

大鲵酶解液脱苦脱腥工艺研究

纪莹¹, 邓晶², 赵薇^{1*}

¹武汉大学化学与分子科学学院, 湖北 武汉

²湖北优鲵可生物科技有限公司, 湖北 荆州

收稿日期: 2023年4月4日; 录用日期: 2023年4月11日; 发布日期: 2023年5月8日

摘要

大鲵具有良好的食用及药用价值, 具有极高的研究价值。为促进大鲵蛋白产品的进一步开发, 试验采用活性炭吸附法、羟基化多壁碳纳米管吸附法和 β -环糊精包埋法对大鲵酶解液进行味道去除, 比较三种方法的脱腥脱苦效果, 再通过单因素实验法和正交试验法优化脱腥脱苦工艺。试验表明, 活性炭吸附法对蛋白质的损耗较羟基化多壁碳纳米管吸附法小, 但前者脱苦效果不如后者; β -环糊精包埋法脱苦效果不明显, 但其脱腥效果较好。活性炭吸附法和 β -环糊精包埋法联合脱苦脱腥效果最佳: 先向0.8 g大鲵酶解液的溶液中添加0.5 g β -环糊精, 在温度为35℃, pH为7.0的条件下包埋0.75 h, 然后添加1.5 g活性炭, 在温度为20℃, pH为3.5的条件下吸附3.0 h。该条件下测试电子舌口感度为1.9, 蛋白质回收率为87.53%, 三甲胺去除率为89.3%。

关键词

大鲵酶解液, 脱苦脱腥, 活性炭, 羟基化多壁碳纳米管, β -环糊精

Study on Debittering and Deodorizing of Enzymatic Hydrolysates of *Andrias davidianus*

Ying Ji¹, Jing Deng², Wei Zhao^{1*}

¹College of Chemistry and Molecular Sciences, Wuhan University, Wuhan Hubei

²Hubei Younike Biology Science and Technology Co., Ltd., Jingzhou Hubei

Received: Apr. 4th, 2023; accepted: Apr. 11th, 2023; published: May 8th, 2023

*通讯作者。

Abstract

Andrias davidianus has a good edible and medicinal value, with very high research value. In order to promote the further development of *Andrias davidianus* protein products, in this research, active carbon, hydroxylated multi walled carbon nanotubes and β -cyclodextrin were used to remove the taste of *Andrias davidianus* peptide, and the three methods were compared for the removal effect of the bitterness and fishy smell. Then, one-factor experiment and orthogonal experiment were performed for the investigation of the optimum operation conditions. The results showed that the loss of protein by active carbon adsorption was less than that by hydroxylated multi walled carbon nanotube adsorption, but active carbon was much more efficient for the removal of the bitterness taste than hydroxylated multi walled carbon nanotube. The debittering effect of β -cyclodextrin was not obvious, but its deodorization effect was better. Using active carbon coupling with β -cyclodextrin was much more efficient. The optimal condition was that the reaction occurred first with adding 0.5 g β -cyclodextrin at 35°C and pH 7.0 for 0.75 h to 0.8 g hydrolysates of *Andrias davidianus*, then with 1.5 g active carbon at 20°C and pH 3.5 for 3.0 h. Under the optimal condition, the hydrolysates bitterness value of electronic tongue was 1.9, and the protein recovery was 87.53%, and the removal rate of trimethylamine was 89.3%.

Keywords

Hydrolysates of *Andrias davidianus*, Debittering and Deodorization, Active Carbon, Hydroxylated Multi Walled Carbon Nanotubes, β -Cyclodextrin

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

大鲵(*Andrias davidianus*)是一种有尾两栖动物, 又叫娃娃鱼, 是隐鳃鲵科大鲵属, 主要分布于我国山东、青海、河北、山西、陕西、甘肃以及东部和西南各省[1]。大鲵是国家重点开发的特色农业品种, 它不仅营养丰富, 味道鲜美, 是一种经常食用的水产品, 食用价值较高; 而且富含多种矿物元素、功能性因子、氨基酸和不饱和脂肪酸等营养物质, 能应用于多种领域, 如饮料、酒、功能食品等, 药用价值也极高, 是良好的中药药材[2] [3] [4] [5] [6]。随着大家对大鲵的认识不断加深, 人们对大鲵的衍生产品的需求也在不断加大。目前, 大鲵的养殖行业比较发达, 已有较多的养殖基地, 但相关技术应用研究较少, 在实际生活中想要实现产业化较为困难, 因此关于大鲵的技术研究具有较大的意义, 对于大鲵蛋白产品的进一步开发也迫在眉睫[7]。

水解动物蛋白是提取原料营养成分的主要方法, 这种蛋白可以作为制作功能性食品或者药物的原料, 也是一种优质的蛋白质资源, 但蛋白质水解的方法往往伴随着某些异味的产生。研究表明, 纯天然的蛋白质是没有任何异味的, 然而动物蛋白在酶解过程中伴随着一些具有腥苦味的物质生成, 苦味主要是由某些氨基酸或短肽造成的, 而研究表明其中起主要作用的是短肽, 腥味的成分比较复杂, 研究表明其主要是由三甲胺等物质造成的, 这就是动物蛋白酶解液中出现腥苦味的主要原因, 也是其加工过程中需要解决的主要问题[8] [9]。试验采用活性炭、羟基化多壁碳纳米管和 β -环糊精对大鲵酶解液进行味道去除, 通过单因素试验及正交试验比较各材料的脱腥脱苦效果, 优化脱腥脱苦工艺, 为大鲵蛋白产品的开发提

供新思路, 为大鲵酶解液在食品及医药领域的应用提供理论依据。

2. 材料与方法

2.1. 材料

大鲵酶解液: 自制; 活性炭粉末(200 目)、 β -环糊精及其他化学试剂(分析纯): 武汉欣申试化工科技有限公司; 羟基化多壁碳纳米管: 上海柏卡化学技术有限公司; BCA 总蛋白试剂盒: 上海迈瑞尔化学技术有限公司。

2.2. 仪器

AL104 分析天平: 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; 85-2 数显恒温磁力搅拌器: 金坛大地自动化仪器厂; HC-2518 高速离心机: 安徽中科中佳科学仪器有限公司; UV-4802 双光束紫外可见分光光度计: 尤尼科(上海)仪器有限公司; Elx800 酶标仪: 美国伯腾仪器有限公司; ASTREE 电子舌: 法国 Alpha MOS 公司。

3. 试验方法

3.1. 脱苦效果检测

吸附效果采用紫外可见分光光度计来检测。在大鲵酶解液混合物中, 某些氨基酸在 220 nm 波长处或 280 nm 波长处有一最大吸收峰, 而其它氨基酸在此波长处无吸收峰, 这两处吸收峰分别代表的是高支链氨基酸和芳香族氨基酸。产生苦味的主要原因是生成了疏水性氨基酸, 这些疏水性氨基酸多为脂溶性氨基酸, 大多都是芳香族的氨基酸[10], 因此以 OD_{220}/OD_{280} 的值作为评价指标, 一般以支链氨基酸吸附少, 即 OD_{220} 较大, 而芳香族氨基酸吸附多, 即 OD_{280} 较小, 来表明吸附效果更好, 因此 OD 比越大, 表明吸附效果越好[11]。

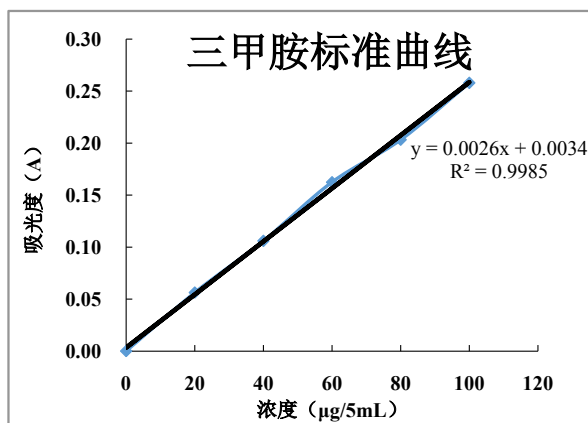


Figure 1. Standard curve of trimethylamine- absorbance

图 1. 三甲胺 - 吸光度标准曲线

3.2. 三甲胺的检测

脱腥效果由三甲胺含量的变化来表示, 三甲胺的含量采用分光光度计法来测定[12]。取 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的三甲胺标准溶液 0、1、2、3、4、5 mL 分别置于分液漏斗中, 并分别添加 5、4、3、2、1、0 mL 蒸馏水, 然后向其中均加入 10 mL 无水甲苯、3 mL 饱和碳酸钾溶液和 1 mL 碳酸镁甲醛溶液, 振摇后静置一段时

间。待分层后,取甲苯层溶液,加入 0.5 g 无水硫酸钠,震荡脱水。脱水后取 2 mL 溶液于试管中,再加入 2 mL 苦味酸甲苯溶液,摇晃均匀后测定 OD_{410} ,即可绘制三甲胺吸光度与浓度的标准曲线,拟合得到线性回归方程: $y = 0.0026x + 0.0034$, $R^2 = 0.9985$,见图 1。测定脱苦脱腥前后多肽溶液的吸光度,根据线性回归方程计算三甲胺浓度及三甲胺去除率。每个样品测 3 次,取其平均值[13]。

3.3. 蛋白质含量及蛋白质回收率测定

蛋白质含量采用 BCA 总蛋白定量试剂盒的方法来测定[14]。用蒸馏水稀释 52.4 g/L (52,400 $\mu\text{g/mL}$) 的牛血清白蛋白(BSA)标准品成以下浓度: 125、250、500、1000、2000 $\mu\text{g/mL}$,然后用 BCA 总蛋白定量试剂盒测试,用酶标仪测定 OD_{562} ,即可绘制牛血清白蛋白吸光度与浓度的标准曲线,拟合得到线性回归方程: $y = 0.9819x - 0.0357$, $R^2 = 0.9979$,见图 2。测定脱苦脱腥前后多肽溶液的吸光度,计算蛋白质浓度及蛋白质回收率。每个样品测 3 次,取其平均值[15]。

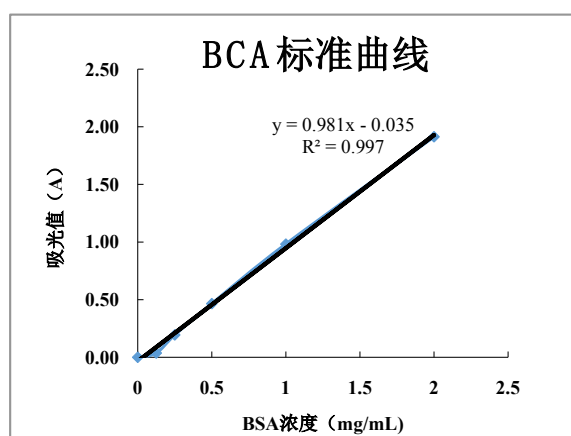


Figure 2. Standard curve of BCA-absorbance
图 2. BCA-吸光度标准曲线

3.4. 脱苦脱腥工艺评价方法

腥苦味通过 OD_{220}/OD_{280} , 三甲胺去除率, 蛋白质回收率和电子舌来评分。

脱苦脱腥工艺会导致损失一些蛋白质, 因此腥苦味评价分数与蛋白质回收率应综合采用来评定实验结果, 其中蛋白质回收率为第一标准[10]。

3.5. 脱苦脱腥方法的确定

首先进行单因素试验, 在其实验结果的基础上, 再次进行正交实验, 来进一步确定出最佳的脱苦脱腥条件, 从而达到对脱苦脱腥工艺进行优化的目的。

3.5.1. 活性炭吸附法

取 0.8 g 大鲮酶解液溶于 30 mL 蒸馏水中, 向其中添加一定量的活性炭粉末, 调节 pH, 控制温度, 搅拌吸附一段时间后, 离心过滤, 取清液, 测定其 OD_{220} 和 OD_{280} 值。处理滤液, 使三甲胺与苦味酸反应, 测量 OD_{410} 值, 计算出三甲胺的去除率。根据单因素实验所得结果进行分析, 选择活性炭粉末的添加量、温度、pH 和时间因素, 每个因素选取三个水平, 进行 $L_9(3^4)$ 正交试验(见表 1), 测定其 OD_{220} 和 OD_{280} 值及蛋白质回收率, 测量三甲胺的去除率, 选择较佳的几个条件进行电子舌评分, 确定最佳脱苦脱腥条件。

Table 1. Orthogonal experimental factor for active carbon adsorption**表 1.** 活性炭吸附法正交实验因素水平表

水平	因素			
	添加量/g	温度/°C	pH	时间/h
1	1.5	20	3.0	2.00
2	2.0	25	3.5	2.50
3	2.5	30	4.0	3.00

3.5.2. 羟基化多壁碳纳米管吸附法

取 0.8 g 大鲵酶解液溶于 30 mL 蒸馏水中, 向其中添加一定量的羟基化多壁碳纳米管, 调节 pH, 控制温度, 搅拌吸附一段时间后, 离心过滤, 取清液, 测定其 OD₂₂₀ 和 OD₂₈₀ 值。处理滤液, 使三甲胺与苦味酸反应, 测量 OD₄₁₀ 值, 计算出三甲胺的去除率。根据单因素实验所得结果进行分析, 选择碳纳米管的添加量、温度、pH 和时间因素, 每个因素选取三个水平, 进行 L₉(3⁴) 正交试验(见表 2), 测定其 OD₂₂₀ 和 OD₂₈₀ 值及蛋白质回收率, 测量三甲胺的去除率, 选择较佳的几个条件进行电子舌评分, 确定最佳脱苦脱腥条件。

Table 2. Orthogonal experimental factor for hydroxylated multi walled carbon nanotubes adsorption**表 2.** 羟基化多壁碳纳米管吸附法正交实验因素水平表

水平	因素			
	添加量/g	温度/°C	pH	时间/h
1	0.6	20	4.5	1.00
2	0.7	25	5.0	1.50
3	0.8	30	5.5	2.00

3.5.3. β -环糊精包埋法

取 0.8 g 大鲵酶解液溶于 30 mL 蒸馏水中, 向其中添加一定量的 β -环糊精, 控制温度, 调节 pH, 搅拌包埋一段时间后, 离心过滤, 取清液, 测定其 OD₂₂₀ 和 OD₂₈₀ 值。处理滤液, 使三甲胺与苦味酸反应, 测量 OD₄₁₀ 值, 计算出三甲胺的去除率。根据单因素实验所得结果进行分析, 选择 β -环糊精的添加量、温度、pH 和时间因素, 每个因素选取三个水平, 进行 L₉(3⁴) 正交试验(见表 3), 测定其 OD₂₂₀ 和 OD₂₈₀ 值及蛋白质回收率, 测量三甲胺的去除率, 确定最佳脱苦脱腥条件。

Table 3. Orthogonal experimental factor for β -cyclodextrin embedding**表 3.** β -环糊精包埋法正交实验因素水平表

水平	因素			
	添加量/g	温度/°C	pH	时间/min
1	1.0	25	6.0	45
2	1.5	35	6.5	75
3	2.0	45	7.0	105

4. 结果与讨论

处理前酶解液溶液支链氨基酸 OD₂₂₀ 值为 3.2284, 芳香族氨基酸 OD₂₈₀ 值为 2.3378。

4.1. 活性炭粉末吸附法条件确定

活性炭是一种广泛使用的吸附剂, 其生产工艺简单, 制作成本低, 并且容易脱附再利用, 活性炭具

有多孔结构,能够吸附不同大小分子的物质且吸附速度快,能良好地选择性吸附非极性物质[16]。酶解过程中产生的苦味物质为疏水性氨基酸,而疏水性氨基酸是非极性物质,因此可以使用活性炭来吸附溶液中的这类氨基酸,致使苦味减弱或消失[10]。

对实验结果进行分析,得到表 4,其中 K_1 、 K_2 、 K_3 和 R 值为蛋白质回收率的结果分析, k_1 、 k_2 、 k_3 及 r 值为三甲胺去除率的实验结果分析,以蛋白质回收率为第一评价指标,由表中 R 值可以看出,各因素对脱苦效果影响的主次顺序为:活性炭添加量 > pH > 温度 > 时间。选取较佳的三组数据进行电子舌测试,结果见表 5,确定最佳脱苦条件为试验 4 的条件 $A_2B_1C_2D_3$,即添加 2.0g 活性炭,在 pH 为 3.5,温度为 20℃的条件下吸附 3.0 h,在该条件下的电子舌口感度为 2.8,蛋白质回收率为 84.38%,三甲胺去除率为 11.19%。

Table 4. Analysis of the results of orthogonal experiment for active carbon adsorption

表 4. 活性炭吸附正交实验结果直观分析

试验 编号	因素				结果		
	A 添加量/g	B 温度/℃	C pH	D 时间/h	OD ₂₂₀ /OD ₂₈₀	蛋白质回收率/%	三甲胺去除率/%
1	1.5	20	3.0	2.0	6.3558	88.46	52.88
2	1.5	25	3.5	2.5	8.4655	83.56	16.56
3	1.5	30	4.0	3.0	7.6576	86.19	64.64
4	2.0	20	3.5	3.0	7.9327	84.38	11.19
5	2.0	25	4.0	2.0	7.1576	86.54	19.64
6	2.0	30	3.0	2.5	5.8043	93.96	46.37
7	2.5	20	4.0	2.5	9.9879	74.69	32.43
8	2.5	25	3.0	3.0	8.8043	75.55	57.10
9	2.5	30	3.5	2.0	9.2173	75.98	53.79
K_1	86.07	82.51	85.99	83.66			
K_2	88.29	81.88	81.31	84.07			
K_3	75.41	85.37	82.47	82.04			
R	12.89	3.49	4.68	2.03			
k_1	44.69	32.17	52.12	42.10			
k_2	25.73	31.10	27.18	31.79			
k_3	47.78	54.93	38.91	44.31			
r	22.04	23.83	24.94	12.52			

Table 5. Electronic tongue mouth feel after treatment with different materials

表 5. 不同材料处理后电子舌口感度

材料	编号	口感度
活性炭	3	3.0
	4	2.8
	6	5.6
碳纳米管	3	2.0
	4	1.6
	5	1.7
混合	活性炭 + β -环糊精	1.9
	羟基化多壁碳纳米管 + β -环糊精	1.2

注:以上编号为正交试验中的编号。

4.2. 羟基化多壁碳纳米管吸附法条件确定

碳纳米管作为一种新型材料,吸附性能优越[17]。实验结果表明用羟基化多壁碳纳米管吸附法的脱苦脱腥效果还比较好,但对蛋白质的损失较大。

Table 6. Analysis of the results of orthogonal experimental for carbon nanotubes adsorption
表 6. 碳纳米管吸附正交实验结果直观分析

实验 编号	因素				结果		
	A 添加量/g	B 温度/°C	C pH	D 时间/h	OD ₂₂₀ /OD ₂₈₀	蛋白质回收率/%	三甲胺去除率/%
1	0.6	20	4.5	1.0	11.2364	74.10	45.11
2	0.6	25	5.0	1.5	12.8637	73.16	33.58
3	0.6	30	5.5	2.0	10.1762	75.90	50.02
4	0.7	20	5.0	2.0	19.1473	68.29	1.60
5	0.7	25	5.5	1.0	15.6981	72.13	55.39
6	0.7	30	4.5	1.5	10.0463	76.65	36.09
7	0.8	20	5.5	1.5	22.4671	54.95	38.15
8	0.8	25	4.5	2.0	19.3698	68.29	16.10
9	0.8	30	5.0	1.0	14.4576	72.61	4.00
K ₁	74.39	65.78	73.01	72.95			
K ₂	72.36	71.19	71.35	68.25			
K ₃	65.28	75.05	67.66	70.83			
R	9.11	9.28	5.35	4.70			
k ₁	42.90	28.29	32.43	34.83			
k ₂	31.03	35.02	13.06	35.94			
k ₃	19.42	30.04	47.85	22.57			
r	23.49	6.74	34.80	13.36			

对实验结果进行分析,得到表 6,其中 K₁、K₂、K₃ 和 R 值为蛋白质回收率的结果分析, k₁、k₂、k₃ 及 r 值为三甲胺去除率的实验结果分析,以蛋白质回收率为第一评价指标,由表中 R 值可以看出,各因素对脱苦效果影响的主次顺序为:温度>羟基化多壁碳纳米管添加量 > pH > 时间。选取较佳的三组数据进行电子舌测试,实验结果见表 5,结合蛋白质回收率进行考虑,最终确定最佳脱苦条件试验 3 的条件 A₁B₃C₃D₃,即添加 0.6 g 羟基化多壁碳纳米管,在温度为 30°C, pH 为 5.5 的条件下吸附 2.0 h,在该条件下的电子舌口感度为 2.0,蛋白质回收率为 75.90%,三甲胺回收率为 50.02%。

4.3. β-环糊精包埋法条件确定

β-环糊精是一种低聚糖,具有环状结构,其内部存在一个空腔,具有疏水性[18]。可以与疏水性物质结合形成包合物,达到脱苦脱腥的目的。

对实验结果进行分析,得到表 7,其中 K₁、K₂、K₃ 和 R 值为蛋白质回收率的结果分析, k₁、k₂、k₃ 及 r 值为三甲胺去除率的实验结果分析,可以看出,添加 β-环糊精对蛋白质损失较小,但对三甲胺的去除率较高。以三甲胺去除率为第一评价指标,由表中 r 值由表可得,各因素对脱腥效果影响的主次顺序为:β-环糊精添加量 > 时间 > 温度 > pH。最终确定最佳脱腥条件为 A₂B₂C₃D₁,即添加 1.5 g β-环糊精,在温度为 35°C, pH 为 7.0 的条件下包埋 0.75 h,在该条件下蛋白质回收率为 75.86%,三甲胺去除率达到 85.13%。

Table 7. Analysis of the results of orthogonal experiment for β -cyclodextrin embedding
表 7. β -环糊精包埋正交实验结果直观分析

实验 编号	因素				结果		
	A 添加量/g	B 温度/°C	C pH	D 时间/h	OD ₂₂₀ /OD ₂₈₀	蛋白质回收率/%	三甲胺去除率/%
1	1.0	25	6.0	0.75	1.8769	93.40	79.84
2	1.0	35	6.5	1.25	1.7467	99.41	78.59
3	1.0	45	7.0	1.75	1.3576	96.61	70.51
4	1.5	25	6.5	1.75	2.1119	84.78	83.37
5	1.5	35	7.0	0.75	2.3931	75.86	85.13
6	1.5	45	6.0	1.25	1.7605	98.93	79.12
7	2.0	25	7.0	1.25	1.7675	96.02	79.78
8	2.0	35	6.0	1.75	1.7031	85.37	75.15
9	2.0	45	6.5	0.75	1.9444	94.83	82.07
K ₁	96.47	91.40	92.57	88.03			
K ₂	86.52	86.88	93.00	98.12			
K ₃	92.07	96.79	89.50	88.92			
R	9.95	9.91	3.51	10.09			
k ₁	76.31	81.00	78.03	82.34			
k ₂	82.54	79.62	81.34	79.16			
k ₃	79.00	77.23	78.47	76.34			
r	6.23	3.76	3.31	6.00			

4.4. 活性炭和 β -环糊精联合脱苦脱腥

活性炭吸附法脱苦效果较好，且蛋白质的损失也较小，但脱腥效果一般，而 β -环糊精的脱腥效果较好，因此联合 β -环糊精和活性炭对大鲵酶解液进行脱苦脱腥。改变活性炭和 β -环糊精的添加量进行优化，得到图 3 和图 4。分析数据得到最佳条件为：先向大鲵酶解液溶液中添加 0.5 g β -环糊精，在温度为 35°C，pH 为 7.0 的条件下包埋 0.75 h，然后添加 1.5 g 活性炭，在温度为 20°C，pH 为 3.5 的条件下吸附 3.0 h，离心过滤得到清液后进行测试。得到电子舌口感度为 1.9 (见表 5)，蛋白质回收率为 87.53%，三甲胺去除率为 89.3%。

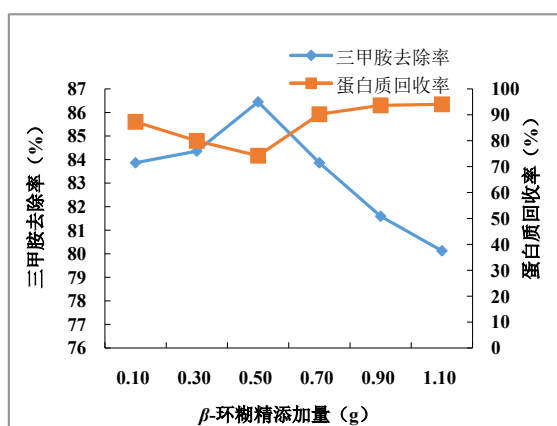


Figure 3. Effect of β -cyclodextrin on trimethylamine removal rate and protein recovery rate

图 3. β -环糊精添加量对三甲胺去除率、蛋白质回收率的影响

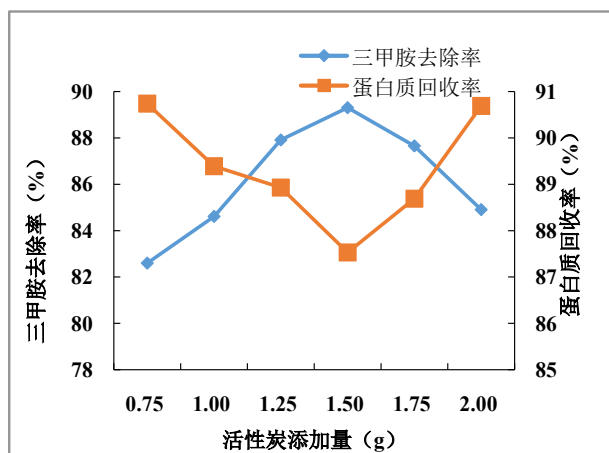


Figure 4. Effect of activated carbon on trimethylamine removal rate and protein recovery rate

图 4. 活性炭添加量对三甲胺去除率、蛋白质回收率的影响

5. 结论

实验结果表明, 活性炭吸附法对蛋白质的损耗较羟基化多壁碳纳米管吸附法小, 但前者脱苦效果不如后者; β -环糊精包埋法脱苦效果不明显, 但其脱腥效果较好。大鲵酶解液脱苦脱腥最佳工艺条件为: 先向大鲵酶解液溶液中添加 0.5 g β -环糊精, 在温度为 35℃, pH 为 7.0 的条件下包埋 0.75 h, 然后添加 1.5 g 活性炭, 在温度为 20℃, pH 为 3.5 的条件下吸附 3.0 h。

参考文献

- [1] Zhou, Z.Y., Geng, Y., Liu, X.X., *et al.* (2013) Characterization of a Ranavirus Isolated from the Chinese Giant Salamander (*Andrias davidianus*, Blanchard, 1871) in China. *Aquaculture*, **384-387**, 66-73. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.12.018>
- [2] Yan, M., Tian, H.F., Hu, Q.M. and Xiao, H.B. (2018) Molecular Cloning of Cathelicidin-Like cDNA from *Andrias davidianus*. *Russian Journal of Genetics*, **54**, 75-82. <https://doi.org/10.1134/S102279541801012X>
- [3] Ramadhan, A.H., Pembe, W.M., Omar, K.A., *et al.* (2017) Characterization of Antioxidant Activity of Peptide Fractions from Chinese Giant Salamander (*Andrias davidianus*) Protein Hydrolysate. *Journal of Global Innovations in Agricultural and Social Sciences*, **5**, 14-19. <https://doi.org/10.22194/JGIASS/5.1.776>
- [4] Zhu, W.M., Ji, Y., Wang, Y., *et al.* (2018) Structural Characterization and *in Vitro* Antioxidant Activities of Chondroitin Sulfate Purified from *Andrias davidianus* Cartilage. *Carbohydrate Polymers*, **196**, 398-404. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.05.047>
- [5] Jiang, N., Fan, Y.D., Zhou, Y., *et al.* (2021) The Immune System and the Antiviral Responses in Chinese Giant Salamander, *Andrias davidianus*. *Frontiers in Immunology*, **12**, Article 718627. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.718627>
- [6] Zhou, M., Ren, G.Y., Zhang, B., *et al.* (2022) Screening and Identification of a Novel Antidiabetic Peptide from Collagen Hydrolysates of Chinese Giant Salamander Skin: Network Pharmacology, Inhibition Kinetics and Protection of IR-HepG2 Cells. *Food & Function*, **13**, 3329-3342. <https://doi.org/10.1039/D1FO03527D>
- [7] He, D., Zhu, W.M., Zeng, W., *et al.* (2018) Nutritional and Medicinal Characteristics of Chinese Giant Salamander (*Andrias davidianus*) for Applications in Healthcare Industry by Artificial Cultivation: A Review. *Food Science and Human Wellness*, **7**, 1-10. <https://doi.org/10.1039/D1FO03527D>
- [8] Chung, H.Y., Yeung, C.W., Kim, J.-S. and Chen, F. (2006) Static Headspace Analysis-Olfactometry (SHA-O) of Odor Impact Components in Salted-Dried White Herring (*Ilisha elongata*). *Food Chemistry*, **104**, 842-851. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.036>
- [9] 曹川, 朱文广, 包建强. 贻贝肉酶解液的脱苦脱腥研究[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(2): 216-218.
- [10] 黄薇, 邓尚贵, 唐艳, 等. 鲑鱼皮复合肽脱腥脱苦工艺研究[J]. 食品工业, 2012, 33(11): 99-102.

-
- [11] 李治龙, 刘新华, 赵晨霞, 等. 活性炭在初步纯化玉米肽中的应用研究[J]. 粮食与饲料工业, 2010(11): 37-39.
- [12] 陈锦文, 崔燕芒, 赵燕. 三甲胺、二甲胺及氧化三甲胺含量测定方法的研究进展[J]. 西北药学杂志, 2015, 30(2): 216-219.
- [13] 韩书霞, 林晶, 王德红. 粉剂氯化胆碱中三甲胺含量的测定[J]. 化工标准. 计量. 质量, 2005(5): 39-42.
- [14] Anthony, B., Lyra, C., Thomas, J., *et al.* (2011) Bicinchoninic Acid (BCA) Assay in Low Volume. *Analytical Biochemistry*, **410**, 310-312. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2010.11.015>
- [15] 赵李妮, 蒋璐, 张宇, 等. 平鲐海蛇酶解液脱腥去苦工艺研究[J]. 食品工业, 2016, 37(1): 32-35.
- [16] 苏晓濛, 汤昊洋, 吕伟, 等. 活性炭吸附法在挥发性有机物治理中的应用研究进展[J]. 化工管理, 2022(6): 38-40.
- [17] Kang, S.-Z., Yin, D.-E., Li, X.Q. and Mu, J. (2011) A Facile Preparation of Multiwalled Carbon Nanotubes Modified with Hydroxyl Groups and Their High Dispersibility in Ethanol. *Colloids and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects*, **384**, 363-367. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2011.04.036>
- [18] 战旭梅, 刘萍, 祁兴普, 等. β -环糊精包埋对玉米活性肽脱苦效果的工艺研究[J]. 食品科技, 2020, 45(10): 253-260.