

毛霉蛋白酶水解大豆蛋白的工艺优化

刘倩, 耿予欢

(华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 选用毛霉菌株, 对大豆蛋白原料进行水解, 同时测定了不同水解条件下酶解液的水解度、蛋白回收率和肽氮含量, 分析在不同条件下蛋白类呈味物质的变化情况。在单因素试验的基础上, 运用 Box-Behnken 响应面分析法以水解度作为响应值, 料液比、酶解温度和酶解时间为影响因子, 对毛霉蛋白酶水解工艺条件进行优化, 结果表明: 最佳工艺条件为酶解温度 34.3 °C, 酶解时间 92.5 h, 料液比 1:2.2, 不调 pH。此条件下, 验证试验得到水解度为 5.62%, 与模型预测值 5.637% 相比, 结果相差较小, 校正后的相关系数 $R^2=0.9919$, 表明响应面模型与实际试验的拟合程度良好, 可解释 99.19% 的响应值变化。三个影响因子对大豆蛋白水解度影响大小的排序为酶解温度>液料比>酶解时间。为利用毛霉天然发酵所产酶系去酶解大豆蛋白提供了一定的理论支持与数据参考。

关键词: 毛霉; 大豆; 微生物发酵; 水解度; 响应面

文章编号: 1673-9078(2020)10-268-273

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.10.1225

Process Optimization of Mucor Protein Hydrolysing Soy Protein

LIU Qian, GENG Yu-huan

(College of Food Sciences and Engineering South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: The soybean protein was hydrolyzed using mucor strain, and the hydrolysis degree, protein recovery rate and peptide nitrogen content of the enzymatic hydrolysate under different hydrolysis conditions were also determined. The changes of taste substances such as proteins under different conditions were analyzed. On the basis of single factor experiment, Box-Behnken response surface methodology was used to optimize the processing conditions of mucor proteinase hydrolysis of tofu billet with hydrolysis degree as the response value, material-liquid ratio, enzymatic hydrolysis temperature and enzymatic hydrolysis time as the influencing factors. The results showed that the optimum conditions were enzymatic hydrolysis temperature of 34.3 °C, enzymatic hydrolysis time of 96 h, ratio of material to liquid of 1:2.2, and no pH adjustment. Under this condition, the degree of hydrolysis was found to be 5.62%, compared with the model predicted value of 5.637%, there was little difference in result. The corrected correlation coefficient $R^2=0.9919$, which indicated that the response surface model fits the actual test well, and it can explain 99.19% of the response value change. The order of the effect of three factors on the degree of hydrolysis of soybean protein was enzymatic hydrolysis temperature > liquid-material ratio > enzymatic hydrolysis time. It provided a certain theoretical support and data reference for using the enzyme system produced by mucor natural fermentation to dezymolyze soybean protein.

Key words: mucor; soybean; microbial fermentation; degree of hydrolysis; response surface.

引文格式:

刘倩,耿予欢.毛霉蛋白酶水解大豆蛋白的工艺优化[J].现代食品科技,2020,36(10):268-273

LIU Qian, GENG Yu-huan. Process optimization of mucor protein hydrolysing soy protein [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(10): 268-273

毛霉又称黑霉、长毛霉, 属真菌门接合菌亚门接合菌纲毛霉目毛霉科毛霉属, 常见种类有大毛霉和微小毛霉^[1]。毛霉是好湿性真菌, 最适生长温度 28 °C^[2], 适应性强, 日生长可达 3 cm^[3], 广泛分布于酒曲、植物残体、腐败有机物和土壤中。毛霉可以合成及分泌多种胞外蛋白酶, 且其胞外蛋白酶系是由多种不同类

收稿日期: 2019-11-05

作者简介: 刘倩 (1994-) 女, 硕士研究生, 研究方向: 调味品科学与工程

通讯作者: 耿予欢 (1973-) 女, 博士, 高级工程师, 研究方向: 调味品科学与工程

型的蛋白酶构成的复杂体系, 并同时产生纤维素酶系、果胶酶系等形成一个复合酶系统, 可催化多种类型的生物化学反应^[4]。在工业应用中, 毛霉产生的淀粉酶可糖化淀粉生成乙醇, 用于制曲和酿酒。在我国特有发酵食品腐乳的制作中, 毛霉产生的蛋白酶和脂肪酶, 可将豆腐中的蛋白质分解成可溶性的小分子多肽和氨基酸^[5], 利于直接消化吸收。将脂肪分解成甘油和脂肪酸, 使腐乳产生芳香物质和具鲜味的蛋白质分解物^[6], 被大众喜爱, 事实证明相较于制备大豆肽的常用菌种米曲霉, 使用毛霉所制得的产品滋味更醇厚丰富,

香气浓郁。

目前,生产大豆肽的方法有化学水解法、酶水解法和微生物发酵法^[7],使用商业酶制备大豆肽水解效率更高,但价格昂贵,不适合在大宗低值原料上大规模使用,更不适合工业化生产。微生物发酵法是把蛋白酶的发酵生产和大豆肽的酶解有机地结合在一起,肽在微生物代谢活动产生的混合酶系作用下被释放的同时,微生物借助多肽水解液提高生长及产酶的效率,降低了大豆肽生产成本,同时使用毛霉发酵也克服了酶水解法制备的大豆肽产品会出现较重苦味和口感差等缺点^[8],具有良好的应用前景。

本文利用毛霉所产蛋白酶系水解大豆蛋白制备大豆鲜味肽,以腐乳的前期原料-豆腐坯作为蛋白来源,进行单因素试验,分析水解过程中蛋白类等主要呈味物质进入酶解液中的情况,以水解度为指标,运用响应面分析(Response Surface Methodology, RSM)优化生产工艺,旨在为以毛霉为生产菌株,从大豆原料中提取鲜味成分,为进一步深加工提供数据参考。

1 材料与方法

1.1 原材料与试剂

发酵用大豆蛋白原料、毛霉:由广东某调味品有限公司提供;福尔马林、无水乙醇、浓硫酸、苯酚:广州化学试剂厂,均为分析纯。

1.2 主要仪器设备

FE-20 pH计,梅特勒-托利多仪器上海有限公司;TU-1901紫外可见分光光度计,北京普析通用科学实验仪器有限公司;电子分析天平,上海精科仪器有限公司;SHZ-D循环水式真空泵,巩义予华仪器有限公司;恒温水浴锅,上海温控仪表厂;DHG-9070A电热恒温鼓风干燥箱,上海精宏实验设备有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 毛霉蛋白酶水解大豆蛋白的工艺流程

参考一般腐乳的发酵方法,豆腐坯压碎后喷洒接种毛霉,在28℃恒温恒湿培养室条件下发酵约33h,4℃冰箱冷藏保存。发酵豆腐坯碎料加不同比例去离子水,同时添加10%无水乙醇,调整酶解条件,沸水浴15min灭酶,冷却后8000r/min,4℃冷冻离心20min,取上清液得所需酶解液^[9]。

1.3.2 水解度的测定

甲醛滴定法测定酶解液氨基酸态氮含量^[10,11],参照GB 5009.235-2016。

$$\text{水解度}/\% = \frac{\text{酶解液游离氨态氮含量}}{\text{原料总氮含量}} \times 100\%$$

1.3.3 蛋白回收率的测定

凯氏定氮法测定粗蛋白含量,参照GB 5009.5-2016,大豆及其粗加工制品的蛋白换算系数为5.71。

$$\text{蛋白回收率}/\% = \frac{\text{酶解液粗蛋白含量}}{\text{原料粗蛋白含量}} \times 100\%$$

1.3.4 肽氮含量的测定

由于低分子质量的蛋白水解物(包括低聚肽及游离氨基酸)可溶于三氯乙酸溶液,而高分子质量的蛋白在三氯乙酸中易沉淀^[12],采用三氯乙酸沉淀法测定肽氮含量:取10mL酶解液加入10mL20%三氯乙酸溶液后搅拌混合均匀,静置60min,4800r/min离心10min,取上清液记作上清TCA。再分别用凯氏定氮法和甲醛滴定法测定上清液中的总氮和氨态氮含量。

$$\text{肽氮含量}/\% = \frac{\text{上清TCA总氮含量} - \text{上清TCA氨态氮含量}}{\text{酶解液总氮含量}} \times 100\%$$

1.3.5 最佳酶解条件的单因素实验

控制酶解料液比(g/g)(1:1、1:1.5、1:2、1:2.5、1:3)、酶解温度(30、35、40、45、50、55℃)、酶解时间(24、48、72、96、120、144h)、酶解pH值(pH5、7、9和不调pH)其中的3个因素为定量,研究其中一个因素对毛霉蛋白酶酶解大豆蛋白水解度的影响。

1.3.6 响应面法优化毛霉蛋白酶水解大豆蛋白工艺

根据单因素实验结果,根据Box-Behnken的中心组合试验设计原理,固定环境pH值为自然状态这个条件,以对水解度影响较大的料液比、温度、酶解时间为响应变量,水解度为响应值,设计三因素三水平的响应面设计方案。以-1,0,1分别代表变量的水平,试验因素水平编码如表1所示。

表1 响应面分析因子及水平表

Table 1 The factors and levels of response surface analysis

因素	编码	编码水平		
		-1	0	1
料液比/(g/g)	X ₁	1:1.5	1:2	1:2.5
酶解温度/℃	X ₂	30	35	40
酶解时间/h	X ₃	72	96	120

2 结果与讨论

2.1 单因素试验结果与分析

2.1.1 料液比对原料中各呈味物质的影响

在酶解温度为45℃,不调pH的条件下酶解96h

后, 各指标随料液比的变化如图 1 所示, 为了排除加入水对浓度的影响, 已将各指标全部换算成了在 3 倍水条件下的数值。如图所示, 水解度、肽氮含量和蛋白回收率均在料液比为 1:2 (g/g) 时达到最大, 其中, 肽氮含量在料液比为 1:2 时达 15.49%, 接近 1:1.5 时的两倍, 后随着料液比的增加缓慢下降, 说明在 1:2 (g/g) 的料液比条件下酶解充分, 加入原料两倍质量的去离子水已接近酶解平衡点, 因此, 最佳料液比为 1:2。

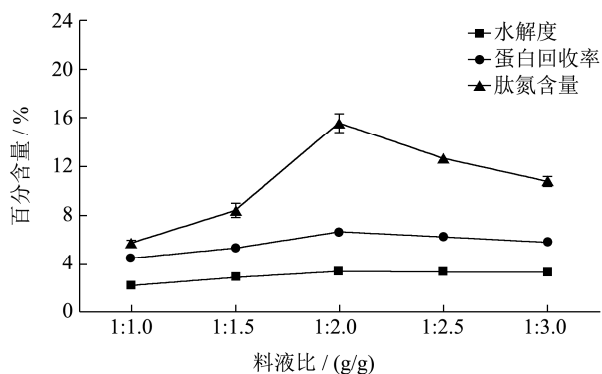


图 1 不同料液比对水解度、蛋白回收率和肽氮含量影响

Fig.1 Effect of different material to liquid ratio on degree of hydrolysis, protein recovery and peptide nitrogen content

2.1.2 酶解温度对原料中各呈味物质的影响

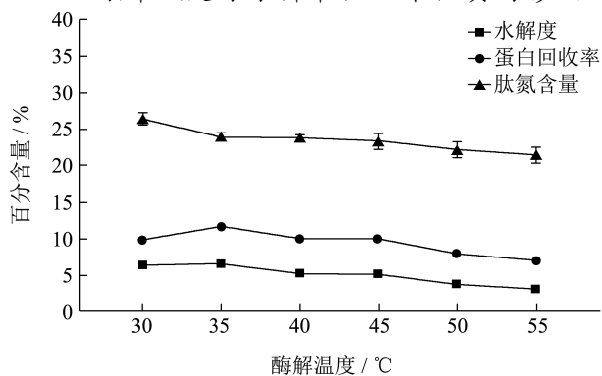


图 2 不同温度对水解度、蛋白回收率和肽氮含量影响

Fig.2 Effects of different temperatures on degree of hydrolysis, protein recovery and peptide nitrogen content

不同种类蛋白酶有其最适温度, 温度升高可加速反应进程, 但过高又会影响到其空间构型, 致酶失活^[13]。如图 2 所示, 在料液比为 1:2 (g/g)、pH 为自然状态、酶解时间为 96 h 的条件下, 样品水解度和蛋白回收率随着温度升高先上升后又逐渐下降, 在 35 °C 时达到最大, 分别为 6.50%、11.63%。证明实验所用毛霉蛋白酶酶活在 35 °C 时达到最大, 此温度下酶解液游离氨基酸浓度最高, 因此, 酶解温度设 35 °C 为佳。与其他学者^[4]研究发现毛霉蛋白酶是一种中高温蛋白酶, 最适温度高达 60 °C 有所出入, 可能因为原料所提供的含氮环境发生变化, 促使毛霉菌种产生复杂酶

系的组合有所不同, 也可能与毛霉生长最适温度为 28 °C 有关。肽氮含量则随温度上升逐渐下降, 可能因为随着温度升高, 游离氨基酸和小分子多肽热聚成大分子不溶性蛋白^[4]。由此可知, 最佳毛霉蛋白酶水解大豆蛋白温度可设为 35 °C。

2.1.3 酶解时间对原料中各呈味物质的影响

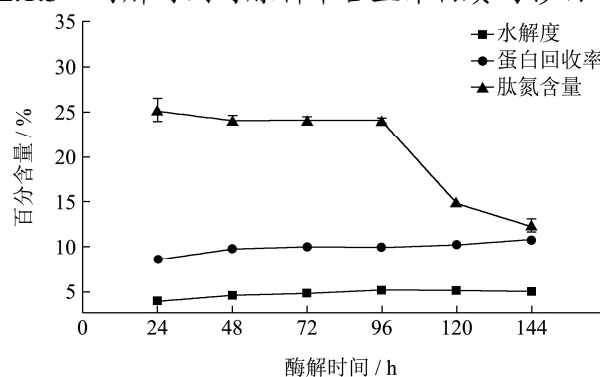


图 3 不同酶解时间对水解度、蛋白回收率和肽氮含量影响

Fig.3 Effects of different enzymatic hydrolysis time on degree of hydrolysis, protein recovery and peptide nitrogen content

由图 3 可知, 在酶解温度 45 °C, 料液比 1:2 (g/g), pH 为自然状态的条件下, 随着酶解时间延长, 蛋白回收率缓慢增加; 水解度先上升, 在 96 h 时达到最大值 5.06% 后又逐渐下降, 说明对于毛霉蛋白酶来说 96 h 的酶解时间已够充分; 肽氮含量在 96 h 前逐渐下降, 96 h 后则迅速下降, 可能因为随着酶解时间的增加, 酶解液中的小分子肽可与游离氨基酸结合成较大分子蛋白, 水解度下降, 蛋白回收率上升也佐证了这一点。因此, 最佳酶解时间为 96 h。

2.1.4 酶解环境 pH 对原料中各呈味物质的影响

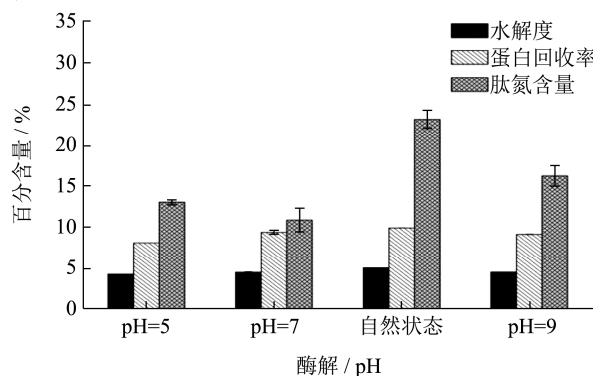


图 4 不同 pH 对水解度、蛋白回收率和肽氮含量影响

Fig.4 Effects of different pH on degree of hydrolysis, protein recovery and peptide nitrogen content

如图 4, 在酶解温度 45 °C, 料液比 1:2 (g/g), 酶解时间为 96 h 的条件下, 各项指标均在 pH 为自然状态下表现最好, 自然状态下的环境 pH 是一个动态变化的过程^[15], 经测定在不调 pH 情况下, 整个酶解

过程环境 pH 在 7.9 至 8.2 范围内缓慢上升后,因酶解产生氨基酸和肽又缓慢下降,96 h 时的酶解环境 pH 为 8.18 呈中性偏碱。与潘进权等^[4]的研究结果一致。水解度和蛋白回收率在 pH 5 的体系中最低,说明毛霉酶系的最适 pH 环境可能更偏碱性,因此,毛霉蛋白酶酶解大豆蛋白的最佳 pH 为自然状态。

表 2 实验方案与结果

Table 2 Experimental design and results

标准顺序	试验顺序	X ₁	X ₂	X ₃	水解度/%
5	1	-1	0	-1	4.95
13	2	0	0	0	5.58
1	3	-1	-1	0	4.71
12	4	0	1	1	4.19
9	5	0	-1	-1	4.80
17	6	0	0	0	5.60
3	7	-1	1	0	3.82
10	8	0	1	-1	4.36
14	9	0	0	0	5.61
15	10	0	0	0	5.51
6	11	1	0	-1	5.36
11	12	0	-1	1	4.75
4	13	1	1	0	4.49
16	14	0	0	0	5.54
8	15	1	0	1	5.19
2	16	1	-1	0	4.82
7	17	-1	0	1	4.84

2.2 响应面试验结果与分析

毛霉蛋白酶水解豆腐坯,根据 Box-Behnken 的中心组合试验设计原理^[16],环境 pH 值为自然状态这个条件,以对水解度影响较大的料液比、温度、酶解时间为响应变量,水解度为响应值,进行了 17 组试验,试验方案及结果如表 2。考虑到加入水对氨基酸态氮浓度的稀释,方便比较,已将响应面试验结果全部换算成了在 2.5 倍水条件下的数值。

利用 Design-Expert 11 软件对响应面试验数据进行多元回归拟合分析,以水解度为响应值 (Y),各因素对响应值的响应模型为:

$$Y=5.57+0.1931X_1-0.2772X_2-0.0619X_3+0.1410X_1X_2-0.0128X_1X_3-0.0285X_2X_3-0.2758X_1^2-0.8370X_2^2-0.2113X_3^2$$

由方差分析结果可知,响应面回归模型极显著 ($p<0.0001$);模型失拟项不显著 ($p=0.4607>0.05$);校正后的相关系数 $R^2=0.9919$,说明该模型可以解释 99.19%的响应值变化,即该响应面模型与实际试验的拟合程度良好,试验误差小。由回归模型系数的显著性检验可得,在所有因素中,一次项 X_1, X_2, X_3 以及二次项 $X_1^2, X_2^2, X_3^2, X_1X_2$ 对水解度影响效应极显著,表明该模型模拟实际试验中三因素对水解度大小的影响是可行的。

根据 F 值可以推断得到三个因素对水解度的影响^[17]从大到小分别酶解温度、液料比、酶解时间,可知酶解温度对大豆蛋白水解度影响最大。

表 3 方差分析

Table 3 Analysis of variance

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	4.73	9	0.525	219.74	<0.0001	**
X ₁	0.2984	1	0.2984	124.89	<0.0001	**
X ₂	0.6149	1	0.6149	257.38	<0.0001	**
X ₃	0.0306	1	0.0306	12.82	0.009	**
X ₁ X ₂	0.0795	1	0.0795	33.28	0.0007	**
X ₁ X ₃	0.0007	1	0.0007	0.2722	0.618	
X ₂ X ₃	0.0032	1	0.0032	1.36	0.2818	
X ₁₂	0.3202	1	0.3202	134.03	<0.0001	**
X ₂₂	2.95	1	2.95	1234.69	<0.0001	**
X ₃₂	0.1879	1	0.1879	78.66	<0.0001	**
残差	0.0167	7	0.0024			
失拟项	0.0074	3	0.0025	1.05	0.4607	
纯误差	0.0093	4	0.0023			
总差	4.74	16				

注: *差异显著 ($p<0.05$); **差异极显著 ($p<0.01$); $R^2=0.9965$; $R^2_{Adj}=0.9919$ 。

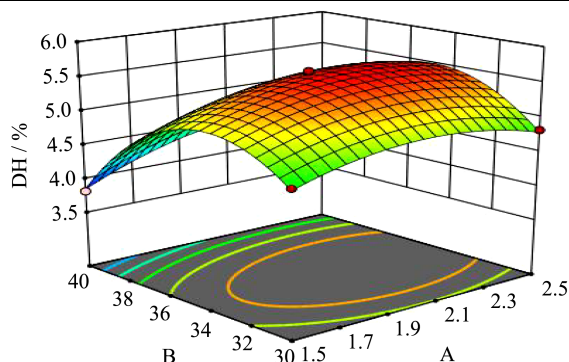


图5 液料比(A)与酶解温度(B)交互作用对水解度影响的响应面图

Fig.5 Response surface diagram of the interaction between liquid-to-material ratio (A) and enzymatic hydrolysis temperature (B) on degree of hydrolysis

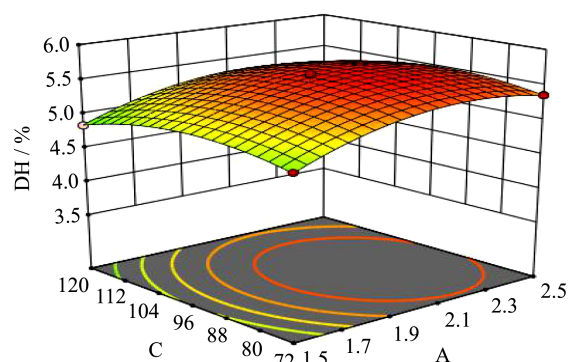


图6 液料比(A)与酶解时间(C)交互作用对水解度影响的响应面图

Fig.6 Response surface diagram of the interaction between liquid-to-material ratio (A) and enzymatic hydrolysis time (C) on degree of hydrolysis

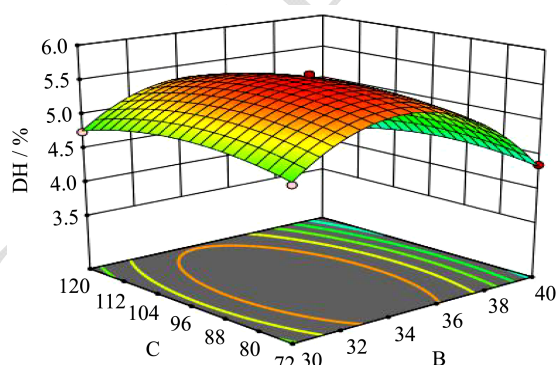


图7 酶解温度(B)与酶解时间(C)交互作用对水解度影响的响应面图

Fig.7 Response surface diagram of the interaction between hydrolysis temperature (B) and enzymatic hydrolysis time (C) on degree of hydrolysis

从图5、6、7可以看出,酶解温度与料液比、酶解温度与酶解时间的三维响应曲面较陡,二维等高线图呈明显椭圆,交互作用显著,而料液比与酶解时间

对水解度的三维响应曲面较平滑,二维等高线图接近圆形,两者的交互作用弱。通过软件分析得到毛霉蛋白酶水解大豆蛋白的最优参数为:不调pH,料液比1:2.16(g/g),温度34.32℃,酶解时间92.48h,预测在此条件下水解度可达5.637%。

2.3 验证试验

为检验所得结果的可靠性,采用上述优化条件进行验证试验。考虑到仪器的精度,将实验条件调整为:酶解温度34.3℃,酶解时间92.5h,料液比1:2.2,不调pH,试验重复三次后取平均值,得到水解度为5.62%,与预测值接近。由此可见利用响应面分析法确立毛霉蛋白酶水解大豆蛋白最佳工艺条件是可行的。

3 结论

本文研究了不同料液比、酶解温度、酶解pH和酶解时间对毛霉蛋白酶水解大豆蛋白效果的影响,分析不同条件下水解过程中的蛋白回收率、肽氮含量、水解度的变化规律,且通过响应面法得到最佳工艺条件为酶解温度34.3℃,酶解时间92.5h,料液比1:2.2(g/g),不调pH。此条件下,得到水解度为5.62%。利用毛霉天然发酵得到其自身所产酶系去酶解大豆蛋白,可在较短时间内获得较高的蛋白回收率与水解度,为毛霉发酵制备大豆鲜味肽提供了数据参考,同时也可为食品工业中利用安全性高、条件温和且易于控制的微生物发酵法联合酶解技术获取鲜味物质提供了理论指导。

参考文献

[1] 雅梅.食品微生物检验技术[M].北京:化学工业出版社,2012
 YA Mei. Food Microbiological Inspection Technology [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2012

[2] 龙菊,吴拥军,何映霞,等.高大毛霉腐乳发酵过程中主要成分的变化[J].食品研究与开发,2012,33(6):162-165
 LONG Ju, WU Yong-jun, HE Ying-xia, et al. Changes in the main composition of fermented Tofu during fermentation by *Mucor mucedo* (L.) Fres [J]. Food Research and Development, 2012, 33(6): 162-165

[3] 陈嵘,关珊珊,吕国忠,等.产蛋白酶毛霉菌株的初步筛选[J].微生物学杂志,2008,28(1):101-104
 CHEN Rong, GUAN Shan-shan, LYU Guo-zhong, et al. Preliminary screening of protease-producing mucor. strains [J]. Journal of Microbiology, 2008, 28(1): 101-104

- [4] 潘进权,罗晓春,谢明权,等.毛霉蛋白酶的组分特性及对大豆蛋白水解的研究[J].中国粮油学报,2009,24(5):31-35
PAN Jin-quan, LUO Xiao-chun, XIE Ming-quan, et al. Characterization of proteases from actinomucor elegans and application in hydrolysis of soy protein [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2009, 24(5): 31-35
- [5] Lioe H N, Takara K, Yasuda M. Evaluation of peptide contribution to the intense umami taste of Japanese soy sauces [J]. Journal of Food Science, 2006, 71(3): S277-S283
- [6] 赵博,汪建明.腐乳生产中毛霉发酵条件的优化[C]//第十五届中国国际食品添加剂和配料展览会暨第二十一届全国食品添加剂生产应用技术展示会,上海,2011:247-250
ZHAO Bo, WANG Jian-ming. Optimization of fermentation conditions for mucor in fermented bean curd production[C]//The 15th China International Food Additives and Ingredients Exhibition, The 21st National Food Additive Production and Application Technology Exhibition, Shanghai, 2011: 247-250
- [7] 张连慧,贺寅,刘新旗.大豆肽制备研究进展及其在食品中的应用[J].食品工业科技,2012,33(24):423-425
ZHANG Lian-hui, HE Yin, LIU Xin-qi. Research progress of soybean peptide production and its application in food [J]. Food Industry Technology, 2012, 33(24): 423-425
- [8] 李善仁,陈济琛,胡开辉,等.大豆肽的研究进展[J].中国粮油学报,2009,24(7):142-147
LI Shan-ren, CHEN Ji-chen, HU Kai-hui, et al. Research progress of soybean peptides [J]. Chinese Journal of Cereals and Oils, 2009, 24(7): 142-147
- [9] 赵谋明,张佳男,吴长平,等.大豆肽的制备及其美拉德反应产物特性研究[J].现代食品科技,2015,2:138-144
ZHAO Mou-ming, ZHANG Jia-nan, WU Chang-ping, et al. Preparation of soybean peptides and characteristic study of their Maillard reaction products [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 2: 138-144
- [10] 温志鹏.响应面法优化蛋白酶解海带蛋白的工艺研究[J].食品工业,2019,40(1):112-116
WEN Zhi-peng. Optimization of enzymatic hydrolysis of *Laminaria japonica* aresch proteins by response surface methodology [J]. Food Industry, 2019, 40(1): 112-116
- [11] Zhang J, Xu J, Lei L, et al. Physicochemical and sensory characteristics of soya protein isolate hydrolysates with added substrate-like amino acids [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2016, 51(1): 69-77
- [12] 张佳男.花生鲜味肽的释放及其鲜味强度提升作用研究[D].广州:华南理工大学,2016
ZHANG Jia-nan. The study of releasing-regulation and umami promotion of peanut umami peptide [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2016
- [13] 张欢欢,耿予欢,李国基.黄豆酱油与黑豆酱油抗氧化活性及风味物质的比较[J].现代食品科技,2018,34(6):97-106
ZHANG Huan-huan, GENG Yu-huan, LI Guo-ji. Comparison of antioxidant activities and flavor compounds of soy sauces prepared with yellow soybean and black soybean [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(6): 97-106
- [14] 杨伊磊,李梦丹,刘金,等.毛霉型豆豉后发酵阶段蛋白质水解产物的生成及影响因素[J].食品科学,2017,38(24):34-39
YANG Yi-lei, LI Meng-dan, LIU Jin, et al. Formation of protein hydrolysate and its influencing factors during the post-fermentation of mucor-type douchi, a Chinese traditional fermented soybean product [J]. Food Science, 2017, 38(24): 34-39
- [15] Tavano O L. Protein hydrolysis using proteases: an important tool for food biotechnology [J]. Journal of Molecular Catalysis B Enzymatic, 2013, 90(3): 1-11
- [16] 周小双,王锦旭,杨贤庆,等.响应面法优化合浦珠母贝糖胺聚糖提取工艺[J].食品与发酵工业,2016,42(1):238-243
ZHOU Xiao-shuang, WANG Jin-xu, YANG Xian-qin, et al. Optimization of extraction process for glycosaminoglycans from *Pinctada martensii* by response surface methodology [J]. Food and Fermentation Industries, 2016, 42(1): 238-243
- [17] 陈洁梅,徐聪聪,常磊,等.响应面分析法优化豆粕固态发酵工艺生产大豆抗氧化肽的研究[J].中国生物工程杂志,2012,32(12):59-65
CHEN Jie-mei, XU Cong-cong, CHANG Lei, et al. Study on optimization of soybean meal solid-state fermentation process for producing soybean antioxidative peptide by response surface methodology [J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2012, 32(12): 59-65