+1	0	0	80.59
4	0	0	0	0	85.01
5	+1	0	0	+1	80.48
6	0	+1	-1	0	79.79
7	0	-1	0	-1	83.03
8	0	+1	0	+1	82.43
9	0	0	+1	-1	81.08
10	+1	0	0	-1	79.34
11	0	-1	-1	0	81.82
12	+1	0	+1	0	80.94
13	0	+1	+1	0	83.57
14	0	0	-1	-1	78.61
15	0	-1	+1	0	86.81
16	0	0	+1	+1	85.27
17	0	0	0	0	85.38
18	0	-1	0	+1	86.81
19	+1	0	-1	0	78.46
20	-1	0	-1	0	77.94
21	-1	0	+1	0	81.43
22	0	0	-1	+1	79.50
23	0	0	0	0	85.83
24	-1	0	0	-1	77.07
25	0	0	0	0	85.58
26	0	+1	0	-1	80.61
27	-1	0	0	+1	81.92
28	+1	-1	0	0	82.50
29	+1	+1	0	0	79.82

CD项对奶花芸豆抑制率值有极显著影响,而BD对奶花芸豆抑制率值有显著影响,其他因素不显著。

2.5.3 响应面分析法分析各因素间的相互作用结果 奶花芸豆 α -淀粉酶抑制剂提取回归优化响应曲面如图7所示。由图7可知,浸提液体积、pH、浸提温度和浸提时间四个因素之间两两相互作用对奶花芸豆 α -淀粉酶抑制剂的含量均呈现出显著的二次效应。结合方差分析表4中浸提液体积、浸提温度和浸提时间三个因素二次项的p值均小于0.01,表明各个因素之间的交互作用极显著。从图7c中可以看出浸提液体积与浸提温度对 α -AI抑制率的影响较明显,三维空间所绘的曲面较陡,说明浸提液体积与浸提温度的交互影响尤为显著,浸提时间与浸提温度的交互影响仅次于浸提液体积与浸提温度,如图7f所示。由图7e及方差分析表4可知pH与浸提温度之间的交互影响显著。由图7a、图7b和图7d可知,浸提液体积与pH、浸提液体积与浸提时间及pH与浸提时间之间的交互影响作用较小。

2.5.4 最优条件的确定及验证 利用 Design-Expert

表4 回归方程方差分析结果

Table 4 Variance analysis of regression equation

方差来源	平方和	自由度	方差	F 值	Pr > F	显著性
模型	215.74	14	15.41	78.95	<0.0001	**
A	7.5E-05	1	7.5E-05	0.00038427	0.9846	
B	23.30	1	23.30	119.36	<0.0001	**
C	44.01	1	44.01	225.47	<0.0001	**
D	23.16	1	23.16	118.65	<0.0001	**
AB	0.13	1	0.13	0.65	0.4351	
AC	0.26	1	0.26	1.31	0.2722	
AD	3.44	1	3.44	17.63	0.0009	**
BC	0.37	1	0.37	1.88	0.1924	
BD	0.96	1	0.96	4.92	0.0436	*
CD	2.72	1	2.72	13.95	0.0022	**
A ²	89.23	1	89.23	457.17	<0.0001	**
B ²	0.57	1	0.57	2.94	0.1082	
C ²	31.04	1	31.04	159.05	<0.0001	**
D ²	27.83	1	27.83	142.60	<0.0001	**
残差	2.73	14	0.20			
失拟项	2.35	10	0.24	2.47	0.1984	不显著
纯误差	0.38	4	0.10			
总离差	218.47	28				

注 “*”表示影响显著($p < 0.05$)，“**”表示影响极显著($p < 0.01$)。

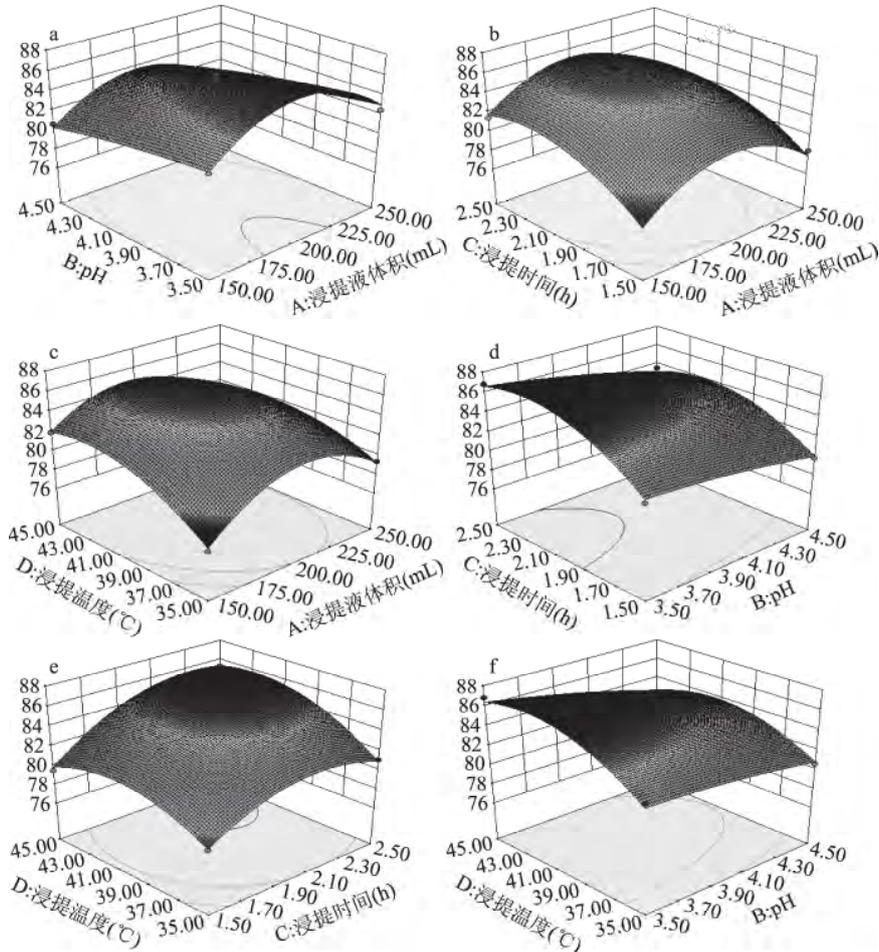


图7 奶花芸豆 α -淀粉酶抑制剂提取响应曲面图

Fig.7 The response surface on extraction alpha-amylase inhibitor of phaseolus vulgaris

软件对模型进行进一步分析,获得最优的提取条件:浸提液体积 196.44 mL, pH 3.5, 浸提时间 2.31 h, 浸提温度 42.97 °C。在此条件下奶花芸豆中 α -AI 抑制率的理论预测值为 87.82%。

在最佳的提取条件下在实验室进行验证实验控制浸提液体积为 200 mL, pH 为 3.5, 浸提时间 2.3 h。浸提温度 43 °C, 样品质量为 5 g。在此条件下进行三次重复实验,奶花芸豆中 α -AI 的抑制率达到 85.30%, 比活力为 5.13 U/mg, 与理论抑制率相差 2.87%。由此可见,响应面分析的优化结果与实际值较吻合,得到的提取工艺条件具有一定的应用价值。

3 结论

实验结果得到新疆奶花芸豆中 α -AI 的最优提取条件为:准确称取 5 g 样品,添加浸提液体积 200 mL, pH 3.5, 浸提时间 2.3 h, 浸提温度 43 °C。在此条件下奶花芸豆中 α -AI 的抑制率为 85.30%, 比活力为 5.13 U/mg。从本文的测定结果可知,来源于奶花芸豆的 α -AI 对 α -淀粉酶有很好的抑制作用,对奶花芸豆的研究、开发提供有益的数据。

参考文献

- [1]魏鹏娟,王鲁峰,徐晓云,等. α -淀粉酶蛋白类抑制剂的研究进展[J].食品科学,2011,32(9):312-318.
- [2]王文蒙,李楠,王玲玲,等.小麦麸皮中 α -淀粉酶抑制剂的分离、纯化及性质研究[J].食品与发酵工业,2009,35(11):28-31.
- [3]让一峰,赵伟,杨瑞金,等.白芸豆 α -淀粉酶抑制剂在加工和消化过程中的活性变化研究[J].食品工业科技,2015,36(17):53-57.
- [4]Ying - Yuan Ngoh, Chee - Yuen Gan. Enzyme - assisted extraction and identification of antioxidative and α - amylase inhibitory peptides from Pinto beans (*Phaseolus vulgaris* cv. Pinto)

(上接第 216 页)

- 成分分析[J].西北林学院学报,2004,19(1):108-109,112.
- [20]韩加,新华·纳比,阿里木·帕塔尔,等.新疆树莓果实营养成分及其提取物抗氧化性研究[J].营养学报,2008,30(4):410-413.
- [21]李淑芳,张志军,杨丽维,等.树莓澄清果汁的加工工艺[J].饮料工业,2008,11(5):19-21.
- [22]姚丽敏,易美君,旷慧,等.酶解法提高红树莓出汁率的

(上接第 222 页)

- [J].Engineering in Life Science,2014,14(5):493-499.
- [20] Datta S, Christena LR, Rajaram YRS. Enzyme immobilization: an overview on techniques and support materials [J].3 Biotech 2013,3(1):1-9.
- [21]马驰宇,黄晓娟,黄丽洋,等.氨基树脂固定胃蛋白酶的方法及性质研究[J].精细与专用化学品,2010,18(7):41-44.
- [22]朱俭.生物化学实验[M].上海:上海科学技术出版社,1981.
- [23]张黎明,袁永俊,徐梦虬.壳聚糖微球固定化胰蛋白酶条件初探[J].中国乳品工业,2009,5:16-18.
- [24]师广波,马艳芳,郑明刚,等.壳聚糖固定化风味蛋白酶

[J].Food Chemistry,2016,190:331-337.

- [5] Lin W, Tie - yang ZH, Xing T, et al. Purification and Characterization of a Novel α - Amylase inhibitor from Wild Amaranth (*Amaranthus paniculatus*) Weeds [J].Chin J of Biochem Mol Biol,2004,20(4):434-439.
- [6]王岩,王伟,薄力影,等.日照绿茶中 α -淀粉酶抑制剂提取工艺的研究[J].食品研究与开发,2015,36(21):63-65.
- [7]李愚超,孙玉香.奶花芸豆营养经济价值与栽培技术[J].新疆农垦科技,2007(6):19-20.
- [8]李愚超,马瑞,韩英,等.阿勒泰地区发展特色产品奶花芸豆的前景与对策[J].新疆农业科学,2007,44(S2):101-102.
- [9]田童童,江英,张建,等.花芸豆铁蛋白的分离纯化[J].中国粮油学报,2015,30(9):30-35.
- [10]李慕春,王飞.双波长分光光度法测定奶花芸豆总黄酮含量[J].广东农业科学,2010(12):110-111.
- [11]李慕春,张静,阿依古丽.新疆奶花芸豆不同处理的抗氧化活性研究[J].农产品加工·创新,2010(4):35-38.
- [12]周大寨,朱玉昌,周毅锋,等.芸豆蛋白质的提取及超滤分离研究[J].食品科学,2008,29(8):386-390.
- [13]赵林同,李慕春,芦云,等.ICP-OES测定奶花芸豆中的微量元素[J].光谱实验室,2012,29(6):3361-3363.
- [14]杨秋歌.不同品种芸豆粉及其淀粉理化性质研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2013:1-68.
- [15]季良,彭琳.新疆出口型豆类产情分析[J].新疆农业科技,2007(1):13.
- [16]赵蓉,李多伟,任涛,等.DNS比色法测定白芸豆中 α -淀粉酶抑制剂活性的方法研究[J].中成药,2013,35(3):573-576.
- [17]尹延霞,朱奇峰,刘汉杰,等.中心组合实验设计响应面法优化 α 淀粉酶抑制剂筛选条件[J].西南师范大学学报:自然科学版,2015,40(4):83-88.

工艺优化[J].中国林副特产,2013,28(4):3-6.

- [23]赵艳玲,王海峰,翁鸿珍.果胶酶对树莓出汁率影响的研究[J].中国酿造,2011,32(10):144-146.
- [24]李颖畅,马弛,吕艳芳,等.树莓花色苷稳定性的研究[J].食品工业科技,2014,35(10):205-208.
- [25]王远辉,王洪新.树莓花色苷研究进展[J].食品工业科技,2011,32(6):474-478,482.

的制备及其酶学特性[J].食品科学技术学报,2015,33(4):27-32.

- [25] Martin AB, Picciolato M, Heras A. Coimmobilization of enzymes and cells on chitosan and derivatives [J].Progress in Biotechnology,1998,15:679-684.
- [26] Rejasse B, BessonEn T, Legoy MD, et al. Influence of microwave radiation on free *Candida antarctica* lipase B activity and stability [J].Organic & Biomolecular Chemistry,2006,4(19):3703-3707.
- [27]李莉,张赛,何强,等.响应面法在实验设计与优化中的应用[J].实验室研究与探索,2015,34(8):41-45.