

# Gemini 型阳离子表面活性剂反胶束体系萃取纤维素酶的研究

许林妹, 许虎君, 卢青松, 王中才  
(江南大学化学与材料工程学院, 江苏 无锡 214036)

**摘要:** 本文研究了 Gemini 型阳离子酯季铵盐表面活性剂 II -14-3 反胶束萃取纤维素酶的性能, 以探索新型表面活性剂在反胶束萃取酶蛋白中的应用。考察了水相 pH、离子强度、离子种类、酶浓度、表面活性剂浓度、助溶剂浓度、溶剂比和助表面活性剂(卵磷脂)等因素对萃取率的影响, 确定了萃取纤维素酶的最佳条件:  $[\text{NaCl}] = 50\text{mmol/L}$ ,  $[\text{II -14-3}] = 0.3\text{mmol/L}$ ,  $\text{pH} 6.4$ ,  $C_0 = 0.14$ , 溶剂比  $S = 1.0$ , 萃取率  $E$  接近 80%, 其酶活达到原来的 93.38%; 若加入适量的卵磷脂( $[\text{II -14-3}]/[\text{PC}] = 36:1$ )可提高萃取率, 萃取率  $E$  达 90% 以上, 且酶活达到 121.41%。并且从反胶束微观结构给予解释。

**关键词:** Gemini 阳离子表面活性剂; 反胶束; 萃取; 丙三亚甲基 - 双(十四酰氧乙基二甲基溴化铵)(II -14-3); 卵磷脂; 纤维素酶; 酶活

## Study of Extraction Cellulase by Reverse Micellar System of Gemini Cationic Surfactant

XU Lin-mei, XU Hu-jun, LU Qing-song, WANG Zhong-cai  
(School of Chemical and Material Engineering, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

**Abstract :** The extraction capability was studied when cellulase was extracted by reverse micellar system of gemini cationic surfactant, propilidene-1,3-bis (dimethyl -tetradecylacyloxyethylammonium bromide (II -14-3 ), in order to study reverse micellar system of new surfactant for enzyme extraction The effects of pH, strength of ion , category of ion, the ratio of auxiliary solvent, the ratio of solvent, the concentration of enzyme and the concentration of surfactant and auxiliary surfactant (phosphatidylcholine) were systematically investigated. It was found that the best conditions for extracting the cellulase were:  $[\text{NaCl}] = 50\text{mmol/L}$ ,  $[\text{II -14-3}] = 0.3\text{mmol/L}$ ,  $\text{pH} 6.4$ ,  $C_0 = 0.14$  and  $S = 1.0$  with the yield of extracted  $E$  as 80%. The activity of the enzyme was 93.38% that of crude enzyme after extraction. If phosphatidylcholine(PC) was added in reverse micellar system of gemini cationic surfactant(II -14-3 ), ( $[\text{II -14-3}]/[\text{PC}] = 36:1$ ), the yield of extracted  $E$  was 90% and the activity of the enzyme was 121.41% that of crude enzyme after extraction. The results could be explained by microcosmic structure of reverse micelle.

**Key words:** gemini cationic surfactant; reverse micelle; extraction; propilidene-1,3-bis(dimethyl-tetradecylacyloxyethylammonium bromide)(II -14-3); phosphatidylcholine(PC); cellulase; activity of enzyme

中图分类号: TQ028.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)02-0072-05

纤维素酶(cellulase)是降解纤维素生成葡萄糖的一组酶的总称。它在植物细胞杂交、天然素的利用、饲料加工等领域有广泛应用。传统的纤维素酶提取方法通常是通过过滤、离心分离不溶物, 用盐析、干燥进行浓缩, 最后用离子交换、电泳或亲和层析进行纯化, 这些常规的分离技术存在诸多弊端, 如: 操作间歇长、收率低、成本高。利用反胶束萃取纤维素酶可解决以

上弊端<sup>[1]</sup>。

反胶束(reverse micelle)是表面活性剂在非极性的有机溶剂中超过临界胶团浓度(CMC)时自发形成热力学稳定、光学透明的球状或圆柱状聚集体。其内部接近细胞内环境, 不仅能溶解亲水性分子如氨基酸、多肽和蛋白质等, 而且能保持它们的活性。从而既实现了活性物质的分离又保持了物质的活性。用反胶束萃取酶蛋白时,

收稿日期: 2004-10-20

作者简介: 许林妹(1960-), 女, 副教授, 硕士, 研究方向为分离过程以及表面活性剂合成与应用。



表面活性剂起着关键性作用, 表面活性剂的种类会影响反胶束的大小和形状。目前能用于反胶束萃取的表面活性剂种类不多, 而且这些表面活性剂或多或少存在着一些弊端, 因此如何合成和探索更合适的表面活性剂用于反胶束萃取将是今后研究的一个重要方面。

Gemini 型表面活性剂的结构一般有三个部分组成: 含有两个亲水基(离子或极性基团)和两条疏水链, 在其亲水基或靠近亲水基处, 由联结基团(spacer)通过化学键(共价键或离子键)联结在一起。它们拥有良好的表面活性, 其 CMC 较常规的表面活性剂小得多, 因而形成反胶束的 Gemini 型表面活性剂用量很少(为常规的表面活性剂的几十分之一), 可以减少对产品的污染, 并有望降低成本。正是这一原因本文探索用 Gemini 型阳离子酯季铵盐表面活性剂丙三亚甲基-双(十四酰氧乙基二甲基溴化铵)(简称 II-14-3)(它可生物降解, 是环境友好的 Gemini 型表面活性剂)进行反胶束萃取纤维素酶的研究, 以探索新型表面活性剂在反胶束萃取酶蛋白中的应用。实验考察水相 pH、离子强度和种类、酶浓度以及表面活性剂浓度、助溶剂浓度、溶剂比和助表面活性剂(卵磷脂)等因素对萃取行为的影响, 并从反胶束微观结构给予解释, 确定了萃取纤维素酶的最佳条件。最后测定了反胶束萃取前后的酶活, 并进行了比较。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

纤维素酶 上海东风生化技术有限公司; II-14-3 本实验室自制; 溴化钾、氯化钾、氯化钠、氢氧化钠、盐酸、环己烷、正辛醇、3,5-二硝基水杨酸、葡萄糖、柠檬酸、柠檬酸三钠、酒石酸钾钠、苯酚等均为 AR 级, 卵磷脂为 BR 级, 所用水为去离子水。

### 1.2 主要仪器与设备

TU-1901 双光束紫外可见分光光度计 北京谱析通用仪器有限责任公司; 82-2 离心沉淀器 上海手术器械厂; PHS-25 型 pH 计 上海精科雷磁; 恒温水浴振荡器; HH-1901 型电热恒温水浴锅 江苏金坛县同华仪器厂。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 Gemini 型阳离子酯基 Gemini 型季铵盐表面活性剂的合成

Gemini 型阳离子酯基季铵盐表面活性剂的合成反应主要由中间体脂肪酸二甲替氨基乙酯的合成及目标产物的合成两部分组成。

中间体脂肪酸二甲替氨基乙酯的合成采用脂肪酰氯与醇酯化的方式完成: 通过脂肪酸与氯化亚砷的酰化反应生成脂肪酰氯, 脂肪酰氯随后与二甲替氨基乙醇反应生成脂肪酸二甲替氨基乙酯, 粗产物依次经稀碳酸钠水溶液及热饱和食盐水多次洗涤, 再经无水硫酸镁干燥,

过滤, 即得中间体。其结构经 IR、MS 表征得以确认; 其质量含量经酸碱滴定法测定, 在 98.55% 以上。利用上步制得的中间体脂肪酸二甲替氨基乙酯与  $\alpha, \omega$ -二溴烷烃在溶剂异丙醇的存在下回流搅拌反应 24h, 减压蒸除溶剂, 粗品经丙酮多次重结晶即得目标产物。其结构经 IR、 $^1\text{H}$ NMR 表征得以确认; 其质量含量经两相滴定法测定, 在 98.60% 以上。

#### 1.3.2 反胶束萃取纤维素酶

以一定量的表面活性剂(其浓度  $> \text{CMC}$ ), 置于 250ml 容量瓶中, 然后加入环己烷/正辛醇(以一定的配比)的混合液至刻度(表面活性剂的浓度  $> \text{CMC}$ )摇匀后成为透明溶液, 即为反胶束溶液。再将一定浓度纤维素酶水溶液和反胶束溶液以一定的相比定量置于 10ml 具塞离心管中, 在 45℃ 恒温水浴中振荡 15min, 后置于离心机中在 4000r/min 下离心分离 20min。

#### 1.3.3 酶含量与酶活的测定

纤维素酶的含量测定采用紫外吸收法: 以纯水作为参比, 在 278nm 处进行紫外吸收法分别测定原料和萃余相中纤维素酶含量。通过两相物料衡算可求出萃取进入有机相的酶量。萃取率(E)定义为: 萃入有机相中酶含量与初始原料中酶含量的比值, 酶含量用质量分数表示。

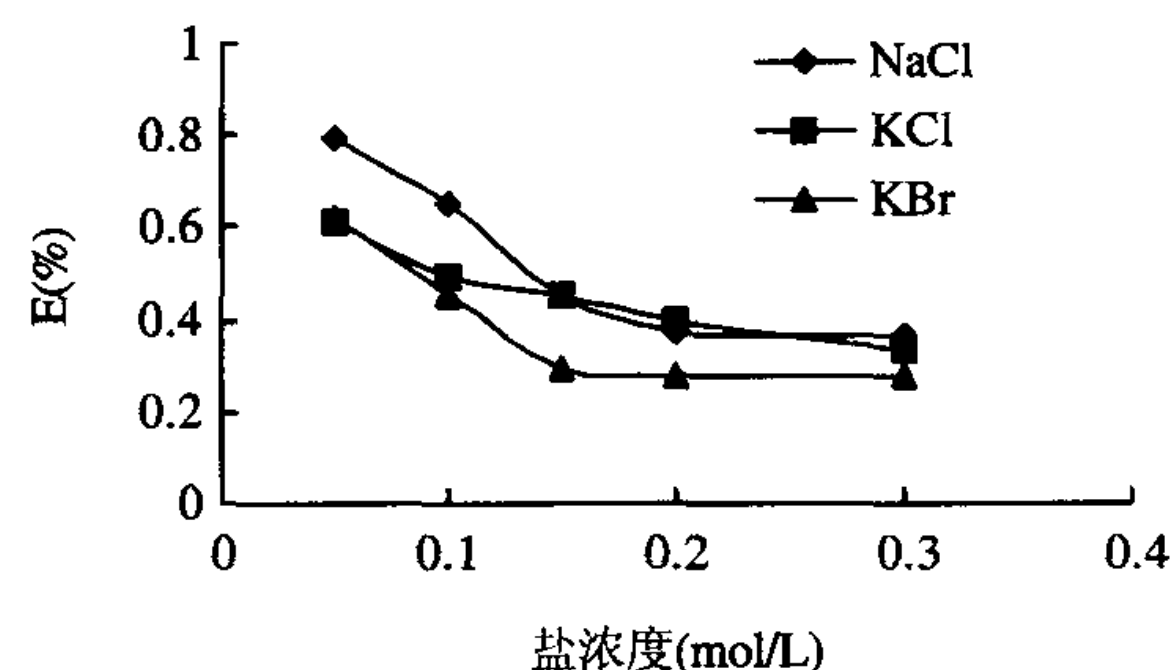
反胶束萃取前后的酶活的测定参照文献[2]进行。

## 2 结果与分析

本文以 Gemini 型阳离子酯基季铵盐表面活性剂 II-14-3, 有机溶剂环己烷以及助溶剂正辛醇所组成的反胶束体系, 考察水相 pH、离子种类和强度, 表面活性剂浓度、助溶剂浓度、溶剂比、助表面活性剂等方面对萃取率 E 的影响。

#### 2.1 离子强度与种类对萃取率 E 的影响

离子种类和离子强度对萃取率 E 的影响如图 1。由图 1 可知, 对同种离子而言, 离子强度(即离子浓度)对 E 的影响较明显, 尤其在低浓度区, 随着离子强度的增加, 萃取率 E 明显下降, 但当离子强度增加到一定值后萃取率



S=1,  $C_0=0.14$ , [II-14-3]=0.3mmol/L, pH6.4, [酶]=0.5g/L

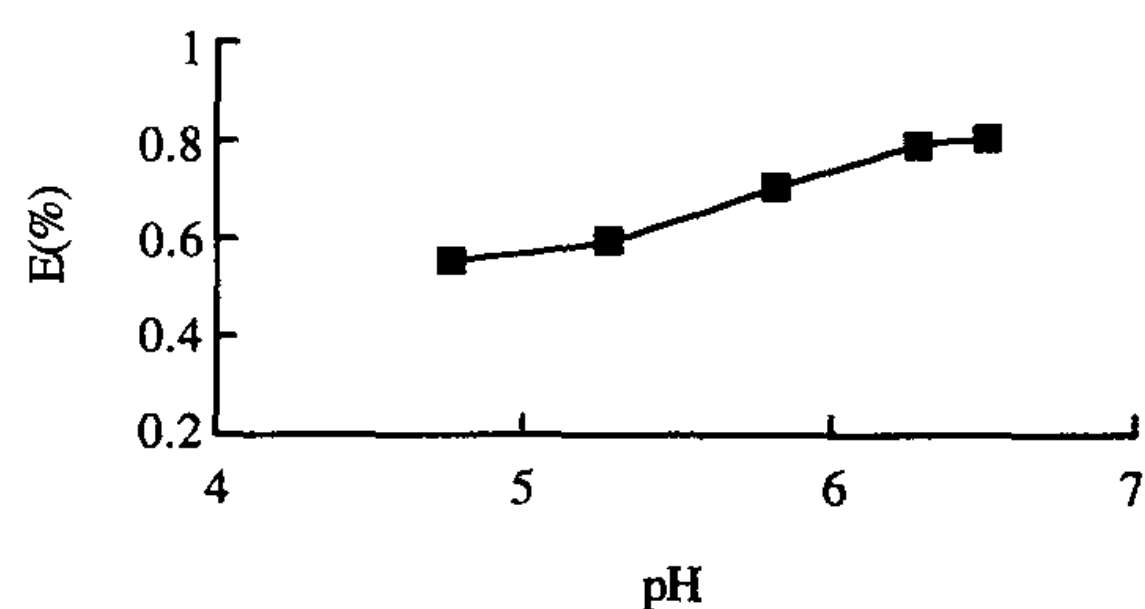
图1 离子强度和种类对 E 的影响

Fig.1 Effects of strength of ion and category of ion on E



几乎与离子强度大小无关。从图中还可看出：改变正离子种类( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ) 对 E 的影响不大, 在相同离子强度下,  $\text{Na}^+$  的影响比  $\text{K}^+$  略大, 但当离子浓度超过  $0.15\text{mol/L}$  时, 两者影响程度一致; 改变负离子种类( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ), 对 E 影响较大,  $\text{Br}^-$  的影响比  $\text{Cl}^-$  大。由静电作用原理, 离子强度越高, 对酶蛋白的萃取越不利, 这由于: 一是离子强度越大, 反胶束内表面双电层变薄, 减弱了酶蛋白与反胶束内表面之间的相互吸引, 从而降低了酶蛋白的溶解。二是反胶束内表面双电层变薄, 也减弱了表面活性剂极性头之间的相互作用, 反胶束团体积减小, 酶蛋白不易进入。三是离子强度增大时, 也增大了离子向反胶束体系中水池(water pool)的迁移, 影响酶蛋白的溶解, 甚至引起酶蛋白从反胶束中盐析出来, 四是盐和表面活性剂或酶蛋白的相互作用, 可改变溶解性能, 离子强度越大, 酶的溶解性能越差。正离子对 E 的影响差异不大, 其原因是离子与表面活性剂带有同号电荷。 $\text{Br}^-$  的影响比  $\text{Cl}^-$  大的原因  $\text{Br}^-$  的离子半径比  $\text{Cl}^-$  大, 负离子的半径越大对萃取越不利<sup>[1][3]</sup>。从图还可看出:  $\text{NaCl}$  的萃取率最高。另外从实验现象中可观察到离子强度越低, 溶液越易乳化。因此, 在保证不乳化的前提下, 为提高萃取率应选  $\text{NaCl}$  为离子种类, 并且离子强度越低越好, 实验证明取  $[\text{NaCl}]=0.05\text{mol/L}$  为宜。

## 2.2 水相 pH 对萃取率 E 的影响



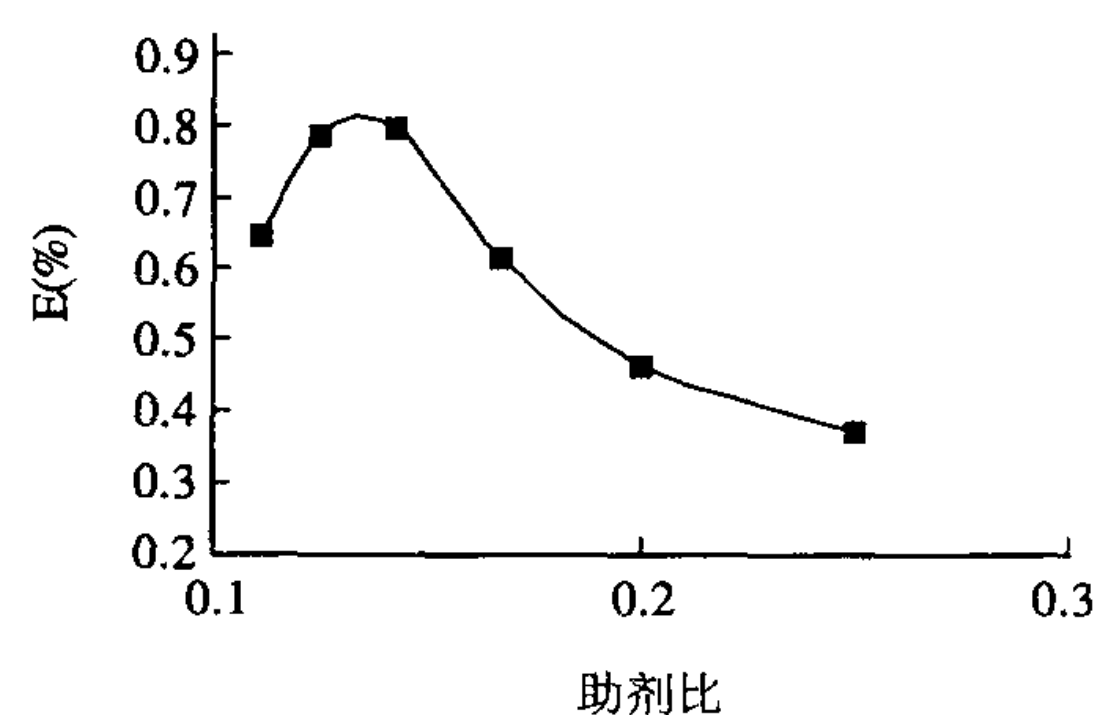
$S=1$ ,  $C_0=0.14$ ,  $[\text{NaCl}]=0.05\text{mol/L}$ ,  $[\text{酶}]=0.5\text{g/L}$ ,  $[\text{II-14-3}]=0.3\text{mmol/L}$

图2 pH对E的影响  
Fig.2 Effects of pH on E

图2表示水相 pH 对纤维素酶萃取率 E 的影响。从图2中可知, 当 pH 比较低时 E 随着 pH 的增加而增加, 当 pH 升到 6.4 时达到较高的萃取率。pH 值对 E 的影响主要表现在改变蛋白质的表面电荷及其对蛋白质构象的改变。pH 值决定了酶蛋白带电基团的解离速率和所带的净电荷。由于纤维素酶存在活性的 pH 范围为 3.5~6.5, 故反胶束体系的 pH 选为 6.4 较好。

## 2.3 助溶剂 $C_0$ 对萃取率 E 的影响

本文选用正辛醇作为助溶剂<sup>[4]</sup>, 助溶剂比  $C_0$  是指正辛醇与环己烷的体积比, 由图3可知, 当助溶剂比  $C_0$  小于 0.14 时, E 随助溶剂比  $C_0$  的增大而增大, 当助溶剂比  $C_0$  大于 0.14 时, E 随助溶剂比  $C_0$  的增大而减少,

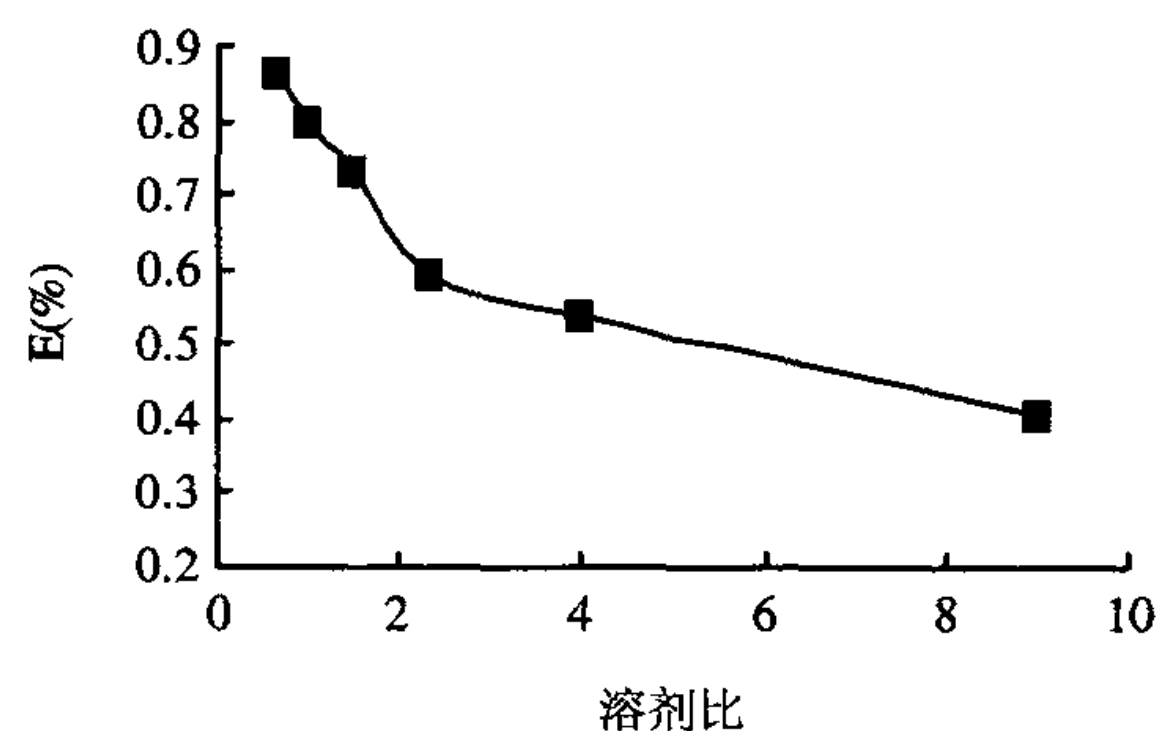


$S=1$ ,  $\text{pH}6.4$ ,  $[\text{NaCl}]=0.05\text{mol/L}$ ,  $[\text{酶}]=0.5\text{g/L}$ ,  $[\text{II-14-3}]=0.3\text{mmol/L}$

图3 助溶剂  $C_0$  对 E 的影响  
Fig.3 Effects of auxiliary solvent  $C_0$  ratio on E

这是因为当助溶剂比  $C_0$  较低时, 随助溶剂比  $C_0$  的升高, 溶液中反胶束的数量与稳定性增大, 酶蛋白的萃取率也相应提高; 而当助溶剂比  $C_0$  过高时, 导致反胶束体积变小, 形成空间阻碍, 酶蛋白不易进入, 所以, 助溶剂比  $C_0$  有一适宜值为 0.14。

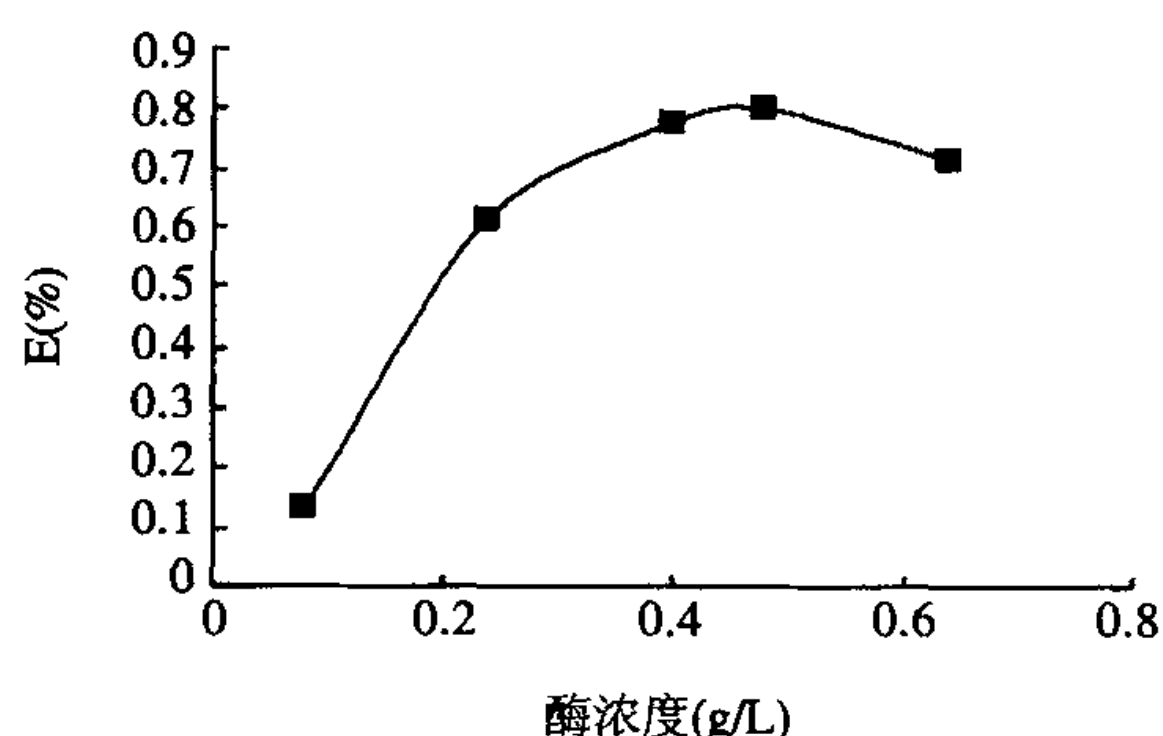
## 2.4 溶剂比 S 对萃取率 E 的影响



$C_0=0.14$ ,  $\text{pH}6.4$ ,  $[\text{NaCl}]=0.05\text{mol/L}$ ,  $[\text{酶}]=0.5\text{g/L}$ ,  $[\text{II-14-3}]=0.3\text{mmol/L}$

图4 溶剂比 S 对 E 的影响  
Fig.4 Effects of solvent ratio on E

图4表示 E 与溶剂比 S 之间的关系, S 是指水相和有机相的体积比, 从图中可知, 随着溶剂比 S 的增加, E 值减小, S 较小时, 随着 S 的增加 E 明显减小, 而当 S 较大, E 的减小幅度趋小, 这与传统的液液萃取



$S=1$ ,  $C_0=0.14$ ,  $\text{pH}6.4$ ,  $[\text{NaCl}]=0.05\text{mol/L}$ ,  $[\text{II-14-3}]=0.3\text{mmol/L}$

图5 酶浓度对 E 的影响  
Fig.5 Effects of enzyme concentration on E

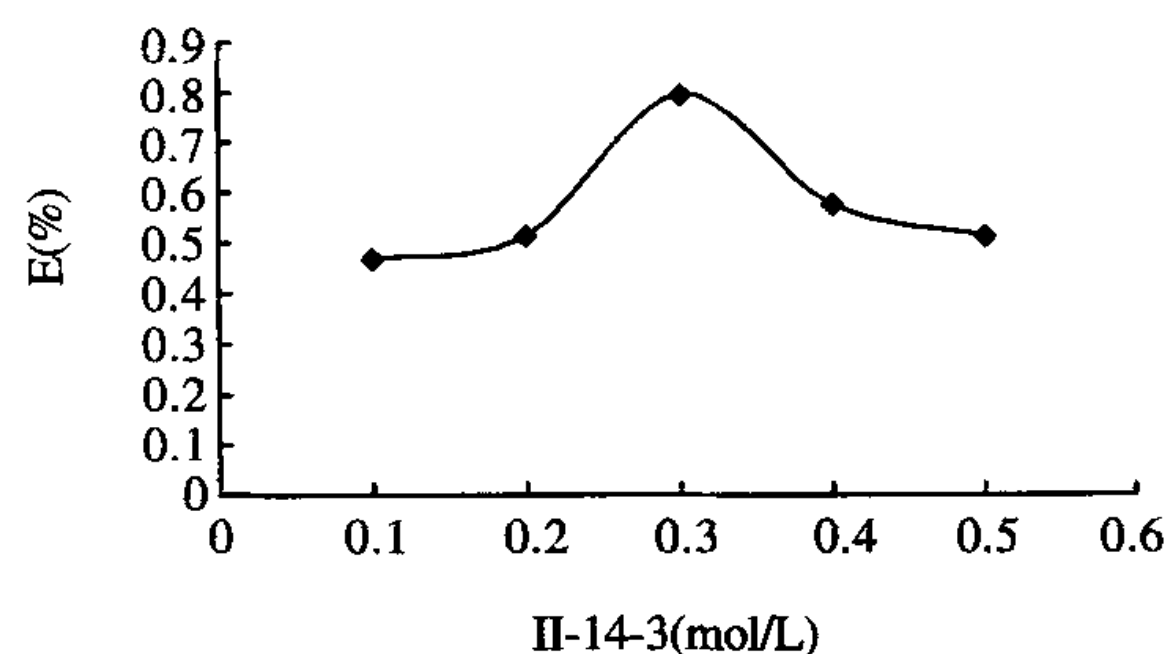


情况一致。为方便操作在萃取体系中取相比为 1.0。

## 2.5 纤维素酶浓度对萃取率 E 的影响

图 5 表示 E 与初始水相中酶的浓度的关系, 由图 5 可知, 随着酶浓度的增加萃取率 E 先增加后减小。纤维素酶浓度在 0.4~0.5g/L 有较高的萃取率, 而当酶的浓度高于 0.5g/L 时, E 逐渐下降。这可能与每个反胶束团对纤维素酶蛋白的容量都有一个饱和度有关。

## 2.6 表面活性剂浓度对萃取率 E 的影响



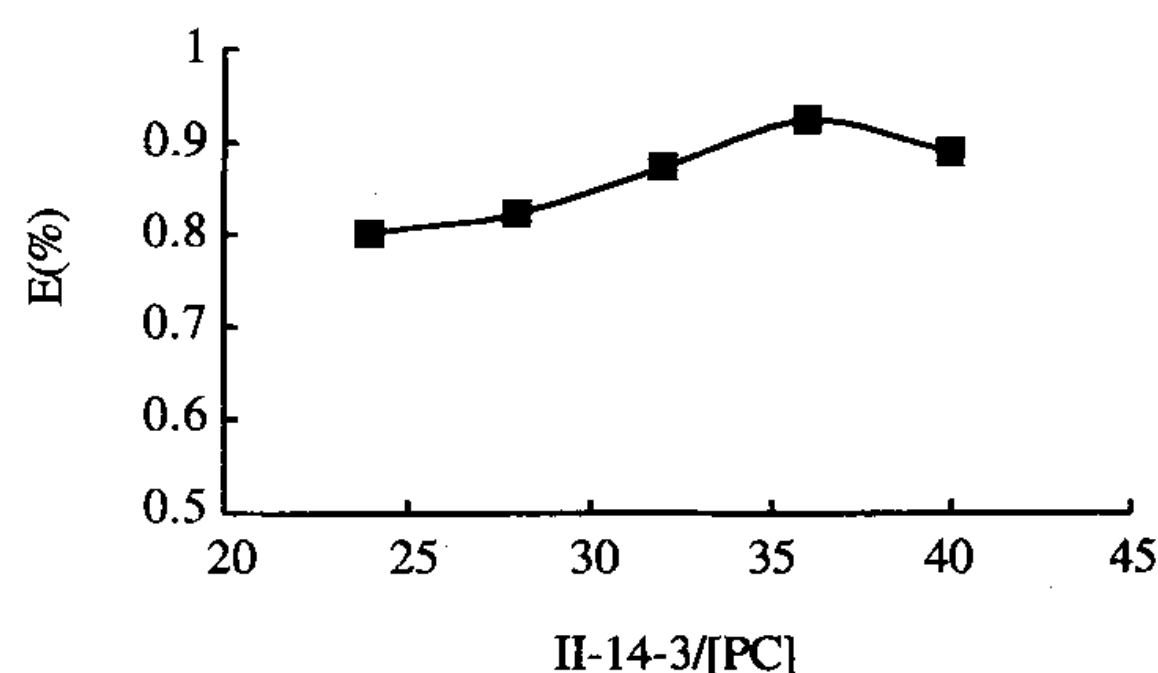
$C_0=0.14$ , pH6.4,  $[\text{NaCl}]=0.05\text{mol/L}$ ,  $[\text{酶}]=0.5\text{g/L}$

图 6 表面活性剂浓度对 E 的影响

Fig.6 Effects of surfactant concentration on E

萃取率 E 与表面活性剂浓度之间的关系如图 6, 从图 6 可以看出: 随着表面活性剂浓度的增加, E 逐渐升高, 当浓度为 0.3mmol/L 时, E 达到最大。这可能是当表面活性剂浓度低时, 形成反胶束少, 萃取率低。表面活性剂浓度逐渐升高时, 反胶束数量增多, 萃取率增加, 但当表面活性剂浓度过大时, 反胶束相整体极性增加, 因而萃取率反而降低。表面活性剂浓度对纤维素酶萃取性能的影响有两个方面: 即反胶束数量与反胶束相的聚集结构。因此适宜的表面活性剂浓度为 0.3mmol/L。

## 2.7 卵磷脂对萃取率 E 的影响



$S=1$ ,  $C_0=0.14$ , pH6.4,  $[\text{NaCl}]=0.05\text{mol/L}$

图 7 卵磷脂对 E 的影响

Fig.7 Effects of phosphatidylcholine on E

图 7 表示卵磷脂对 E 的影响, 由图 7 可知, 加入一定量卵磷脂能显著提高萃取率 E (从 79% 增加到 92%), 但也有一个最佳值。当添加少量助表面活性剂卵磷脂时, 萃取率有显著提高。但卵磷脂用量过大时, 一易

出现乳化, 二萃取率反而下降。这与史红勤<sup>[5]</sup>、陈复生等<sup>[6]</sup>用 AOT/ 异辛烷反胶束体系提取分离植物蛋白和油脂时结果一致。为此选  $[\text{II-14-3}]/[\text{PC}]=36:1$  较为合理。

## 2.8 反胶束萃取对酶活的影响

以 pH6.4 时的纤维素酶在纯水中酶活作为基准值, 测定在最佳反胶束萃取条件下对应的萃取前后的酶活, 并进行比较, 结果表明用单一表面活性剂组成反胶束溶液萃取对酶活有一定的损失, 即为原来的 93.38%, 而当单一表面活性剂组成反胶束溶液中适当加入一些卵磷脂, 不但可使萃取率提高, 还可以提高酶的活性。甚至使酶的活性达到 121.41%, 表现出了超活性。这与缪炜等<sup>[7]</sup>发现了卵磷脂反胶束中  $\beta$ -1,4 葡萄糖苷酶超活性相一致。可能是卵磷脂为一种生物表面活性剂的缘故所致。

表 1 纤维素酶反胶束体系萃取前后酶活 (pH6.4)

Table 1 Activities of cellulase before extraction and after (pH6.4)

| 纤维素酶所在体系            | 酶活(U/g) | 酶活率(%) |
|---------------------|---------|--------|
| 萃取前(水中)             | 1445.06 | 100    |
| 经单一 II-14-3 反胶束萃取   | 1349.46 | 93.38  |
| 经 II-14-3/ 卵磷脂混合反胶束 | 1754.42 | 121.41 |

## 3 结 论

3.1 单一 II-14-3 反胶束体系萃取纤维素酶的最佳条件为:  $[\text{NaCl}]=50\text{mmol/L}$ ,  $[\text{表面活性剂}]=0.3\text{mmol/L}$ , pH6.4,  $C_0=0.14$ , 溶剂比  $S=1.0$ , 萃取率 E 接近 80%, 其酶活达到原来的 93.38%。

3.2 以 II-14-3 构成的反胶束体系的表面活性剂作为萃取纤维素酶, 在有较高的萃取率的同时其用量与传统的表面活性剂(如: CTAB<sup>[1]</sup>、AOT<sup>[5]</sup>等)少得多仅为几十分之一, 这样既节省表面活性剂用量, 又可降低表面活性剂对产品的污染, 因此表面活性剂 II-14-3 用于反胶束萃取可能成为有前途一种表面活性剂。

3.3 在 II-14-3 反胶束体系中加入适量的卵磷脂 ( $[\text{II-14-3}]/[\text{卵磷脂}]=36:1$ ) 可提高萃取率, 可达 90% 以上, 且酶活达到 121.41%。这表明加入卵磷脂有利于酶的萃取, 且可提高酶的活性, 因此在反胶束体系适当加入少量的生物表面活性剂既有利于萃取率的提高, 又可提高酶蛋白的活性。

## 参考文献:

- [1] 任红. 反胶束萃取纤维素酶 [J]. 烟台大学学报(自然科学与工程版), 1999, 12(2): 104-107.
- [2] 赵亚华, 等. 生物化学实验技术教程 [M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2000. 149-151.
- [3] 周世琦, 郭杞远. 反胶束萃取蛋白质中静电相互作用能的研究 [J]. 化学物理学报, 1997, 10(5): 466-474.
- [4] 张亦飞, 韩冬冰. 反胶束萃取血红蛋白的研究 [J]. 生物技术, 1998, 8 (1): 14-17.



# 沙蒿籽胶的流变学性质研究

刘敦华<sup>1,2</sup>, 谷文英<sup>1,\*</sup>

(1.江南大学食品学院, 江苏 无锡 214036; 2.宁夏大学农学院, 宁夏 银川 750011)

**摘 要:** 研究了沙蒿籽胶的静态流变学特性和动态流变学特性。静态流变学表明: 沙蒿籽胶溶液是触变性流体, 其表观粘度随质量分数的增加而增加, 且随剪切速率变化的影响符合 Herschel - Bulkey 模型; 温度、pH 值等对沙蒿籽胶溶液的表观粘度影响较小; 盐的加入能改变沙蒿籽胶溶液的粘度。动态流变学特性表明: 沙蒿籽胶溶液显示弱凝胶特性。

**关键词:** 沙蒿籽胶; 静态流变; 动态流变; 表观粘度

## Rheological Properties of *Artemis sphaerocephala* Krasch Gum

LIU Dun-hua<sup>1,2</sup>, GU Wen-ying<sup>1,\*</sup>

(1.School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China;  
2.School of Agriculture, Ningxia University, Yinchuan 750011, China)

**Abstract :** This paper mainly studied the rheological properties of *Artemis sphaerocephala* Krasch gum. The results showed that the *Artemis sphaerocephala* Krasch gum is a kind of thixotropy. Apparent viscosity increased with the increase of concentration. The rheological properties followed the Herschel - Bulkey model. Its apparent viscosity changed a little with temperature and pH. The addition of salt, such as NaCl and GaCl<sub>2</sub>, affected apparent viscosity of *Artemis sphaerocephala* Krasch gum. *Artemis sphaerocephala* Krasch gum solutions exhibits typical “weak gel” properties by small strain oscillatory measurements.

**Key words:** *Artemis sphaerocephala* Krasch gum; static rheological; dynamic rheological; apparent viscosity

中图分类号: TS201.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)02-0076-05

沙蒿(*Artemis sphaerocephala* Krasch.)属菊科、蒿属, 为多年生半灌木状植物。沙蒿籽是沙蒿成熟的果实, 不规则卵状粒, 似芝麻而比芝麻小, 短径为 0.9~1.3mm, 长径 1.3~2.8mm, 千粒重 0.72~0.73g, 容重为 725~730g/L。沙蒿是我国沙漠地区的一种野生植物, 分布很广, 沙蒿籽蕴藏量十分丰富。沙蒿籽富含营养, 蛋白 20%~28%, 脂肪 20% 以上<sup>[1]</sup>。另外在沙蒿籽外表皮上还含有约 20% 的胶质(沙蒿籽胶), 其具有很强的吸水能力, 吸水后能迅速膨胀, 在水中能形成粘稠的溶液, 具有良好的持水性、粘着力和化学稳定

性。沙蒿籽胶可作为凝胶改良剂、增稠剂、乳化剂及稳定剂, 可用于食品、轻化工业中<sup>[2,3]</sup>。沙蒿籽胶自 1980 年首次被报道到现在, 以胶的提取和应用进行了研究, 而胶的一些流变特性研究的却很少<sup>[4~8]</sup>。本文主要研究了温度、pH 值、盐对沙蒿籽胶溶液流变性质的影响和动态流变研究, 为沙蒿籽胶的利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

收稿日期: 2005-03-31

\* 通讯作者

作者简介: 刘敦华(1964-), 男, 副教授, 博士研究生, 主要从事天然药食和食品科学与工程方面的研究。

[5] 史红勤, 等. AOT-磷脂反胶团体系萃取蛋白质的研究[J]. 化工学报, 1990, (6): 702-708.

[6] 陈复生, 赵俊庭, 姜源功. 利用反胶束萃取技术同时分离植物蛋白

和油脂[J]. 食品科学, 1997, 18(8): 43-46.

[7] 缪伟, 姚松年. 卵磷脂反胶束体系中  $\beta$ -1-4 葡萄糖苷酶的研究[J]. 物理化学学报, 1999, 15(10): 930-937.