

# 酶解鳙鱼鱼肉蛋白制备ACE抑制肽工艺参数优化

袁晓晴, 孙耀军, 刘红梅

(河南牧业经济学院食品系, 河南郑州 450044)

**摘要:**采用碱性蛋白酶Alcalase 2.4L对鳙鱼鱼肉蛋白进行水解,制备血管紧张素转化酶(ACE)抑制肽。以酶解物ACE抑制率为指标,先进行单因素实验,确定底物浓度([S])、温度、pH、酶用量及水解时间5个因素的最适水平范围,再通过响应面分析法(RSM)对加酶量、温度和水解时间3个酶解工艺参数进行优化。结果表明:Alcalase水解鳙鱼鱼肉蛋白制备ACE抑制肽的最佳酶解条件为:[S]6%、加酶量2.2%、温度57℃,pH9.0及水解时间6.4h,此条件下酶解物ACE抑制率理论值为81.77%,验证实验结果ACE抑制率为81.52%,与理论值相符合。

**关键词:**鳙鱼,酶解工艺,血管紧张素转化酶,ACE抑制肽,Alcalase 2.4L

## Optimization of hydrolysis process parameters for enzymatic preparation of angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibition peptides from bighead carp muscle protein

YUAN Xiao-qing, SUN Yao-jun, LIU Hong-mei

(Department of Food, Henan University of Animal Husbandry and Economy, Zhengzhou 450044, China)

**Abstract:** In order to prepare ACE inhibition peptides with high activity, Alcalase 2.4L was selected to hydrolyze bighead carp (*Aristichthys nobilis*) muscle protein (BCMP). The single factor experiment was first used to determine the optimal levels of such five parameters as substrate concentration ([S]), temperature, pH, enzyme dosage and hydrolysis time based on the ACE inhibitory rate of hydrolyzed BCMP. Then response surface methodology (RSM) was applied to optimize such three parameters as enzyme dosage, temperature and hydrolysis time. The optimal hydrolysis conditions were determined as follows: [S]6%, enzyme dosage 2.2%, temperature 57℃, pH9.0, hydrolysis time 6.4h. Under the hydrolysis conditions, the theoretical value of ACE inhibitory rate of BCMP hydrolysate was 81.77%. The inhibitory rate in the verification experiment was 81.52%, which conformed to the theoretical value.

**Key words:** bighead carp; enzymatic hydrolysis process; angiotensin-converting enzyme; ACE inhibition peptides; Alcalase 2.4L

中图分类号: TS254.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2014)20-0213-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2014.20.038

我国的淡水养殖品种结构中,四大家鱼一直占据着主要的位置,而鳙鱼(*Aristichthys nobilis*)又是四大家鱼中养殖规模最大的品种<sup>[1]</sup>。由于鳙鱼生长在池塘或湖泊中,泥土味重,肌肉口感差,活鱼鲜销附加值较低,而且由于一直以来消费者有偏爱吃鳙鱼头的习惯,造成鱼身部分价格大跌。鳙鱼中蛋白质含量较高,氨基酸模式接近人体需要,是优质的动物蛋白资源,这就为鳙鱼的高值化利用提供了前提。

血管紧张素转化酶在人体血压调节过程中起重要的生理作用。一方面,它使无活性的血管紧张素I转化为升压物质——血管紧张素II,另一方面它能使

降压物质——舒缓激肽分解成失活片段<sup>[2]</sup>,从而导致血压升高。因此,通过抑制血管紧张素转化酶(ACE)的活性可以起到降血压的作用。血管紧张素转化酶抑制肽又称ACE抑制肽,是一类具有降血压作用多肽的总称。自1965年Ferreira<sup>[3]</sup>首次从巴西蝮蛇毒中分离出具有ACE抑制活性的多肽以来,研究人员又从大豆<sup>[4]</sup>、燕麦<sup>[5]</sup>、文蛤<sup>[6]</sup>、螺蛳<sup>[7]</sup>、中国毛虾<sup>[8]</sup>、玉米<sup>[9]</sup>等多种原料的酶解物中发现了具有降血压活性的多肽。鳙鱼鱼肉蛋白加工利用的原料是巨大而丰富的,以鳙鱼鱼肉蛋白为原料制备ACE抑制肽将为鳙鱼的利用提供新途径,目前这方面的报道少见。本研究通过单因素实验和响应面分析法优化了碱性蛋白酶Alcalase酶解鳙鱼鱼肉制备ACE抑制肽的工艺条件,以期用较少量酶获得具有较高ACE抑制活性的降压肽,为鳙鱼的开发利用提供理论依据。

收稿日期: 2014-01-06

作者简介: 袁晓晴(1977-),女,博士,副教授,研究方向:水产加工及功能性食品。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与amp;仪器

新鲜鳙鱼 市售;碱性蛋白酶(Alcalase 2.4L, 2.4AU/g) 购于Novo Nordisk公司;马尿酸-组氨酸-亮氨酸(HHL)、血管紧张素转化酶 购于Sigma;其他试剂 均为分析纯。

SK7200LHC型超声波清洗器 上海沪粤明科学仪器有限公司;90-2型定时恒温磁力搅拌器 上海精科实业有限公司;UV-2102 PCS型紫外-可见分光光度计 美国Unico公司;HH-501超级恒温水浴 苏州江东精密仪器有限公司;TGL-16G型高速离心机 上海安亭科学仪器厂。

### 1.2 实验方法

1.2.1 鱼肉脱脂 新鲜鳙鱼,剖杀后,去头尾、内脏、鳞后,采肉,匀浆,置于烧杯中,加入98%的异丙醇(1:2, w/v),置于75℃水浴下脱脂60min,期间间歇进行搅拌,使其尽可能充分脱脂。离心10min(4000r/min),弃去上清液,称取沉淀重量;再加入与沉淀等重量的异丙醇,在75℃水浴下继续脱脂60min,离心10min(4000r/min),弃去上清液,将沉淀真空抽气至无味,将脱脂后鱼肉作为酶解原料(BCMP)。

1.2.2 鳙鱼鱼肉蛋白的酶解 取一定量的脱脂鳙鱼鱼肉蛋白,加蒸馏水溶解,调pH至10,40℃下超声波(80W)处理30min,并用高速分散机(11200r/min)分散三次,每次15s,之后按设定的条件进行酶解,酶解结束后95℃灭酶10min,冷却后4200r/min离心15min,取上清液并冻干备用。

1.2.3 酶解单因素实验 分别考察[S]、加酶量、温度、pH和水解时间5个因素对鳙鱼鱼肉蛋白Alcalase酶解物ACE抑制率的影响。实验中各考察因素的设定水平分别为:水解时间3、4、5、6、7h;[S]2%、4%、6%、8%、10%;温度45、50、55、60、65、70℃;pH7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5;加酶量1%、1.5%、2%、2.5%、3%。除考察因素外,其他因素的条件为:[S]6%、加酶量2%、温度60℃、pH9、水解时间6h。

1.2.4 响应面优化酶解条件 在单因素实验的基础上,以加酶量、温度和水解时间为因素,设计了三因素三水平的中心旋转组合实验,实验因素的水平见表1。数据处理采用SAS统计软件V8.1 RSREG(response surface regression)程序进行分析处理。

表1 RSA实验因素水平表

Table 1 Independent variables and levels of RSA

实验水平	因素		
	X <sub>1</sub> 加酶量(%)	X <sub>2</sub> 温度(℃)	X <sub>3</sub> 水解时间(h)
-1	1.5	50	5
0	2	55	6
1	2.5	60	7

1.2.5 ACE抑制率测定 参照Cushman等<sup>[10]</sup>的方法,有所改进。取鳙鱼鱼肉蛋白酶解液100μL(0.3mg/mL),加入75μL的ACE(60mU/mL,用含有0.4mol/L NaCl的0.1mol/L、pH8.3硼酸缓冲液配制)。37℃恒温水浴中

保温5min,然后加入150μL 0.005mol/L HHL溶液(用上述硼酸缓冲液配制),37℃恒温保持30min,之后加入100μL 1.0mol/L HCl终止反应,得到反应液。同时用150μL上述硼酸缓冲液替代鳙鱼鱼肉蛋白酶解液来制备反应液,作为空白对照组。通过反相高效液相色谱洗脱图谱定量马尿酸的生成量。色谱条件:Diamonsil C<sub>18</sub>柱(5μm, 250mm×4.6mm),检测波长228nm,进样量5μL,洗脱液:25%乙腈-75%超纯水;流速0.6mL/min,柱温30℃,ACE抑制活性按如下公式计算。

$$\text{ACE抑制率}(\%) = \frac{A-B}{A} \times 100$$

式中:A为空白对照组的马尿酸峰面积;B为酶解液的马尿酸峰面积。

### 1.3 数据处理

每个样品至少重复测定三次,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。用SAS8.1软件进行响应面分析,显著性水平为0.05。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素实验结果分析

2.1.1 水解时间的影响 由图1可知,前6h酶解物ACE抑制率随着时间的延长而增加,在第6h达到最大值72.39%。6h之后ACE抑制率呈下降的趋势,这是由于在一定的时间内,蛋白得到充分酶解,以小肽的形式存在并能较好地抑制ACE酶活性,当酶解时间进一步延长后,某些起抑制作用的小肽继续被水解失去活性,因此酶解时间以6h为宜。

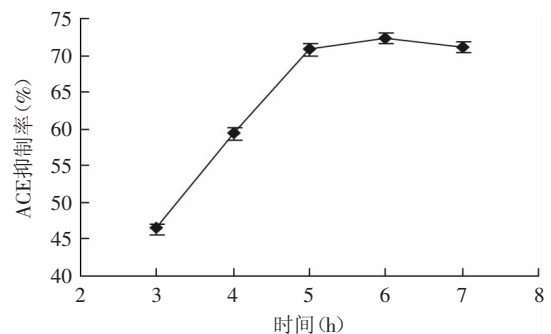


图1 水解时间对酶解物ACE抑制率的影响

Fig.1 Effect of hydrolysis time on ACE inhibitory rate of the hydrolysate

2.1.2 底物浓度[S]的影响 由图2可知,随着[S]的增加,酶解物ACE抑制率增强,并在浓度为6%时达到最大,之后当浓度继续增加时,酶解物ACE抑制率反而有所下降。这可能是随着底物浓度的增大,酶解液黏度增大,酶与底物浓度的结合机率降低,使酶促反应速度减慢<sup>[11-12]</sup>。因此底物浓度选定为6%较为合适。

2.1.3 温度的影响 由图3可知,在60℃以前,随着温度的增加,酶解物ACE抑制率增强。60℃以后,ACE抑制率逐渐下降,这是因为温度过高会导致碱性蛋白酶Alcalase自身分子结构部分解体或蛋白酶变性,从而使酶活力降低。故反应温度控制在60℃左右为宜。

2.1.4 pH的影响 由图4可知,当反应液的pH由7.0

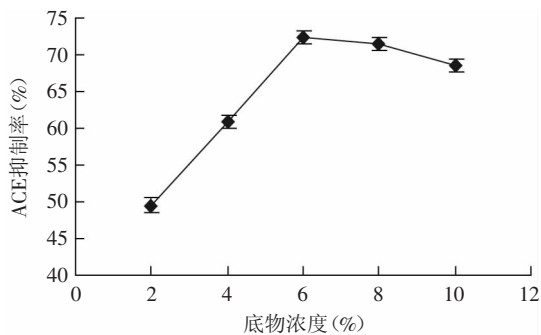


图2 底物浓度对酶解物ACE抑制率的影响

Fig.2 Effect of substrate concentration on ACE inhibitory rate of the hydrolysate

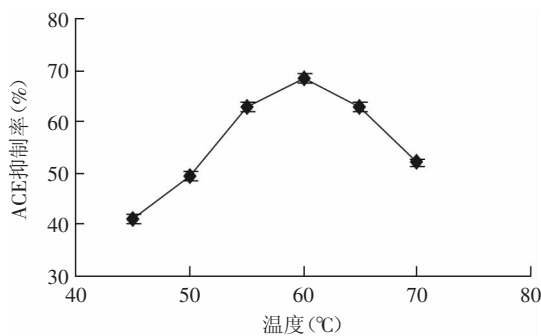


图3 温度对酶解物ACE抑制率的影响

Fig.3 Effect of temperature on ACE inhibitory rate of the hydrolysate

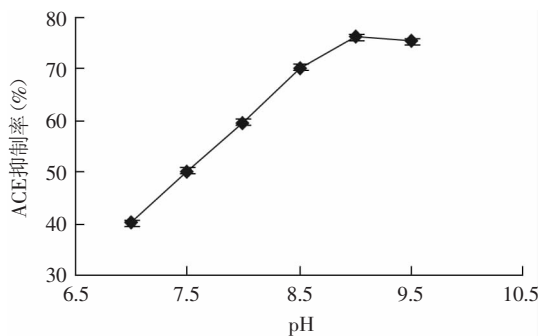


图4 pH对酶解物ACE抑制率的影响

Fig.4 Effect of pH on ACE inhibitory rate of the hydrolysate

增至9.0的过程中,酶解物抑制率随着pH的增加不断增强,但是当pH继续增加至9.5时,酶解物的ACE抑制率反而下降。虽然较高的pH可提高鱼肉蛋白的溶解度,但pH过高可能会影响鱼肉蛋白的结构。综合先前的研究<sup>[13]</sup>和单因素实验结果,选择pH9.0为最适pH。

**2.1.5 加酶量的影响** 由图5可知,随着Alcalase添加量从1%增加到2.5%,酶解物ACE抑制率不断增强。当Alcalase添加量再递增至3%时,酶解物ACE抑制率增加平缓。从节约成本的角度考虑,采用2%的添加量即可。

## 2.2 响应面优化酶解工艺条件

**2.2.1 响应面实验设计与结果** 在底物浓度和pH确定后,选用加酶量( $X_1$ )、温度( $X_2$ )、水解时间( $X_3$ )为变量,开展三因素三水平的响应面实验。本次酶解工艺

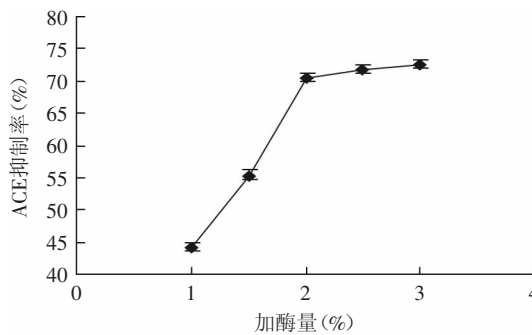


图5 加酶量对酶解物ACE抑制率的影响

Fig.5 Effect of enzyme dosage on ACE inhibitory rate of the hydrolysate

表2 RSA实验结果

Table 2 Experimental results of RSA

实验号	$X_1$	$X_2$	$X_3$	Y ACE抑制率 (%)
1	-1	-1	0	65.41
2	-1	1	0	71.22
3	1	-1	0	70.09
4	1	1	0	77.88
5	0	-1	-1	63.09
6	0	-1	1	68.27
7	0	1	-1	69.78
8	0	1	1	76.19
9	-1	0	-1	67.26
10	1	0	-1	70.58
11	-1	0	1	71.76
12	1	0	1	78.15
13	0	0	0	79.75
14	0	0	0	80.10
15	0	0	0	80.20

优化实验即采取了中心旋转组合设计,实验设计和结果见表2。整个实验设计包括15个实验点,实验1~12是析因点,自变量取值在各因素所构成的三维顶点,实验13~15是零点,为区域的中心点,中心实验重复3次,用以估计实验误差。

**2.2.2 回归模型的建立及方差分析** 以ACE抑制率为响应值,经回归拟合,各实验因子对响应值的影响可用以下回归方程表示:

$$Y=80.02+2.63X_1+3.53X_2+2.95X_3-3.13X_1^2-5.74X_2^2-4.95X_3^2+0.50X_1X_2+0.77X_1X_3+0.31X_2X_3。$$

对该回归方程进行方差分析及显著性评价,结果见表3。由表3可知,此模型的 $p<0.0001$ ,表明响应面回归模型达到极显著水平,失拟项 $p$ 值大于0.05,不显著,表明该方程拟合三个参数与ACE抑制率之间的关系是可行的;而且较高的 $R^2$  (0.9987),进一步证明实验方程式与实际数据之间具有非常好的拟合性。

回归方程系数的显著性分析结果表明,加酶量、温度和水解时间这三个变量均对ACE抑制率具有极显著影响( $p<0.01$ ),且影响效果大小排序为:温度>水解时间>加酶量。这三个因素的二次项 $X_1^2$ 、 $X_2^2$ 、 $X_3^2$ 也对ACE抑制率有显著性影响( $p<0.01$ )。在交互项



中,  $X_1X_2$ 项的回归系数显著 ( $p < 0.05$ ), 说明加酶量与温度的交互作用对ACE抑制率的影响显著;  $X_1X_3$ 项的回归系数极显著 ( $p < 0.01$ ), 说明加酶量与水解时间的交互作用对ACE抑制率影响极显著;  $X_2X_3$ 项的回归系数不显著 ( $p > 0.05$ ), 说明温度与水解时间的交互作用对ACE抑制率影响不显著。

表3 回归模型方差分析及显著性检验  
Table 3 Variance analysis and significance test of regression model

方差来源	自由度	平方和	均方	F值	p值	显著性
$X_1$	1	55.39	55.39	577.45	<0.0001	**
$X_2$	1	99.48	99.48	1037.09	<0.0001	**
$X_3$	1	69.97	69.97	729.52	<0.0001	**
$X_1^2$	1	0.98	0.98	10.22	<0.0001	**
$X_2^2$	1	2.36	2.36	24.57	<0.0001	**
$X_3^2$	1	0.38	0.38	3.94	<0.0001	**
$X_1X_2$	1	40.79	40.79	425.26	0.03	*
$X_1X_3$	1	137.64	137.64	1434.99	0.006	**
$X_2X_3$	1	102.34	102.34	1066.92	0.13	
模型	9	446.41	0.10	413.28	<0.0001	**
残差	2	0.1117	0.0558			
失拟项	3	0.4884	0.162	2.92	0.27	
误差	5	0.60	0.12			
$R^2$		0.9987				

注:\*表示差异显著 ( $p < 0.05$ ); \*\*表示差异极显著 ( $p < 0.01$ )。

图6为水解条件对ACE抑制率影响的响应面图。由图6可知, 其作用都为上凸曲面, 说明本实验所选择的区域范围合理, 并且随着加酶量、水解时间和温度的增加, 酶解产物的ACE抑制率均呈现先升高后下降的变化, 加酶量、水解时间和温度对ACE抑制率的影响效果明显。通过分析计算得到最佳酶解条件为: 加酶量2.2%、温度57°C, 水解时间6.4h, 此条件下ACE抑制率理论值为81.77%。

为检验响应面分析法的可靠性, 采用上述优化参数进行酶解实验, 实际测得酶解物ACE抑制率为81.52%, 与理论预测值的相对误差为0.3%, 表明采用响应面分析法优化得到的酶解工艺参数准确可靠, 具有实用价值。

### 3 结论

主要研究了Alcalase酶解鳙鱼鱼肉蛋白制备具有ACE抑制活性酶解物的工艺条件。首先以酶解物ACE抑制率为指标, 通过单因素实验确定了[S]、温度、pH、加酶量和水解时间5个因素的最适水平范围。在底物浓度和pH确定后, 又通过响应面分析法优化了加酶量、温度和水解时间3个因素。结果表明最佳酶解条件为: [S]6%、加酶量2.2%、温度57°C、pH9.0、水解时间6.4h, 此条件下ACE抑制率理论值为81.77%, 验证实验结果ACE抑制率为81.52%, 与理论值相符合。

### 参考文献

[1] 李琳, 赵谋明, 吴敏芝, 等. 鳙鱼抗氧化肽延缓衰老的研究

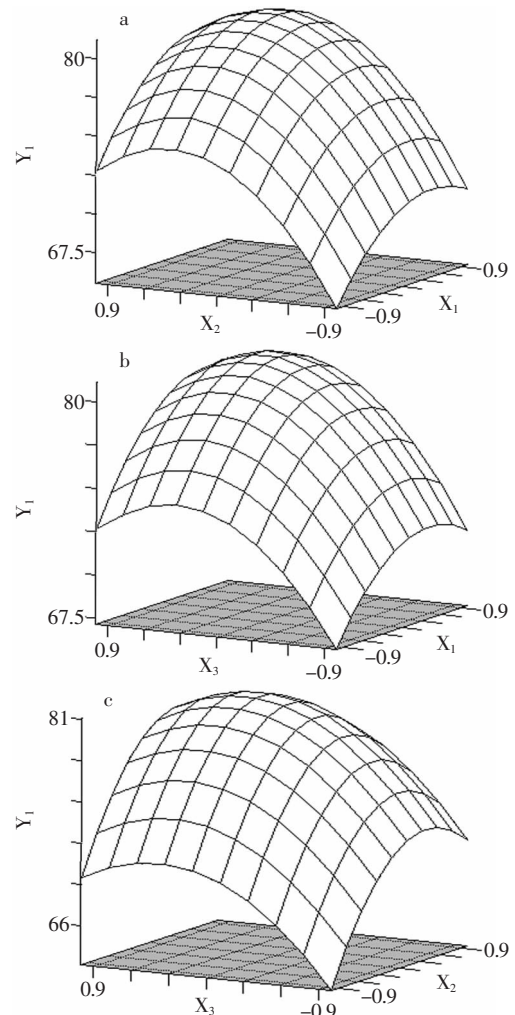


图6 水解条件对ACE抑制率影响的响应面立体图

Fig.6 Response plots showing the effect of hydrolysis conditions on the ACE inhibitory rate

[J]. 中国食品学报, 2007(7):43-47.

[2] 辛志宏, 马海乐, 吴守一. 食品蛋白质中血管紧张素转化酶抑制肽的研究[J]. 江苏大学学报: 自然科学版, 2003, 24(4):7-24.

[3] Ferreira SH, Silva Rocha e M. Potentiation of bradykinin and eledoisin by BPF (bradykinin potentiating factor) from *Bothrops jararaca* venom[J]. Experientia, 1965, 21(6):347-349.

[4] 孙晔, 孙春玉, 陈光. 大豆分离蛋白水解物降血压活性的体外检测[J]. 食品科学, 2010, 31(9):272-275.

[5] 管晓, 姚惠源. 酶法制备燕麦麸蛋白ACE抑制肽的研究[J]. 食品与机械, 2006, 22(6):12-15.

[6] Tsai JS, Chen JL, Pan BS. ACE-inhibitory peptides identified from the muscle protein hydrolysate of hard clam (*Meretrix lusoria*) [J]. Process Biochemistry, 2008, 43:743-747.

[7] Xia SH, Wang Z, Xu SY. Characteristics of *Bellamya purificata* snail foot protein and enzymatic hydrolysates[J]. Food Chemistry, 2007, 101:1188-1196.

[8] He HL, Chen XL, Sun CY, et al. Preparation and functional evaluation of oligopeptide-enriched hydrolysate from shrimp (*Acetes chinensis*) treated with crude protease from *Bacillus* sp.

(下转第220页)

从图2发酵过程中pH、还原糖的变化看出,发酵12~48h发酵液中还原糖下降迅速,说明菌种处于对数生长期,培养基中草料及其他基质被利用。菌种生物量增长且产酸,发酵液的pH下降。60h后,发酵过程基本结束。pH也趋于稳定在2.5左右。从图3可见,发酵过程中酸度、产酸率在12~60h之间增加较快,到60h后产酸不再增加,也说明到60h时发酵趋于结束。产酸达0.82%。稻草纤维素的产酸转化率达22%。

通过测定发酵原料和残渣中纤维素和半纤维素的含量发现,由于发酵过程中菌体生物量的增加,发酵过程纤维素、半纤维素的变化不能反映发酵液中草料的变化(数据未列出)。但通过测定发酵过程中固形物与原料中草料的质量差(即固形物的变化)如图4可知,发酵开始阶段草料的利用大于菌体的生长,固形物的变化为负;随着菌体的生长,生物量的增加大于草料的利用,固形物的变化为正;到48h后,菌体的对数生长期转入稳定期;从72~84h菌体已到衰亡期,固形物的变化有所降低。

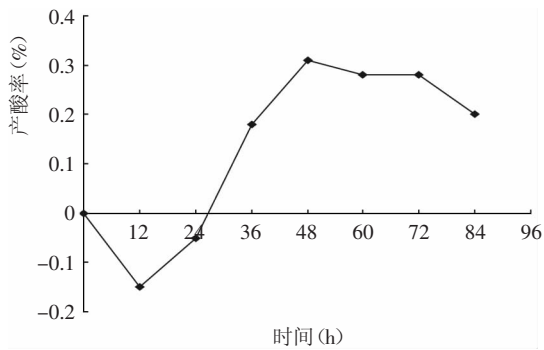


图4 发酵过程中固形物的变化

Fig.4 The fermentation process of changes of change in solids

从实验结果看,发酵过程菌体生长迅速,发酵过程纤维素草料利用快。直接利用菌株S6的纤维素酶系和产酸酶系分解纤维素原料产酸,纤维素酶解和产酸进行偶联,省去了纤维素原料糖化过程<sup>[9-10]</sup>,节约了秸秆类纤维素利用的成本。因此,菌株S6有进一步研究和开发的价值。

### 3 结论与讨论

有关用淀粉质以外的原料产柠檬酸的研究中,有报道用甘蔗渣<sup>[11]</sup>、苹果渣<sup>[12]</sup>、纤维素水解液<sup>[9-10]</sup>等产柠檬酸的研究。由于目前的纤维素酶活力不高,使纤维素酶解糖化的成本高,限制了纤维素原料的高值化工业应用。本文利用驯化筛选的黑曲霉S6对直接利用纤维素原料产柠檬酸进行了初步研究,结果表

明,菌株S6能利用纤维素原料产酸,且预处理稻草为产酸的适宜碳源。以预处理稻草为碳源,发酵12h CMC酶活力达218.4U/mL,滤纸酶活力44.1U/mL,发酵60h产酸率达22%。酶解和产酸偶联进行,省去了将纤维素酶解的步骤,节约了成本。此外,发酵提取柠檬酸后的残渣(菌体+未利用的秸秆成分)可作为动物饲料,因为发酵过程增加了残渣的蛋白质含量,降低了原料中难以消化吸收的物质等。

研究中发现,菌株S的纤维素酶不耐酸,纤维素酶失活快。如何提高菌株S的纤维素酶酶活力、产酸率;特别是如何提高纤维素酶耐酸能力保持其在低pH下的活力是具有挑战性的课题,有待进一步研究探索。

### 参考文献

- [1] 方翎,秦玉琪,李雪芝,等. 纤维素酶与木质纤维素生物转化的研究进展[J]. 生物工程学报,2010,26(7):864-869.
- [2] Namita B, Chetna J, Rupinder T, et al. Highly Thermostable and pH-Stable Cellulases from *Aspergillus niger* NS-2: Properties and Application for Cellulose Hydrolysis[J]. Appl Biochem Biotechnol, 2014, 172: 141-156.
- [3] 盛晓晓,周如金,唐玉斌. 纤维素原料制取燃料酒精的研究概述[J]. 食品与发酵工业,2012,38(1):138-142.
- [4] 叶生梅,许盼吉,汪江林. 稻草秸秆的预处理及发酵乙醇的实验研究[J]. 中国粮油学报,2009,24(6):133-136.
- [5] 沈萍,陈向东. 微生物学实验[M]. 北京:高等教育出版社,2007:51-52.
- [6] 王博彦,金其荣. 发酵有机酸与应用手册[M]. 北京:中国轻工业出版社,2000:49-50;72-73.
- [7] 王德培,周婷,张灵燕,等. 氨离子注入和微波复合诱变选育高产柠檬酸的黑曲霉研究[J]. 中国酿造,2012,31(5):123-127.
- [8] 甄静,王继雯,谢宝恩,等. 一株纤维素降解真菌的筛选、鉴定及酶学性质分析[J]. 微生物学通报,2011,38(5):709-714.
- [9] 谢慧君,卢利方,陈建,等. 纤维素热解后用于柠檬酸发酵的研究[J]. 食品工业科技,2005,26(11):149-150.
- [10] 刘毅,袁月华. 稻草纤维素糖化液发酵柠檬酸的条件研究[J]. 广东农业科学,2012(15):86-89.
- [11] Masoud Y, Adel H, Seyed A, et al. Citric Acid Production from Sugarcane Bagasse through Solid State Fermentation Method using *Aspergillus niger* Mold and Optimization of Citric Acid Production by Taguchi Method[J]. Jundishapur J Microbiol, 2013 6(9):e7625.
- [12] 吴怡莹,张苓花,明静文,等. 以苹果渣为原料固体发酵生产柠檬酸的研究[J]. 大连轻工业学院学报,1994,13(2):72-77.

(上接第216页)

- SM98011[J]. Bioresource Technology, 2006, 97: 385-390.
- [9] 刘萍,陈黎斌,杨严俊. 酶解玉米蛋白制备降血压肽的研究[J]. 食品工业科技,2006,27(5):117-122.
- [10] Cushman DW, Cheung HS. Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung[J]. Biochemical Pharmacology, 1971, 20(7):1637-1648.

- [11] 易起达,王茜茜,王立峰,等. 酶解制备菜籽蛋白肽条件的优化[J]. 食品科学,2013,34(1):166-170.
- [12] 张效荣,吕顺,陆剑,等. 酶解鲟鱼皮明胶制备ACE抑制肽的工艺条件优化[J]. 食品工业科技,2012,33(18):302-305.
- [13] 袁晓晴,戴志远,叶婧,等. 鲟鱼鱼肉蛋白的酶解工艺研究[J]. 食品科技,2009,34(2):136-139.