

超滤法从马铃薯淀粉加工分离汁水中回收蛋白质的研究

顾文芬¹, 曾凡逵², 程锦春¹

(1. 西北民族大学化工学院, 甘肃兰州 730030)

(2. 中国科学院兰州化学物理研究所环境材料与生态化学研究发展中心, 甘肃兰州 730000)

摘要: 马铃薯淀粉加工分离汁水中大约含有 1.5% 蛋白质, 本研究分析了超滤法在马铃薯蛋白回收当中的应用, 并且通过对实验条件的优化, 准确地测定了蛋白酶抑制因子对胰蛋白酶的抑制能力。在实验条件下, 研究表明: 浓缩比为 5 的情况下, 分子截留量分别为 10000 MWCO 和 30000 MWCO 的超滤膜包的浓缩液蛋白浓度分别增加到原来的 4.35 和 3.90 倍, 蛋白质回收率分别为 67.61% 和 62.98%。SDS-PAGE 结果表明两个超滤膜包回收的蛋白组成没有什么差异, 均包含 patatin 蛋白和蛋白酶抑制剂组分, 但 30000 MWCO 的超滤膜包孔径较大, 水和小分子量物质更容易穿透, 浓缩效率高, 更加适合于回收马铃薯总蛋白。分子截留量分别为 10000 MWCO 和 30000 MWCO 的超滤膜包回收的蛋白胰蛋白酶抑制剂的活力分别为 124.38 和 95.25 TIUs/mg 蛋白。超滤法适用于从马铃薯淀粉加工分离汁水中回收天然活性蛋白质。

关键词: 马铃薯淀粉加工分离汁水; 蛋白质; 超滤; 马铃薯; 淀粉加工

文章编号: 1673-9078(2018)03-131-136

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.03.019

Study on the protein Recovery from Potato Starch Processing Water by Ultrafiltration

GU Wen-fen¹, ZENG Fan-kui², CHENG Jin-chun¹

(1. Northwest Minzu University, School of Chemical Engineering, Lanzhou 730030, China)

(2. Research and Development Center for Eco-material and Eco-chemistry, Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China)

Abstract: Potato starch processing water (PSPW) contains about 1.5% protein. The application of ultrafiltration in protein recovery from PSPW was analyzed in this study and the activity of protease inhibitors was measured accurately by optimizing the experimental conditions. Under the experimental conditions, the results showed that: the protein concentration of the concentrated solution of ultrafiltration membrane packs of 10,000 MWCO and 30,000 MWCO increased to 4.35 and 3.90 times, respectively, and the protein recovery rates of the two ultrafiltration membrane packs were 67.61% and 62.98%, respectively, in the case of the concentration ratio of 5. SDS-PAGE results showed that there was no difference in protein composition between the two ultrafiltration membrane packs, both of which contained patatin protein and protease inhibitors, but the efficiency of 30000 MWCO was higher, because that the water and small molecules were easier to penetrate, so it was more suitable for the recovery of proteins of the PSPW. The trypsin inhibitor activities of ultrafiltration membrane packs of 10,000 MWCO and 30,000 MWCO were 124.38 and 95.25 mg/mg, respectively. Ultrafiltration is suitable for the recovery of natural active protein from potato starch processing juice.

Key words: potato starch processing water; protein; ultrafiltration; potato; starch processing

收稿日期: 2017-10-19

基金项目: 甘肃省自然科学基金项目 (1501RJZA004); 兰州市科技发展计划项目 (2016-3-123); 西北民族大学引进人才项目 (Z16061); 西北民族大学中央高校基本科研业务费资金资助项目 (Y17030)

作者简介: 顾文芬 (1994-), 本科在读, 研究方向: 化学工程与工艺

通讯作者: 程锦春 (1978-), 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物功能化应用

马铃薯蛋白功能特性和营养价值都非常高, 被认为是最好植物蛋白之一^[1-5]。马铃薯蛋白具有良好起泡和乳化性质^[6-9]。如果回收后的马铃薯蛋白具有天然活性、品质高, 在食品工业当中具有非常好应用前景^[10]。Patatin 蛋白是马铃薯当中的主要蛋白, 大约占马铃薯块茎中总蛋白的 40%, 具有很好的功能特性, 可替代动物蛋白作为红酒澄清剂以降低过敏反应^[11]。Patatin

蛋白的分子量为 40~45 ku, 它的 EAAI (必需氨基酸指数) 为 89%, 与很多动物蛋白和植物蛋白相比都要高^[12,13]。其余蛋白的分子量为 19~22 ku^[13,14]。从氨基酸组成来看, 马铃薯蛋白的营养价值可以和鸡蛋蛋白相媲美^[1~3,5]。

不同的技术从马铃薯淀粉加工分离汁水中回收蛋白都有相关报道, 如传统浓缩、热絮凝、沉淀、羧甲基纤维素离子交换、扩张床吸附离子交换和超滤等。前四种技术蛋白质回收率高但回收的蛋白质会发生变性, 因为回收过程中使用了加热和加酸^[4,15~17]。热絮凝回收马铃薯蛋白已经产业化应用, 但回收的马铃薯蛋白只能用作动物饲料, 因为其中性 pH 条件下不溶于水^[4,5,18~21]。

膜分离技术已经非常成熟, 在乳品加工行业以及商业化应用已经有很多年。微滤 (Microfiltration, MF)、超滤 (Ultrafiltration, UF) 和反渗透 (Reverse osmosis, RO) 在乳品工业中广泛应用分离不同的组分如酪蛋白和乳清蛋白。UF 在苜蓿蛋白分离中进行应用^[22], 超滤对于分离糖、有毒物质、多酚类物质和其他小分子量物质等杂质的效果非常好。RO 在马铃薯淀粉加工废水处理方面也已经进行了应用^[23~25]。

本研究的目的是分析膜分离技术在马铃薯蛋白回收中的应用: 分析了膜通量, 采用超滤膜对马铃薯淀粉加工分离汁水当中的蛋白进行分离浓缩, 通过 SDS-PAGE 对回收蛋白的组成进行分析, 并检测回收蛋白的胰蛋白酶抑制剂的活力。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

郑商薯 10 号马铃薯, 由郑州市蔬菜研究所提供; Na-苯甲酰-DL-精氨酸-4-硝基苯胺盐酸盐, 纯度 $\geq 98\%$, Sigma, 货号: B3133-250 MG, 其余化学试剂均为分析纯; BCA 蛋白质定量试剂盒, 博士德生物工程有限公司。

1.2 仪器与设备

SS260-A 多功能食物搅拌机, 佛山市沃尔姆斯电器有限公司; Exceed-Cb-20 艾柯实验室超纯水机, 成都唐氏康宁科技发展有限公司; 5810 R 离心机, S-4-104 水平转子, 德国 Eppendorf 公司; 赛多利斯超滤膜包, 分子截留量分别为 10000 MWCO 和 30000 MWCO (Molecular Weight Cut Off), 德国赛多利斯公司; LongerPump BT300-2J 型恒流泵, 泵头为 YZ1515X, 管子为 LongerPump 25#。DNM9602G 酶

标分析仪, 北京普朗新技术有限公司; JDG-0.2 型真空冷冻干燥实验机, 兰州科近真空冻干技术有限公司。

1.3 马铃薯蛋白溶液制备

取 3125 g 郑商薯 10 号马铃薯, 洗净切块, 用含 20 mM 亚硫酸氢钠 (6.503 g) 和 10 mM 柠檬酸钠 (6 g) 的 RO 水 3125 mL 匀浆和冲洗, 过筛用的筛网为 120 目 (孔径 0.125 mm)。马铃薯淀粉、蛋白和水溶性的营养物质穿过筛网, 用 Eppendorf 5810 R 离心机 3900 r/min 离心 5 min 分离淀粉, 共得到上清液马铃薯蛋白溶液 3410 mL, 该样品编号为 1。

1.4 膜通量测定

分别用 1000 mL RO 水和 1000 mL 马铃薯蛋白溶液测试超滤膜在不同压强下的膜通量, 压强分别为 1 bar、1.5 bar、2 bar、2.5 bar 和 3 bar, 泵 Longer Pump BT300-2J, 泵头 YZ1515X, 100 r/min, 管子为 Longer Pump 25#。

1.5 超滤浓缩

取 500 mL 马铃薯汁水 (样品 1), 分别用两个不同的超滤膜包进行浓缩, 将马铃薯粗蛋白溶液浓缩到 100 mL (透过液为 400 mL), 泵 Longer Pump BT300-2J, 泵头 YZ1515X, 100 r/min, 管子为 Longer Pump 25#。10000 MWCO 膜包的浓缩液记为样品 2, 透过液记为样品 3, 添加 400 mL 水重复浓缩至 100 mL 的透过液记为样品 4, 再一次添加 400 mL 水浓缩至 100 mL 的透过液记为样品 5, 最终浓缩液即为样品 6。30000 MWCO 膜包的浓缩液记为样品 7, 透过液记为样品 8, 添加 400 mL 水重复浓缩至 100 mL 的透过液记为样品 9, 再一次添加 400 mL 水浓缩至 100 mL 的透过液记为样品 10, 最终浓缩液即为样品 11。

1.6 膜包清洗与保存

先用 1000 mL RO 水清洗超滤膜, 再用 1000 mL 20 mM NaOH 溶液循环清洗超滤膜 30 min, 然后用 2000 mL RO 水将膜包里的 NaOH 溶液清洗出来。在膜通量下降时采用该方法清洗, 保存前同样需要按照上述步骤清洗并灌满 20% 的酒精, 防止霉菌生长。

1.7 蛋白浓度测定

用 BCA 蛋白质定量试剂盒进行分析, 将 2000 $\mu\text{g/mL}$ 的蛋白标准品溶液分别稀释成 1000、500、250 和 125 $\mu\text{g/mL}$ 。按 50 体积 BCA 试剂 A 加 1 体积 BCA 试剂 B (50:1) 配制适量 BCA 工作液。将 25 μL 标准

品和合适浓度范围的样品分别加入 96 孔板的微孔中，各加 200 μL BCA 工作液，充分混匀，37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30 min 后 550 nm 测定吸光值。

1.8 胰蛋白酶抑制剂活力测定

参考曾凡逵等^[26]报道的方法对马铃薯胰蛋白酶抑制剂活力进行测定，通过抑制剂抑制胰蛋白酶活力的测定，采用化学合成物质 $\text{N}\alpha$ -苯甲酰-DL-精氨酸-4-硝基苯胺盐酸盐做底物，该底物被胰蛋白酶水解以后会生成黄颜色的对硝基苯胺，因此可以采用分光光度计测定，检测波长为 410 nm。胰蛋白酶抑制剂的活力检测结果表达成被抑制的胰蛋白酶活力单位，一个蛋白酶活力单位定义为在检测条件下吸光值每增加 0.01。

1.9 数据分析

实验重复三次，实验数据以平均值 \pm 标准差 (Mean \pm SD)表示，采用 Microsoft Office Excel 2007 数据分析工具进行处理，并进行作图。

2 结果与分析

2.1 膜通量分析

膜通量（或称透过速率）是膜分离过程的一个重要工艺运行参数，是指单位时间内通过单位膜面积上的流体量，一般以 $\text{m}^3/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 或 $\text{L}/(\text{m}^2\cdot\text{h})$ 表示。本文采用的膜通量单位为 $\text{L}/\text{m}^2\cdot\text{h}\cdot\text{bar}$ 。

表 1 两个超滤膜包膜通量测试结果 ($\text{L}/\text{m}^2\cdot\text{h}\cdot\text{bar}$)

Table 1 Membrane flux test results of the two ultrafiltration membrane packs ($\text{L}/\text{m}^2\cdot\text{h}\cdot\text{bar}$)

压力 /bar	10000 MWCO		30000 MWCO	
	RO 水	马铃薯汁水	RO 水	马铃薯汁水
1.0	66.86 \pm 0.44	12.05 \pm 1.69	164.49 \pm 2.14	29.51 \pm 0.30
1.5	57.79 \pm 0.56	7.07 \pm 0.11	119.44 \pm 4.42	17.14 \pm 0.15
2.0	49.04 \pm 0.35	6.77 \pm 0.06	106.98 \pm 1.74	12.58 \pm 0.09
2.5	46.87 \pm 1.58	5.67 \pm 0.04	86.41 \pm 0.48	9.87 \pm 0.14
3.0	41.15 \pm 0.35	4.89 \pm 0.04	82.53 \pm 1.67	7.76 \pm 0.10

Sartorius VIVAFLOW200 两个超滤膜包的膜通量实验检测结果如表 1 所示。从表 1 可以看出，不管是 10000 MWCO 还是 30000 MWCO，RO 水的膜通量都比马铃薯汁水的膜通量高。膜通量随着压力升高是增加的，但由于采用的膜通量单位为 $\text{L}/\text{m}^2\cdot\text{h}\cdot\text{bar}$ ，所以表 1 当中看起来膜通量随着压力升高反而降低。另外还可以非常容易看出，不管在哪个压力下，30000

MWCO 的膜包膜通量比 10000 MWCO 的高，这是由于分子截留量大的膜包孔径比较大，水和小分子量物质更容易穿透。

在实际浓缩操作过程中，当使用膜对蛋白溶液进行浓缩时，随着运行时间延长，膜会发生污染，部分膜孔被堵塞，导致膜通量降低，因此发现膜通量明显降低时，需要对膜进行清洗以恢复膜通量。

2.2 蛋白含量测定结果

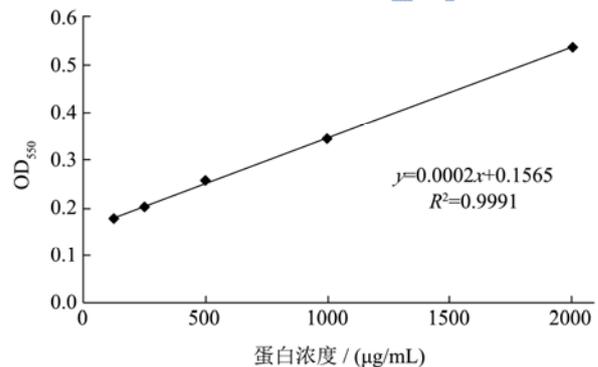


图 1 蛋白浓度测定标准曲线

Fig.1 Standard curve of protein concentration

表 2 样品当中蛋白浓度测定结果

96 孔板法 BCA 蛋白浓度测定的标准曲线如图 1 所示，125、250、500、1000 和 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 牛血清白蛋白浓度与对应的 OD_{550} 吸光值相关性非常好， $y=0.0002x+0.1565$ ， $R^2=0.9991$ 。

通过计算，初始马铃薯蛋白溶液（样品 1）的蛋白浓度为 16.05 mg/mL ，膜包 10000 MWCO 浓缩液（样品 2）的蛋白浓度为 69.88 mg/mL ，蛋白质的回收率为 87.08%。浓缩比为 5 的情况下，分子截留量为 10000 MWCO 的超滤膜包的浓缩液蛋白浓度增加到原来的 4.35 倍。再经过 2 次渗滤，最终浓缩液（样品 6）的蛋白浓度为 27.13 mg/mL （体积调整成为 200 mL ），蛋白质的回收率为 67.61%。10000 MWCO 膜包三次透过液（样品 3、4 和 5）的蛋白浓度分别为 5.87、0.94 和 0.22 mg/mL ，呈下降趋势，说明超滤膜包性能良好，蛋白检测方法可靠。

膜包 30000 MWCO 浓缩液（样品 7）的蛋白浓度为 62.63 mg/mL ，蛋白质的回收率为 78.04%。浓缩比为 5 的情况下，分子截留量为 30000 MWCO 的超滤膜包的浓缩液蛋白浓度增加到原来的 3.90 倍。回收率相对于膜包 10000 MWCO 稍低，这是由于膜包 30000 MWCO 的孔径大，部分分子量较小的马铃薯蛋白穿过膜包进入透过液造成的。再经过 2 次渗滤之后，最终浓缩液（样品 11）的蛋白浓度为 30.63 mg/mL （体积调整成为 165 mL ），蛋白质的回收率为 62.98%。

10000 MWCO 膜包三次透过液（样品 8、9 和 10）的蛋白浓度分别为 6.53、1.38 和 0.47 mg/mL，同样呈下降趋势。

表 2 样品当中蛋白浓度测定结果

Table 2 Determination results of protein concentration in samples

编号	稀释倍数	OD ₅₅₀	蛋白浓度/(mg/mL)
1	20	0.317	16.05
2	50	0.436	69.88
3	10	0.349	5.87
4	1	0.345	0.94
5	1	0.200	0.22
6	50	0.265	27.13
7	50	0.407	62.63
8	10	0.287	6.53
9	1	0.432	1.38
10	1	0.251	0.47
11	50	0.279	30.63

2.3 SDS-PAGE

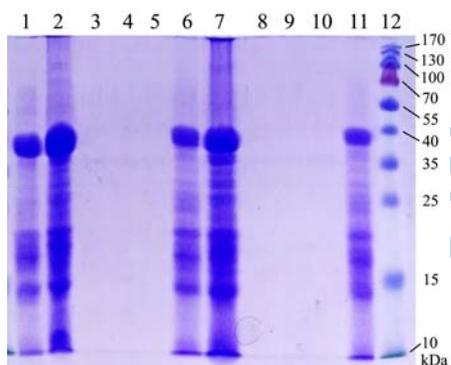


图 2 SDS-PAGE 样品结果

Fig.2 SDS-PAGE results of samples

注：12 为 marker，其余栏的编号与样品编号一致。

马铃薯蛋白粗溶液、浓缩液和透过液的 SDS-PAGE 电泳结果如图 2 所示，样品 3、4 和 5 为 10000 MWCO 膜包三次透过液，样品 8、9 和 10 为 30000 MWCO 膜包三次透过液，由于蛋白浓度低，因此这 6 栏的电泳图谱上均看不到条带。考马斯亮蓝染色灵敏度为每条带 0.1~1 μg^[27]，上样量为 20 μL，因

此理论上蛋白浓度低于 0.05 mg/mL 不会出现条带。另外一种看不到条带的原因可能是一些 <10 ku 的小分子量蛋白质电泳过程中跑出了凝胶，分析这些小分子量的蛋白质需要用高浓度的胶。

从图 2 还可以看出，样品 2 明显比样品 1 的浓度高，这是由于超滤浓缩的结果。样品 6 比样品 2 浓度低，一方面是由于样品 6 的体积是样品 1 的 2 倍，另一方面经过 2 次渗滤以后，部分蛋白分子进入了透过液。两个超滤膜包对马铃薯蛋白的浓缩效果除了蛋白回收率有差异（见 2.3 节），在蛋白组成方面没有什么差异，马铃薯蛋白主要由 Patatin 蛋白和蛋白酶抑制剂组成，图 2 当中分子量大约 40 ku 的蛋白条带即为 Patatin 蛋白，分子量低于 40 ku 的蛋白质均为蛋白酶抑制剂。由于孔径大一点的 30000 MWCO 膜包比孔径小一点的 10000 MWCO 膜包膜通量大，水和小分子量物质更容易穿透，生产效率高，因此选用 30000 MWCO 膜包更为合适。

2.4 胰蛋白酶抑制剂活力分析

马铃薯粗蛋白溶液和两个超滤膜包浓缩的蛋白溶液胰蛋白酶抑制剂活力测定结果见表 3，依据参考文献采用了三个不同浓度梯度进行分析，与文献结果一致^[26]，随着蛋白含量增加酶活检测结果呈降低的趋势，“真实”酶活是根据三个浓度梯度的检测结果通过偏最小二乘法绘制回归曲线的截距。马铃薯粗蛋白溶液的“真实”酶活为 79.52 TIUs/mg 蛋白，分子截留量为 10000 MWCO 的膜包和分子截留量为 30000 MWCO 的膜包最终浓缩液的胰蛋白酶抑制剂的活力分别为 124.38 和 95.25 TIUs/mg 蛋白。

表 3 中不同样品之间“真实”酶活之间的差异，可能的原因有：（1）马铃薯胰蛋白酶抑制剂包含很多不同的组分（图 2），虽然不同的组分对胰蛋白酶均有抑制活力，但活力大小存在差异，分子量较小的胰蛋白酶抑制剂活力较低，通过膜分离以后小分子量的蛋白酶抑制剂被分离出去，从而提高了蛋白溶液的整体抑制活力^[28]。（2）另一方面，当胰蛋白酶抑制剂活力高的组分被分离出去以后，蛋白溶液的整体酶活就会降低。

表 3 胰蛋白酶抑制剂活力分析

Table 3 Analysis of trypsin inhibitor activity

样品	蛋白含量/mg	残留酶活/(Tu ^a)	被抑制的酶活/(TIUs ^b)	酶活/(TIUs/mg)	“真实”酶活/(TIUs/mg)
1	0.40	32.81	2.99	74.52	79.52
	0.80	30.37	5.43	67.66	
	1.61	26.57	9.23	57.51	

转下页

接上页

	1.75	22.55	13.25	75.84	84.43
2	3.49	20.13	15.67	44.85	
	6.99	16.49	19.31	27.63	
	0.68	28.59	7.21	106.30	
6	1.36	23.76	12.04	88.76	124.38
	2.71	21.46	14.34	52.86	
	1.57	17.89	17.91	114.39	
7	3.13	16.34	19.46	62.14	128.64
	6.26	14.66	21.14	33.75	
	0.77	29.29	6.51	85.01	
11	1.53	24.26	11.54	75.35	95.25
	3.06	18.95	16.85	55.01	

注: ^a根据胰蛋白酶抑制剂活力单位定义, 残留酶活=OD₄₁₀ nm×100; ^b 2 mL 20 μg/mL 胰蛋白酶的活力为 35.80 TU, 被抑制的酶活=35.80-残留酶活; ^c参考文献^[26,29]。

3 结论

分子截留量分别为 10000 MWCO 和 30000 MWCO 两个超滤膜包的蛋白质回收率分别为 67.61% 和 62.98%, 回收的蛋白胰蛋白酶抑制剂的活力分别为 124.38 和 95.25 TIUs/mg 蛋白。两个超滤膜包回收的蛋白质均包含 patatin 蛋白和蛋白酶抑制剂组分, 30000 MWCO 的超滤膜包浓缩效率高, 更加适合于回收马铃薯总蛋白。超滤法适用于从马铃薯淀粉加工分离汁水中回收天然活性蛋白质。

参考文献

- [1] Friedman M. Nutritional value of proteins from different food sources. A review [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 1996, 44(1): 6-29
- [2] Kapoor A C, Desborough S L, Li P H. Potato tuber proteins and their nutritional quality [J]. *J. Potato Res.*, 1975, 18(3): 469-478
- [3] Liedl B E, Kosier T, Desborough S L. HPLC isolation and nutritional value of a major tuber protein [J]. *Am. Potato J.* 1987, 64(10): 545-557
- [4] Løkra S, Strætkvern K O. Industrial proteins from potato juice: a review [J]. *Food*, 2009, 3(Special issue 1): 88-95
- [5] Meister E, Thompson N R. Physical-chemical methods for the recovery of protein from waste effluent of potato chip processing [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 1976, 24(5): 919-923
- [6] Edens L, Van D L J A B, Plijter J J. Novel food compositions. In: Google Patents [P] 1997
- [7] Holm F, Eriksen S. Emulsifying properties of undenatured potato protein concentrate [J]. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 1980, 15(1): 71-83
- [8] Jackman R L, Yada R Y. Functional properties of whey-potato protein composite blends in a model system [J]. *J. Food Sci.*, 1988, 53(5): 1427-1432
- [9] Wojnowska I, Poznanski S, Bednarski W. Processing of potato protein concentrates and their properties [J]. *J. Food Sci.*, 1982, 47(1): 167-172
- [10] Ghosh R. Protein Bioseparation Using Ultrafiltration: Theory, Applications and New Developments [M]. Imperial College Press, 2003
- [11] Gambuti A, Rinaldi A, Moio L. Use of patatin, a protein extracted from potato, as alternative to animal proteins in fining of red wine [J]. *European Food Research & Technology*, 2012, 235(4): 753-765
- [12] Pouvreau L, Gruppen H, Piersma S R, et al. Relative abundance and inhibitory distribution of protease inhibitors in potato juice from cv. elkana [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, 49(6): 2864-2874
- [13] Strætkvern K O, Schwarz J. Recovery of native potato protein comparing expanded bed adsorption and ultrafiltration [J]. *Food Bioprocess Technol.*, 2012, 5(5): 1939-1949
- [14] van Koningsveld G A, Gruppen H, de Jongh H H, et al. Effects of pH and heat treatments on the structure and solubility of potato proteins in different preparations [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2001, 49(10): 4889-4897
- [15] Gonzalez M J, Lindamood B J, Desai N. Recovery of protein from potato plant waste effluents by complexation with carboxymethylcellulose [J]. *Food Hydrocoll.*, 1991, 4(5): 355-363

- [16] Pots A M, de Jongh, H H J, et al. The pH dependence of the structural stability of patatin [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 1998, 46(7): 2546-2553
- [17] Strætkvern K O, Schwarz J G, Wiesenborn D P, et al. Expanded bed adsorption for recovery of patatin from crude potato juice [J]. *Bioseparation* 1999, 7(6): 333-345
- [18] Knorr D. Effects of recovery methods on yield, quality and functional properties of potato protein concentrates [J]. *J. Food Sci.*, 1980, 45(5): 1183-1186
- [19] Knorr D, Kohler G O, Betschart A A. Potato protein concentrates: the influence of various methods of recovery upon yield, compositional and functional characteristics [J]. *J. Food Process. Preserv.*, 1977, 1(3): 235-247
- [20] Løkra S, Helland M H, Claussen I C, et al. Chemical characterization and functional properties of a potato protein concentrate prepared by large-scale expanded bed adsorption chromatography [J]. *Lwt-Food Sci. Technol.*, 2008, 41(6): 1089-1099
- [21] Seibles T S. Studies on potato proteins [J]. *Am. Potato J.*, 1979, 56: 415-425
- [22] D'Alvise N, Lesueur-Lambert C, Fertin B, et al. Removal of polyphenols and recovery of proteins from alfalfa white protein concentrate by ultrafiltration and adsorbent resin separations [J]. *Sep. Sci. Technol.*, 2000, 35(15): 2453-2472
- [23] Rausch K D. Front end to backpipe: membrane technology in the starch processing industry [J]. *Starch-Stärke*, 2002, 54(7): 273-284
- [24] Ruffer H, Kremser U, Seekamp M. Experiences with a reverse osmosis pilot plant for the concentration of potato fruit Water in the potato starch industry [J]. *Starch-Starke*, 1997, 49(9): 354-359
- [25] Zwijnenberg H J, Kemperman A J B, Boerrigter M E, et al. Native protein recovery from potato fruit juice by ultrafiltration [J]. *Desalination*, 2002, 144(1e3): 331-334
- [26] 曾凡逵,康宪学,刘刚.马铃薯胰蛋白酶抑制剂活力的测定 [C]//马铃薯产业与现代可持续农业.2015
ZENG Fan-kui, KANG Xian-xue, LIU Gang. Determination of potato trypsin inhibitor activity [C]// Potato Industry and Sustainable Agriculture. 2015
- [27] 汪家政.蛋白质技术手册[M].北京:科学出版社,2000
WANG Jia-zheng. Hand book of protein technology [M]. Beijing: Science Press, 2000
- [28] Pouvreau L. Occurrence and physic-chemical properties of protease inhibitors from potato tuber (*Solanum tuberosum*) [D]. Wageningen: Wageningen University, 2004
- [29] 曾凡逵,周添红,康克归,等.马铃薯胰凝乳蛋白酶抑制剂活力的测定[J].现代食品科技,2015,31(2):274-279
ZENG Fan-kui, ZHOU Tian-hong, KANG Ke-gui, et al. Determination of potato chymotrypsin inhibitor activity [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2015, 31(2): 274-279