

杏仁蛋白的两级泡沫分离工艺优化

路 帅¹,孙培冬^{2,*},季晓彤²,孙菡峰²

(1.江南大学食品胶体与生物技术教育部重点实验室,江苏无锡 214122;

2.江南大学化学与材料工程学院,江苏无锡 214122)

摘要:为了研究泡沫分离法提取杏仁蛋白的最佳工艺,在进料 pH、进料浓度、鼓泡气速和鼓泡时间对杏仁蛋白分离效果影响的基础上,利用田口实验设计法建立了杏仁蛋白的两级泡沫分离工艺。结果表明,泡沫分离最佳工艺条件为:pH4.0、进料浓度 6 g/L、气速 400 mL/min,鼓泡时间 10 min。在该工艺条件下,一级泡沫分离所得杏仁蛋白的质量分数为 75.23%,蛋白回收率为 79.48%;二级泡沫分离所得杏仁蛋白的质量分数为 84.71%,蛋白回收率为 71.19%。实验结果表明,两级泡沫分离法可以作为分离杏仁蛋白的一种新方法。

关键词:蛋白质,杏仁,泡沫分离,田口方法

Optimization of two-stage foam separation of almond protein

LU Shuai¹, SUN Pei-dong^{2,*}, JI Xiao-tong², SUN Han-zheng²

(1.The Key Laboratory of Food Colloids and Biotechnology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;

2.Ministry of Education, School of Chemical and Material Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: In order to study the best process of extracting almond protein by foam separation method, the two stage foam separation process of almond protein was established by Taguchi test design method on the basis of the effect of feed pH, feed concentration, bubbling gas velocity and bubbling time on the separation effect of almond protein. The result showed that the optimal parameters for two - stage foam separation were obtained as follows: Feed pH4.0, feed concentration was 6 g/L, gas velocity was 400 mL/min, and bubble time was 10 min. Under these conditions, protein content was 75.23%, 84.71% respectively and protein recovery rate was 79.48%, 71.19% respectively at the one and two-stage foam separation. The results showed that the two-stage foam separation method could be used as a new method to separate almond protein.

Key words: protein; almond; foam separation; Taguchi method

中图分类号:TS201.1 文献标识码:B 文章编号:1002-0306(2018)12-0200-05

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2018.12.035

引文格式:路帅,孙培冬,季晓彤,等.杏仁蛋白的两级泡沫分离工艺优化[J].食品工业科技,2018,39(12):200-204.

杏仁是蔷薇科杏 (*Amygdalus Communis Vas*) 的种子,营养价值丰富,每 100 g 杏仁中含有蛋白质 25~27 g、油脂 47~56 g、碳水化合物及粗纤维 12~19 g,另外还富含多种矿质元素和维生素^[1-2],经脱苦去毒等初步加工后,即可用于食品。另外,杏仁亦具有药用价值,如祛风寒、止咳、治疗哮喘、消肿通气、降血脂等^[2],但这些作用目前远未得到充分应用。近年来,蛋白质水解所得的多肽由于具有特殊的营养及多种生物活性^[3-5],已成为当今生命科学的研究热点之一。有研究发现,杏仁蛋白酶解得到的多肽具有抗疲劳、调节激素分泌、调节生理代谢、促进矿质吸收、增进免疫调节、降血压、抗氧化等特性^[3-5]。因此,有效地提取、纯化杏仁蛋白,有利于进一步制备生物活性多肽,提高杏仁产品的附加值,扩大杏仁的工业应用范围。

目前提取杏仁蛋白传统方法主要是碱溶酸沉法^[6],但较长时间的热碱液浸提不仅会造成蛋白质的

变性和有害物质的生成,另外在调节 pH 的过程中还会引入较多的无机盐,对蛋白后续加工利用造成不良影响^[7]。因为杏仁蛋白由于具有良好的起泡性和泡沫稳定性^[7],可以采用泡沫分离法进行提取纯化。泡沫分离法^[8]是根据表面吸附原理,通过向溶液中鼓泡,使具有表面活性的溶质或颗粒吸附到气-液界面上,以气泡为载体与液相主体进行分离的方法,由于蛋白质分子具有表面活性,所以可采用泡沫分离法实现分离纯化^[9]。与其它蛋白分离方法相比,泡沫分离法污染小、操作条件温和、不破坏蛋白质的结构和生物活性。目前,泡沫分离法已应用于提取免疫球蛋白^[10]、大豆蛋白^[11]、桑叶蛋白^[12]、亚麻蛋白^[13]等。

本文采用两级泡沫分离法提取杏仁蛋白,对提取条件进行优化,并应用田口实验设计法确定提高杏仁蛋白质量分数和回收率的最优条件,旨在为杏仁蛋白的大规模工业应用提供一定的参考。

收稿日期:2017-10-30

作者简介:路帅(1992-),男,硕士研究生,研究方向:蛋白质物质的研究,E-mail:18800582522@163.com。

* 通讯作者:孙培冬(1967-),女,硕士,副教授,研究方向:天然产物化学,E-mail:sunpeidong2004@126.com。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

杏仁 河北承德市农贸市场;石油醚、盐酸、对硝基苯酚、硫酸铜、硫酸钾、硫酸、氢氧化钠、乙酸钠、乙酸、甲醛、乙酰丙酮 分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

TU-1900型紫外-可见光分光光度计 北京普析通用仪器有限公司;LZB型玻璃转子流量计 南京顺来达测控设备有限公司;PHS-25型pH计 上海精密仪器制造有限公司;ME203E型电子天平 梅特勒-托利多仪器有限公司;LDZ4-2型自动平衡离心机 江苏省金坛市医疗仪器厂;Lyotest-85型冷冻干燥机 西班牙 Telstar公司;泡沫分离装置 自制,包括氮气瓶、玻璃转子流量计、气体分布器、泡沫分离柱、泡沫收集器,泡沫分离柱为有机玻璃制成,内径35 mm,柱高600 mm,分离柱底部安装气体分布器。

1.2 实验方法

1.2.1 杏仁原料脱脂预处理 参考文献[14],取一定量的杏仁干燥、粉碎后过80目筛,以石油醚(料液比1:10)浸提6 h脱脂,重复浸提3次后干燥得到脱脂后的杏仁粕,置于-4℃冰箱中冷藏备用。

1.2.2 杏仁原料成分的测定 水分含量的测定:直接干燥法(GB 5009.3-2016)^[15];脂肪含量的测定:索氏抽提法(GB 5009.6-2016)^[16];蛋白质含量的测定:凯氏定氮法(GB 5009.5-2016)^[17];灰分含量的测定:灼烧法(GB 5009.4-2016)^[18];多糖含量的测定:苯酚-硫酸法(SN/T 4260-2015)^[19]。

1.2.3 杏仁蛋白的泡沫分离工艺 将按照1.2.1中方法制得的杏仁粕用去离子水配制成不同进料浓度的料液500 mL,以稀盐酸调节进料的pH,料液倒入泡沫分离柱中后通入氮气,以转子流量计测量气速。泡沫收集器中的泡沫采用搅拌法消泡,消泡后调节pH7,置于冰箱-25℃冷冻2 h,然后将冷冻样品放入冷冻干燥机中,-50℃冷冻干燥48 h后取出并研磨成杏仁蛋白粉。

1.2.4 杏仁蛋白等电点测定 参照文献[20],用去离子水将杏仁蛋白配制成料液比1:5的悬浊液,搅拌2 h后7500 r/min离心20 min取上清液。用NaOH溶液或HCl溶液将上清液的pH从1间隔1依次调至12,在320 nm波长处用分光光度计测量吸光度,吸光度最大时的pH即为杏仁蛋白等电点。

1.2.5 杏仁蛋白质回收率的计算

$$R(\%) = \frac{P_f}{P_i} \cdot \frac{M_f}{M_i} \times 100$$

式中:P_f-杏仁蛋白粉的蛋白质量分数,%;P_i-杏仁粕的蛋白质量分数,%;M_f-杏仁蛋白粉质量,g;M_i-杏仁粕的质量,g。

1.2.6 单因素实验 采用1.2.3的工艺提取杏仁蛋白,固定提取条件为进料浓度6 g·L⁻¹、鼓泡气速400 mL·min⁻¹、鼓泡时间20 min,考察不同进料pH(3、4、5、6、7)对蛋白质量分数和回收率的影响;固定条件为进料pH4、鼓泡气速400 mL·min⁻¹、鼓泡时间20 min,考察不同进料浓度(2、4、6、8、10 g·L⁻¹)对蛋白质量分数和回收率的影响;固定提取条件为进料

pH4、进料浓度为6 g·L⁻¹、鼓泡时间为20 min,考察不同鼓泡气速(200、300、400、500、600 mL·min⁻¹)对蛋白质量分数和回收率的影响;固定提取条件为进料pH4、进料浓度为6 g·L⁻¹、鼓泡气速为400 mL·min⁻¹,考察不同鼓泡时间(10、15、20、25、30 min)对蛋白质量分数和回收率的影响。

1.2.7 田口方法优化泡沫分离工艺 在单因素实验的基础上,采用田口方法进一步优化泡沫分离工艺,设计条件不同的9个实验,每个实验重复3次。

田口方法将各品质特性转化为信噪比(S/N),质量特性越好的设计方案其信噪比也越大,利用信噪比找出品质特性最佳且变异最小的设计方案^[21]。信噪比代表的质量特性分为望小特性、望大特性和望目特性。当研究目的是减少围绕目标值的变异时,采用望目特性;如果质量特性为越大越好,采用望大特性;如果质量特性为越小越好,采用望小特性^[22]。泡沫分离杏仁蛋白的回收率和质量分数都是越大越好,故采用望大特性进行研究,其信噪比计算公式为:

$$S/N = -10 \times \log \left(\sum_{i=1}^n \frac{1}{y_i^2} \right)$$

式中:S/N为信噪比,y_i为第i次实验结果,n为实验重复次数。

田口方法首先采用正交表安排实验,以信噪比(S/N)作为衡量产品质量稳定性的指标,找出抗干扰能力强、性能稳定的最佳参数水平组合。本文所选因素及水平采用L₉(3⁴)正交表安排实验,见表1。

表1 正交实验因素水平表

Table 1 Independent variables and their levels used in the orthogonal test

因素	水平		
	1	2	3
A 进料pH	4	5	6
B 进料浓度(g·L ⁻¹)	6	8	10
C 鼓泡气速(mL·min ⁻¹)	400	500	600
D 鼓泡时间(min)	10	20	30

1.2.8 两级泡沫分离工艺 采用田口方法优化后的实验方案对杏仁粕进行两级泡沫分离,由于实验目的是最大限度地纯化杏仁蛋白,故选择使蛋白质量分数最高的实验方案。将杏仁粕按照优化后的实验方案进行泡沫分离后冷冻干燥得到一级泡沫分离杏仁粉。一级泡沫分离杏仁粉按照相同的实验条件再进行泡沫分离后冷冻干燥得到二级泡沫分离杏仁粉。分别测量杏仁粕、一级泡沫分离杏仁粉和二级泡沫分离杏仁粉的质量及蛋白质量分数。

1.3 数据处理

采用Minitab 17.0软件进行田口实验设计及数据处理,Origin 8.5软件作图。

2 结果与分析

2.1 脱脂后杏仁粕的主要成分

由表2可见,杏仁脱脂后脂肪含量仅为6.96%,脱脂效果较为明显。由于油脂与蛋白质结合会使杏仁极易氧化酸败,且脂质次级氧化产物会损坏氨基

表2 杏仁粕主要成分

Table 2 The main composition of almond cake

成分	蛋白质	脂肪	水分	灰分	多糖
含量(%)	51.17 ± 0.38	6.96 ± 0.14	0.34 ± 0.05	4.31 ± 0.13	13.24 ± 0.18

酸序列,因此,脱脂可防止蛋白发生腐坏变性^[23]。

2.2 杏仁蛋白等电点的测定

蛋白质等电点的测定,有利于研究 pH 对泡沫分离杏仁蛋白的影响。由图 1 可知,杏仁蛋白提取液经离心分离后,pH 的变化使得上清液的吸光度之变化,随着 pH 的增加,吸光度先增加后降低,在 pH 为 4 时达到峰值,故杏仁蛋白等电点为 4。

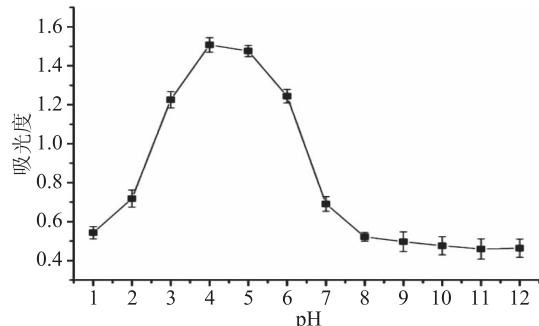


图1 杏仁蛋白等电点的测定

Fig.1 Determination of isoelectric point of almond protein

2.3 杏仁蛋白泡沫分离的单因素实验

2.3.1 进料 pH 对杏仁蛋白泡沫分离效果的影响 形成稳定的泡沫是进行泡沫分离的先决条件。而泡沫稳定性主要取决于泡沫液膜的表面粘度、弹性和表面张力。降低表面张力可以提高泡沫的稳定性,稳定的泡沫可以使分离过程持续至残留液相浓度很低的状态^[24]。由图 2 可知,在杏仁蛋白等电点处即 pH4 处进行的泡沫分离得到的产物回收率和蛋白质量分数均最大,而当 pH 偏离等电点时,蛋白质量的回收率和质量分数均下降,这是由于在蛋白等电点处体系处于表面张力较低的状态。为了纯化杏仁蛋白,故选择进料 pH 为 4 为宜。

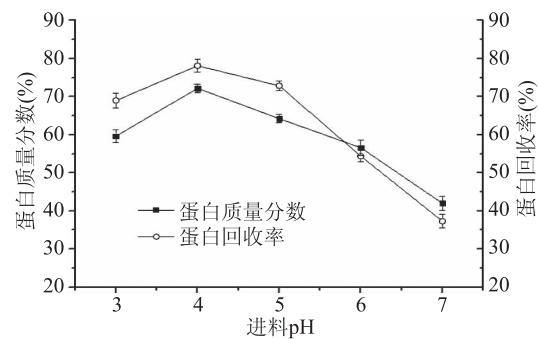


图2 进料 pH 对蛋白泡沫分离的影响

Fig.2 Effects of pH on foam separation

2.3.2 进料浓度对杏仁蛋白泡沫分离效果的影响 由图 3 可以看出,随着进料浓度增大时,蛋白质量分数下降,蛋白回收率增大。原因可能是,当进料浓度较大时,泡沫层泡沫丰富且泡沫在上升过程中稳定性较好,不易发生泡沫隔膜破裂和泡沫合并,间

隙排液量少,故泡沫分离装置流出的泡沫持液量大,泡沫层间隙液体夹带的多糖、脂肪等杂质含量较多,导致蛋白质量分数下降,但残液中蛋白残留相对较少,蛋白回收率增大。当进料浓度较小时,泡沫层在上升过程中不断发生泡沫隔膜破裂及泡沫合并,间隙排液量大,泡沫层间隙液体夹带的多糖、脂肪等杂质含量减少,蛋白质量分数上升,但蛋白在残液中有较多残留,蛋白回收率减少。为了纯化杏仁蛋白,故选择进料浓度 6 g/L 为宜。

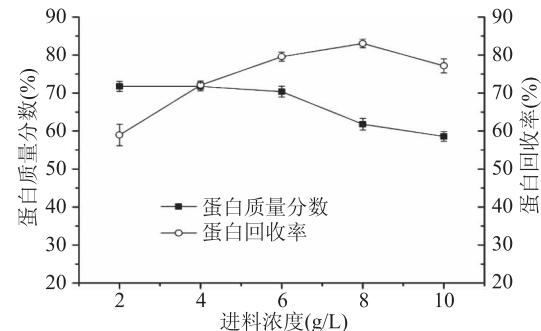


图3 进料浓度对泡沫分离的影响

Fig.3 Effects of feed concentration on foam separation

2.3.3 鼓泡气速对杏仁蛋白泡沫分离效果的影响 鼓泡气速主要影响泡沫层中的排液行为,气泡沿着泡沫分离装置的轴向由下向上流动,泡沫层间隙夹带的液体由上向下发生排液现象^[25]。由图 4 可以看出,随着鼓泡气速增大,蛋白回收率先迅速增大,在 400 mL/min 后,趋于平缓,而蛋白质量分数一直较缓下降。原因可能是,当鼓泡气速较大时,气泡的流动速率大,泡沫上升过程鼓泡时间较短,导致泡沫层间隙排液量减少,故泡沫分离装置流出的泡沫持液量大,液体夹带的杂质含量增多,蛋白质量分数下降,但蛋白回收率增大。当鼓泡气速较低时,泡沫上升过程鼓泡时间较长,泡沫间隙排液量增多,随着鼓泡时间推移,泡沫分离柱内料液蛋白含量逐渐减少,料液起泡性及泡沫稳定性减弱,鼓泡气速过小不易将泡沫层从泡沫分离柱上方鼓出,蛋白回收率减小。为了纯化杏仁蛋白,故选择鼓泡气速 400 mL/min 为宜。

2.3.4 鼓泡时间对杏仁蛋白泡沫分离效果的影响 由图 5 可以看出,当鼓泡时间较短时,杏仁蛋白质量分数较大,但由于鼓泡不充分,蛋白在泡沫分离装置残液中也有较多残留,蛋白回收率较小。随着鼓泡时间延长,泡沫层的间隙夹带的杂质也越来越多地从泡沫分离装置中鼓出,造成蛋白质量分数下降,但蛋白在泡沫分离装置内残液中残留较少,蛋白回收率相应增大。为了纯化杏仁蛋白,回收率仅作为辅助指标,故选择鼓泡时间 10 min 为宜。

2.4 田口方法优化泡沫分离工艺

由表 3 可知,在进料 pH4,进料浓度 6 g/L,鼓泡

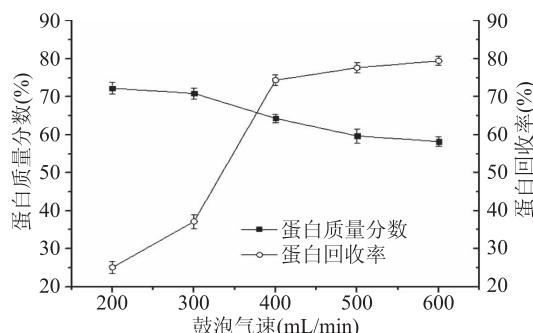


图4 鼓泡气速对蛋白泡沫分离的影响

Fig.4 Effects of gas velocity on foam separation

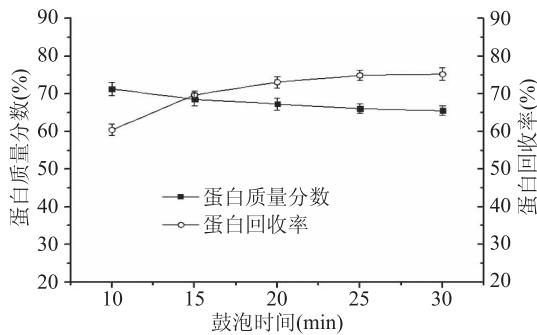


图5 鼓泡时间对蛋白泡沫分离的影响

Fig.5 Effects of bubble time on foam separation

气速 400 mL/min, 鼓泡时间 10 min 条件下, 杏仁蛋白质量分数最高达到 $75.23\% \pm 0.17\%$ 。在进料 pH4, 进料浓度 10 g/L, 鼓泡气速 600 mL/min, 鼓泡时间 30 min 条件下, 杏仁蛋白回收率最高达到 $81.08\% \pm 0.13\%$ 。

2.5 信噪比分析

将各因素在各自不同水平下的信噪比值计算均值, 从而分析出各因素对杏仁蛋白质的质量分数和回收率的影响大小, 并绘制出各因素信噪比均值随不同水平的变化趋势图, 见图 6 和图 7。

由图 6 可知, 进料 pH(A) 的 1 号水平, 进料浓度(B) 的 1 号水平, 鼓泡气速(C) 的 1 号水平和鼓泡时间(D) 的 1 号水平可分别提高杏仁蛋白质量分数的信噪比, 根据田口方法的望大特性, 信噪比越大的方案抗外界干扰能力越强, 其质量特性也最好, 故

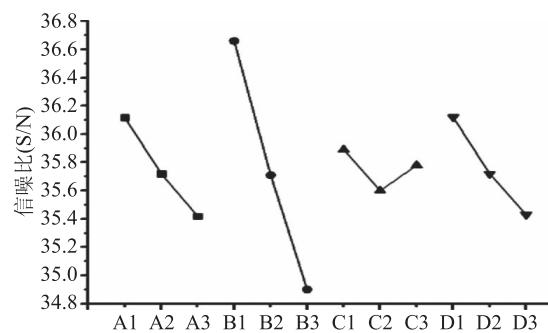


图6 蛋白质量分数信噪比趋势图

Fig.6 Noise-signal ratio trend of protein mass fraction

$A_1 B_1 C_1 D_1$ 是提高杏仁蛋白质量分数的最佳方案。

由图 7 可知, 进料 pH(A) 的 1 号水平, 进料浓度(B) 的 2 号水平, 鼓泡气速(C) 的 3 号水平和鼓泡时间(D) 的 3 号水平可分别提高杏仁蛋白回收率的信噪比, 根据田口方法的望大特性, 信噪比越大的方案抗外界干扰能力越强, 其质量特性也最好, 故 $A_1 B_2 C_3 D_3$ 是提高杏仁蛋白回收率的最佳方案。

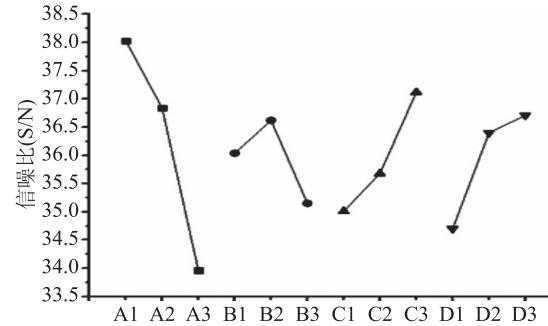


图7 蛋白回收率信噪比趋势图

Fig.7 Noise-signal ratio trend of protein recovery rate

2.6 两级泡沫纯化杏仁蛋白结果

为了之后进一步研究杏仁蛋白、多肽的生物活性, 所以要最大限度地提纯杏仁蛋白, 回收率作为辅助指标是为工业应用中的成本控制作考虑的, 所以选择最有利于提高蛋白质量分数的 $A_1 B_1 C_1 D_1$ 条件组合对杏仁粕进行两级泡沫分离。如表 4 所示, 经过第一级泡沫分离后, 杏仁蛋白的质量分数由杏仁粕中的 51.17% 增加到 75.23%, 蛋白质回收率为 79.48%; 取一级泡沫分离得到的杏仁蛋白粉按照相

表3 田口方法优化泡沫分离工艺结果

Table 3 Optimization of foam separation process by Taguchi method

实验号	A	B	C	D	蛋白质量分数 (%)	蛋白回收率 (%)	蛋白质量分数信噪比	蛋白回收率信噪比
1	1	1	1	1	75.23 ± 0.17	79.48 ± 0.21	37.53	38.01
2	1	2	2	2	62.25 ± 0.37	78.51 ± 0.31	35.88	37.9
3	1	3	3	3	56.08 ± 0.41	81.08 ± 0.13	35.28	38.18
4	2	1	2	3	64.08 ± 0.26	74.64 ± 0.26	36.13	37.46
5	2	2	3	1	63.59 ± 0.33	74.79 ± 0.22	36.07	37.48
6	2	3	1	2	56.00 ± 0.43	60.11 ± 0.48	34.96	35.58
7	3	1	3	2	65.38 ± 0.24	61.08 ± 0.46	36.31	35.72
8	3	2	1	3	57.34 ± 0.41	53.05 ± 0.51	35.17	34.49
9	3	3	2	1	54.77 ± 0.55	38.37 ± 0.58	34.77	31.68

表4 两级泡沫分离杏仁蛋白结果

Table 4 Results of two stage foam separation of almond protein

主要成分含量(%)	脂肪	水分	灰分	多糖	蛋白	蛋白回收率
一级泡沫分离杏仁粉	0.82 ± 0.05	0.47 ± 0.06	4.98 ± 0.12	3.82 ± 0.13	75.23 ± 0.17	79.48 ± 0.21
二级泡沫分离杏仁粉	0.23 ± 0.03	0.53 ± 0.05	5.2 ± 0.11	0.95 ± 0.09	84.71 ± 0.15	71.19 ± 0.23

同的实验条件进行二级泡沫分离,最终所得的杏仁蛋白的质量分数为84.71%,蛋白质回收率为71.19%,实现了杏仁蛋白的精制纯化。

3 结论

考察了泡沫分离法中进料pH、进料浓度、鼓泡气速和鼓泡时间对杏仁蛋白质量分数及回收率的影响并应用田口实验设计法优化了实验方案,选取蛋白质量分数和回收率的信噪比(S/N)值作为评价指标来衡量实验效果。通过统计分析确定了提高杏仁蛋白质量分数与回收率最优的实验条件。确定了最优的两级泡沫分离法纯化杏仁蛋白的工艺。在装液体积为500 mL,进料pH为4,进料浓度6 g/L,鼓泡气速为400 mL/min,鼓泡时间为10 min的条件下,一级泡沫分离杏仁蛋白粉的蛋白质量分数为75.23%,蛋白回收率为79.48%。将一级泡沫分离产物冷冻干燥后作为二级泡沫分离的原料,在相同的操作条件下,二级泡沫分离杏仁蛋白粉的蛋白质量分数为84.71%,蛋白回收率为71.19%。实验表明两级泡沫分离法可有效提取纯化杏仁蛋白,可作为一种高效、节能、环保且低成本的植物蛋白分离精制技术,为之后研究杏仁多肽的生物活性打下基础。

参考文献

- [1] Mariana Larrauri, María Gimena Demaría, Liliana C. Ryan, et al. Chemical and sensory quality preservation in coated almonds with the addition of antioxidants [J]. Journal of Food Science, 2016, 81(1):208–214.
- [2] 肖朝霞,蒋萌蒙,王向军.杏仁的功能性及其药理研究进展[J].农产品加工,2011,(11):71–73.
- [3] Rui-Lin Liuab, Xian-Li Gea, Xiang-Yu Gaoa, et al. Two angiotensin-converting enzyme-inhibitory peptides from almond protein and the protective action on vascular endothelial function [J]. Food and Function, 2016, 7(9):3733–3739.
- [4] 刘雪峰,李磊,闫文亮,等.杏仁多肽的降血糖活性研究[J].内蒙古农业大学学报:自然科学版,2010(2):204–208.
- [5] 黄昆,顾欣,王文江,等.山杏仁多肽的制备及清除自由基能力研究[J].食品工业科技,2012(18):107–110.
- [6] 俞雅琼,于辉,高蕾,等.新疆甜杏仁分离蛋白提取工艺研究[J].新疆农业大学学报,2009,(4):31.
- [7] 薛蕾,李大文,尉芹,等.苦杏仁蛋白的功能特性[J].食品科学,2013(7):70–75.
- [8] 谭相伟,吴兆亮,贾永生,等.泡沫分离技术在蛋白质多元体系分离中的应用[J].化工进展,2005(5):510–513.
- [9] Tai-Hua Mu, Ying Liu, Miao Zhang, et al. Protein recovery from sweet potato starch wastewater by foam separation [J]. Separation Science and Technology, 2014, 49(14):2255–2260.
- [10] Yen-Chih Chen, Harun Parlar. Parametric study on the enrichment of immunoglobulin from milk by foam fractionation [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2013, 170(7):1589–1601.
- [11] Wei Liu, Hui Xin Zhang, Zhao Liang Wu, et al. Recovery of isoflavone aglycones from soy whey wastewater using foam fractionation and acidic hydrolysis [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(30):7366–7372.
- [12] 刘海彬,张炜,陈元涛,等.响应面法优化泡沫分离桑叶蛋白工艺[J].食品科学,2015,(8):97–102.
- [13] 李轩领,张炜,陈元涛,等.亚麻籽饼粕中亚麻蛋白的初步泡沫分离[J].河南工业大学学报:自然科学版,2015,(1):55–61.
- [14] 李露敏,代红发,王报贵,等.樟树籽仁蛋白的组成及功能性质研究[J].食品工业科技,2016(3):69–73,78.
- [15] GB 5009.3–2016,食品安全国家标准 食品中水分的测定[S].
- [16] GB 5009.6–2016,食品安全国家标准 食品中脂肪的测定[S].
- [17] GB 5009.5–2016,食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定[S].
- [18] GB 5009.4–2016,食品安全国家标准 食品中灰分的测定[S].
- [19] SN/T 4260–2015.出口植物源食品中粗多糖的测定 苯酚-硫酸法[S].中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,2015.05.26.
- [20] Leila Rezig, Farhat Chibani, Moncef Chouaibi, et al. Pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed proteins: Sequential extraction processing and fraction characterization [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61(32):7715–7721.
- [21] 杜广盛,李德馨,魏振平.田口实验设计法优化TPGS单酯与双酯的柱层析分离工艺[J].化学试剂,2014(36):79–82.
- [22] 陈象青,屈建,卢今,等.田口实验设计法优选白芍中芍药苷的提取工艺[J].中国新药杂志,2013(22):1836–1839.
- [23] 张乃云.杏仁多肽的制备、分离及其抗氧化活性研究[D].太谷:山西农业大学,2014.
- [24] 刘志红,刘铮,丁富新,等.用泡沫分离法浓缩和分离蛋白(Ⅱ)[J].清华大学学报:自然科学版,1998(6):21–23.
- [25] 孙瑞婷,殷昊,卢珂,等.两级泡沫分离废水中大豆蛋白的工艺[J].农业工程学报,2010(11):374–378.