

Flavourzyme 酶水解蛋清蛋白的工艺研究

霍永久, 占今舜, 金晓君, 赵国琦

(扬州大学 动物科学与技术学院, 江苏 扬州 225009)

摘要: 以水解度和蛋白质残留量为指标, 研究温度、pH、酶用量及蛋清浓度对 Flavourzyme 酶解蛋清蛋白的影响, 并通过正交试验来确定其最佳工艺。结果是温度 55 °C、pH6.5、加酶量为质量分数 6%、蛋清料液质量体积比 1 g:5 mL 为最佳工艺参数。在该条件下, 6 h 酶解物的蛋白质残留率为 27.68%, 水解度为 38.75%, 水解物的相对分子质量大部分集中在 300 以下, 即主要以游离氨基酸及二肽形式存在。

关键词: 蛋清蛋白; 酶水解; 蛋白酶

中图分类号: S 879.3 文献标志码: A 文章编号: 1673—1689(2015)04—0424—06

Hydrolysis of Egg White Protein by Flavourzyme

HUO Yongjiu, ZHAN Jinshun, JIN Xiaojun, ZHAO Guoqi

(College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

Abstract: Hydrolysis of egg white by Flavourzyme was determined by the orthogonal test. The optimum parameters were: temperature, 55 °C; pH, 6.5; enzyme dosage, 6%; egg white concentration, 1:5. With the condition, the residual protein rate and the degree of hydrolysis after 6 h were 27.68% and 38.75%, respectively, and the resulting hydrolysate primarily consisted of free amino acids and dipeptides.

Key words: egg white protein, enzymatic hydrolysis, protein enzyme

在我国, 蛋品深加工的比例只占禽蛋总量的 0.7%~1.0% 左右。然而, 在发达国家, 已利用蛋品提取多种有效成分应用于食品、医药及保健品等行业。蛋清蛋白质序列中存在具有生物活性的肽段, 用适当的蛋白水解酶可将这些生物活性肽释放出来并发挥生理调节作用, 如具有抗菌活性、降血压、降低胆固醇、抗氧化活性等功能^[1-4]。目前, 国内外

已有利用蛋清蛋白肽液生产功能性饮料, 如利用鹌鹑蛋清多肽制作保健饮料^[5]。Flavourzyme 酶是由经过选育的米曲霉菌种发酵而获得, 其包括内切蛋白酶和外切肽酶两种活性, 是一种用于在中性或微酸性条件下水解蛋白质的真菌蛋白酶/肽酶的复合体^[6]。Flavourzyme 能够水解肽链末端显苦味的疏水氨基酸, 可用来脱除苦味蛋白水解液的苦味, 同时还可

收稿日期: 2014-07-15

基金项目: 江苏省科技支撑项目(BE2014310; BE2013293); 江苏省高校优势学科建设工作资助项目(PAPD)。

作者简介: 霍永久(1971-), 男, 江苏东海人, 农学博士, 副教授, 主要从事动物营养和畜产品加工研究。E-mail: huoyj@126.com

以彻底水解蛋白质,增进和改进水解液的风味^[7]。作者拟采用 Flavourzyme 蛋白酶酶解鸡蛋清蛋白,对水解温度、pH、酶用量及蛋清浓度几个水解参数进行优化,探索适宜的水解条件,为进一步生产蛋清蛋白活性肽提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

鸡蛋:市售新鲜鸡蛋;Flavourzyme 蛋白酶:诺维信生物科技有限公司提供。

1.2 仪器与设备

Waters 600 高效液相色谱仪:Waters 公司产品;Ag1100 安捷伦:安捷伦公司产品。

1.3 实验方法

1.3.1 酶水解蛋清蛋白的工艺流程 新鲜鸡蛋(洗净,消毒)→分离蛋清和蛋黄→稀释蛋清→95℃加热变性 20 min→调节 pH→酶解反应→终止酶解反应

1.3.2 单因素试验 在单因素试验中,分别研究酶解的温度、pH、酶用量及蛋清浓度对水解鸡蛋清蛋白反应的影响,以水解度为指标,确定适宜的酶解条件。

1.3.3 正交试验 在单因素试验的基础上,以蛋白质残留率和水解度为指标,对水解温度、pH、Flavourzyme 酶用量和蛋清浓度 4 个因素进行正交设计,来确定最佳水解工艺参数,因素水平设计如表 1 所示。

表 1 $L_9(3)^4$ 正交试验设计
Table 1 $L_9(3)^4$ orthogonal design

组别	因 素			
	A(温度)/℃	B(pH)	C(酶量)/%	D(蛋清料液质量体积比)
1	50	6.0	4%	1 g:3 mL
2	55	6.5	5%	1 g:4 mL
3	60	7.0	6%	1 g:5 mL

1.4 试验指标测定

1.4.1 水解度及蛋白残留率 总氮含量由凯式半自动定氮仪测得,方法参照《饲料分析及饲料质量检测技术》。

氨基氮含量由甲醛滴定法测得。准确吸取试样 5 mL(氨基氮含量约 1~5 mg)于小烧杯中,加 5 滴 30% 过氧化氢,将烧杯置于磁力搅拌器上,pH 计电极插入烧杯内试样中适当位置,开动磁力搅拌器,先用 0.1 mol/L HCl 或 NaOH 将溶液 pH 调至 8.5,保持 1 min 不变,然后慢慢注入预先调好的中性甲醛溶液

10 mL,1 min 后用 NaOH 标准滴定溶液滴定值 pH 8.5,记录消耗的 NaOH 标准滴定溶液体积。

1.4.2 蛋清蛋白水解物相对分子质量分布 水解物溶液经 0.45 μm 微孔过滤膜过滤后上 TSK gel 2 000 色谱柱,以细胞色素 C(MW 12 500),抑肽酶(MW 6 500),杆菌酶(MW 1450),乙氨酸-乙氨酸-酪氨酸-精氨酸(MW 451),乙氨酸-乙氨酸-乙氨酸(MW 189)为标准品,测定水解物的相对分子质量分布。

高效液相色谱仪条件:色谱柱为 TSK gel 2 000 (7.8 mm×300 mm);柱温 30 ℃;流量 0.5 mL/min;检测波长 220 nm;流动相为 V(乙腈):V(水):V(三氟乙酸)=45:55:0.01。

1.4.3 氨基酸分析 总氨基酸和游离氨基酸分析均采用 Agilen 1 100 高效液相分析仪进行测定,样品处理和测定均由扬州大学测试中心完成。高效液相色谱仪条件:C₁₈柱:D4.0 mm×125 mm;柱温:40 ℃;流速:1.0 mL/min;检测波长:338 nm 和 262 nm (Pro);流动相 A:20 mmol/L 醋酸钠液;流动相 B:20 mmol/L V(醋酸钠液):V(甲醇):V(乙腈)=1:2:2。

1.5 数据分析

用软件 SPSS 15.0 进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),Duncan 法进行均值的多重比较,以 P<0.05 作为差异显著性标准。

2 结果与讨论

天然蛋清中存在的抑酶物质能够调节目标蛋白酶活性、阻碍酶解底物与蛋白酶的 reaction 或清除或竞争目标受体^[8]。在蛋清蛋白酶解前进行适当的加热处理,不仅能降低或消除蛋白酶抑制物,还能使蛋白变性暴露更多的酶作用点,使酶解反应加速。然而,加热温度过高,会导致蛋白酶变性,阻碍酶的水解作用。杨万根等^[9]研究发现,在蛋清酶解前,利用碱性条件下变性获得的去抑制效果显著优于酸性条件,且随着温度的升高,去抑制效果显著增加,95 ℃时的去抑制作用尤为明显。因此,作者采用的热处理条件为 95 ℃,20 min。

2.1 单因素试验结果

2.1.1 温度对 Flavourzyme 酶水解蛋清蛋白的影响 在 pH7.0,酶用量 5%,蛋清料液质量体积比 1 g:4 mL 的条件下,温度分别为 40、45、50、55、60、65 ℃进行反应,6 h 后收集水解液,沸水浴灭活酶 20 min,后取上清液进行检测。所得结果如图 1 所示,温度在 40~

55 ℃范围内,随着温度的升高,蛋清蛋白酶解液的水解度呈显著上升,到50 ℃和55 ℃时,水解度极显著高于其它组($P<0.01$)。随着温度的继续升高,水解度呈下降趋势。当温度达到65 ℃时,蛋白酶解液的水解度极显著低于其它组($P<0.01$)。温度对蛋白酶活力具有一定的影响作用。当温度过低,酶解体系中分子运动较弱,酶与底物的碰撞概率较小,降低酶与底物的反应,进而导致蛋清蛋白酶解液的水解度较低。随着温度的逐渐升高,酶与底物的反应速率加快,进而促进蛋清蛋白降解为分子量较小的肽和氨基酸。然而,当温度过高,会使蛋白水解酶丧失活性,导致酶解反应速率降低甚至不再具有催化能力。在本试验中,温度在50~55 ℃是Flavourzyme酶最佳反应温度。温度超过该范围,会导致酶失活,导致水解度降低。

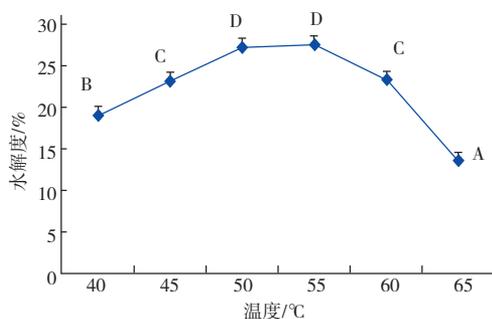


图1 温度对水解的影响

Fig.1 Effect of temperature on hydrolysis

2.1.2 pH对Flavourzyme酶水解蛋清蛋白的影响
pH对蛋白酶水解蛋清具有一定的影响。当反应体系中过酸或过碱均会导致酶的空间结构破坏,改变酶的构象,使水解酶失活。此外,pH影响酶与蛋清蛋白的解离状态,使底物不能和酶结合或结合后不能生成产物,且pH能影响酶分子上活性基团的解离,影响酶与底物的络合或催化,使酶的活性降低^[10]。因此,只有在适合的pH下,蛋白酶才能保持稳定的具有活性的构象,促进酶解反应的高效进行。在本试验中,温度55 ℃,酶用量5%,蛋清料液质量体积比1 g:4 mL的条件下,pH分别设为6.0、6.5、7.0、7.5、8.0进行酶解反应,6 h后收集蛋清水解液,沸水浴灭活酶20 min,后取上清液待测。测得的结果如图2所示,水解度与pH的关系与温度相似,呈先增后减的趋势,当pH为6.5时,其水解度极显著高于其它组($P<0.01$);当pH继续增大,Flavourzyme蛋清蛋白酶解液的水解度呈极显著下降,说明较高的pH可能直

接导致Flavourzyme失活。

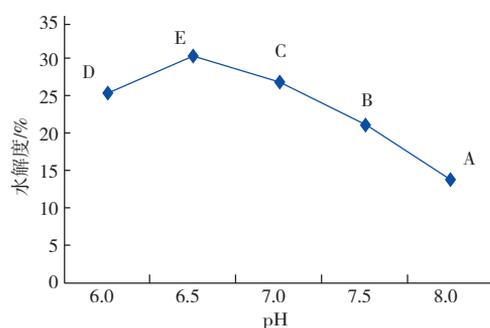


图2 pH对水解的影响

Fig.2 Effect of pH on hydrolysis

2.1.3 Flavourzyme酶用量对水解蛋清蛋白的影响
与其他非生物催化剂相似,酶通过降低化学反应的活化能来加快反应速率。水解反应的关键是蛋白酶的选择,酶的来源和类型不同,其活性中心不同^[11],作用亦不同,所得水解产物也存在很大差异,并影响水解物的生物活性。Flavourzyme是一种用于在中性或微酸性条件下水解蛋白质的真菌蛋白酶/肽酶的复合体。Flavourzyme可催化水解肽链末端显苦味的疏水氨基酸。据报道,Flavourzyme已用于板栗、牛骨和鸡骨中蛋白的水解^[12-14]。另外,还可以跟其他酶组成复合酶进行水解蛋白^[15]。在温度55 ℃,pH 7.0,蛋清料液质量体积比1 g:4 mL的条件下,Flavourzyme酶用量分别设为质量分数3%、4%、5%、6%、7%、8%进行酶解反应,6 h后收集蛋清水解液,沸水浴灭活酶20 min后取上清液待测。测得的结果如图3所示,酶用量在3%~5%范围内,随着酶用量的增加,Flavourzyme蛋清蛋白酶解液的水解度呈现出极显著增加的趋势($P<0.01$);当超过5%时,各组之间的水解度差异不显著($P>0.05$)。说明当酶用量达一定水平时底物被酶所饱和,使得酶促反应速率减慢,水解度不再增加。

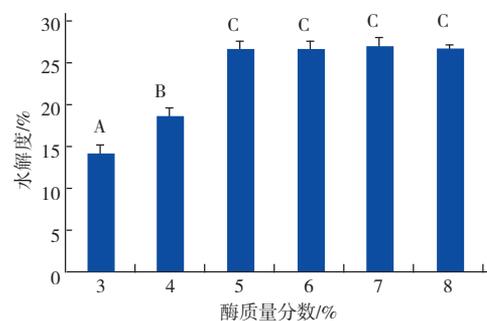


图3 酶量对水解的影响

Fig.3 Effect of enzyme dosage on hydrolysis

2.1.4 蛋清料液质量体积比对 Flavourzyme 酶水解蛋清蛋白的影响 底物浓度对酶促反应速率会产生影响。在一定范围内,随着底物浓度增加,酶促反应速率逐渐加快。但超过该范围时,酶促反应速率不会随之而增加。温度 55 ℃, pH 7.0, 酶用量 5% 的条件下, 蛋清液料液质量体积比分别设为 1 g: 3 mL、1 g: 4 mL 和 1 g: 5 mL 进行酶解反应, 6 h 后收集蛋清水解液, 沸水浴灭活酶 20 min 后取上清液待测。测得的结果如图 4 所示, 蛋清液料液质量体积比 1 g: 4 mL 组的水解度极显著高于其它两组 ($P < 0.01$), 蛋清液料液质量体积比 1 g: 5 mL 组的水解度最低。说明蛋清液料液质量体积比为 1 g: 4 mL 是该酶水解最佳底物浓度。原因可能是当水解酶被底物蛋清蛋白饱和, 酶与底物的碰撞概率变大, 随着蛋清液料液质量体积比的增加, 高浓度的蛋清蛋白阻碍了酶解体系中的流动性, 减少了酶与底物的碰撞, 使得酶解反应速率降低。此外, 蛋清蛋白液料液质量体积比过高可能占据蛋白酶的部分活性位点, 形成不具活性的中间产物, 抑制酶解反应的进行, 导致水解度下降。

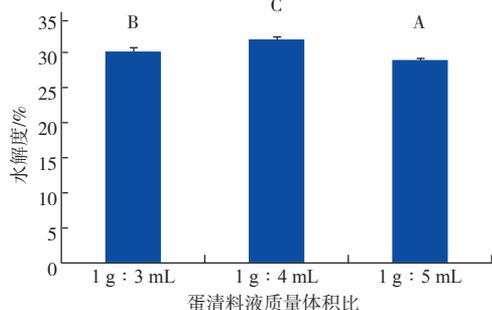


图 4 蛋清料液质量体积比对水解的影响

Fig.4 Effect of concentration of egg white on hydrolysis

2.2 正交试验结果

在本试验中, 从表 2 和 3 可知, 以蛋白残留率为考察指标, 由极差分析可知, 影响酶水解蛋清蛋白的主次因素依次为: 温度 > pH > 酶用量 > 蛋清液料液质量体积比。最优组合为 $A_1B_1C_3D_3$, 即温度 50 ℃、pH 6.0、酶量为 6%、蛋清料液质量体积比为 1 g: 5 mL。以水解度为考察指标, 影响水解蛋清蛋白的主次因素依次为: 蛋清浓度 > 酶用量 > pH > 温度, 其最优组合为 $A_2B_1/B_2/C_3D_1/D_3$, 即温度 55 ℃、pH 6.0 或 6.5、酶量为 6%、蛋清液料液质量体积比为 1 g: 3 mL 或 1 g: 5 mL。综合两个指标, 尽可能降低蛋白残留率即提高底物蛋清蛋白的利用率的同时, 尽量提高水

解度, 确定最佳水解工艺参数为: 温度 55 ℃、pH 6.5、酶量为 6%、蛋清液料液质量体积比为 1 g: 5 mL。在此条件下, Flavourzyme 酶水解蛋清蛋白的蛋白残留率为 27.68%, 水解度达 38.75%。虽然 Flavourzyme 酶解液的水解度虽然较高, 但其蛋白残留率也较高, 可以说明有一部分的蛋白是无法被 Flavourzyme 酶降解, 其酶解液水解度高的原因是由于 Flavourzyme 端肽酶的作用, 水解液中游离氨基酸所占比例高。郑瑞婷等^[12]用 Flavourzyme 酶对板栗浆液中的蛋白质进行水解, 以水解度为指标, 确定其最佳工艺条件为 50 ℃、pH 4.0、时间 4 h、加酶量 0.2%。张永秀等^[13]研究发现, Flavourzyme 酶在 pH 7.0、温度 50 ℃、底物质量分数 9%、酶量与底物蛋白量之比为 50 LAPU/g 的条件下, 水解牛骨粉 5 h, 水解产物的水解度和氮溶出率分别为 20.6% 和 95.5%。其酶解产物绝大部分为小分子肽且具有高溶解性, 可直接作为营养强化剂应用于食品中。丁小燕等^[14]发现, Flavourzyme 酶解鸡骨泥的最佳条件为: 温度 50 ℃、pH 值 7.0、底物质量分数 5%、加酶量 4 000 U/g、水解时间 4 h, 制得的水解液的水解度达 23.21%, 氮收率为 70%, 且无任何苦味和异味。以上说明, Flavourzyme 酶水解不同物质中蛋白其条件存在差异。从试验结果来看, 可以确定 Flavourzyme 酶在温度为 50~55 ℃ 时发挥其效果最好。

2.3 Flavourzyme 酶水解蛋清蛋白水解物相对分子质量分布分析

由图 5 可知, 在温度 55 ℃、pH 6.5、酶量 6%、蛋清料液质量体积比 1 g: 5 mL 的水解条件下, 蛋清蛋白酶解物的相对分子质量大部分集中在 300 以下, 即主要以游离氨基酸及二肽形式存在, 其中相对分子质量小于 180 和 180~300 所占比例分别为 17.71% 和 58.18%。

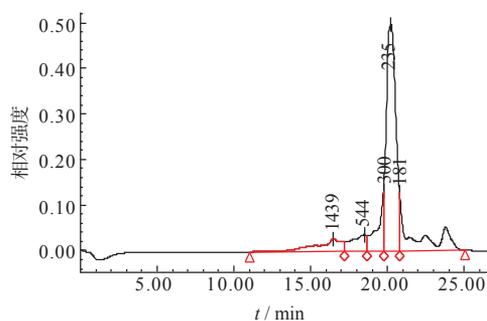


图 5 酶解物相对分子质量分布曲线

Fig.5 Elution curve of zymolyte molecular weight

表2 正交试验 $L_9(3)^4$ 结果Table 2 Effect of $L_9(3)^4$ orthogonal design

组别	因素				蛋白质残留率/%			
	温度/℃	pH	酶用量/%	蛋清料液质量体积比/(g/mL)	(1)	(2)	(3)	T_i
1	1(50)	1(6.0)	1(4)	1(1:3)	29.13	27.89	25.88	82.89
2	1	2(6.5)	2(5)	2(1:4)	33.40	33.50	32.73	99.64
3	1	3(7.0)	3(6)	3(1:5)	40.07	42.99	44.61	127.67
4	2(55)	1	2	3	27.97	29.45	26.26	83.68
5	2	2	3	1	37.17	35.62	35.57	108.36
6	2	3	1	2	55.96	51.44	53.70	161.10
7	3(60)	1	3	2	46.10	46.22	45.04	137.36
8	3	2	1	3	57.80	55.25	57.03	170.08
9	3	3	2	1	71.15	70.80	75.73	217.69
K_1	310.19	303.92	414.07	408.94				
K_2	353.14	378.08	401.00	398.10				
K_3	525.12	506.46	373.39	381.42				
k_1	34.47	33.77	46.01	45.44				
k_2	39.24	42.01	44.56	44.23				
k_3	58.35	56.27	41.49	42.38				
R (极差)	23.88	22.50	4.52	3.06				

表3 正交试验 $L_9(3)^4$ 结果Table 3 Effect of $L_9(3)^4$ orthogonal design

组别	因素				水解度(%)			
	温度/℃	pH	酶用量/%	蛋清料液质量体积比/(g/mL)	(1)	(2)	(3)	T_i
1	1(50)	1(6.0)	1(4)	1(1:3)	31.90	29.50	30.46	91.87
2	1	2(6.5)	2(5)	2(1:4)	30.91	29.59	29.12	89.61
3	1	3(7.0)	3(6)	3(1:5)	28.92	29.39	28.22	86.53
4	2(55)	1	2	3	33.51	33.70	34.92	102.13
5	2	2	3	1	39.75	39.65	38.72	118.11
6	2	3	1	2	21.85	22.37	23.06	67.28
7	3(60)	1	3	2	26.05	25.98	26.17	78.20
8	3	2	1	3	22.11	22.16	21.70	65.97
9	3	3	2	1	14.69	15.42	14.84	44.95
K_1	268.02	272.20	225.11	254.93				
K_2	287.52	273.69	236.69	235.09				
K_3	189.11	198.76	282.85	254.63				
k_1	29.78	30.24	25.01	28.33				
k_2	31.95	30.41	26.30	26.12				
k_3	21.01	22.08	31.43	28.29				
R (极差)	8.77	8.33	6.41	2.20				

2.4 Flavourzyme 酶水解蛋清蛋白水解物氨基酸分析

经测定,总游离氨基酸质量浓度为 5.172 mg/mL, 占水解产物总氨基酸质量浓度比例高达 44.09%, 其中以游离氨基酸的形式存在于水解液中。

3 结语

Flavourzyme 酶解蛋清蛋白的最佳条件为: 温度 55 ℃、pH 6.5、酶量为 6%、蛋清料液质量体积比为 1 g: 5 mL。在该条件下, 6 h 酶解物的蛋白残留率为 27.68%, 水解度达 38.75%, 主要以游离氨基酸及二

肽形式存在,其相对分子质量大部分集中在 300 以下,相对分子质量小于 180 和 180~300 所占比例分别为 17.71 % 和 58.18 %,游离氨基酸质量分数高达 44.09 %。

参考文献:

- [1] 刘静波,于志鹏,赵文竹,等.蛋清肽解酶工艺及血管紧张素转化酶抑制活性的研究[J].农业机械学报,2010,41(7):147-152.
LIU Jingbo,YU Zhipeng,ZHAO Wenzhu, et al.Enzymatic hydrolysis technology for ACE-inhibitory peptides from egg white[J].
Transaction of the Chinese Society for Agricultural Machinery,2010,41(7):147-152.(in Chinese)
- [2] 周向军,吴红艳,颜彩映,等.蛋清肽的工艺优化、抗氧化作用及特性[J].食品与生物技术学报,2013,32(8):844-853.
ZHOU Xiangjun,WU Hongyan,YAN Cai-ying,et al.Technology Optimization,Antioxidant Activities and Characteristics of Peptide
from Egg White[J].**Journal of Food Science and Biotechnology**,2013,32(8):844-853.(in Chinese)
- [3] 周冰,张懋,王玉川,等.两种不同干燥方式对不同预处理方式的脱盐鸭蛋清品质的影响[J].食品与生物技术学报,2013,32
(12):1311-1318.
ZHOU Bing,ZHANG Han,WANG Yu-chuan,et al.Two kinds of different drying methods affect on different desalination pretreatment
duck egg quality[J].**Journal of Food Science and Biotechnology**,2013,32(12):1311-1318.(in Chinese)
- [4] 聂君,杨哪,金征宇,等.不同加工处理方式对蛋清致敏的影响[J].食品与生物技术学报,2011,30(4):528-534.
NIE Jun,YANG Na,JIN Zengyu,et al.Influence of different processings on egg whites antigenicity[J].**Journal of Food Science and
Biotechnology**,2011,30(4):528-534.(in Chinese)
- [5] 车科,麻成金,黄群,等.鹌鹑蛋清多肽饮料的研制[J].中国食物与营养,2008,11:39-41.
CHE Ke,MA Chengjin,HUANG Qun,et al.Study on poly-peptide beverage of quail egg albumin[J].**Food and Nutrition in China**,
2008(11):39-41.(in Chinese)
- [6] SONG A R,KIM H R.Effectiveness of Flavourzyme treatment on polyamide fabric[J].Fibers and Polymers,2013,14(12):2212-2220.
- [7] 黄建韶,张洪,赵东海.双酶水解法制备大豆多肽的研究[J].安徽农业科学,2010,38(8):3964-3966.
HUANG Jianshao,ZHANG Hong,ZHAO Donghai.Preparation of soybean peptides by dual-enzyme hydrolysis[J].**Journal of Anhui
Agricultural Science**,2010,38(8):3964-3966.(in Chinese)
- [8] BODE W, HUBER R.Natural protein proteinase inhibitors and their interaction with proteinases[J].**European Journal of
Biochemistry**,1992,204(2):433-451.
- [9] 杨万根,王璋,许时婴.蛋清酶解前的变性条件研究[J].食品工业科技,2007,28(2):123-125.
YANG Wangen,WANG Zhang,XU Shiyong .Study on denaturation conditions of egg white prior to enzymatic hydrolysis[J].**Science
and Technology of Food Industry**,2007,28(2):123-125.(in Chinese)
- [10] 宁正祥,赵谋明.食品生物化学[M].广州:华南理工大学出版社,2000.
- [11] PERONA J J, CRAIK S. Structural basis of substrate specificity in the serine proteases[J]. **Protein Science**,1995,4(3):337-360.
- [12] 郑瑞婷,刘长海,沈湘.风味蛋白酶水解板栗蛋白工艺研究[J].广东农业科学,2010,37(4):146-148.
ZHENG Ruiting,LIU Changhai,SHENG Xiang.Study on optimization of hydrolysis conditions of producing chestnut protein
hydrolazate utilizing flavourzyme[J].**Guangdong Agricultural Sciences**,2010,37(4):146-148.(in Chinese)
- [13] 张永秀,王世平,周若兰.Flavourzyme 蛋白酶解牛骨制备低聚肽的处理条件研究[J].食品工业科技,2006,27(7):141-143.
ZHANG Yongxiu,WANG Shiping,ZHOU Ruo-lan.Enzymatic hydrolysis of proteins from veal bone using flavourzyme[J].**Science
and Technology of Food Industry**,2006,27(7):141-143.(in Chinese)
- [14] 丁小燕,张雯,陈延锋,等.复合风味蛋白酶水解鸡骨泥工艺条件的研究[J].中国食品学报,2006,6(1):88-92.
DING Xiaoyan,ZHANG Wen,CHEN Tingfeng,et al.Study on enzymolysis conditions of chicken-mashed bone by flavourzyme[J].
Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology,2006,6(1):88-92.(in Chinese)
- [15] 涂宗财,王艳敏,迟海霞,等.响应面法优化豆豉蛋白酶解工艺[J].食品与发酵工业,2009,35(6):116-120.
TU Zongcai,WANG Yanmin,CHI Haixia, et al.Study on enzymatic hydrolysis of lobster sauce protein by using response surface
method[J].**Food and Fermentation Industries**,2009,35(6):116-120.(in Chinese)