

ZTC1+1 澄清剂在清咽复方水提液澄清工艺中的应用

楚婷花^{1,2}, 田密^{1,2}, 麻开香^{1,2}, 李英^{1,2}

(1.山西振东五和健康科技股份有限公司,山西长治 046000; 2.山西振东制药股份有限公司,山西长治 046000)

摘要 [目的]研究清咽复方水提液的澄清工艺。[方法]先通过单因素试验研究澄清剂用量、药液浓度(生药量:药液量)、絮凝温度分别对出膏率、绿原酸和总皂苷含量的影响,再通过正交试验优化最佳工艺条件。[结果]澄清剂用量对综合指标的影响最大,药液浓度次之。最佳澄清工艺:在药液浓度(生药量:药液量)为 1:6(g:mL)时,加入 8%B 组分和 4%A 组分,水浴温度 80 ℃。在此工艺条件下,出膏率为 19.13%,绿原酸含量为 592.81 mg/g,总皂苷含量为 473.15 mg/g。[结论]ZTC1+1 天然澄清剂对清咽复方水提液的澄清效果良好,且工艺稳定可行。

关键词 清咽复方水提液;ZTC1+1 天然澄清剂;澄清工艺;应用

中图分类号 TQ 461 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2021)18-0172-05

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2021.18.042



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Application of ZTC1+1 Clarifier in Water Extract of Qingyan Compound

CHU Ting-hua^{1,2}, TIAN Mi^{1,2}, MA Kai-xiang^{1,2} et al (1. Shanxi Zhendong Wuhe Health Technology Co., Ltd., Changzhi, Shanxi 046000; 2. Shanxi Zhendong Pharmaceutical Co., Ltd., Changzhi, Shanxi 046000)

Abstract [Objective] To study the optimal clarification technology of water extract of Qingyan compound. [Method] Single factor experiment design was used to research the effect of dosage of ZTC1+1, drug liquid concentration and reaction temperature on extract rate, content of chlorogenic acid and total saponins. The optimal clarification process was determined by orthogonal experiment design. [Result] Comprehensive index was mainly influenced by dosage of ZTC1+1, the following being drug liquid concentration. The optimal clarification process was as follows: the concentration of drug liquid (quality of material : quality of drug liquid) was 1:6(g:mL), the amount of clarifier was 8% component B and 4% component A, the reaction temperature was at 80 ℃. Under these conditions, the drug liquid concentration was 19.13%, the content of chlorogenic acid and total saponins was 592.81 mg/g and 473.15 mg/g, respectively. [Conclusion] ZTC1+1 natural clarifier has good effect on the clarification of water extract of Qingyan compound with promising feasibility and stability.

Key words Water extract of Qingyan compound; ZTC1+1 natural clarifier; Clarification technology; Application

近年来由于环境恶化、空气污染,生活节奏加快,工作压力增大等原因形成的烟酒过度、长期生活不规律、疲劳、精神紧张、经常熬夜、身体抵抗力下降、过多使用空调等,导致越来越多的人遇到咽部干、痒、疼、紧、涩等问题。咽喉类问题轻则引起咽干肿痛、声嘶音哑,影响人们正常的语言交流、饮食和睡眠,造成精神负担和压抑感;重则可导致咽喉部的急、慢性炎症。

清咽复方水提液是由桔梗、余甘子、金银花等中药材组成的清热解毒、清音利咽、消肿止痛、化痰止咳的纯中药制剂,提取过程是中药制剂制备经常包括的过程,得到的中药提取液是一个复杂体系,其中含有大量多糖、蛋白质、淀粉、微细粒子、鞣质等物质,偶有药材残渣、泥沙等杂质,共同形成 1~100 nm 的胶体分散体系,属动力学及热力学不稳定体系^[1],放置一段时间后沉淀析出,颜色加深。传统的中药提取液多以醇沉方式去除杂质,但生产成本低、安全性差,且在保留有效成分方面有一定的局限性^[2],对去除成分选择性差,成品中残留的乙醇对药效有影响,影响临床疗效。

ZTC1+1 天然澄清剂作为一种新型的食品添加剂,是一种天然高分子化合物^[3],采用最新“1+1”澄清技术,一组分起主絮凝作用,另一组分则起辅助絮凝作用,因而大大加大了澄清过程,比传统澄清剂快 2~5 倍^[4]。天然澄清剂是一种以天然多糖为原料制成的高分子物质,由 A、B 2 个组分组

成,先加入的 B 组分与待测液中的蛋白质、鞣质等杂质发生分子间架桥,使胶体不稳定成分的分子增大,从提取液中析出,后加入的 A 组分通常为 B 组分的 50%,带有与 B 组分相反的电荷,具有再架桥作用,使沉淀体积迅速增大,便于沉降及过滤,可保证 B 组分充分去除,对有效成分可保留^[5]。ZTC1+1 天然澄清剂主要去除鞣质、蛋白质、蜡质等胶体不稳定成分,对中药有效成分如黄酮、生物碱、皂苷类、多糖、维生素、矿物质等不影响,热稳定性好,安全无毒^[6-7]。该研究以清咽复方水提液为研究对象,通过单因素和正交试验确定澄清剂用量、药液浓度(生药量:药液量)、絮凝温度以得到优化的提取工艺,为清咽复方水提液的工业化生产提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料 桔梗、余甘子、金银花等中药材(安国市健仁药材有限公司);绿原酸标准品 327-97-9(中国食品药品检定研究院);人参皂苷 Re 标准品 52286-59-6(中国食品药品检定研究院);ZTC1+1 天然澄清剂(北京正天成澄清技术有限公司);醋酸(药用);其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器设备 电子天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司);旋转蒸发器(巩义市矛华仪器有限公司);真空干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公司);恒温水浴锅(上海精宏实验设备有限公司);离心机(贝克曼库尔特有限公司);高效液相色谱仪 e2695(waters 美国沃特斯公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 澄清剂的配制。

1.3.1.1 A 黏胶液配制。先用少量水搅成糊状,然后加入需

作者简介 楚婷花(1990—),女,山西晋城人,工程师,硕士,从事中药及保健品方面的研究。

收稿日期 2021-01-22; **修回日期** 2021-03-01

要量的水,溶胀24 h,即得 1%(m/V) A 黏胶液。

1.3.1.2 B 黏胶液配制。先配制 1%醋酸,然后用少量 1%醋酸溶解 B 组分并搅成糊状,加入足够量的 1%醋酸,溶胀 24 h,即得 1%(m/V) B 黏胶液。

1.3.2 中药材水提液的制备。称取处方量的桔梗、余甘子等中药材,采用经正交试验获得的最佳提取工艺提取,即加入 10 倍量水,提取 2 次,每次 1 h,过滤,合并提取液。

取相应质量的备用药液,加热至试验温度,先加入 B 组分,在恒温条件下,每 30 min 搅拌一次,再加入 A 组分,在恒温条件下,每 30 min 搅拌一次,分别离心,分离沉淀,浓缩至浸膏,干燥(55~60 ℃),以出膏率、绿原酸及总皂苷含量为指标进行测定。

1.3.3 出膏率的测定。分别精取供试液 5 mL 置于干燥至恒重的蒸发皿中,水浴蒸干,残渣放入烘箱中 105 ℃ 干燥至恒重,称重,计算出膏率。

$$P = M_1 \times N / M_2 \times 100\%$$

式中, P 代表出膏率; M_1 代表干膏重量; N 代表倍数; M_2 代表药材质量。

1.3.4 绿原酸含量测定^[8]。

1.3.4.1 对照品溶液的制备。精密称量绿原酸对照品 0.4 mg,置于 10 mL 容量瓶中,用 50%的甲醇溶液加至刻度,摇匀,备用。

1.3.4.2 供试品溶液的制备。精密称定本品粉末 0.5 g,置具塞锥形瓶中,精密加入 50%甲醇 50 mL,称定重量,超声处理 30 min,放冷,再称定重量,用 50%甲醇补足减失重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

1.3.4.3 样品含量测定。建立标准曲线,分别取 10 μL 的供试品及对照品溶液注入液相色谱测定绿原酸含量。

1.3.5 总皂苷含量测定^[8]。

1.3.5.1 试样处理。取本品粉末 1.0 g,置于 100 mL 容量瓶中,加少量水,超声 30 min,再用水定容至 100 mL,摇匀,静置,吸取上清液作为柱层析液。

1.3.5.2 柱层析。取层析柱(直径 1 cm),填高度为 3 cm 的大孔树脂,再填充 1 cm 的重型氧化铝,用 25 mL 70%的乙醇洗柱,弃去洗脱液,用 25 mL 水洗柱,弃去洗脱液,加入 1.0 mL 柱层析液,再用 25 mL 水洗柱,弃去洗脱液,再用 25 mL 70%的乙醇洗脱,收集洗脱液于蒸发皿中,置于 60 ℃ 水浴挥干。

1.3.5.3 显色。在已挥干的蒸发皿中准确加入 0.2 mL 5%香草醛冰乙酸溶液,转动蒸发皿,使残渣都溶解,再加入 0.8 mL 高氯酸,混匀后移入 5 mL 带塞刻度离心管中,60 ℃ 水浴上加热 10 min,取出,冰浴冷却后,准确加入冰乙酸 5.0 mL,摇匀后,以 1 cm 比色池于 560 nm 波长处与标准管一起进行比色测定。

1.3.5.4 样品含量测定。取 100 μL 人参皂苷 Re 标准溶液(2.0 mg/mL)于蒸发皿中,放在水浴挥干(低于 60 ℃),或热风烘干(勿使过热),以下操作从“1.3.5.3”起,与试样相同在 560 nm 处测定吸光度。计算总皂苷含量(以人参皂苷 Re 计)。

1.3.6 综合指标评价。将上述 3 个检测指标出膏率、绿原酸

含量及总皂苷含量分别赋予权重为 0.2、0.4、0.4,即综合指标 $Y = 0.2 \times \text{出膏率} + 0.4 \times \text{绿原酸含量} + 0.4 \times \text{总皂苷含量}$ 。

1.3.7 单因素试验。以澄清剂用量 6%:3%(B 组分:A 组分)、药液浓度 1:6(生药量:药液量,g:mL)、絮凝温度 70 ℃ 为基础工艺条件,在其他条件不变的情况下,单独调整各因素水平进行单因素试验(表 1),分别考察各因素对出膏率、绿原酸含量和总皂苷含量的影响。

表 1 单因素试验因素及水平

Table 1 Factors and levels of single factor experiment

水平 Levels	因素 Factors		
	A 澄清剂用量 (B 组分:A 组分) Clarifier amount (component B: component A)	B 药液浓度 Concentration of drug liquid (g:mL)	C 絮凝温度 Flocculation temperature ℃
1	2%:1%	1:2	50
2	4%:2%	1:4	60
3	6%:3%	1:6	70
4	8%:4%	1:8	80
5	10%:5%	1:10	90

1.3.8 正交试验优化澄清条件。测得药液的 pH 约为 4.2,根据预试验结果及相关文献报道,确定先加入 B 组分后加入 A 组分,澄清剂用量、药液浓度(生药量:药液量)、絮凝温度为 3 个影响因素,采用 $L_9(3^4)$ 正交表(表 2)进行试验。出膏率越低说明澄清效果越好,为了方便统计结果,出膏率结果用 20%- P 表示,将提取液浓缩至所需浓度,以综合指标 Y 为评价指标。

表 2 正交试验因素及水平

Table 2 Factors and levels of orthogonal test

水平 Levels	A 澄清剂用量 (B 组分:A 组分) Clarifier amount (component B: component A)	B 药液浓度 Concentration of drug liquid (g:mL)	C 絮凝温度 Flocculation temperature ℃	D 空白 Blank
1	4%:2%	1:4	60	1
2	6%:3%	1:6	70	2
3	8%:4%	1:8	80	3

1.4 数据分析与处理 所有试验数据均为 3 次重复试验结果的平均值,数据用均数±标准差表示。采用 Excel 进行图表处理,采用 DPS 6.55 统计软件进行正交试验设计。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 澄清剂用量对工艺的影响。从澄清剂用量对出膏率的影响(图 1)可以看出,在一定范围内,随着澄清剂用量增加出膏率先降低后升高,澄清效果与出膏率呈反相关。澄清剂用量为 4% B 组分、2% A 组分时出膏率显著下降,6% B 组分、3% A 组分时出膏率最低,加入 10% B 组分、5% A 组分澄清剂时出膏率升高,说明随着澄清剂用量的增加,澄清剂与胶体粒子接触的概率也增加,架桥作用更充分^[9],澄清剂加入过量,澄清剂与溶液中杂质作用的同时,2 种成分也相互作用导致澄清效果下降。添加过量引起“二次浑浊”^[10-11]。

由澄清剂对绿原酸含量和总皂苷含量(图1)的影响可知,在一定范围内,随着澄清剂用量的增加,绿原酸含量和总皂苷含量逐渐增加。澄清剂用量为4% B组分、2% A组分时

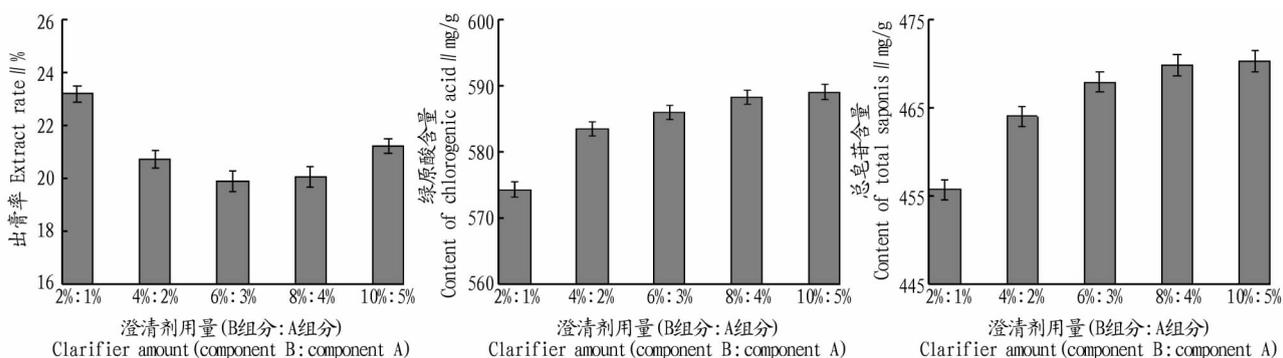


图1 澄清剂用量对工艺的影响

Fig.1 Effects of the clarifier amount on the process

因此选择澄清剂用量为4% B组分、2% A, 6% B组分、3% A以及8% B组分、4% A为正交试验优化的3个水平因素。

2.1.2 药液浓度对工艺的影响。由药液浓度对出膏率的影响(图2)可见,一定范围内,随着药液浓度的降低,出膏率随之降低,说明药液越稀,澄清剂分散越好,澄清效果越好^[9],当生药

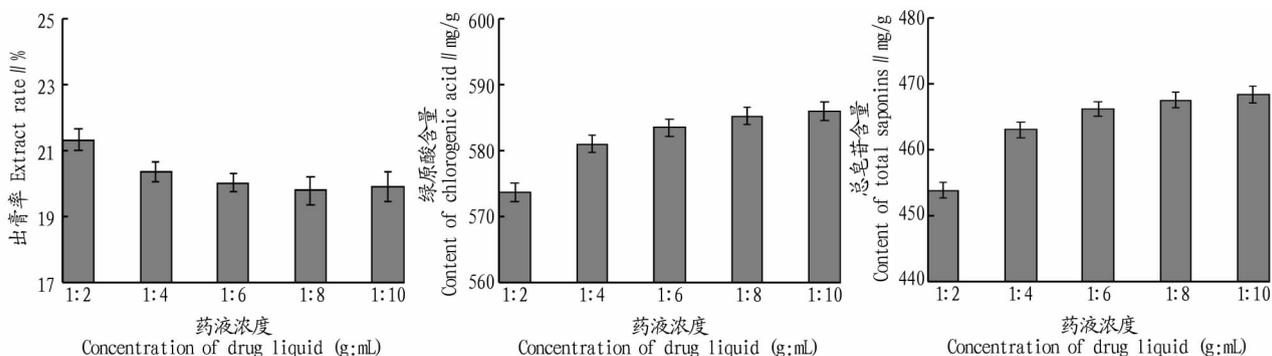


图2 药液浓度对工艺的影响

Fig.2 Effects of concentration of drug liquid on the process

考虑到溶液太稀,造成后续过滤、浓缩过程困难,故选择药液浓度(生药量:药液量)为1:4、1:6、1:8为正交试验优化的3个水平因素。

2.1.3 絮凝温度对工艺的影响。从图3可以看出,出膏率随絮凝温度的升高先降低后升高,并且絮凝温度为80℃时出膏率最低,绿原酸含量和总皂苷含量随絮凝温度的升高先增

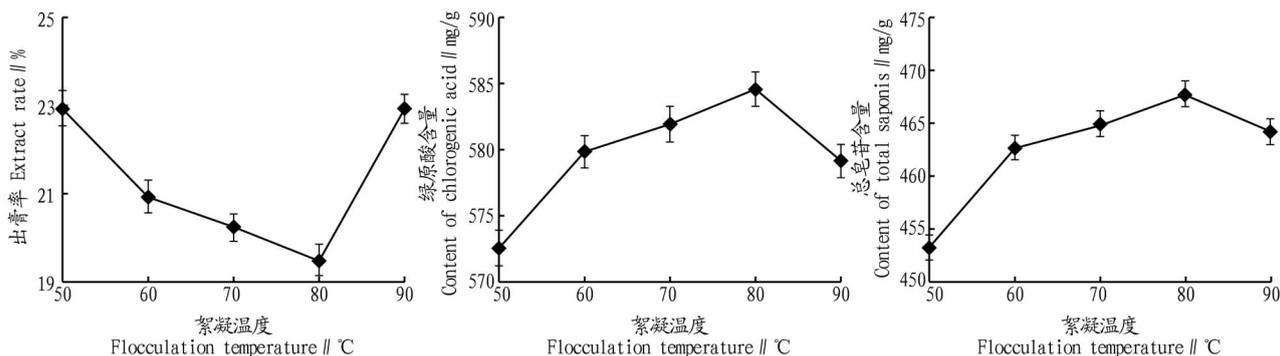


图3 絮凝温度对工艺的影响

Fig.3 Effects of clarifying temperature on the process

绿原酸含量和总皂苷含量显著增加,10% B组分、5% A组分时,绿原酸含量和总皂苷含量增加不显著,反而会增加后续浓缩的难度和成本。

量:药液量为1:4时显著降低,1:10时降低程度不明显。

由药液浓度对绿原酸含量和总皂苷含量的影响(图2)可知,在一定范围内,随着药液浓度的降低,绿原酸含量和总皂苷含量逐渐增加,当生药量:药液量为1:10时增加程度趋缓。

加后降低。絮凝温度越高,澄清剂分散越快,温度较高,可以促进絮凝反应,澄清效果越好,絮状沉淀越多,出膏率越低,絮凝温度太高,澄清剂的交替作用强于架桥作用^[12],也会使澄清剂老化,降低澄清效果,还会破坏药液中部分成分的稳定性^[9],同时也会增加成本。因此选择60、70、80℃为正交试验优化的3个水平因素。

2.2 正交试验 从表 3~4 可以看出,澄清剂用量因素对综合指标 Y 有显著性影响,影响权重从大到小依次是 $A > B > C$,即澄清剂用量>药液浓度>絮凝温度且最佳工艺组合条件

是 $A_3B_2C_3$,由于最优结果未出现在正交序列表中,因此需对其进行验证试验。

表 3 正交试验设计及结果

Table 3 Designs and results of orthogonal experiment

序号 No.	A	B	C	D	出膏率 Extract rate//%	绿原酸含量 Content of chlorogenic acid//mg/g	总皂苷含量 Content of total saponins//mg/g	Y
1	1	1	1	1	-1.16	570.64	454.21	409.71
2	1	2	2	2	-0.05	579.86	462.58	416.97
3	1	3	3	3	0.01	579.45	462.26	416.69
4	2	1	2	3	-1.06	576.13	459.61	414.08
5	2	2	3	1	0.66	585.85	466.76	421.18
6	2	3	1	2	-0.33	582.73	464.87	418.97
7	3	1	3	2	2.83	588.95	469.39	423.90
8	3	2	1	3	3.01	592.58	472.73	426.73
9	3	3	2	1	2.35	591.03	469.67	424.75
k_1	414.46	415.90	418.47	418.54				
k_2	418.08	421.63	418.60	419.95				
k_3	425.13	420.14	420.59	419.17				
R	10.67	5.73	2.12	1.40				

表 4 正交试验结果的方差分析

Table 4 Analysis of variance of orthogonal test results

因素 Factors	偏差平方和 Square of deviance	自由度 Degrees of freedom	F 值 F value	F 临界值 F threshold	显著性 Significance
澄清剂用量 Clarifier amount	176.66	2	60.43	19.00	*
药液浓度 Concentration of drug liquid	53.03	2	18.12	19.00	—
絮凝温度 Flocculation temperature	8.47	2	2.91	19.00	—
误差 Deviance	2.95	2	—	—	—

注:“*”表示 $P < 0.05$

Note:“*” means $P < 0.05$

2.3 验证试验 按上述筛选出来的提取液浓度生药量:药液量=1:6,或药液密度为(1.015±0.005) g/mL(60℃),澄清剂用量为 8%B 组分、4%A 组分,80℃保温进行验证试验,测定出膏率、绿原酸含量、总皂苷含量,结果见表 5。

通过 3 次平行试验,由表 5 可得,出膏率、绿原酸含量和总皂苷含量最高,且 RSD 均小于 5%,表明该澄清剂纯化工艺条件基本稳定、可行。

表 5 澄清效果验证试验结果

Table 5 Results of verification of clarification experiment

试验号 No.	出膏率 Extract rate %	绿原酸含量 Content of chlorogenic acid mg/g	总皂苷含量 Content of total saponins mg/g
1	19.07	592.83	472.64
2	18.81	593.62	473.49
3	19.53	591.97	473.33
平均值 Average value	19.13	592.81	473.15
RSD//%	1.30	0.14	0.10

3 讨论与结论

清咽复方水提液是由桔梗、余甘子、金银花等中药材组

成,以具有宣肺化痰、利咽排脓^[13-14]之功效的桔梗作为君药,以具有清热解毒、宣散风热^[15]之功效的金银花作为臣药,以具有清热凉血、生津止咳之功效的余甘子作为佐药。桔梗的主要成分是桔梗皂苷^[16],同时该类成分也是清咽功能的功效成分。金银花的主要化学成分为绿原酸,并且绿原酸在抗菌^[17]、抗病毒^[18]等方面功效显著、明确。因此确定总皂苷和绿原酸作为本品的评价指标。

试验中发现,在提取清咽相关原料的有效成分后,不能达到澄清的状态,在除去某些影响药液澄清的元素蛋白质类所用的传统澄清剂多为有毒的有机试剂,不但增加了成本,且操作复杂烦琐^[19]。天然澄清剂的加入能显著改善溶液的澄清度,ZTC1+1 天然澄清剂属于食品添加剂,安全无毒,是人工合成絮凝剂的理想代用品,且澄清速度快,保留成分更多,在降低成本、缩短工期及增强制剂的稳定性方面优于水提醇沉法^[20],ZTC1+1-II型澄清剂作用原理为利用电荷及“架桥”作用^[21]。

该试验以出膏率、绿原酸和总皂苷含量指标评价,考察澄清剂加入量、药液浓度、絮凝温度 3 因素对澄清工艺的影响,通过单因素试验确定正交试验因素水平,正交试验优化澄清工艺。结果表明,各工艺条件对澄清效果的影响程度从

大到小依次为澄清剂用量、药液浓度、絮凝温度,且澄清剂用量具有显著差异($P<0.05$),药液浓度对绿原酸含量有显著差异,对出膏率和总皂苷含量无显著差异,絮凝温度无显著差异,结合实际生产条件,最佳工艺组合条件为 $A_3B_2C_3$,即在药液浓度为1:6,此时药液密度为 $(1.015\pm 0.005)\text{g/mL}$ ($60\text{ }^\circ\text{C}$),先加入8%B组分,再加入4%A组分,在 $80\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下进行澄清工艺。验证结果表明工艺稳定可行,能最大可能保证出膏率、绿原酸含量和总皂苷含量,为其他中药制剂澄清工艺提供了试验依据,也为其广泛推广奠定了基础。

参考文献

- [1] 张兆旺.中药药剂学[M].北京:中国中医药出版社,2003:185.
- [2] 王燕伟,吕圭源.醇处理影响中药制剂的成分与作用[J].浙江中医学院学报,1995,19(2):30-31.
- [3] 颜红.天然澄清剂在中药水提液澄清工艺中的应用[J].中国药导报,2005,11(1):80-82.
- [4] 张三平.吸附澄清剂在中药制剂中的应用研究[J].中国药房,2008,19(6):461-464.
- [5] 朱丹,赵洪军,瞿伟菁.ZTC1+1-II澄清剂用于芦笋老茎汁的澄清工艺研究[J].食品与发酵工业,2010,36(8):118-121.
- [6] 陈文良,陈文龙,王敏,等.II型ZTC1+1天然澄清剂纯化土茯苓多糖的工艺研究[J].中成药,2015,37(7):1605-1610.
- [7] 赵丹,朱澄云,王中彦.参芝安神口服液澄清工艺研究[J].吉林中医药,2017,37(10):1046-1048.

(上接第171页)

白质切割为小分子肽段或游离氨基酸,酶解效果显著。

3 结论

该研究以单环刺蝥为原料进行基本营养成分分析及氨基酸分析,结果表明,单环刺蝥具有高蛋白、低脂肪的营养特点,氨基酸含量丰富,其中必需氨基酸占比达31.17%,呈味氨基酸占比达57.35%,说明单环刺蝥不仅营养丰富且味道鲜美,可以作为海鲜调味料的原料进行开发。

将抽提法与酶解法的工艺条件结合,经蒸煮抽提后的单环刺蝥体壁进一步酶解,确定风味蛋白酶作为最适宜水解酶,经过单因素试验和正交试验确定最适酶解条件,当酶解条件为酶解温度 $50\text{ }^\circ\text{C}$ 、料液比1:4、加酶量 $7\ 000\ \text{U/g}$ 、酶解时间5 h时,蛋白水解度最高,为38.23%,且酶解液分子量较低,利于人体吸收;所得的酶解液经过滤后与前期蒸煮过滤得到的上清液合并(为增强基料鲜味的浑厚感)即为单环刺蝥海鲜调味料基料,该基料风味鲜美、澄清、无苦味,可用于进一步加工复配成海鲜调味料。该研究为单环刺蝥海鲜调味料的开发提供了理论依据。

参考文献

- [1] 刘峰,孙涛,纪元,等.单环刺蝥生物学及生态学研究进展[J].海洋科

- [8] 白鸿.保健食品功效成分检测方法[M].北京:中国中医药出版社,2011.
- [9] 汤淦,唐安福,崔恩忠,等.ZTC1+1天然澄清剂在中药制剂工艺应用中的影响因素分析[J].医学研究生学报,2012,25(3):324-326.
- [10] 李艳敏,赵树欣.不同酒类澄清剂的澄清机理与应用[J].中国酿造,2008,27(1):1-5.
- [11] 李冲,余佑,邹海英,等.椴果酒澄清工艺优化[J].食品工业科技,2017,38(24):212-216,291.
- [12] 杨立英,李超,史红梅,等.果酒浑浊产生原因及澄清方法[J].中外葡萄与葡萄酒,2009(9):51-53.
- [13] 雷载权.普通高等教育中医药类规划教材·中药学[M].上海:上海科学技术出版社,2003:230.
- [14] 左军,尹柏坤,胡晓阳.桔梗化学成分及现代药理研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2019,21(1):113-116.
- [15] 吴娇,王聪,于海川.金银花中的化学成分及其药理作用研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(4):225-234.
- [16] 田雨弘.桔梗的化学成分分析及药理活性研究[D].长春:吉林农业大学,2017.
- [17] 李黎,孙晶.多倍体金银花与二倍体金银花不同部位提取物的抑菌作用及绿原酸含量的比较研究[J].食品科技,2012,37(8):225-227,231.
- [18] 杜江.金银花主要成分绿原酸对RSV感染RAW264.7细胞的TLR3信号通路的影响[J].齐齐哈尔医学院学报,2017,38(6):626-628.
- [19] 曹阳阳,郭斌.II型ZTC1+1天然澄清剂在罗摩多糖纯化中的应用[J].沈阳药科大学学报,2012,29(12):959-962.
- [20] 卞益民,徐晓梅,赖水招,等.IV型ZTC1+1天然澄清剂在中草药制剂生产中的应用研究[J].中草药,1998,29(8):523-526.
- [21] 张萍,吴月国,刘骅.ZTC1+1-II澄清剂用于中药水提液澄清[J].中国中药杂志,2007,32(2):113-115.

- [22] 王雷,刘红梅,彭鸽,等.单环刺蝥营养成分及体内活性物质的研究进展[J].鲁东大学学报(自然科学版),2011,27(4):342-345.
- [23] 刘春娥,林宏坤,冯雪,等.单环刺蝥(*Urechis unicinctus*)酶解及酶解产物功能研究[J].饲料工业,2018,39(10):44-47.
- [24] SUNG W S, PARK S H, LEE D G. Antimicrobial effect and membrane-active mechanism of Urechistachykinins, neuropeptides derived from *Urechis unicinctus* [J]. FEBS Letters, 2008, 582(16): 2463-2466.
- [25] 李诺,宋淑莲,唐永政,等.单环刺蝥体壁氨基酸组分与含量的分析[J].齐鲁渔业,2000,17(5):26-27,49.
- [26] 刘秀琴.天然调味料的发展趋势[J].粮油食品科技,2003,11(6):27-28.
- [27] 吴进卫,颜伟.海鲜调味料概述[J].中国食品添加剂,2008(S1):120-124.
- [28] 叶强,贾彩荷.海鲜调味料的研究[J].肉类工业,2010(10):33-35.
- [29] 张晓羽.风味蛋白酶酶解海带制备海鲜调味料的研究[D].大连:大连工业大学,2018.
- [30] 陈启航,朱秀花,俞珺,等.金枪鱼蒸煮液酶解工艺优化及风味海鲜调味汁的制备[J].食品工业科技,2018,39(9):124-130.
- [31] 耿瑞婷.扇贝加工副产物制备海鲜调味汁的工艺研究[D].舟山:浙江海洋学院,2014.
- [32] 徐坤华,吴佳佳,王宏海,等.美拉德反应及其在水产调味料中的应用[J].食品工业科技,2013,34(17):378-383.
- [33] 方杰.Maillard反应制备紫蛤调味料的研究[D].湛江:广东海洋大学,2012.
- [34] 李新民.一种海肠调味粉:CN200810016125.8[P].2008-10-01.
- [35] 刘海梅,张治财,尹晓洁,等.单环刺蝥体壁肌酶解工艺参数的研究——复合风味蛋白酶[J].中国调味品,2013,38(11):14-17,30.
- [36] 王思婷,薛蕊,宋晨,等.单环刺蝥功能性调味料的研制[J].农产品加工,2019(23):5-8.