

牡蛎酶解工艺参数优化及其产物分析与评价

刘海梅, 陈 静, 安孝宇, 赵 芹, 郭青君, 车欣欣, 崔 云
(鲁东大学食品工程学院, 山东 烟台 264025)

摘 要: 采用Protamax复合蛋白酶水解牡蛎肉, 以水解度为指标, 优化酶解时间、加酶量和酶解温度等酶解工艺参数, 通过氮溶解指数(nitrogen solubility index, NSI)、三氯乙酸(trichloroacetic acid, TCA)-NSI、氨基酸评分、化学评分、必需氨基酸指数评价酶解产物的溶解性能及营养品质。最优酶解工艺参数为加酶量30 AU/kg、酶解温度55 ℃、酶解时间4 h, 水解度达到27.28%。酶解液中18种氨基酸种类齐全, 鲜味氨基酸含量丰富, Glu含量最高, 必需氨基酸含量占总氨基酸含量的39.5%, 必需氨基酸含量丰富, 营养价值高。pH值为4.0~7.0时, 酶解液的NSI达到83%以上, 且TCA-NSI高达88.64%, 酶解液具有高溶解性能。

关键词: 牡蛎; Protamax复合蛋白酶; 水解度; 氮溶解指数; 营养评价

Optimization of Enzymatic Hydrolysis of Oysters and Amino Acid Composition and Nutritional Quality of Oyster Hydrolysates

LIU Haimei, CHEN Jing, AN Xiaoyu, ZHAO Qin, GUO Qingjun, CHE Xinxin, CUI Yun
(School of Food Engineering, Ludong University, Yantai 264025, China)

Abstract: The enzymatic hydrolysis of oysters with Protamax was optimized using one-factor-at-a-time and orthogonal array design methods. The independent variables were hydrolysis time, enzyme dosage and temperature, and the response was degree of hydrolysis. The solubility characteristics of oyster hydrolysates were evaluated by nitrogen solubility index (NSI), trichloroacetic acid-nitrogen solubility index (TCA-NSI), and the amino acid score (AAS), chemical score (CS) and essential amino acid index (EAAI) were measured for nutritional quality evaluation. The optimal hydrolysis parameters were determined as follows: enzyme dosage, 30 AU/kg; temperature, 55 ℃; and time, 4 h, yielding a degree of hydrolysis of up to 27.28%. The obtained hydrolysate contained 18 amino acids, being high in umami amino acids, with Glu being the most abundant and essential amino acids accounting for 39.5% of the total amino acids, suggesting high nutritional value. At pH 4.0–7.0, the NSI of the hydrolysate was over 83%, and TCA-NSI was as high as 88.64% indicating good solubility.

Key words: oyster; Protamax; degree of hydrolysis; nitrogen solubility index; nutritional evaluation

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201714037

中图分类号: TS254.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2017) 14-0240-05

引文格式:

刘海梅, 陈静, 安孝宇, 等. 牡蛎酶解工艺参数优化及其产物分析与评价[J]. 食品科学, 2017, 38(14): 240-244.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201714037. <http://www.spkx.net.cn>

LIU Haimei, CHEN Jing, AN Xiaoyu, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis of oysters and amino acid composition and nutritional quality of oyster hydrolysates[J]. Food Science, 2017, 38(14): 240-244. (in Chinese with English abstract)

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201714037. <http://www.spkx.net.cn>

牡蛎又名生蚝, 是我国主要的经济贝类之一, 也是我国四大养殖贝类之一^[1], 营养价值高, 富含蛋白质, 含有一定量的多不饱和脂肪酸、维生素、牛磺酸及锌、硒、铁、钙、锰等矿物质, 是一种高蛋白的食品^[2-4]。牡蛎蛋白质的氨基酸组成完全, 必需氨基酸的完全程度和质量优于人乳和牛乳, 且含有丰富的谷氨酸、天冬氨酸、甘氨酸和丙氨酸等呈味氨基酸, 因此牡蛎肉味道鲜

美^[2,5], 是制备海鲜调味料的良好原料。

天然海鲜调味品的呈味主要来源于氨基酸、呈味肽、核苷酸等呈味物质^[6]。研究表明, 多肽不仅能提升调味品的整体风味, 且能提高必需氨基酸的利用率, 增强产品的营养价值。相对于酸、碱法水解蛋白而言, 酶法水解条件温和, 且专一性强, 产品纯度高, 易于控制水解程度, 产物无毒副作用。而采用酶解技术水解蛋白质

收稿日期: 2016-10-14

基金项目: 山东省自然科学基金项目(ZR2015PC002); 山东省科技发展计划项目(2012YD07013)

作者简介: 刘海梅(1979—), 女, 教授, 博士, 研究方向为水产品加工与综合利用。E-mail: hellen_79@aliyun.com

时,蛋白酶的选择至关重要,酶解产物中疏水性多肽的多少直接影响水解液的口感,使其具有苦味^[7]。Protamax是一种复合蛋白酶,既有内切酶,也有外切酶,其即使在低水解度的情况下也不会产生苦味的蛋白水解物^[8],而且用Protamax复合蛋白酶处理较单一酶能使产品在色泽、形态等感官指标方面的品质更佳^[9]。蛋白水解肽还具有抗氧化、降血压等许多生物活性^[10-11], Wang Qiukuan等^[12]利用枯草杆菌蛋白酶降解牡蛎蛋白得到了具有抗氧化活性的短肽, Wang Jiawei等^[13]利用胃蛋白酶水解牡蛎蛋白得到了具有降血压的短肽。因此,本研究采用Protamax复合蛋白酶酶解牡蛎肉,优化酶解工艺参数,并对酶解产物进行氨基酸分析、营养评价,为牡蛎水解肽海鲜调味品的开发及生物活性研究提供理论参数。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

太平洋牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 烟台振华量贩鲁东大学店。

Protamax复合蛋白酶(酶活力1.5 AU/g) 诺维信忆诺联创生物科技(北京)有限公司。所有试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

K9840型凯氏定氮仪 济南海能仪器股份有限公司; DS-1高速组织捣碎机(转速10 000~12 000 r/min) 上海标本模型厂; Anke-5-A型离心机 上海安亭科学仪器厂; L-8900型高速氨基酸自动分析仪 日本日立集团。

1.3 方法

1.3.1 牡蛎酶解液制备的工艺流程

新鲜牡蛎→组织捣碎机捣碎→调整料液比1:5 (m/m)→沸水浴30 min→冷却→调pH值→加蛋白酶→恒温酶解→沸水浴灭酶15 min→冷却→抽滤→酶解液

1.3.2 游离氨态氮含量的测定

采用中性甲醛滴定法^[14]。

1.3.3 总氮含量的测定

采用凯氏定氮法^[14]。

1.3.4 水解度的测定

用中性甲醛滴定法^[14]和凯氏定氮法^[14]分别测定水解液中游离氨态氮含量和原料的总氮含量,并按照式(1)^[15]计算水解度:

$$\text{水解度}/\% = \frac{\text{游离氨态氮含量/g}}{\text{总氮含量/g}} \times 100 \quad (1)$$

1.3.5 氮溶解度指数 (nitrogen solubility index, NSI) 测定^[16]

取一定量的酶解液,用2 mol/L的HCl或NaOH溶液调节pH值,静置20 min后离心(4 000 r/min, 20 min),然

后测定上清液及酶解液中总氮含量, NSI按式(2)计算:

$$\text{NSI}/\% = \frac{N}{N_0} \times 100 \quad (2)$$

式中: N 为上清液中总氮含量/g; N_0 为酶解液中总氮含量/g。

1.3.6 三氯乙酸(trichloroacetic acid, TCA)-NSI测定^[17]

将酶解液与20% TCA溶液等体积混合振荡,静置20 min,于4 000 r/min离心20 min,取上清液测定总氮量,按式(3)计算TCA-NSI:

$$\text{TCA-NSI}/\% = \frac{N}{N_0} \times 100 \quad (3)$$

式中: N 为上清液中总氮含量/g; N_0 为酶解液中总氮含量/g。

1.3.7 氨基酸组成的测定

样品用6 mol/L盐酸在110 °C水解24 h,调制上机浓度,用氨基酸自动分析仪测定除色氨酸外的17种氨基酸^[18],色氨酸采用可见分光光度法^[14]测定。

1.3.8 酶解液中氨基酸品质的评价

根据联合国粮农组织/世界卫生组织(Food and Agriculture Organization/World Health Organization, FAO/WHO)1973年建议的氨基酸评分标准模式^[19]和全鸡蛋蛋白的氨基酸模式^[20]分别按式计算氨基酸评分(amino acids score, AAS)、化学评分(chemical score, CS)和必需氨基酸指数(essential amino acids index, EAAI)^[21]。

$$\text{AAS}/\% = \frac{\text{aa}}{\text{AA}} \times 100 \quad (3)$$

$$\text{CS}/\% = \frac{\text{aa}}{\text{AA (全鸡蛋蛋白)}} \times 100 \quad (4)$$

$$\text{EAAI} = \sqrt[n]{\frac{100a}{\text{ae}} \times \frac{100b}{\text{be}} \times \frac{100c}{\text{ce}} \cdots \times \frac{100j}{\text{je}}} \quad (5)$$

式中: aa为实验样品每克蛋白质中氨基酸含量; AA为FAO/WHO评分模式中同种氨基酸含量; n 为比较的氨基酸个数; a 、 b 、 c 、 $\cdots$ 、 j 为酶解液中的必需氨基酸含量/(mg/g); ae、be、ce、 $\cdots$ 、je为全鸡蛋蛋白质的必需氨基酸含量/(mg/g)。

1.3.9 酶解工艺参数优化正交设计

在单因素试验和Protamax复合蛋白酶的适宜温度基础^[22]上,选用 $L_9(3^3)$ 正交试验对牡蛎酶解温度、加酶量和酶解时间进行参数优化,各因素水平设计见表1。

表1 正交试验因素与水平

Table 1 Coded levels and corresponding actual levels of optimization parameters used in orthogonal array design

水平	因素		
	A加酶量/(AU/kg)	B酶解时间/h	C酶解温度/°C
1	30	3	50
2	40	4	55
3	50	5	60

1.4 数据分析

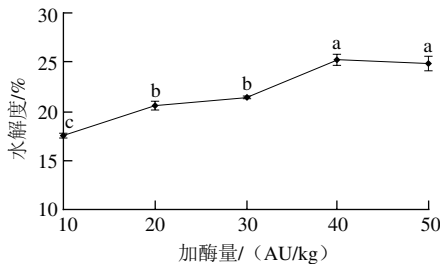
采用Excel、SAS 8.1统计软件对数据进行分析处理及图表的制作，方差分析的显著性水平为 $P<0.05$ ，极显著性水平为 $P<0.01$ 。

2 结果与分析

2.1 酶解条件的单因素试验结果

2.1.1 加酶量的影响

牡蛎匀浆中分别添加10、20、30、40、50 AU/kg的Protamax复合蛋白酶，在自然pH值，于50℃恒温酶解5 h，制备酶解液，并测定酶解液的水解度。牡蛎的水解度随Protamax复合蛋白酶用量增加的变化趋势见图1。



字母不同表示差异显著 ($P<0.05$)，下同。

图1 Protamax复合蛋白酶用量对牡蛎水解度的影响

Fig. 1 Effect of Protamax dosage on the degree of hydrolysis of oysters

蛋白酶用量对牡蛎的水解度具有显著影响 ($P<0.05$)，随着加酶量的增加，水解度逐渐增加。当加酶量为10 AU/kg时水解度最低，为17.64%，继续增加加酶量，水解度显著增加，水解度随加酶量增加一直呈显著增加趋势，当酶用量为40 AU/kg时，牡蛎的水解度最高，为25.22%。当牡蛎的蛋白质充足时，增加加酶量会促进蛋白质的水解，水解度增加，直至蛋白质几乎完全从牡蛎中溶出，但是酶解底物的质量有限，过量添加的复合蛋白酶无法再将牡蛎蛋白质水解。随着酶用量继续增大，水解度趋于平缓，确定牡蛎酶解的适宜酶用量为40 AU/kg。

2.1.2 酶解时间的影响

牡蛎匀浆中添加40 AU/kg蛋白酶，在自然pH值，于50℃分别酶解1、2、3、4、5 h，制备酶解液，并测定酶解液的水解度。牡蛎的水解度随酶解时间延长的变化趋势见图2。

酶解时间对水解度具有显著影响 ($P<0.05$)，随着酶解时间的延长，水解度逐渐增加。当酶解时间为1 h时水解度最低，为24.66%，继续延长酶解时间，水解度显著增加，水解度随酶解时间延长呈现显著增加趋势，当酶解时间为4 h时，牡蛎的水解度最高，为31.46%。由图

2可以看出，随着酶解时间的继续延长，牡蛎的水解度趋于平缓，最终确定牡蛎酶解的适宜酶解时间为4 h。

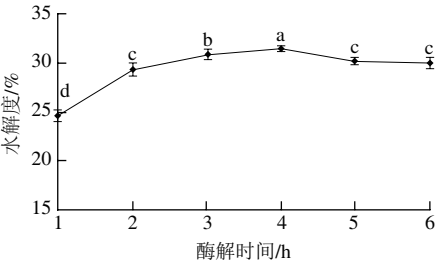


图2 酶解时间对水解度的影响

Fig. 2 Effect of hydrolysis time on the degree of hydrolysis

2.2 酶解工艺正交试验结果及条件验证

2.2.1 酶解工艺参数优化正交试验结果

表2 正交试验设计及结果
Table 2 Orthogonal array design with experimental results

试验号	A加酶量/(AU/kg)	B酶解时间/h	C酶解温度/℃	水解度/%
1	30	3	50	20.31
2	30	4	55	25.53
3	30	5	60	18.04
4	40	3	55	22.19
5	40	4	60	21.20
6	40	5	50	17.11
7	50	3	55	20.94
8	50	4	50	24.13
9	50	5	60	16.67
k_1	21.293	21.147	20.517	
k_2	20.167	23.620	21.463	
k_3	20.580	17.273	20.060	
R	1.126	6.347	1.403	

酶解工艺参数优化的正交试验设计及结果见表2。由方差分析可知，酶解时间、酶解温度、加酶量对水解度均具有极显著的影响 ($P<0.0001$)，对水解度的影响次序大小为酶解时间>酶解温度>加酶量。由极差分析可知，经 $L_9(3^3)$ 正交试验后，得到Protamax复合蛋白酶水解的最优组合条件为加酶量30 AU/kg、酶解温度55℃、酶解时间4 h。

2.2.2 最优组合条件验证

称取一定量的新鲜牡蛎，经搅碎、热处理后，按照30 AU/kg的酶量加入牡蛎匀浆中，于55℃恒温酶解4 h后，制备得到酶解液，测得牡蛎的水解度达到27.28%，高于正交试验中的所有水解度。

2.3 牡蛎酶解液的溶解特性分析

2.3.1 牡蛎酶解液的NSI测定结果

量取酶解液10 mL，分别调节pH值为3.5、4.0、4.5、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0，测定上清液中的含氮量，并计算NSI值，结果见图3。

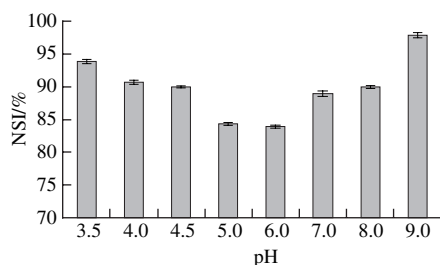


图3 酶解液在不同pH值的溶解性

Fig. 3 Solubility of oyster hydrolysate at different pH values

牡蛎酶解液在pH 3.5~9.0范围内的溶解性不同, NSI在pH 3.5~6.0范围内呈下降趋势, 在pH 6.0~9.0范围内呈上升趋势。在所测pH值范围内, NSI均大于83%, 当pH值在3.5、4.0、9.0, NSI大于90%, 且pH值为6.0时, NSI最小, 为83.89%。在食品pH 4.0~7.0范围内, 酶解液的NSI值在83.89%~90.73%之间, 具有较高的溶解性。

2.3.2 TCA-NSI测定结果

经TCA沉淀后, 溶液中蛋白质与TCA缔合形成微粒被脱离^[23], TCA-NSI的高低反映了酶解产物中肽链的长短, TCA-NSI越大, 肽链越短。小肽和游离氨基酸作为小分子物质, 其消化吸收能力高于大分子的蛋白质, 酶解液的TCA-NSI越高说明所含的蛋白质分子含量越少。牡蛎经酶解后其酶解液的TCA-NSI高达88.64%, 说明在酶解液中蛋白质含量较少, 酶解产物主要以游离氨基酸和小肽形式存在^[24-25], 这种存在形式更有利于人体的消化吸收。多数蛋白酶解产物的TCA-NSI在85%~95%之间^[26-31]。由此可推测, 牡蛎酶解液的消化利用率较高, 其营养价值高。

2.4 牡蛎酶解液的氨基酸组成及营养品质评价

2.4.1 氨基酸组成

表3 牡蛎酶解液的氨基酸组成

Table 3 Amino acid composition of oyster hydrolysate

氨基酸	氨基酸含量/ (mg/100 mL)	氨基酸	氨基酸含量/ (mg/100 mL)
天冬氨酸Asp*	98.748	异亮氨酸Ile	45.92
苏氨酸Thr	46.903	亮氨酸Leu	72.207
丝氨酸Ser	46.043	酪氨酸Tyr	43.669
谷氨酸Glu*	146.629	苯丙氨酸Phe	63.841
甘氨酸Gly*	62.395	赖氨酸Lys	75.045
丙氨酸Ala*	54.164	组氨酸His	19.548
胱氨酸Cys	20.667	精氨酸Arg*	70.63
缬氨酸Val	44.587	脯氨酸Pro	47.91
蛋氨酸Met	19.28	色氨酸Trp	30.707
氨基酸总量	1 008.893		
非必需氨基酸总量	610.403		
必需氨基酸总量	398.49		
鲜味氨基酸	432.602		
必需氨基酸/氨基酸总量	39.5%		

注: *.鲜味氨基酸。

由表3可知, 牡蛎酶解液中存在18种氨基酸, 氨基酸种类齐全, 其中必需氨基酸8种(Thr、Val、Met、Leu、Ile、Phe、Lys、Trp)、半必需氨基酸2种(Cys、Tyr)、非必需氨基酸8种(Asp、Gly、Ala、Ser、Glu、Pro、Arg、His)。总氨基酸含量为1 008.893 mg/100 mL, 在18种氨基酸中鲜味氨基酸的含量最为丰富, 5种鲜味氨基酸(Asp、Glu、Gly、Ala、Arg)齐全, 其中Glu含量最高, 其含量为146.629 mg/100 mL, 占鲜味氨基酸总量的34%, 其次为Asp, 再其次是Arg和Gly。而Glu、Asp、Gly是重要的鲜味氨基酸, 由此可见水解液具有强烈的鲜美味, 是良好的海鲜调味料基料。

2.4.2 牡蛎酶解液氨基酸营养品质评价

依据FAO/WHO建议的氨基酸评分标准模式和全鸡蛋蛋白的氨基酸模式, 分别计算出牡蛎酶解液中AAS、CS的数值(表4)。当以AAS为标准的时, Trp含量最高, 是标准的1.82倍, 且第1限制性氨基酸为Val, 第2限制性氨基酸为Leu。当以CS为标准时Trp含量最高是标准的1.07倍, 第1限制性氨基酸Val, 第2限制性氨基酸Met+Cys。因此水解液中的主要限制性氨基酸为Val、Leu、Met+Cys。EAAI是评价蛋白质营养价值的常用指标之一, 反映的是必需氨基酸与标准蛋白相接近的程度。酶解液的EAAI为62.827, 表明必需氨基酸含量丰富, 营养价值高。

表4 牡蛎酶解液中必需氨基酸的营养评价

Table 4 Nutritional evaluation in terms of essential amino acids

氨基酸种类	FAO/WHO评分 模式/ (mg/g蛋白质)	氨基酸含量/ (mg/g蛋白质)	AAS/%	全鸡蛋蛋白模式/ (mg/g蛋白质)	CS/%
亮氨酸Leu	70	42.970	61	81	53
异亮氨酸Ile	40	27.327	68	49	56
赖氨酸Lys	55	44.659	81	66	68
苏氨酸Thr	40	27.912	70	45	62
缬氨酸Val	50	26.534	53	54	49
色氨酸Trp	10	18.273	182	17	107
蛋氨酸+胱氨酸 Met+Cys	35	23.772	68	47	50
苯丙氨酸+酪氨酸 Tyr+Phe	60	63.979	106	86	74

3 结论

采用Protemax复合蛋白酶水解新鲜牡蛎肉, 通过 $L_9(3^3)$ 正交试验优化得到该酶的酶解工艺参数。加酶量、酶解时间和酶解温度3个因素对水解度均具有极显著影响, ProteMAX复合蛋白酶的优化酶解条件为加酶量30 AU/kg、酶解时间4 h、酶解温度55℃, 牡蛎酶解液的水解度达到27.28%。酶解液中氨基酸种类齐全, 鲜味氨基酸含量丰富, 酶解液具有强烈的鲜美味, 是良好的海鲜调味料基料。必需氨基酸评分(AAS和CS)高于或接近FAO/WHO推荐的成人需求组成模式, 符合成人对必需氨基酸的吸收比例要求, 营养价值高。在食品pH 4.0~7.0范围内具有较高的溶解性, 且主要以游离氨基酸和小肽形式存在, 可作为营养强化剂添加到食品中。

参考文献:

- [1] 李超柱, 潘珍凤, 陈艳辉, 等. 牡蛎软体活性物质的研究进展[J]. 食品工业与科技, 2012, 33(8): 412-415. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2012.08.105.
- [2] 高秀琴. 牡蛎蛋白酶液脱腥技术的研究[J]. 中国食品学报, 2012, 12(9): 78-86. DOI:10.16429/j.1009-7848.2012.09.026.
- [3] 叶盛权, 吴晖, 赖富饶, 等. 牡蛎酶解过程的成分变化及脱腥初步研究[J]. 现代食品科技, 2009, 25(3): 262-265. DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2009.03.007.
- [4] 谭桂利, 李瑞声. 牡蛎的化学成分和药用价值[J]. 中国海洋药物, 1993, 12(4): 26-31.
- [5] 尤久勇, 林华娟, 秦小明, 等. 牡蛎蛋白饮料色泽形成机理初探[J]. 水产学报, 2011, 35(10): 1555-1562. DOI:10.3724/SPJ.1231.2011.17306.
- [6] 吴进卫, 颜伟. 海鲜调味料概述[J]. 中国食品添加剂, 2008(增刊1): 120-124. DOI:10.3969/j.issn.1006-2513.2008.z1.019.
- [7] 石丹, 王彩云, 云战友. 蛋白质酶解物苦味的探索[C]//首届中国奶业大会. 青岛: 中国奶业协会, 2010: 294-297.
- [8] 刘艳秋, 陈光, 孙旸. Protamex复合蛋白酶水解大豆分离蛋白的研究[J]. 食品科学, 2005, 26(6): 155-158. DOI:10.3321/j.issn:1002-6630.2005.06.033.
- [9] 陈宇, 郭卓钊, 郭美媛, 等. 复合蛋白酶和谷氨酰胺转氨酶对潮式卤鸭的嫩化效果研究[J]. 韩山师范学院学报, 2013, 34(6): 69-76. DOI:10.3969/j.issn.1007-6883.2013.06.014.
- [10] FERNANDA G D S, BLANCA H L, LOURDES A, et al. Identification of peptides released from flaxseed (*Linum usitatissimum*) protein by Alcalase® hydrolysis: antioxidant activity[J]. LWT-Food Science and Technology, 2017, 76: 140-146. DOI:10.1016/j.lwt.2016.10.049.
- [11] WANG X M, CHEN H X, FU X G, et al. A novel antioxidant and ACE inhibitory peptide from rice bran protein: biochemical characterization and molecular docking study[J]. LWT-Food Science and Technology, 2017, 75: 93-99.
- [12] WANG Q K, LI W, HE Y H, et al. Novel antioxidative peptides from the protein hydrolysate of oysters (*Crassostrea talienwhanensis*)[J]. Food Chemistry, 2014, 145: 991-996. DOI:10.1016/j.foodchem.2013.08.099.
- [13] WANG J P, HU J E, CUI J Z, et al. Purification and identification of a ACE inhibitory peptide from oyster proteins hydrolysate and the antihypertensive effect of hydrolysate in spontaneously hypertensive rats[J]. Food Chemistry, 2008, 111(2): 302-308. DOI:10.1016/j.foodchem.2008.03.059.
- [14] 韩雅珊. 食品化学实验指导[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1994.
- [15] 刘海梅, 王苗苗, 左为民, 等. 单环刺螈体壁肌酶解工艺参数的研究: 动物蛋白水解酶[J]. 中国调味品, 2013, 38(9): 69-72; 79.
- [16] JENS A N. Enzymic hydrolysis of food proteins[M]. New York: Elsevier Applied Science Publishers, 1986.
- [17] 谭斌, 曾凡坤. 花生肽的酶法生产工艺研究[J]. 食品与机械, 2000(3): 14-17. DOI:10.13652/j.issn.1008-5788.2000.03.005.
- [18] 张萌, 王宝周, 陈俊, 等. 脱色工艺对鱼皮胶原肽品质的影响[J]. 食品与机械, 2015, 31(4): 212-217; 259. DOI:10.13652/j.issn.1003-5788.2015.04.054.
- [19] PELLETT P L, YONG V R. Nutritional evaluation of protein foods[M]. Tokyo: The United National University, 1980: 26-29.
- [20] 桥本芳郎. 养鱼饲料学[M]. 蔡完其, 译. 北京: 中国农业出版社, 1980: 114-115.
- [21] 刘丛力, 李娟, 张双灵, 等. 虹鳟鱼皮营养成分及其胶提工艺探讨[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(8): 97-99. DOI:10.3969/j.issn.1005-6521.2013.08.027.
- [22] 陈刚, 刘通讯, 崔春, 等. 低值鱼的酶解及口味评判[J]. 中国食品添加剂, 2004(3): 58-61.
- [23] 蒋治良, 邹节明, 王力生, 等. 蛋白质与三氯乙酸相互作用的共振散射光谱研究及分析应用[J]. 分析化学, 2003, 31(1): 70-73. DOI:10.3321/j.issn:0253-3820.2003.01.018.
- [24] 张苗, 武俊瑞, 代金月, 等. 响应面优化三氯乙酸沉淀测定豆酱游离氨基酸中蛋白质[J]. 食品科学, 2013, 34(10): 16-20. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201310004.
- [25] 臧玉红, 李仁杰. 响应面法优化三氯乙酸脱除滑子菇粗多糖蛋白质的工艺[J]. 食品工业科技, 2014, 35(16): 243-247.
- [26] 贾伟, 武关, 赵丽娟, 等. 超声辅助处理促进鹅血蛋白酶解效果的研究[J]. 食品科技, 2015, 40(3): 166-169. DOI:10.13684/j.cnki.spkj.2015.03.042.
- [27] 姜绍通, 罗蕾蕾, 潘牧, 等. 菜籽粕分步酶解制备水解产物的研究[J]. 食品科学, 2009, 30(10): 52-55. DOI:10.3321/j.issn:1002-6630.2009.10.007.
- [28] 杨桂文, 安利国, 孙忠军. 单环刺螈营养成分分析[J]. 海洋科学, 1999(6): 13-14.
- [29] 张苗, 木泰华. 预处理对甘薯蛋白酶解特性的影响[J]. 农业工程学报, 2012, 28(增刊1): 356-362; 383.
- [30] 刘海梅, 熊善柏, 谭汝成. 脱脂菜籽粕中蛋白质的分步酶水解研究[J]. 中国油脂, 2003, 28(7): 15-17.
- [31] 于美娟, 马美湖, 单杨, 等. 采用两酶复合水解猪血红蛋白(Hb)制备水解蛋白的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(1): 196-200. DOI:10.3321/j.issn:1002-6630.2007.01.046.