

## 响应面优化泡沫法提取紫苏饼粕蛋白的工艺

吴存兵<sup>1</sup>, 张钰涓<sup>1</sup>, 邵伯进<sup>1</sup>, 陶维春<sup>2</sup>, 吴君艳<sup>3</sup>, 姜娟<sup>1</sup>, 浦静<sup>1</sup>

(1. 江苏财经职业技术学院粮食工程与食品药品学院, 淮安 223003;

2. 淮安市粮油质量监测所, 淮安 223001; 3. 江苏食品药品职业技术学院, 淮安 223001)

**摘要:** 利用响应面分析法优化泡沫法提取紫苏蛋白工艺, 为紫苏资源的开发利用提供理论依据与技术参数。在单因素试验基础上, 设计浸泡温度、液料比和浸泡时间 3 个因素为自变量, 紫苏蛋白提取率为响应值, 采用 Box-Behnken 试验设计方法, 研究各自变量及其交互作用对紫苏蛋白提取率的影响。利用 Design Expert 软件得到回归方程的预测模型并进行响应面分析, 紫苏饼粕蛋白提取率对浸泡温度、液料比和浸泡时间二次方程模型为:  $Y=13.21-2.21A-0.21B-1.38C-0.15AB-2.43AC-1.78BC-3.37A^2-4.43B^2-1.99C^2$  ( $R^2=0.9544$ ), 该模型拟合程度较好, 其中浸泡温度对紫苏蛋白提取率有极显著影响 ( $P<0.01$ ), 浸泡时间有显著影响 ( $P<0.05$ ), 浸泡温度和浸泡时间的交互作用对其有极显著影响, 液料比和浸泡时间对其有显著影响。确定紫苏蛋白提取率的最佳条件为: 浸泡温度 53 °C, 液料比 10:1 mL·g<sup>-1</sup>, 浸泡时间 114 min, 在此最佳试验条件下, 紫苏蛋白提取率为 13.91%, 与理论预测值相比, 其相对误差约为 2.10%。试验建立的由响应面设计优化紫苏蛋白泡沫法提取工艺模型拟合效果较好, 可以用于实际预测, 即该响应面试验设计对泡沫法分离提取紫苏蛋白工艺的优化结果是有效的。

**关键词:** 响应面分析; 紫苏饼粕; 泡沫法; 提取

中图分类号: TS201.21

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2017)04-0574-06

## Optimization of foam separation of protein from perilla seed meal using the response surface method

WU Cunbing<sup>1</sup>, ZHANG Yujuan<sup>1</sup>, SHAO Bojin<sup>1</sup>, TAO Weichun<sup>2</sup>, WU Junyan<sup>3</sup>, JIANG Juan<sup>1</sup>, PU Jing<sup>1</sup>

(1. Jiangsu Vocational and Technical College of Finance & Economics, Huai'an 223003;

2. Huai'an Grain and Oil Quality Monitoring Institute, Huai'an 223001;

3. Jiangsu Food & Pharmaceutical Science College, Huai'an 223001)

**Abstract:** To optimize protein extraction technology of protein from perilla, the effects of temperature, liquid-solid ratio and time on the extraction rate of perilla protein were investigated. The optimum protein extraction technology from perilla meal was developed through the response surface method. A quadratic regression model for the extraction rate of perilla protein on temperature, liquid-solid ratio and time was set up as  $Y=13.21-2.21A-0.21B-1.38C-0.15AB-2.43AC-1.78BC-3.37A^2-4.43B^2-1.99C^2$  ( $R^2=0.9544$ ) with a good fitting degree. Soaking temperature and time had extremely significant ( $P<0.01$ , the same below) and significant ( $P<0.05$ ) effects on the extraction rate. The interaction between temperature and time and liquid-solid ratio and time also had extremely significant and significant effects on the extraction rate. The optimum conditions for the protein extraction from perilla seed meal were: temperature, 53 °C; liquid-solid ratio, 10:1 mL·g<sup>-1</sup>; soaking time, 114 min. Under this condition, the practical extraction rate of perilla protein was 13.91%. Compared with the predictive value, the relative error was about 2.10%. The technology model for extracting protein from perilla seed meal was fit well with the measured value. The results showed that the response surface method for extracting perilla protein is effective.

**Key words:** response surface method; perilla seed meal; foam fractionation; extraction technology

收稿日期: 2017-01-04

基金项目: 江苏高校“青蓝工程”, 泡沫分离紫苏蛋白及功能性研究 (SN12046), 江苏省饲料 (食品) 营养分析与质量安全检测公共服务平台 (HAP201429), 江苏省科技厅项目江苏省淮安饲料安全公共技术服务中心 (BM2009831) 共同资助。

作者简介: 吴存兵, 副教授。E-mail: wucunbingw@163.com

紫苏[*Perilla frutescens* (L.) Britt.] 别名桂荏、白苏及赤苏等, 系唇形科紫苏属下仅有的一年生草本植物, 主产于我国的湖南、浙江等中南部地区<sup>[1]</sup>。紫苏植物嫩叶营养丰富, 含有蛋白质、脂肪、维生素、矿物质、可溶性糖和膳食纤维等成分, 此外叶中还含有紫苏醛、柠檬烯、精氨酸、紫苏醇、薄荷酮、薄荷醇、丁香油酚、丁香烯及白苏烯酮等, 具有特异芳香, 有防腐作用<sup>[2]</sup>。紫苏叶性温味辛, 具有发表、散寒、理气和合营的功效。经研究发现, 紫苏具有很好的抗癌作用, 紫苏籽中蛋白质含量为 20%~23%, 其加工后的副产品紫苏饼粕在脱脂后具有气味芳香、适口性好等特点, 其中蛋白质含量可达 28%~45%。紫苏饼粕杂质少, 不像其它饼粕含有硫苷、棉酚等对人体健康不利的物质, 但其目前仅仅作为饲料或者肥料, 因此, 研究如何有效利用紫苏饼粕资源, 开发紫苏蛋白产品是十分必要的。紫苏蛋白的提取方法有碱溶酸沉淀法、盐沉淀法、微波法和酶法提取等方法, 而这些方法所需要的试剂较多, 过程较为繁琐, 所需时间长, 在整个过程中所需控制的变量较多, 同时在试验中加入了部分的化学试剂, 所提出的蛋白不够纯净。

王根女<sup>[3]</sup>研究了紫苏叶、茎、根的迷迭香酸、咖啡酸、总黄酮、总酚含量及提取液的 FRAP 和 DPPH 抗氧化能力。苑玉莉<sup>[4]</sup>以紫苏叶为研究对象, 研究紫苏叶片中花色苷的提取溶剂和大孔树脂法精制紫苏花色苷的条件。童波<sup>[5]</sup>采用酸性乙醇-水对紫苏粕中的植酸和单宁同时脱除, 对反应条件进行单因素分析和正交试验, 确定最佳提取工艺参数。试验结果表明最佳提取工艺条件为: 在 70 °C 下, 乙醇浓度为 60%, 提取液体系 pH 为 4, 料液比为 1:6 g·mL<sup>-1</sup>, 提取 3 次 (每次 45 min)。盛彩虹<sup>[6]</sup>以紫苏脱脂粕为原料, 采用碱溶酸沉法制备紫苏分离蛋白。通过单因素和正交试验确定制备紫苏分离蛋白最佳工艺条件为: 料液比 1:10 g·mL<sup>-1</sup>、碱溶 pH10、碱溶温度 55 °C、碱溶时间每次 60 min (2 次) 和酸沉 pH4。张海滨等<sup>[7]</sup>采用单因素试验优化了泡沫

分离法提取竹节参皂苷的工艺条件。刘宗民<sup>[8]</sup>采用泡沫分离研究了马铃薯淀粉废水中蛋白质的回收工艺。泡沫分离技术是一项新的分离技术, 它是根据表面活性的差异, 采用分离和纯化物质的手段, 被广泛应用于生物工程、环境保护、医药工业及冶金工业等许多领域, 它也是分离和浓缩蛋白质的一条有效途径。但目前利用响应面设计研究泡沫法提取紫苏蛋白的工艺尚未见报道。为了充分利用资源, 减少废弃物对环境的污染, 将采用响应面设计优化泡沫法提取紫苏蛋白的工艺, 研究浸泡温度、浸泡时间、液料比因素与响应面之间以及因素与因素之间的相互关系, 优化由泡沫法提取紫苏蛋白的工艺, 旨在为高效利用紫苏进行高附加值产业化开发提供参考, 为工业化生产奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

原料: 紫苏饼粕, 市购。

仪器: UV5501 紫外可见分光光度计 (天津港东科技发展股份有限公司)、HH-D4 恒温水浴锅 (金坛市双捷试验仪器厂)、蛋白质分离器 (H and H)、WH-3 微型漩涡混合仪 (上海沪西分析仪器厂有限公司)、SHZ-IIID 型循环水真空泵 (上海亚荣生化仪器厂) 和 FA1004B 电子天平 (上海越平科学仪器有限公司)。

试剂: 考马斯亮蓝 G-250、乙醇、磷酸和氯化钠, 试剂为市售分析纯, 牛血清蛋白在江苏淮安国药试剂公司购买。

### 1.2 方法

**1.2.1 蛋白质标准曲线制作<sup>[9]</sup>** 称取牛血清白蛋白 25 mg, 定容至 100 mL, 取 4 mL 定容至 100 mL, 得 10 μg·mL<sup>-1</sup> 标准液, 取 6 支干燥洁净并编号的具塞刻度试管, 按表 1 添加试剂。

向每支试管中添加 5 mL 考马斯亮蓝 G-250 蛋白试剂, 在 595 nm 测吸光度, 建立以吸光度值为纵坐标, 蛋白质标准液含量为横坐标绘制标准曲线。

表 1 蛋白质标准曲线制作

Table 1 Protein standard curve

试管号 In vitro number	0	1	2	3	4	5
牛血清蛋白标液/mL Bovine serum albumin(BSA)	0	0.20	0.40	0.60	0.80	1.00
蒸馏水/mL Distilled water	1.00	0.80	0.60	0.40	0.20	0

**1.2.2 工艺流程** 本试验采用泡沫分离技术对紫苏饼粕蛋白质进行分离提取, 工艺流程见图 1。

**1.2.3 操作要点** (1) 粉碎、浸泡: 把市场购买的

紫苏饼粕用粉碎机进行粉碎, 粉碎以后用一定温度的热水按照一定的比例浸泡。

(2) 打泡处理: 在容器中放置大约 5 L 与浸泡

时同温度的水, 倒入样液, 用蛋白质分离器进行打泡处理, 收集泡沫, 直至泡沫收集完全。

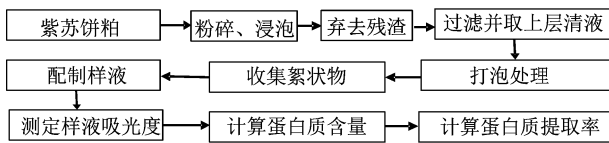


图 1 紫苏饼粕蛋白质提取工艺流程

Figure 1 Extracting technological processes of protein from perilla

(3) 测定样液: 分别移取 0.50 mL 样液、0.50 mL 蒸馏水和 5.00 mL 考马斯亮蓝标准溶液置于试管内, 于漩涡混合仪混匀 1 min, 在室温下静置 5 min, 选择波长 595 nm, 以蒸馏水作参比, 读出吸光度, 计算蛋白质提取率。

$$\text{蛋白质提取率}(\%) = \frac{\text{提取液中蛋白质质量}(g)}{\text{紫苏饼粕质量}(g)} \times 100$$

**1.2.4 单因素试验设计** (1) 浸泡温度的确定。在固定液料比 15:1 mL·g<sup>-1</sup>、浸泡时间 90 min 的条件下, 考察不同浸泡温度 (25、35、45、55 和 65℃) 对紫苏蛋白提取率的影响。

(2) 液料比的确定。在固定浸泡温度 45℃、浸泡时间 90 min 的条件下, 考察不同液料比 (5:1、10:1、15:1、20:1 和 25:1 mL·g<sup>-1</sup>) 对紫苏蛋白提取率的影响。

(3) 浸泡时间的确定。在固定液料比 15:1 mL·g<sup>-1</sup>、浸泡温度 45℃ 的条件下, 考察不同浸泡时间 (30、60、90、120 和 150 min) 对紫苏蛋白提取率的影响。

**1.2.5 响应面试验设计** 根据 Box-Behnken8.0 设计原理设计 3 因素 3 水平响应面试验优化泡沫法提取紫苏蛋白工艺, 以紫苏蛋白提取率为响应值, 选取浸泡温度、液料比和浸泡时间 3 因素为自变量, 以 -1、0、1 分别代表变量的 3 个水平。中心组合设计的因素与水平见表 2。

表 2 Box-Behnken8.0 设计试验因素水平

Table 2 Factors and levels of Box-Behnken8.0 design

因素 Factor	水平 Level		
	-1	0	1
A 浸泡温度/℃ Temperature	45	55	65
B 液料比/ mL·g <sup>-1</sup> Liquid-to-material ratio	8	10	12
C 浸泡时间/min Time	90	120	150

**1.2.6 统计分析** 采用 Box-Behnken8.0 软件对响应面试验结果进行数据统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验结果

**2.1.1 浸泡温度对紫苏蛋白提取率的影响** 不同浸泡温度对紫苏蛋白提取的试验结果见图 2。

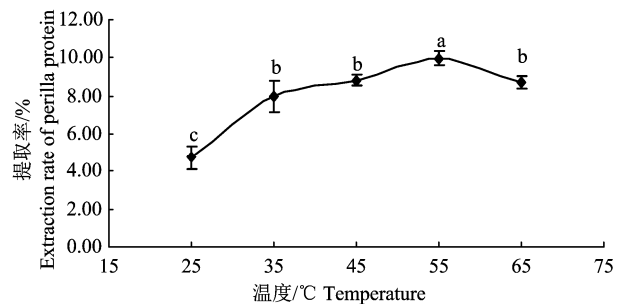


图 2 浸泡温度对紫苏蛋白提取率的影响

Figure 2 Effects of different soaking temperature on the extraction rate of perilla protein

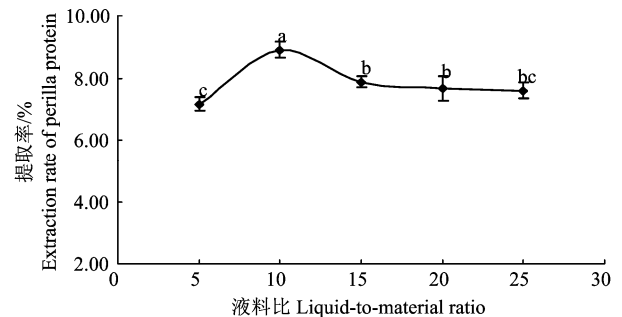


图 3 液料比对紫苏蛋白提取率的影响

Figure 3 Effects of different liquid-solid ratios on the extraction rate of perilla protein

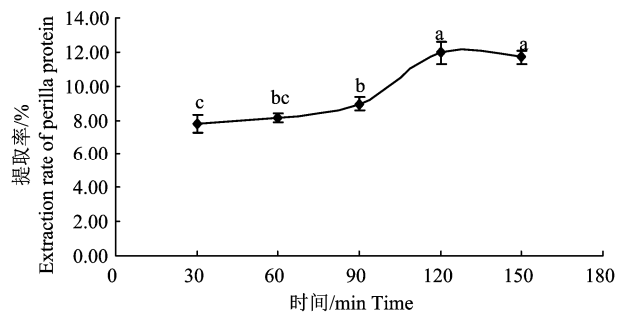


图 4 浸泡时间对紫苏蛋白提取率的影响

Figure 4 Effects of different soaking time on the extraction rate of perilla protein

由图 2 可以看出, 随着浸泡温度的升高, 紫苏蛋白提取率逐渐提高, 当浸泡温度为 55℃ 时, 紫苏蛋白提取率最高, 当温度继续升高时, 其提取率下降显著 ( $P < 0.05$ )。从节省能源角度考虑, 选择温度 55℃ 为单因素试验最佳时间。

**2.1.2 液料比对紫苏蛋白提取率的影响** 不同液料比对紫苏蛋白提取的试验结果见图 3。

由图 3 可知, 随着液料比的增加, 紫苏蛋白提取率也逐渐升高。当液料比达到  $10 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$  后, 继续提高液料比, 紫苏蛋白提取率下降显著 ( $P<0.05$ ), 并随着液料比的提高, 提取率逐渐趋于平稳。这是由于溶液体系中的渗透压已经趋于平衡, 紫苏蛋白

已经渗出, 提取剂量的增加对紫苏蛋白的提取率影响不大, 过高的液料比会给后续的浓缩等工作带来一定的压力, 从节能和效率的角度考虑, 提取剂用量不宜过大, 选择  $10 \text{ mL}\cdot\text{g}^{-1}$  为单因素试验最佳液料比。

表 3 试验设计与结果

Table 3 Results of response surface analysis

序号 No.	A	B	C	提取率/% Extraction rate	预测值 Predictive value
1	-1	-1	0	8.60	7.68
2	1	-1	0	3.71	3.55
3	-1	1	0	7.39	7.54
4	1	1	0	1.92	2.83
5	-1	0	-1	7.90	9.01
6	1	0	-1	9.09	9.44
7	-1	0	1	11.46	11.11
8	1	0	1	2.95	1.84
9	0	-1	-1	6.80	6.60
10	0	1	-1	11.00	9.73
11	0	-1	1	6.14	7.41
12	0	1	1	3.22	3.42
13	0	0	0	12.86	13.21
14	0	0	0	12.46	13.21
15	0	0	0	14.71	13.21
16	0	0	0	13.83	13.21
17	0	0	0	12.19	13.21

表 4 方差分析

Table 4 Variance analysis

来源 Source	平方和 SS	自由度 DF	均方 MS	F 值 F value	P 值 P value	显著性 Significance
模型 Model	253.35	9	28.15	16.29	0.0007	**
A	39.07	1	39.07	22.61	0.0021	**
B	0.37	1	0.37	0.21	0.6577	
C	15.18	1	15.18	8.78	0.0210	*
AB	0.084	1	0.084	0.049	0.8317	
AC	23.52	1	23.52	13.61	0.0078	**
BC	12.67	1	12.67	7.33	0.0303	*
A <sup>2</sup>	47.89	1	47.89	27.71	0.0012	**
B <sup>2</sup>	82.72	1	82.72	47.87	0.0002	**
C <sup>2</sup>	16.63	1	16.63	9.62	0.0173	*
残差 Residual error	12.10	5	1.73			
失拟项 Lack of fit	7.74	3	2.58	2.37	0.2119	
纯误差 Pure error	4.36	2	1.09			
总和 Sum	265.45	16				

$R^2=0.9544$

“\*”表示显著差异 ( $P<0.05$ ), “\*\*”表示极显著差异 ( $P<0.01$ )。下同。

“\*” means significant difference ( $P<0.05$ ), “\*\*” stands for extremely significant difference ( $P<0.01$ ). The same below.

**2.1.3 浸泡时间对紫苏蛋白提取率的影响** 不同浸泡时间对紫苏蛋白提取的试验结果见图 3。

由图 4 可看出, 浸泡时间在 30~120 min, 随着时间的延伸, 紫苏蛋白提取率逐渐提高, 当浸泡时间达到 120 min 时, 提取率最高, 当时间超过 120 min 后, 提取率变化不大。时间过长, 不利于工业

化生产, 选择时间 120 min 为单因素试验最佳时间。

## 2.2 响应面试验

**2.2.1 响应面试验设计与结果** 以浸泡温度、液料比、浸泡时间等 3 个因素设计中心组合试验。根据 Box-Behnken8.0 设计原理, 安排设计 17 个处理组合, 试验设计及结果见表 3。

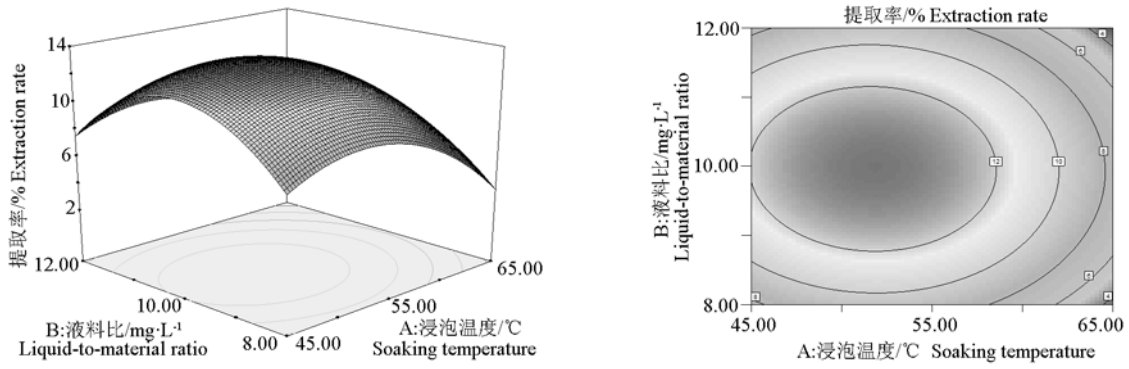


图 5 浸泡温度、液料比对紫苏蛋白提取率交互影响的响应面 (左) 和等高线 (右)

Figure 5 Response surface (left) and contour plots (right) for effects of interaction between temperature and liquid-to-material ratio on the extraction rate of perilla protein

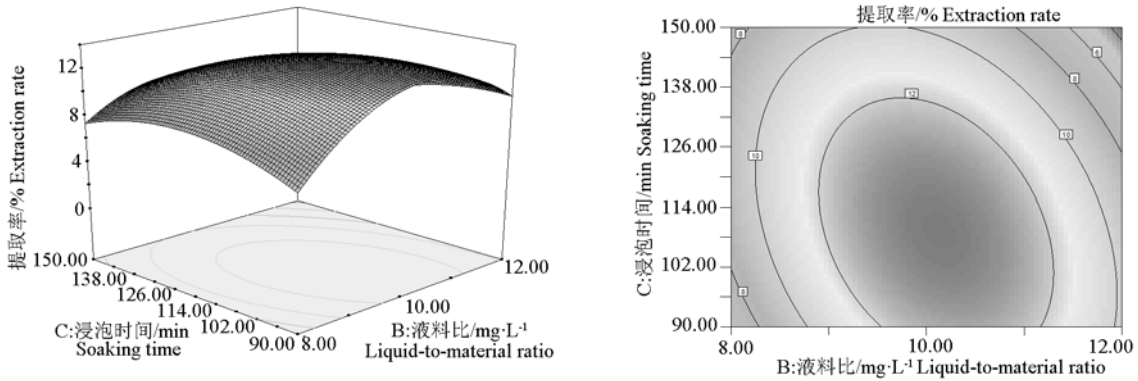


图 6 液料比、浸泡时间对紫苏蛋白提取率交互影响的响应面 (左) 和等高线 (右)

Figure 6 Response surface (left) and contour plots (right) for effects of interaction between liquid-to-material ratio and time on the extraction rate of perilla protein

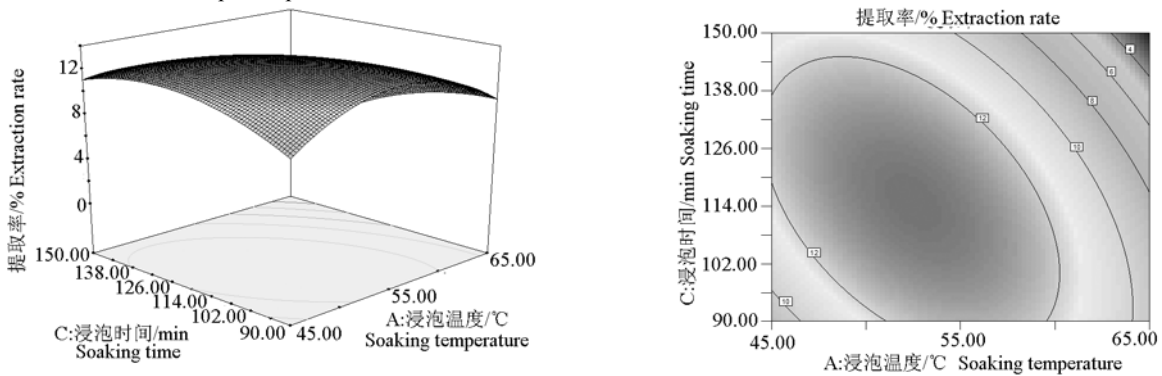


图 7 浸泡温度、浸泡时间对紫苏蛋白提取率交互影响的响应面 (左) 和等高线 (右)

Figure 7 Response surface (left) and contour plots (right) for effects of interaction between temperature and time on the extraction rate of perilla protein

根据表 3 结果, 利用 Design Expert 软件建立的紫苏饼粕蛋白提取率对浸泡温度、液料比、浸泡时间二次方程模型为:

$$Y=13.21-2.21A-0.21B-1.38C-0.15AB-2.43AC-1.78BC-3.37A^2-4.43B^2-1.99C^2.$$

对该模型进行方差分析结果见表 4。由表 4 可知, 模型的  $F=16.29$  和  $P<0.01$ , 即该模型是显著的。模型失拟项  $P=0.2119 > 0.05$ , 相关系数  $R^2=0.9544 > 0.8000$ , 即模型失拟项不显著, 表明该

模型具有极显著的统计学意义, 试验误差小, 拟合程度好, 适用于紫苏蛋白提取工艺的优化。

由回归模型系数显著性检验结果可知, 该模型一次项 A ( $P<0.01$ ) 极显著, 一次项 C ( $P<0.05$ ) 显著, 一次项 B ( $P>0.05$ ) 不显著; 二次项  $A^2$ ,  $B^2$  极显著 ( $P<0.01$ ), 二次项  $C^2$  显著 ( $P<0.05$ )。交互项 AC 对提取率的影响极显著 ( $P<0.01$ ), 交互项 BC 对提取率的影响显著 ( $P<0.05$ ), 交互项 AB 对提取率的影响不显著 ( $P>0.05$ ), 表明试验因

素 A、B 对响应值不是简单的线性关系, 因素间的交互作用影响较小。3 项因素对紫苏蛋白提取率影响的大小为浸泡温度 > 浸泡时间 > 液料比。

**2.2.2 响应面分析**<sup>[9-11]</sup> 浸泡温度、液料比和浸泡时间 3 因素间的交互作用对紫苏蛋白提取效果影响的三维空间响应面图如图 5、图 6 和图 7 所示。

图 5 显示浸泡时间 120 min, 浸泡温度和液料比之间的交互作用对紫苏蛋白提取效果的影响。其 3D 图曲线比较平滑, 等高线接近圆形, 即浸泡温度和液料比的交互效应不显著。图 6 显示浸泡温度为 55℃, 液料比和浸泡时间之间的交互作用对紫苏蛋白提取效果的影响。其 3D 图曲线较陡, 等高线椭圆弧度较大, 即液料比和浸泡时间的交互效应较为显著。图 7 显示液料比为 10:1 mL·g<sup>-1</sup>, 浸泡温度和浸泡时间之间的交互作用对紫苏蛋白提取效果的影响。其 3D 图曲线最陡, 等高线椭圆弧度最大, 即浸泡温度和浸泡时间的交互效应最为显著。这与方差分析结果一致。

**2.2.3 验证试验** 在最佳提取工艺条件下, 浸泡温度 52.44℃, 液料比 10.04:1 mL·g<sup>-1</sup>, 浸泡时间 114.04 min, 在此工艺条件下紫苏蛋白提取率的预测值为 13.63%。为检验响应面设计所得结果的可靠性, 修正工艺参数为: 浸泡温度 53℃, 液料比 10:1 mL·g<sup>-1</sup>, 浸泡时间 114 min, 在此条件下实际测得的紫苏蛋白提取率为 13.91%, 与理论预测值相比, 其相对误差约为 2.10%。说明该方程和实际的情况比较相符, 试验结果充分验证了模型的正确性, 响应面设计对泡沫法提取紫苏蛋白工艺的优化结果是有效的<sup>[9]</sup>。

### 3 结论与讨论

以紫苏饼粕为原料, 通过单因素试验与 Box-Behnken8.0 试验设计的响应面试验对紫苏蛋白的提取工艺条件进行优化, 得出最佳提取工艺: 浸泡温度 53℃, 液料比 10:1 mL·g<sup>-1</sup>, 浸泡时间 114 min, 在此条件下实际测得的紫苏蛋白提取率为 13.91%。较朱国君<sup>[12]</sup>采用正交试验优化得紫苏饼粕蛋白质分离提取最佳工艺所用试剂少, 也较童波<sup>[5]</sup>以紫苏粕为原料, 旨在开发利用紫苏粕中蛋白质, 双蛋白酶对处理后粕进行酶法分步水解温度(60℃)低, 时间(240 min)短, 也较蒋连平<sup>[13]</sup>以菜籽饼粕为原料, 采用碱提酸沉结合超滤浓缩制备菜籽分离蛋白的工艺, 选

取碱性蛋白酶对其进行酶解的温度(55℃)低。

本研究得到紫苏蛋白提取率与各因素变量的二次方程模型。该模型回归极显著, 对试验拟合较好, 为紫苏蛋白的产业化技术的提升提供参考依据, 具有一定应用价值。

由于蛋白质分子中极性基团与非极性基团的相互作用, 分子链较易发生团聚, 形成近似球状的复杂结构, 称为球蛋白。球蛋白在碱性溶液中的溶解性很好, 但是在等电点会发生沉淀, 故又将球蛋白称为酸沉蛋白, 碱提酸沉法生产分离蛋白的原理就是利用球蛋白的这一特性。在单因素试验与响应面试验中, 关于在碱性条件下采用泡沫分离法对紫苏蛋白的提取试验有待进一步研究。

以响应面法对紫苏蛋白的提取工艺进行优化, 研究结果表明, 采用响应面法优化紫苏蛋白提取工艺具有较高的可行性。

### 参考文献:

- [1] 丁晨光, 李芳. 紫苏的医疗营养保健功效与开发研究进展[J]. 实用医药杂志, 2007, 24(10): 1253-1255.
- [2] 刘浏. 紫苏叶的研究进展[J]. 中国医学创新, 2012, 9(6): 162-164.
- [3] 王根女. 紫苏中酚类物质的微波辅助提取工艺及其抗氧化能力研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2010.
- [4] 苑玉莉. 紫苏中天然活性成分的提取及应用研究[D]. 上海: 华东理工大学生物工程学院, 2013.
- [5] 童波. 以紫苏粕为原料制备高 F 值低聚肽的工艺研究[D]. 武汉: 武汉工业学院, 2009.
- [6] 盛彩虹. 紫苏蛋白产品的开发[D]. 武汉: 武汉工业学院, 2011.
- [7] 张海滨, 何毓敏, 张长城, 等. 泡沫分离法提取竹节参总皂苷的工艺优选[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(1): 18-20.
- [8] 刘宗民. 泡沫分离回收马铃薯淀粉废水中蛋白质的工艺[D]. 天津: 河北工业大学, 2013.
- [9] 常学东, 朱京涛, 舒媛, 等. 板栗水溶性蛋白质提取工艺的优化[J]. 食品科学, 2004, 25(11): 141-143.
- [10] 吴君艳, 吴存兵. 响应面优化藜蒿叶绿素铜钠的制备工艺[J]. 南方农业学报, 2015, 46(9): 1673-1678.
- [11] 吴存兵, 吴君艳, 李西腾, 等. 藜蒿中三萜类化合物的提取方法优化[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(24): 6110-6114.
- [12] 朱国君. 紫苏饼粕蛋白质的分离提取及其功能特性研究[D]. 重庆: 西南大学, 2007.
- [13] 蒋连平. 菜籽饼粕中分离蛋白的制备及其酶解条件研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2007.