

邵俊杰, 朱昱璇, 黄鸿兵, 等. 不同蛋白酶酶解河蚬蛋白的比较[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(4): 921-926.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2017.04.030

不同蛋白酶酶解河蚬蛋白的比较

邵俊杰^{1,2}, 朱昱璇³, 黄鸿兵^{1,2}, 张美琴^{1,2}, 吴光红^{1,2}

(1.江苏省淡水水产研究所, 江苏 南京 210017; 2.江苏省水产品深加工科技研究开发中心, 江苏 南京 210017; 3.环境保护部南京环境科学研究所, 国家环境保护农药环境评价与污染控制重点实验室, 江苏 南京 210042)

摘要: 为改善河蚬肉加工现状, 提高河蚬肉的利用率和附加值, 研究了 5 种蛋白酶(碱性蛋白酶、胰蛋白酶、木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶和风味蛋白酶)对河蚬蛋白质的水解过程, 以游离氨基酸态氮含量、可溶性短肽含量和蛋白质利用率为评价指标对酶解过程进行分析。结果表明, 风味蛋白酶水解河蚬蛋白的能力最强, 生成的游离氨基酸态氮含量最高[9 h 后达到 (3.82 ± 0.26) mg/ml], 并且蛋白质利用率最高(9 h 后达到 $42.37\% \pm 2.46\%$); 木瓜蛋白酶水解河蚬蛋白生成可溶性短肽的含量最高[5 h 后达到 (39.14 ± 1.74) mg/ml], 碱性蛋白酶水解河蚬蛋白生成可溶性短肽的含量次之[7 h 后达到 (38.57 ± 2.07) mg/ml]。为获得游离氨基酸含量高的水解液可选用风味蛋白酶, 为获得功能性短肽含量高的水解液可选用木瓜蛋白酶、碱性蛋白酶。

关键词: 河蚬; 酶解; 游离氨基酸; 可溶性短肽; 蛋白质利用率

中图分类号: TS254.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2017)04-0921-06

Comparison of enzymatic hydrolysis of *Corbicula fluminea* protein by different proteases

SHAO Jun-jie^{1,2}, ZHU Yu-xuan³, HUANG Hong-bing^{1,2}, ZHANG Mei-qin^{1,2}, WU Guang-hong^{1,2}

(1. Freshwater Fisheries Research Institute of Jiangsu Province, Nanjing 210017, China; 2. Science and Technology Research and Development Center for Aquatic Product Deep-processing of Jiangsu Province, Nanjing 210017, China; 3. Key Laboratory of Pesticide Environmental Assessment and Pollution Control, Nanjing Institute of Environmental Sciences, Ministry of Environmental Protection, Nanjing 210042, China)

Abstract: To increase the utilization and added value of *Corbicula fluminea*, the enzymatic hydrolysis of *C. fluminea* protein by alcalase, trypsin, papain, bromelain and flavourzyme were evaluated by comparing the nitrogen content of free amino acid (C_n), content of soluble peptides (C_p) and protein utilization rate. *C. fluminea* yielded the highest values of C_n (3.82 ± 0.26 mg/ml) and protein utilization rate ($42.37\% \pm 2.46\%$) when hydrolyzed by flavourzyme for 9 h, indicative of strong hydrolysis, and the highest value of C_p (39.14 ± 1.74 mg/ml) when hydrolyzed by papain for 5 h. *C. fluminea* showed the second high content of C_p when hydrolyzed by alkline protease. Flavourzyme can be applied to get the hydrolysate with high content of free amino acid, and papain and alcalase are favorable for achieving high content of soluble peptides.

Key words: *Corbicula fluminea*; hydrolysis; free amino acid; soluble peptide; protein utilization rate

收稿日期: 2017-02-10

基金项目: 政策引导类项目(苏北科技专项)(BN2015151); 江苏省科技基础设施建设计划项目(BM2015018)

作者简介: 邵俊杰(1991-), 男, 江苏连云港人, 硕士, 研究实习员, 主要从事水产品加工与质量控制。(E-mail) shaojj0612@126.com

通讯作者: 张美琴, (E-mail) 1792147490@qq.com

河蚬(*Corbicula fluminea*), 又称黄蚬、金蚬等, 属蚬科蚬属, 广泛分布在中国内陆水域, 资源丰富, 是中国重要的贝类经济水产品之一^[1]。河蚬肉营养丰富, 含有大量的蛋白质、糖原、必需氨基酸、维生素以及钙、钾、钠、铁、硒等具有特殊生理作用的矿物质^[2-3]。目前, 中国河蚬仍以鲜食为主, 少部分作为

鱼类和禽畜类的饵料,资源浪费严重。虽然国内有文献报道从河蚬中成功提取了一些具有特殊生理功能的生物活性肽,但河蚬肉的潜在价值并没有在市场上得到体现,河蚬精深加工产品仍十分稀缺。

酶解技术不仅能够改善河蚬蛋白质的功能特性,获得含量较高的游离氨基酸水解液,增强产品风味和提高营养物质含量,还能释放丰富的功能性多肽,这些功能性多肽具有开胃、调节免疫系统、抗菌、抗血栓、抗病毒、醒酒等重要生理功效^[4-5]。此外,与传统酸性水解和碱性水解相比,酶解技术条件更加温和,更易于控制。由于酶切位点和作用方式的不同,不同蛋白酶对同一底物的水解效率存在巨大差异,对酶解产物的营养成分组成和水解液风味也有很大影响,因此蛋白酶的选择对河蚬蛋白质的加工利用非常必要。

本试验使用碱性蛋白酶、胰蛋白酶、木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶和风味蛋白酶等 5 种酶水解河蚬蛋白,制备水解液,通过测定酶解过程中水解液的游离氨基酸态氮含量、可溶性短肽含量和蛋白质利用率等 3 个指标分析河蚬蛋白质水解过程的变化规律,为河蚬的精深加工提供科学依据。

酶、菠萝蛋白酶和风味蛋白酶等 5 种酶水解河蚬蛋白,制备水解液,通过测定酶解过程中水解液的游离氨基酸态氮含量、可溶性短肽含量和蛋白质利用率等 3 个指标分析河蚬蛋白质水解过程的变化规律,为河蚬的精深加工提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

河蚬购于市场。经过测定,蚬肉中各组分含量如下:水分含量为 $75.94\% \pm 0.71\%$,粗蛋白含量为 $20.63\% \pm 0.49\%$,粗脂肪含量为 $1.82\% \pm 0.07\%$,粗灰分含量为 $1.56\% \pm 0.08\%$ 。河蚬的蛋白质含量较高,适合用于蛋白质酶解。

甲醛、氢氧化钠、三氯乙酸、Gly-Gly-Tyr-Arg 均为分析纯。试验所选用的蛋白酶及其性质见表 1。

表 1 试验所选的蛋白酶

Table 1 The characteristics of proteases selected in the experiment

蛋白酶	温度 (℃)	pH 值范围	作用类型	酶活性	厂家
碱性蛋白酶	55~65 (60)	6.5~8.5 (8.0)	内切肽酶	3.8×10^5 U/ml	诺维信
胰蛋白酶	50	7.0	内切肽酶	2.5×10^5 U/g	诺维信
木瓜蛋白酶	45~65 (60)	5.0~7.0 (6.0)	内切肽酶	8.0×10^5 U/g	诺维信
菠萝蛋白酶	50	6.0	内切肽酶	6.0×10^5 U/g	诺维信
风味蛋白酶	40~55 (50)	5.0~7.0 (7.0)	内切和外切蛋白酶	4.3×10^5 U/ml	诺维信

括号内数值为本试验所选用的酶解温度和 pH 值。

1.2 仪器与设备

211 pH 计(意大利 Hanna 公司产品),C-MAG HS7 数显加热磁力搅拌器、Ultra Turrax T-25 Basic 高速匀浆机(德国 IKA 公司产品),Beckman Avanti J-A 和 AR64 离心机(美国 Beckman Coulter 公司产品),M2e 酶标仪(美国 MD 公司产品),ZKSY-600 水浴锅(南京科尔仪器设备有限公司产品),Kjeltec™2300 全自动凯氏定氮仪(瑞典 FOSS 公司产品),Hitachi L-8900A 氨基酸自动分析仪(日本 Hitachi 公司产品)。

1.3 方法

1.3.1 常规理化指标测定 水分含量:参照 GB 5009.3-2016《食品安全国家标准 食品中水分的测定》中常压干燥法测定;灰分含量:参照 GB 5009.4-2016《食品安全国家标准 食品中灰分的测定》测定;

总蛋白质含量:参照 GB 5009.5-2010《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》中的凯氏定氮法测定;脂肪含量:参照 GB/T 5009.6-2003《食品中脂肪的测定》中索氏抽提法测定。

1.3.2 酶解试验设计 选用碱性蛋白酶、木瓜蛋白酶、胰蛋白酶、菠萝蛋白酶和风味蛋白酶,在各酶对应的最适作用条件下水解河蚬肉。加酶量为 750 U/g、1 250 U/g,固定料液比(河蚬肉与水的比例)为 1:2,水解时间 9 h,每隔 2 h 测定游离氨基酸态氮含量(C_n 值)、可溶性短肽含量(C_p 值)和蛋白质利用率。

1.3.3 酶解工艺 取定量河蚬肉清洗搅碎,按比例加水匀浆调最佳 pH 值,蛋白酶保温酶解,沸水浴灭活 15 min 离心 10 min (5 000 r/min)取上清液过滤获得酶解液。

1.3.4 蛋白酶活性测定 蛋白酶活性测定采用 Folin-酚法^[6]。酶活性的定义:在适当条件下,1 min 内将底物酪蛋白分解出相当于 1 μg 酪氨酸的量时所需的酶量为 1 U。

1.3.5 C_n 值的测定 游离氨基酸态氮含量的测定采用甲醛滴定法^[7]。

1.3.6 C_p 值的测定 可溶性短肽含量的测定采用三氯乙酸结合双缩脲法^[8]。

1.4 数据处理

试验数据采用 SAS (Statistics analysis system, Version 9.2) 统计软件进行分析,使用 ANOVA (analysis of variance) 分析软件进行方差分析,并用 Duncan's multiple range test 进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 碱性蛋白酶对河蚬肉蛋白质的水解

从图 1 可以看出,在整个碱性蛋白酶酶解过程中, C_n 值一直增加,加酶量 750 U/g 组的 C_n 值在 3 h 后增幅明显,5 h 后超过加酶量 1 250 U/g 组,并在酶解 9 h 后达到最大值 [(2.91 \pm 0.12) mg/ml]。750 U/g 组和 1 250 U/g 组的 C_p 值交替上升,但两组的总体趋势都是先增大后减小,说明酶解产物中小分子短肽含量在酶反应后期逐渐降低; C_p 值在 7 h 处出现最大值 [(38.57 \pm 2.07) mg/ml, 750 U/g 组]。蛋白质利用率随时间延长逐渐增大,但 5 h 后趋于平稳,增加缓慢(图 2)。1 250 U/g 组的蛋白质利用率的增加速度显著高于 750 U/g 组,并在酶解 9 h 后达到最大,为 31.56% \pm 2.54%。

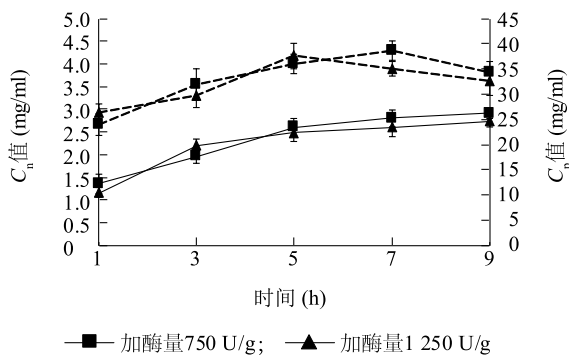


图 1 碱性蛋白酶酶解河蚬肉的 C_n 值(实线)、 C_p 值(虚线)

Fig.1 C_n (solid lines) and C_p (broken lines) value of *Corbicula fluminea* hydrolyzed by alcalase

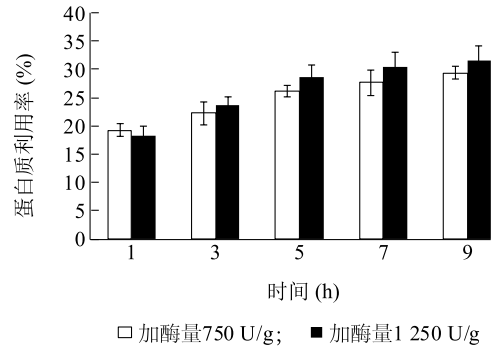


图 2 碱性蛋白酶酶解河蚬肉的蛋白质利用率

Fig.2 Protein utilization rate of *C. fluminea* hydrolyzed by alcalase

2.2 胰蛋白酶对河蚬肉蛋白质的水解

在胰蛋白酶水解蚬肉蛋白质过程中,加酶量 1 250 U/g 组的 C_n 、 C_p 值始终高于 750 U/g 组,水解 9 h 后 750 U/g 组 C_n 值为 (2.47 \pm 0.19) mg/ml, 1 250 U/g 组为 (2.73 \pm 0.29) mg/ml。酶解 5 h 时,出现最大 C_p 值,为 (36.17 \pm 1.21) mg/ml (1 250 U/g 组)(图 3)。蛋白质利用率在最初 5 h 内增幅较大,随后增加缓慢,酶解 9 h 时达到最大,为 38.97% \pm 2.25% (1 250 U/g 组)(图 4)。

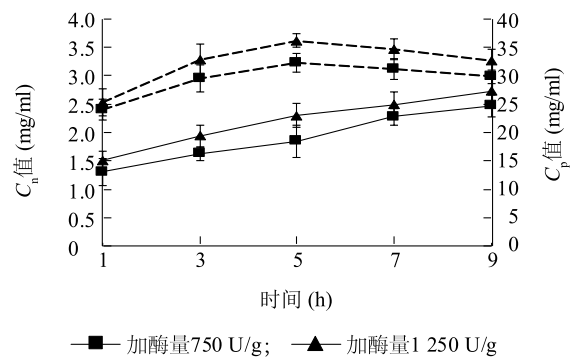


图 3 胰蛋白酶酶解河蚬肉的 C_n 值(实线)、 C_p 值(虚线)

Fig.3 C_n (solid lines) and C_p (broken lines) value of *C. fluminea* hydrolyzed by trypsin

2.3 木瓜蛋白酶对河蚬肉蛋白质的水解

图 5 表明,在木瓜蛋白酶水解河蚬肉 9 h 后, C_n 值最大,为 (2.52 \pm 0.15) mg/ml (750 U/g 组); C_p 值先增大后减小,在 5 h 时最大 [(39.14 \pm 1.74) mg/ml, 750 U/g 组]。在酶解 3 h 至 5 h 时间段内,蛋白利用率有大幅度的提高,并且 750 U/g 组的蛋白利用率超过 1 250 U/g 组;酶解结束时,750 U/g 组的蛋白利用率最高,达到 36.71% \pm 2.63% (图 6)。

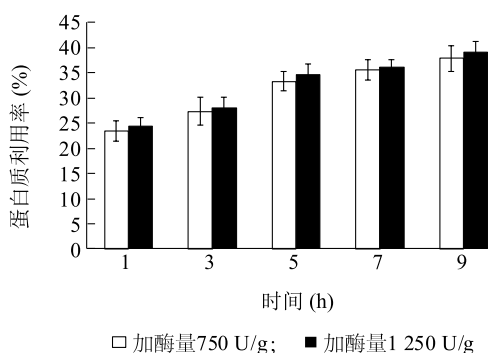


图4 胰蛋白酶酶解河蚬肉的蛋白利用率

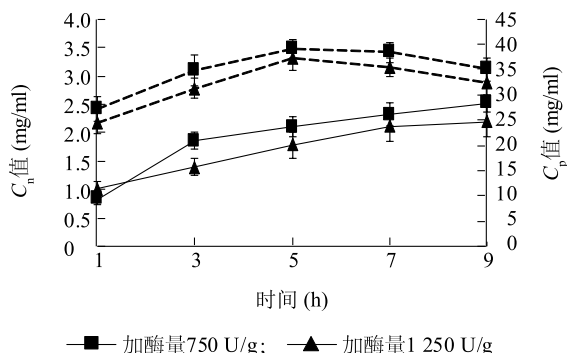
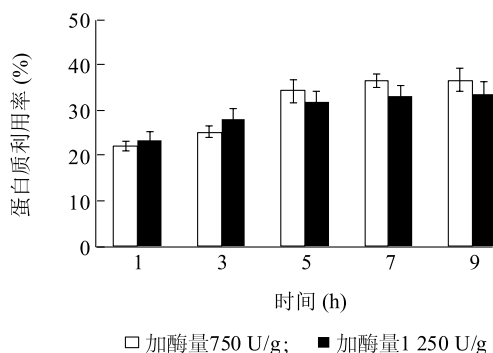
Fig.4 Protein utilization rate of *C. fluminea* hydrolyzed by trypsin图5 木瓜蛋白酶酶解河蚬肉的 C_n 值 (实线)、 C_p 值 (虚线)Fig.5 C_n (solid lines) and C_p (broken lines) value of *C. fluminea* hydrolyzed by papain

图6 木瓜蛋白酶酶解河蚬肉的蛋白质利用率

Fig.6 Protein utilization rate of *C. fluminea* hydrolyzed by papain

2.4 菠萝蛋白酶对河蚬肉蛋白质的水解

C_n 值在菠萝蛋白酶水解过程中呈增加趋势,在酶反应结束时,1250 U/g 组的 C_n 值最大 [(2.01±0.11) mg/ml], 高于 750 U/g 组 [(1.65±0.12) mg/ml]; C_p 值在 5 h 时达到最大值 [(27.61±2.51)

mg/ml, 1250 U/g 组] (图 7)。从图 8 可以发现,蛋白质利用率虽然不断提高,但最高仅为 19.24%±1.07% (1250 U/g 组)。与其他酶相比,菠萝蛋白酶的 C_n 、 C_p 值和蛋白质利用率都是最低,说明菠萝蛋白酶不适合用于水解河蚬蛋白质。

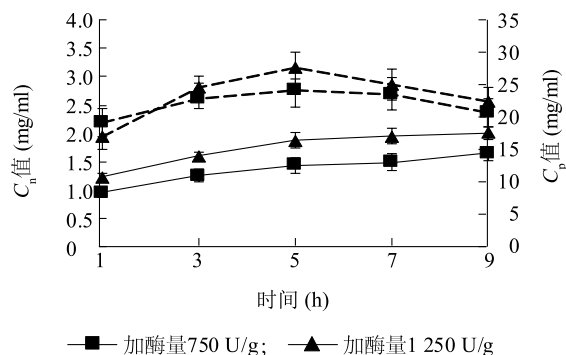
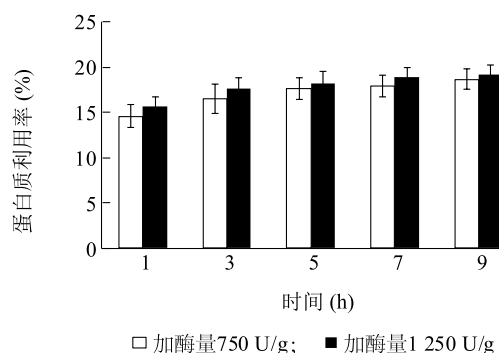
图7 菠萝蛋白酶酶解河蚬肉的 C_n 值 (实线)、 C_p 值 (虚线)Fig.7 C_n (solid lines) and C_p (broken lines) value of *C. fluminea* hydrolyzed by bromelain

图8 菠萝蛋白酶酶解河蚬肉的蛋白质利用率

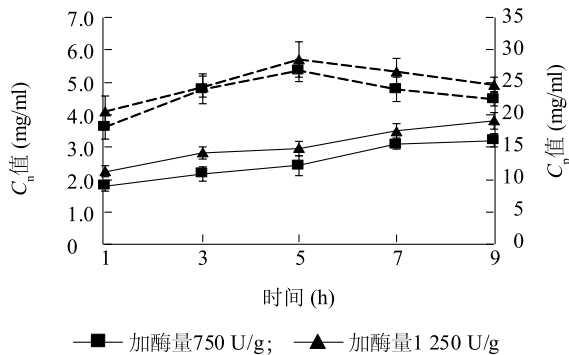
Fig.8 Protein utilization rate of *C. fluminea* hydrolyzed by bromelain

2.5 风味蛋白酶对河蚬肉蛋白质的水解

在风味蛋白酶酶解过程中,1250 U/g 组的 C_n 、 C_p 值始终高于 750 U/g 组。酶解 9 h 后 1250 U/g 组 C_n 值高达 (3.82±0.26) mg/ml, 为 5 种酶中的最高值。 C_p 值在酶解 5 h 时达到最大,为 (28.52±2.69) mg/ml (图 9)。蛋白质利用率逐渐提高,水解 9 h 后达到最大 (42.37%±2.46%, 1250 U/g 组), 为 5 个酶处理组中的最高值 (图 10)。

2.6 5 种蛋白酶对河蚬肉蛋白质酶解效果的比较

将 5 种蛋白酶水解液的游离氨基酸态氮含量 (C_n)、可溶性短肽含量 (C_p) 和蛋白质利用率进行比较,结果 (表 2) 显示风味蛋白酶对河蚬肉的水解程度最高,生成游离氨基酸态氮含量最高 ($P<0.05$),

图9 风味蛋白酶酶解河蚬肉的 C_n 值(实线)、 C_p 值(虚线)Fig.9 C_n (solid lines) and C_p (broken lines) value of *C. fluminea* hydrolyzed by flavourzyme

其次是碱性蛋白酶、胰蛋白酶、木瓜蛋白酶和菠萝蛋白酶。木瓜蛋白酶和碱性蛋白酶水解生成的可溶性短肽含量差异不显著 ($P>0.05$), 但都显著高于其他

3 组 ($P<0.05$), 菠萝蛋白酶组最低。风味蛋白酶组的蛋白利用率最高, 其次是胰蛋白酶组、木瓜蛋白酶组、碱性蛋白酶组和菠萝蛋白酶组。

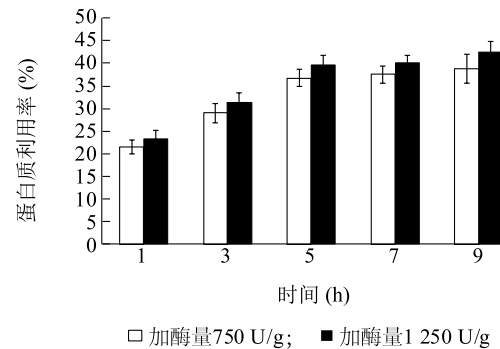


图10 风味蛋白酶酶解河蚬肉的蛋白利用率

Fig.10 Protein utilization rate of *C. fluminea* hydrolyzed by flavourzyme

表2 5种蛋白酶酶解河蚬肉蛋白质效果的比较

Table 2 The comparison of enzymatic hydrolysis of *C. fluminea* protein by five proteases

蛋白酶	固液比	最大 C_n 值 (mg/ml)	最大 C_p 值 (mg/ml)	最大蛋白质利用率 (%)
碱性蛋白酶	1 : 2	2.91±0.12b (750 U/g)	38.57±2.07a (750 U/g)	31.56±2.54c (1 250 U/g)
胰蛋白酶	1 : 2	2.73±0.29bc (1250 U/g)	36.17±1.21b (1 250 U/g)	38.97±2.25b (1 250 U/g)
木瓜蛋白酶	1 : 2	2.52±0.15c (750 U/g)	39.14±1.74a (750 U/g)	36.71±2.63b (750 U/g)
菠萝蛋白酶	1 : 2	2.01±0.11d (1 250 U/g)	27.61±2.51c (1 250 U/g)	19.24±1.07d (1 250 U/g)
风味蛋白酶	1 : 2	3.82±0.26a (1 250 U/g)	28.52±2.69c (1 250 U/g)	42.37±2.46a (1 250 U/g)

同列中不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。括号中数值为加酶量。

3 讨论

一般情况下,进行酶解有2个目的:一是获得游离氨基酸含量较高的水解液;二是提取功能性多肽^[9]。在酶解过程中,蛋白质肽键断裂,由长肽链变成短肽链,蛋白质分子量减小,溶解度升高,在进行沉淀分离时蛋白质损失减少,所以随着酶解的进行,蛋白质利用率逐渐提高。然而,由于蛋白酶可作用的肽键数量不断减少,同时水解底物中存在的抑酶物会抑制酶活性,因此,在酶解反应后期水解效率降低,蛋白质利用率增加缓慢^[10]。

在本试验5种蛋白酶水解河蚬蛋白质过程中, C_n 值都呈增加趋势,而 C_p 值则是先升高后降低。这可能是因为在酶解反应初期,底物质量浓度高,蛋白酶可作用的肽键多,蛋白质水解效率较高,因此游离氨基酸态氮和可溶性短肽含量不断增加。在酶解反应后期,底物中肽键数量不断减少,酶解速度减慢,同时

可溶性短肽与酶发生作用生成游离氨基酸^[11],导致 C_p 值下降, C_n 值则持续增加。提高酶添加量能够促进酶与底物的结合,提高反应速率,但酶浓度增大到一定程度可能会限制酶的活性^[12],所以当碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶的添加量从750 U/g增加至1 250 U/g时, C_n 值不升反降,水解度降低。因此,对于碱性蛋白酶和木瓜蛋白酶而言,750 U/g加酶量可以使酶和底物达到更佳的作用效果。当然,如果加酶量过小,则随着酶解反应的进行,酶浓度下降,势必减缓酶解反应,对于胰蛋白酶、菠萝蛋白酶和风味蛋白酶而言,当加酶量为1 250 U/g时,酶的作用效果更佳。

在同等酶活性条件下,不同蛋白酶水解河蚬蛋白质的能力和作用位点差异显著^[13]。碱性蛋白酶属于肽链内切酶,对肽键有较强的裂解催化能力,能将蛋白质肽链水解成小分子肽,故其生成的短肽含量较高。然而,在碱性蛋白酶水解蛋白质过程中,易生成分子量较低的苦味肽,导致水解液风味存在缺陷^[14]。

胰蛋白酶来自动物胰脏,作用位点少,只有 Lys 和 Arg 右侧的肽键,其水解产物大多为多肽,而游离氨基酸含量较低^[15]。因此本试验中其水解液 C_p 值较高, C_n 值略低,这与黄薇等^[16]的研究结果一致。虽然如此,但胰蛋白酶可使大部分疏水氨基酸位于肽链末端,因此得到的水解液苦味值较低^[17-19]。

本试验所用的木瓜蛋白酶为混合蛋白酶,属于内切肽酶,作用位点较多,水解速度较快,因此水解液中可溶性短肽含量最高,但 C_n 值显著低于碱性蛋白酶组、风味蛋白酶处理。菠萝蛋白酶属于巯基蛋白酶类^[20],催化肽链中的巯基,在河蚬蛋白质中的作用位点最少,因此 C_n 、 C_p 值最低,这与吴少辉等^[21]和刘晶晶等^[22]的研究结果一致,他们发现河蚬肉经过不同蛋白酶水解后,水解液中游离氨基酸含量由高到低依次是胰蛋白酶、木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶处理。此外,赵珊珊等^[11]推测在菠萝蛋白酶水解过程中生成的短肽含量低的另一个原因可能是由于酶解生成的多肽分子量较大,在三氯乙酸作用下发生沉淀而被除去。

风味蛋白酶对河蚬肉的水解程度最高,效果明显好于另外 4 种酶。这是因为碱性蛋白酶、胰蛋白酶、木瓜蛋白酶和菠萝蛋白酶是内切肽酶,只能从肽链内部断开肽键,因此会限制游离氨基酸的生成,酶解产物主要以肽为主,水解液中游离氨基酸态氮含量较低。然而,风味蛋白酶既有内切肽酶活性,又有外切肽酶活性,酶切位点多,能断裂肽链内部和外部的肽键,因此其水解液中游离氨基酸态氮含量更高,而可溶性短肽含量较低。此外,风味蛋白酶能降低水解液的苦味,通常情况下可将它与其他酶混合使用,以改善水解液风味和提高水解度^[23]。

综上所述,风味蛋白酶作用位点多,对河蚬蛋白质的水解程度高,添加量为 1 250 U/g 时水解液中游离氨基酸含量、蛋白质利用率都较高。因此,若以获得较高游离氨基酸含量的水解液为目的,可选择风味蛋白酶对河蚬蛋白质进行水解;若以获得较高含量的功能性短肽为目的,可选用木瓜蛋白酶、碱性蛋白酶或复合使用。

参考文献:

- [1] 杨玉雯,袁美兰,陈丽丽,等. 河蚬中水溶性蛋白的提取及其抗氧化性质[J]. 食品科学, 2015, 36(6): 96-102.
- [2] 王宇,刘东红. 河蚬功能性成分的研究现状与展望[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(6): 122-124.
- [3] 韩鹏,王勤,陈清西. 河蚬软体部分营养成分分析及评价[J]. 厦门大学学报(自然版), 2007, 46(1): 115-117.
- [4] 万德光,吴家荣. 药用动物学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1993: 45-47.
- [5] 刘晶晶,汤会芳,郭芝琳,等. 河蚬肉抗氧化肽的分离及活性研究[J]. 食品工业科技, 2016, 37(4): 169-172.
- [6] 李建武. 生物化学实验原理和方法[M]. 北京: 北京大学出版社, 1994: 150-174.
- [7] 罗钦,陈人弼,宋永康. 鱼粉中寡肽和游离氨基酸的测定方法[J]. 福建农业学报, 2005, 20(4): 285-288.
- [8] JANG A, LEE M. Purification and identification of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides from beef hydrolysates[J]. Meat Science, 2005, 69(4): 653-661.
- [9] LI B, CHEN F, WANG X, et al. Isolation and identification of antioxidative peptides from porcine collagen hydrolysate by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2007, 102(4): 1135-1143.
- [10] 孟祥晨,迟玉杰. 不同蛋白酶对鸡蛋清蛋白水解效果比较[J]. 食品工业, 2002, 23(3): 34-35.
- [11] 赵珊珊,朱志伟,曾庆孝,等. 不同蛋白酶解罗非鱼肉制备蛋白水解液的过程变化规律研究[J]. 现代食品科技, 2008, 24(2): 115-119.
- [12] 赵珊珊. 酶法水解罗非鱼肉条件优化的研究[J]. 中国酿造, 2008, 27(9): 36-40.
- [13] 叶挺,孔祥珍,孙灵湘,等. 不同蛋白酶和水解条件对酪蛋白酶解产物性质的影响[J]. 食品工业科技, 2015, 36(19): 181-185.
- [14] 高梅娟,刘平,兰小红,等. 双酶酶解豆粕蛋白制备低苦味肽[J]. 食品工业科技, 2010, 31(2): 193-197.
- [15] GILDBERG A, ARNESEN J A, CARLEHÖG M. Utilisation of cod backbone by biochemical fractionation[J]. Process Biochemistry, 2002, 38(4): 475-480.
- [16] 黄薇,宋永康,林虬,等. 不同蛋白酶酶解大豆蛋白的过程变化规律研究[J]. 粮食与饲料工业, 2012(10): 22-25.
- [17] MERCIER A, BATTAGLENE S C, HAMEL J. Settlement preferences and early migration of the tropical sea cucumber *Holothuria scabra* [J]. Journal of Experimental Marine Biology & Ecology, 2000, 249(1): 89-110.
- [18] MATOBA T, HATA T. Relationship between bitterness of peptides and their chemical structures[J]. Agricultural & Biological Chemistry, 1972, 36(8): 1423-1431.
- [19] 朱碧英,毋瑾超. 不同酶解条件对鲢鱼蛋白水解物苦味及氨基酸组成的影响[J]. 中国水产科学, 2001, 8(3): 73-76.
- [20] 庄桂东,黄立男,孙萍,等. 菠萝中蛋白酶的提取研究[J]. 食品研究与开发, 2004, 25(1): 50-51.
- [21] 吴少辉,叶伟娟,于新. 多酶法水解河蚬蛋白的工艺研究[J]. 广东农业科学, 2011, 38(3): 103-105.
- [22] 刘晶晶,黄婷,顾云,等. 可控酶解河蚬蛋白质的工艺优化[J]. 食品科技, 2013, 38(1): 109-113.
- [23] 万丽娜,熊星星,罗岩,等. 风味蛋白酶修饰蛋清酶解液的研究[J]. 食品工业, 2013, 34(6): 105-108.

(责任编辑:张震林)