

龟甲胶的快速制备工艺及其抗氧化活性研究

刘沁烨, 蔡嘉玲, 谈笑, 曹晖*

扬州大学旅游烹饪学院, 江苏 扬州

收稿日期: 2023年9月20日; 录用日期: 2023年10月20日; 发布日期: 2023年10月27日

摘要

以中华草龟为原料, 探讨超高压技术对龟甲胶出胶率、提取时间、抗氧化活性的影响。采用300 MPa-15 min、300 MPa-30 min、500 MPa-15 min、500 MPa-30 min四种超高压条件对龟甲进行预处理制备龟甲胶, 并测定其抗氧化活性。结果显示, 与传统制备工艺相比, 超高压技术可大大提高龟甲胶的生产效率, 其中300 MPa-30 min超高压处理组的提取时间可缩短42%。此外, 不同方法制备的龟甲胶皆具有抗氧化活性, 四种超高压处理组对 $\cdot\text{OH}$ 的清除率均高于传统工艺组, 最高达37.39%; 500 MPa-15 min、300 MPa-15 min、500 MPa-30 min组对DPPH $\cdot$ 的清除率高于传统工艺组, 最高达76.76%; 500 MPa-15 min、500 MPa-30 min组对ABTS $\cdot$ 的清除率高于传统工艺组, 最高达97.33%。本研究可为龟甲胶的快速制备工艺提供理论依据。

关键词

龟甲胶, 超高压, 胶原蛋白, 抗氧化活性

The Rapid Production Method and Antioxidant Activity of Turtle-Shell Glue

Qinye Liu, Jialing Cai, Xiao Tan, Hui Cao*

School of Tourism and Cuisine, Yangzhou University, Yangzhou Jiangsu

Received: Sep. 20th, 2023; accepted: Oct. 20th, 2023; published: Oct. 27th, 2023

Abstract

In this study, Chinese turtles were served as the experimental material to analyze the effect of ul-

*通讯作者。

文章引用: 刘沁烨, 蔡嘉玲, 谈笑, 曹晖. 龟甲胶的快速制备工艺及其抗氧化活性研究[J]. 食品与营养科学, 2023, 12(4): 276-284. DOI: 10.12677/hjfn.2023.124034

tra-high pressure on the yield, extraction time and antioxidant activity of turtle-shell glue. The turtle-shell were pretreated by four kinds of ultra-high pressure treatments: 300 MPa-15 min, 300 MPa-30 min, 500 MPa-15 min and 500 MPa-30 min, which were made into turtle-shell glue afterwards. The scavenging activity between turtle-shell glue made by ultra-high pressure and the traditional method was detected as well. The results showed that, in comparison with the traditional method, ultra-high pressure could greatly improve the production efficiency, and the extraction time of 300 MPa-30 min group could be reduced by 42%. Additionally, the turtle-shell glue made by different methods all had antioxidant activity. The clearance rates of $\cdot\text{OH}$ of four ultra-high pressure groups were higher than that of the traditional group, with a maximum of 37.39%; the clearance rates of DPPH $\cdot$ of 500 MPa-15 min, 300 MPa-15 min, and 500 MPa-30 min groups were higher than that of the traditional group, with a maximum of 76.76%; the clearance rates of ABTS $\cdot$ of 500 MPa-15 min and 500 MPa-30 min groups were higher than that of the traditional group, with a maximum of 97.33%. This study can provide a theoretical basis for the rapid production method of turtle-shell glue.

Keywords

Turtle-Shell Glue, Ultra-High Pressure, Collagen, Antioxidant Activity

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

龟甲胶(Colla Carapacis et Plastris Testudinis)是乌龟的背甲及腹甲经过熬煎浓缩制成的固体胶块,富含骨胶原、酶和多种氨基酸等[1],具有滋阴潜阳、益肾强骨、养血补心、固经止崩的功效,临床上用于治疗阴虚潮热、骨蒸盗汗、头晕目眩、筋骨痿软、心虚健忘等症([2]: pp. 187-188)。于冬梅[3]运用龟甲复方治疗阴虚血热型崩漏,有效率达 96.3%。常茹等[4]利用龟甲胶联合塞来昔布胶囊治疗膝骨性关节炎,总有效率达 93.33%。它的传统制法是将龟甲漂泡,洗净,分次水煎,滤过,合并滤液(或加入白钒细粉少许),静置,滤取胶液,浓缩(可加适量的黄酒、冰糖及豆油)至稠膏状,冷凝,切块,晾干即得[2]。但由于龟甲胶的传统生产工艺工序复杂,且胶原蛋白的提取较为困难,出胶率低,很大程度上限制了企业的生产工作效率[2]。故如何改进生产工艺以简化生产步骤、提高龟甲胶的生产效率,一直是龟甲胶研发企业的重点研究方向。

超高压技术是一种在常温或低温条件下采用 100 MPa 以上的压力处理样品,在一定时间内影响样品结构、理化性质的一种技术手段[5]。研究表明,高压可通过破坏稳定许多蛋白质天然构象的非共价相互作用的平衡来诱导蛋白质变性,对骨胶原蛋白的溶解度有一定的影响[6],从而提高胶原蛋白提取率,缩短提取时间。Gomez-Guillen 等[7]研究表明在热力处理之前,适当的超高压处理条件能够提高胶原蛋白得率。于小栋[8]采用超高压耦合酸酶法提取牦牛骨胶原蛋白,得率高达 58.95%。超高压食品加工技术在提取胶原蛋白方面的优秀表现为龟甲胶制备技术的改进提供了可能性。本文探讨超高压技术对龟甲胶出胶率、提取时间、抗氧化活性的影响,为龟甲的进一步利用及龟甲胶的快速制备工艺提供一定的理论依据。

2. 材料与仪器

2.1. 实验原料

中华草龟龟甲(腹甲)(扬州茂达生态水产养殖有限公司)。

2.2. 实验试剂

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH) (上海如吉生物科技发展有限公司); 无水乙醇(国药集团化学试剂有限公司); 硫酸亚铁(中国医药集团上海化学试剂公司); 水杨酸(天津市科密欧化学试剂有限公司); 过氧化氢(福州飞净生物科技有限公司); 2,2'-联氨-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(ABTS) (上海源叶生物科技有限公司); 过硫酸钾(河南腾升商贸公司); 磷酸缓冲溶液(兰杰柯科技有限公司 Biosharp 品牌); 抗坏血酸(天津市科密欧化学试剂有限公司)均为分析纯。

2.3. 实验仪器与设备

SHPP-10L 超高压设备(山西力德福科技有限公司); 不锈钢锅(九阳 Joyoung 电器官网); 多功能电磁炉(广东美的生活电器制造有限公司); 电热鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司); BS224S 电子天平(德国赛多利斯 SARTORIUS); 优普超纯水制造系统(四川优普超纯科技有限公司); HH-8 型数显恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司); 酶标仪(赛默飞世尔科技中国有限公司)等。

3. 实验方法

3.1. 龟甲胶的制备

3.1.1. 传统方法制备龟甲胶

取出干燥龟甲, 称重后放入不锈钢锅中, 加水 1200 mL 浸没龟甲, 电磁炉 2200 W 煮沸后调至 1000 W 保持锅内水微沸, 每 15 min 加水 300 mL, 直至龟甲可轻松掰碎成 15 mm × 15 mm 小块(此即水煮提取终点), 并记录提取时长。将龟甲碎片捞出, 趁热利用两层纱布将锅内胶液过滤至烧杯中, 放入温度已预先设置为 55℃ 的电热鼓风干燥箱中进行干燥浓缩。胶液约剩 50 mL 时, 转移至 24 mm 9 格硅胶模具中, 继续蒸干水分, 每隔 1 h 取出, 放入干燥器皿中冷却 30 min 后称重, 直至恒重, 记录龟甲胶质量并计算出胶率, 计算公式如下:

$$\text{出胶率} = \frac{\text{龟甲胶质量}}{\text{龟甲质量}} \times 100\%$$

3.1.2. 超高压预处理制备龟甲胶

将干燥龟甲装袋密封后寄至山西力德福科技有限公司, 选取 300 MPa-15 min、300 MPa-30 min、500 MPa-15 min、500 MPa-30 min 四种不同压力和保压时间组合条件对龟甲进行预处理, 按照“3.1.1”项下方法制备龟甲胶, 记录胶液提取时长、龟甲质量、龟甲胶质量, 并计算出胶率。

3.2. 龟甲胶抗氧化活性的测定

3.2.1. 样品的处理

将“3.1.1”和“3.1.2”项下方法制备的龟甲胶样品分别配置成质量浓度为 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mg/mL 的龟甲胶溶液, 并同样配置质量浓度为 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mg/mL 的 Vc 溶液作为阳性对照。

3.2.2. DPPH 自由基清除能力测定

参照孙泽坤[9]的方法略有修改, 取 2 mL 上述不同浓度龟甲胶样品溶液与 2 mL 0.2 mmol/L DPPH-无水乙醇溶液混匀室温下避光反应 30 min, 于 517 nm 处测定吸光值 A_1 ; 以无水乙醇代替 DPPH-无水乙醇溶液作为空白组, 测定吸光值 A_0 ; 以蒸馏水代替样品溶液作为对照组, 测定吸光值 A_2 。每个样品做 3 组平行, 并以 Vc 作为阳性对照。样品对 DPPH 自由基清除率计算公式如下:

$$\text{DPPH自由基清除率} = \frac{1 - (A_1 - A_0)}{A_2} \times 100\%$$

3.2.3. ABTS 自由基清除能力测定

参照冯晓文等[10]的方法略有修改,将 7 mmol/L ABTS 溶液和 2.45 mmol/L 过硫酸钾溶液等比例混合,室温避光反应 12~16 h,制成 ABTS 储备液。用 0.01 mol/L, pH 7.4 的磷酸缓冲溶液稀释,使其在波长 734 nm 处的吸光值为 0.70 ± 0.02 ,制得 ABTS 工作液。

取 0.1 mL 上述不同浓度龟甲胶样品溶液与 2.8 mL ABTS 工作液混匀室温下避光反应 10 min,于 734 nm 处测定吸光值 A_1 ;以磷酸缓冲溶液代替 ABTS 工作液作为空白组,测定吸光值 A_0 ;以蒸馏水代替样品溶液作为对照组,测定吸光值 A_2 。每个样品做 3 组平行,并以 Vc 作为阳性对照。样品对 ABTS 自由基清除率计算公式如下:

$$\text{ABTS自由基清除率} = \frac{1 - (A_1 - A_0)}{A_2} \times 100\%$$

3.2.4. 羟自由基清除能力测定

参照徐卉等[11]的方法略有修改,于试管中按顺序加入 1 mL 4.5 mmol/L FeSO_4 溶液,1 mL 9 mmol/L 水杨酸-乙醇溶液及 2 mL 上述不同浓度龟甲胶样品溶液,混匀后加入 1 mL 8.8 mmol/L H_2O_2 溶液,37℃ 水浴 30 min,于 510 nm 处测定吸光值 A_1 ;以蒸馏水代替水杨酸-乙醇溶液作为空白组,测定吸光值 A_0 ;以蒸馏水代替样品溶液作为对照组,测定吸光值 A_2 。每个样品做 3 组平行,并以 Vc 作为阳性对照。样品对羟自由基清除率计算公式如下:

$$\text{羟自由基清除率} = \frac{1 - (A_1 - A_0)}{A_2} \times 100\%$$

3.3. 数据统计分析

采用 SPSS 27.0 统计软件分析差异的显著性, $P < 0.05$, 差异显著。使用 Origin 2021 软件绘制图像。使用 Prism 9.5.1 软件计算样品对自由基清除率的 IC_{50} 值。

4. 结果与分析

4.1. 超高压处理对龟甲胶出胶率和提取时间的影响

由图 1 可知, 300 MPa-30 min 处理组的出胶率达到 14.21%, 显著高于其他超高压处理组($P < 0.05$), 但相比传统工艺组, 此作用压力与时间组合对于出胶率变化无显著影响($P > 0.05$)。当保压时间相同, 随着作用压力从 300 MPa 向 500 MPa 增长, 出胶率增长不显著($P > 0.05$)或有所降低, 这是由于超高压较大压力的处理使胶原蛋白内部结构改变形成新的稳定结构, 继续增加压力对提高出胶率的贡献不大[12]。当作用压力相同, 随着保压时间从 15 min 向 30 min 延长, 出胶率均显著增加($P < 0.05$), 这是由于保压时间较短时, 胶原蛋白内部的非共价键未能被完全破坏, 而随着时间的延长, 胶原蛋白分子内部非共价键被破坏到位, 大大有利于胶原蛋白的提取[12]。

由图 2 可知, 相比传统工艺组, 超高压处理可显著降低胶液提取时间($P < 0.05$), 且 300 MPa-30 min、500 MPa-30 min 处理组的胶液提取时间均缩短了近 50%, 李圣桡等[13]的研究表明, 采用超高压辅助提取蓝靛果花青素具有提取时间短、提取量多等优点。综合研究结果, 确定较适超高压作用压力和时间组合为 300 MPa-30 min。

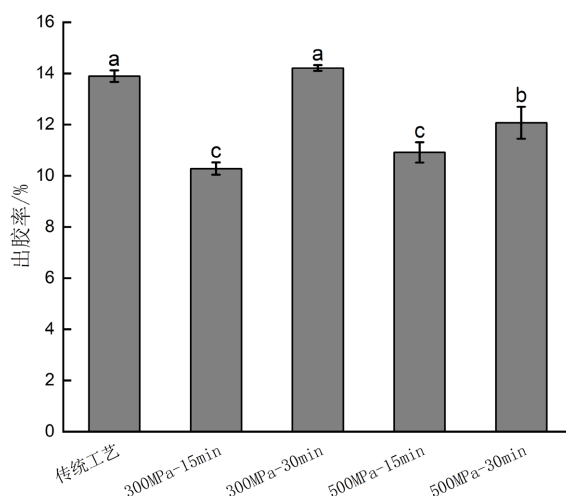


Figure 1. Effect of ultra-high pressure on the yield of turtle-shell glue

图 1. 超高压处理对龟甲胶出胶率的影响

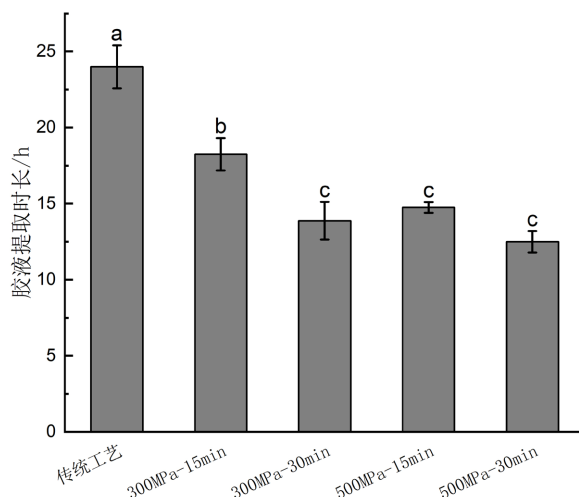


Figure 2. Effect of ultra-high pressure on the extraction time of turtle-shell glue

图 2. 超高压处理对龟甲胶提取时间的影响

4.2. 超高压处理对龟甲胶 DPPH 自由基清除率的影响

由图 3 可知, 500 MPa-15 min 处理制备的龟甲胶对 DPPH 自由基的清除率随浓度的增大一直呈持续增长的趋势, 在浓度为 0.5 mg/mL 时, 清除率为 41.87%, 在浓度为 5 mg/mL 时, 清除率达到 76.76%。300 MPa-15 min 组对 DPPH 自由基的清除率从浓度 0.5 mg/mL 时的 30.66% 增加到浓度 5 mg/mL 时的 63.78%。500 MPa-30 min 组对 DPPH 自由基的清除率在浓度小于 2 mg/mL 时与传统工艺组相近, 在浓度大于 2 mg/mL 时显著增大, 但仍低于 500 MPa-15 min 组, 在浓度大于 4 mg/mL 后增长幅度趋缓, 在浓度 5 mg/mL 时, 清除率达到 61.55%。300 MPa-30 min 组在浓度 0.5~5 mg/mL 范围内, 清除率由 15.02% 上升到 41.21%, 传统工艺组由 29.61% 上升到 47.86%。

为了更好地说明不同制备方法对 DPPH 自由基清除率的影响, 本文计算样品半抑制浓度(IC_{50} 值), 由表 1 可知, 500 MPa-15 min 组的 IC_{50} 值为 1.375 mg/mL, 均低于其他超高压处理组, 结合说明在 500 MPa-15 min 条件下制备的龟甲胶对 DPPH 自由基的清除能力最强。这是由于龟甲中本身含有半胱氨酸[14], 其具

有较好的 DPPH 自由基清除能力。超高压处理会破坏胶原蛋白三四级结构，其疏水及离子结合会因体积的缩小而被切断，导致蛋白质结构伸展，产生更多的游离半胱氨酸[15]，其可被转化为半胱氨酸。孟继坤等[16]的研究结果与本研究一致，相较于传统浸提法，超高压法提取的铁皮石斛多糖对 DPPH 自由基的清除率更高。

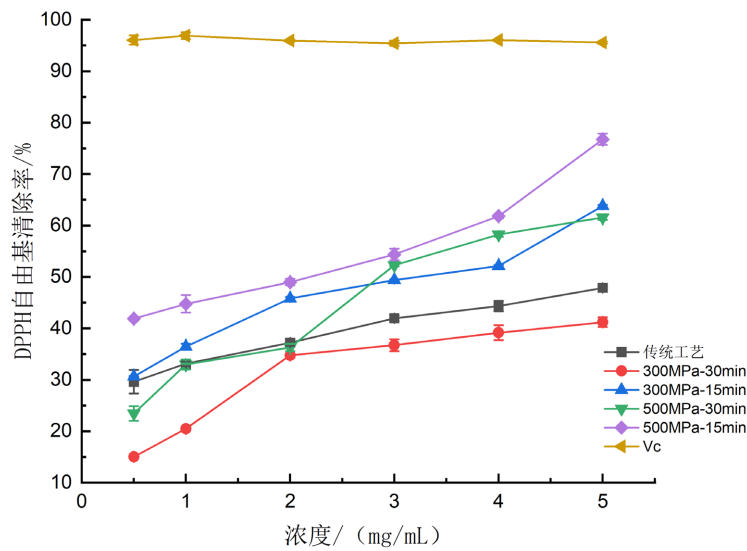


Figure 3. Effect of ultra-high pressure on DPPH• scavenging activity of turtle-shell glue
图 3. 超高压处理对龟甲胶 DPPH 自由基清除率的影响

Table 1. The IC₅₀ of DPPH• scavenging by different samples
表 1. 不同样品清除 DPPH 自由基的 IC₅₀ 值

样品类型	IC ₅₀ (mg/mL)
传统工艺	7.629
300 MPa-15 min	2.654
300 MPa-30 min	7.988
500 MPa-15 min	1.375
500 MPa-30 min	2.844
Vc	0.001

4.3. 超高压处理对龟甲胶 ABTS 自由基清除率的影响

由图 4 可知，在浓度 0.5~5 mg/mL 范围内，不同方法制备的龟甲胶对 ABTS 自由基的清除率均随浓度的升高而持续增大，在 20.76%~97.33%内增长。在浓度 0.5~2 mg/mL 范围内，5 种样品对 ABTS 自由基清除率的增速相近，2 mg/mL 后，500 MPa-15 min、500 MPa-30 min 组较传统工艺、300 MPa-15 min 和 300 MPa-30 min 组增速稍逊，3 mg/mL 后反超，在浓度 5 mg/mL 时 5 种样品对 ABTS 自由基的清除率均相近，且接近同浓度 Vc 溶液，可见龟甲胶具有较强的 ABTS 自由基清除能力。由表 2 可知，不同样品 IC₅₀ 值：300 MPa-30 min 组 > 300 MPa-15 min 组 > 传统工艺组 > 500 MPa-30 min 组 > 500 MPa-15 min 组，可得 500 MPa-15 min 条件下制备的龟甲胶对 ABTS 自由基的清除能力最强。不同方法制备的龟甲胶对 ABTS 自由基清除能力均较强是因为研究发现半胱氨酸、色氨酸、酪氨酸这三种氨基酸具有较强的 ABTS 自由基清除活性，活性最强的氨基酸是酪氨酸[17]，而龟甲胶中已分离鉴定出 17 种氨基酸，包

括半胱氨酸、酪氨酸等[14]。王鸥等[18]的研究结果与本研究一致，在一定的压力范围内，经超高压处理后的蓝莓对 ABTS 自由基的清除能力随着处理压力的增大而增大。

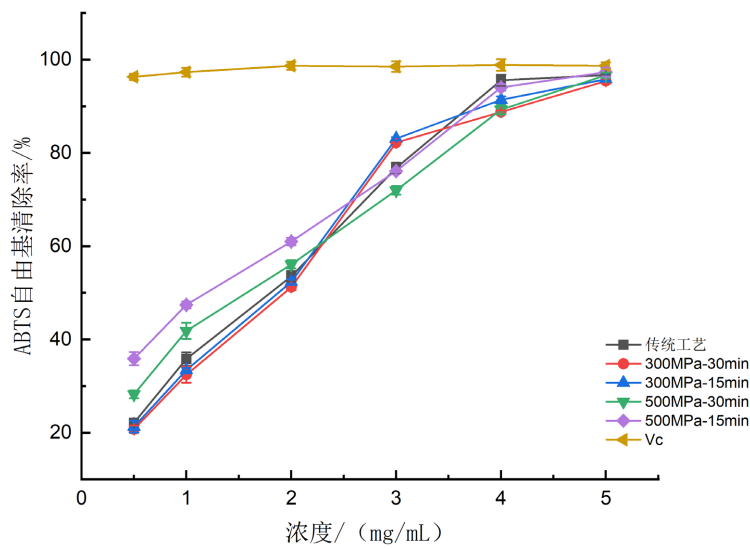


Figure 4. Effect of ultra-high pressure on ABTS+• scavenging activity of turtle-shell glue
图 4. 超高压处理对龟甲胶 ABTS 自由基清除率的影响

Table 2. The IC₅₀ of ABTS+• scavenging by different samples
表 2. 不同样品清除 ABTS 自由基的 IC₅₀ 值

样品类型	IC ₅₀ (mg/mL)
传统工艺	1.408
300 MPa-15 min	1.448
300 MPa-30 min	1.495
500 MPa-15 min	0.995
500 MPa-30 min	1.253
Vc	0.001

4.4. 超高压处理对龟甲胶羟自由基清除率的影响

由图 5 可知，300 MPa-15 min 组在浓度 0.5~5 mg/mL 范围内，对羟自由基的清除率从 11.77% 上升到 37.39%，且在浓度 0.5~3 mg/mL 范围内增加缓慢，后 3~4 mg/mL 较快。300 MPa-30 min 组与 300 MPa-15 min 组清除率曲线相近，但从整体趋势来看还是略逊，对羟自由基的清除率从 2.48% 增长到 35.87%，且在浓度 0.5 mg/mL 时清除率明显较低。500 MPa-15 min、500 MPa-30 min 和传统工艺组对羟自由基的清除率整体上来看均低于 300 MPa-15 min 组，且上升趋势都较为缓慢。由表 3 可知，300 MPa-15 min 组的 IC₅₀ 值低于其他超高压处理组，结合说明在 300 MPa-15 min 条件下制备的龟甲胶对羟自由基的清除能力最强。羟自由基是已知活性氧对生物体毒性最强的一种自由基[19]，而蛋白序列中的甘氨酸、精氨酸、脯氨酸可能与羟自由基的清除能力有关[11]，郭尚伟等[20]的研究表明龟甲胶中本身含有这三种氨基酸，且甘氨酸和脯氨酸的含量较高，分别达 17.96% 和 11.16%，因此其对羟自由基有一定的清除能力。徐树来等[21]的研究结果与本研究一致，较有机溶剂浸提法，超高压法提取的灵芝三萜对羟自由基的清除能力更强。

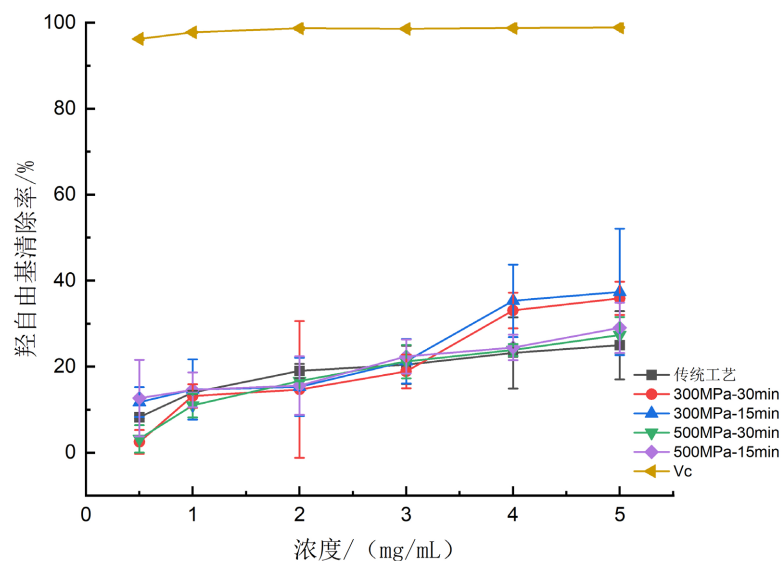


Figure 5. Effect of ultra-high pressure on •OH scavenging activity of turtle-shell glue
图 5. 超高压处理对龟甲胶羟自由基清除率的影响

Table 3. The IC₅₀ of •OH scavenging by different samples
表 3. 不同样品清除羟自由基的 IC₅₀ 值

样品类型	IC ₅₀ (mg/mL)
传统工艺	42.950
300 MPa-15 min	8.459
300 MPa-30 min	10.200
500 MPa-15 min	14.190
500 MPa-30 min	16.530
Vc	0.002

5. 结论

传统工艺组龟甲胶的提取时间为 24 h，300 MPa-15 min 组为 18.25 h，300 MPa-30 min 组为 13.875 h，500 MPa-15 min 组为 14.75 h，500 MPa-30 min 组为 12.5 h。随着超高压处理压力的增长及保压时间的延长，相比传统工艺组，龟甲胶的提取时间均显著降低(P < 0.05)，且 300 MPa-30 min 和 500 MPa-15 min 组的胶液提取时间皆缩短了近 50%，其中 300 MPa-30 min 组的出胶率达到了 14.21%，高于其他超高压处理组，大大提升了龟甲胶的生产效率。

四种超高压处理组对•OH 的清除率均高于传统工艺组，最高达 37.39%；500 MPa-15 min、300 MPa-15 min、500 MPa-30 min 组对 DPPH•的清除率高于传统工艺组，最高达 76.76%；500 MPa-15 min、500 MPa-30 min 组对 ABTS+•的清除率高于传统工艺组，最高达 97.33%。总体来说对龟甲胶自由基的清除效果，在相同处理压力下，保压 15 min 优于 30 min，在相同保压时间下，500 MPa 处理优于 300 MPa，即在本研究探讨范围内，500 MPa-15 min 处理制备的龟甲胶抗氧化活性最佳，这可能是由于不同超高压处理压力、保压时间对胶原蛋白内部非共价键的破坏程度不同，导致龟甲胶中抗氧化氨基酸的游离程度不同，从而使得龟甲胶的抗氧化活性有所差异。

基金项目

扬州大学大学生科技创新基金项目(X20220910)。

参考文献

- [1] 唐宇, 肖丹, 刘子毓, 王磊, 罗丽云, 何清湖. 龟甲胶的研究现状及展望[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(6): 2593-2598.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015.
- [3] 于冬梅. 固经丸加味治疗更年期崩漏疗效观察[J]. 中医学报, 2011, 26(1): 107.
<https://doi.org/10.16368/j.issn.1674-8999.2011.01.033>
- [4] 常茹, 陈美丽, 何文智, 等. 龟甲胶联合塞来昔布胶囊治疗肝肾亏虚型膝骨性关节炎临床观察[J]. 亚太传统医药, 2021, 17(10): 89-92.
- [5] 杨雯雯, 郭志芳. 超高压技术在蛋白质食品加工中的应用[J]. 食品安全导刊, 2021(25): 168-169.
<https://doi.org/10.16043/j.cnki.cfs.2021.25.088>
- [6] Kwiatkowska, A., Jankowska, B., et al. (2001) Changes in Solubility of the Bovine Semitendinosus Muscle Collagen under the Influence of High Pressure. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, **10**, 35-39.
- [7] Gomez-Guillen, M.C., Gimenez, B. and Montero, P. (2005) Extraction of Gelatin from Fish Skins by High Pressure Treatment. *Food Hydrocolloids*, **19**, 923-928. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2004.12.011>
- [8] 于小栋. 牦牛骨胶原蛋白肽的制备及其功能特性研究[D]: [硕士学位论文]. 青海: 青海师范大学, 2019.
<https://doi.org/10.27778/d.cnki.gqhzy.2019.000090>
- [9] 孙泽坤. 复配驴头骨肉冻的开发及抗氧化活性评价[D]: [硕士学位论文]. 无锡: 江南大学, 2021.
<https://doi.org/10.27169/d.cnki.gwqgu.2021.002026>
- [10] 冯晓文, 赵晓涵, 潘晓琦, 等. 体外模拟消化对海洋鱼骨胶原低聚肽结构和抗氧化活性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(5): 173-179. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.025654>
- [11] 徐卉, 顾依梦, 陶宁萍, 等. 河豚鱼皮胶原蛋白理化特性和体外抗氧化性能[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(7): 225-231. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.031179>
- [12] 张宇昊, 马良, 师萱. 鱼皮明胶的超高压辅助提取工艺[J]. 食品科学, 2011, 32(6): 99-103.
- [13] 李圣桡, 李若萌, 陈博朴, 等. 超高压辅助提取蓝靛果花青素工艺优化[J]. 农产品加工, 2021(11): 26-30.
[https://doi.org/10.16693/j.cnki.1671-9646\(X\).2021.06.007](https://doi.org/10.16693/j.cnki.1671-9646(X).2021.06.007)
- [14] 李晴, 朱香梅, 石雨荷, 等. 龟甲胶研究发展探析[J]. 河南中医, 2023, 43(6): 968-972.
<https://doi.org/10.16367/j.issn.1003-5028.2023.06.0193>
- [15] 朱文慧, 杨琬琳, 步营, 等. 超高压耦合酶解鳕鱼骨的工艺优化及其对酶解液滋味的影响[J]. 食品工业科技, 2019, 40(4): 214-219.
- [16] 孟继坤, 张楠, 吴浩, 等. 超高压提取铁皮石斛多糖工艺优化及其抗氧化活性分析[J]. 食品与机械, 2023, 39(1): 157-163. <https://doi.org/10.13652/j.spjx.1003.5788.2022.80364>
- [17] 张德举. 蛋清源小肽的结构与协同抗氧化活性关系研究[D]: [硕士学位论文]. 长春: 吉林大学, 2017.
- [18] 王鸥, 周洁心, 蔡圣宝, 等. 超高压处理对蓝莓酚类物质生物可获得率及抗氧化性的影响[J]. 中国食物与营养, 2019, 25(11): 30-35. <https://doi.org/10.19870/j.cnki.11-3716/ts.2019.11.006>
- [19] 蔡卓, 江彩英, 赵静, 等. 流动注射化学发光法测定中草药对羟自由基的清除率[J]. 理化检验(化学分册), 2010, 46(9): 1096-1098.
- [20] 郭尚伟, 周祥山, 嵇传良, 等. HPLC-MS/MS 法测定阿胶、龟甲胶、鹿角胶中 17 种氨基酸含量[J]. 明胶科学与技术, 2016, 36(2): 86-91.
- [21] 徐树来, 徐瑶, 尤婷婷, 等. 超高压辅助提取灵芝三萜的工艺优化及抗氧化活性评价[J]. 食品工业科技, 2022, 43(20): 274-280. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022030181>