

响应面优化豆粕生物肽的生产工艺研究

李丹^{1,2}, 刘春雷¹, 刘昊飞⁴, 江连洲^{2,3}

(1. 宁德师范学院, 福建 宁德 352100; 2. 东北农业大学 食品学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 3. 国家大豆工程技术研究中心, 黑龙江 哈尔滨 150030; 4. 黑龙江省农业科学院 人事教育处, 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:以高温豆粕为原料, 枯草芽孢杆菌为试验菌株, 在单因素试验基础上, 以发酵液 α -N 含量为响应值, 对摇瓶发酵制备大豆肽工艺条件进行响应面优化。确定最佳工艺条件为: 豆粕粒度 40 目, 初始 pH 6.8, 种子培养时间 16.25 h, 碳源用量 1.75%, 豆粕用量 10.75%, 接种量 6.25%, 发酵时间 48 h。在此条件下, 发酵液 α -N 含量为 $1\ 737\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

关键词: 高温豆粕; 枯草芽孢杆菌; 大豆肽; 响应面

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2011)05-0851-06

Response Surface Optimization of Soybean Production Technology of Bio-peptide

LI Dan^{1,2}, LIU Chun-lei¹, LIU Hao-fei⁴, JIANG Lian-zhou^{2,3}

(1. Ningde Normal University, Ningde 352100, Fujian; 2. Food College of Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang; 3. National Research Center of Soybean Engineering and Technology, Harbin 150030, Heilongjiang; 4. Personnel Education Department, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150030, Heilongjiang, China)

Abstract: Based on single factor experiment, the technology of preparing soybean peptide from shake-flask fermentation was optimized by response surface optimization method, taking α -N content in broth as response value, with high temperature soybean meal and *Bacillus subtilis* as material. The optimized conditions were: soybean meal size 40 mesh, initial pH 6.8, cultivation time 16.25 h, carbon amount 1.75%, soybean meal amount 10.75%, inoculation amount 6.25%, fermentation time 48 h. Under these conditions, the α -N content of broth was $1\ 737\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$.

Key words: Soybean meal; *Bacillus subtilis*; Fermentation; Response surface

近年来,消费者对食品的安全、卫生等问题日益关注,而饲料安全是畜产品安全和食品安全的一个重要环节。因此,世界各国都在加速开发、推广新型安全高效的绿色饲料添加剂,以减少或替代药物饲料添加剂的使用。大豆肽是大豆蛋白的水解产物,易被消化吸收,抗原性较低,具有促进矿物质吸收、增强免疫功能等多种生理功能^[1-2],这些功能使大豆肽在饲料中的应用成为可能。

目前,大豆肽的生产多采用酶水解法^[3]。由于商品酶制剂的价格昂贵,使大豆肽的生产成本较高,限制了其在畜牧业中的广泛应用。微生物发酵法制备大豆肽,将酶的生产和应用合二为一,省去了中间步骤,可以大大降低大豆肽的生产成本^[4]。

该文以高温豆粕为原料,枯草芽孢杆菌为试验菌株,在单因素试验基础上,以发酵液 α -N 含量为响应值,对摇瓶发酵制备大豆肽工艺条件进行响应面优化,旨在为大豆肽的发酵法生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

高温豆粕:哈工大集团中大植物蛋白股份公司;枯草芽孢杆菌:东北农业大学食品学院;斜面培养基^[5]:牛肉膏 0.5%,蛋白胨 1.0%,葡萄糖 1.0%, NaCl 0.5%,琼脂粉 2%, pH 7.2~7.4, 121℃ 灭菌 15 min;种子培养基^[5]:高温豆粕 5%,大豆蛋白胨 1%,牛肉膏 3%,葡萄糖 5%,MgCl₂ 0.02%,K₂HPO₄ 0.01%,自然 pH, 121℃ 灭菌 15 min。

1.2 试验方法

1.2.1 斜面培养及种子培养 试管斜面培养:30℃ 恒温培养 24 h。摇瓶种子培养:用接种针从活化的斜面培养基上挑一环菌接到装有 100 mL 种子培养基的 250 mL 三角瓶中,30℃、180 r·min⁻¹ 摇床培养 48 h。

1.2.2 α -N 含量的测定 将发酵液 5 000 r·min⁻¹ 离心 20 min,取上清液 2 mL,加 40 mL 蒸馏水稀释,

收稿日期:2011-07-12

基金项目:宁德师范学院科研资助项目(2009-Y-035);黑龙江省科技厅“十一五”重大攻关资助项目(GA06B402-08-4)。

第一作者简介:李丹(1983-),女,讲师,在读博士,研究方向为粮食、油脂及植物蛋白工程。E-mail:ld610780@yahoo.com.cn。

通讯作者:江连洲(1960-),男,博士,教授,研究方向为粮食、油脂及植物蛋白工程。E-mail:jlzname@163.com。

然后从中取出 20 mL 样品稀释液,开动磁力搅拌器,用 0.1 mol · L⁻¹ 的 NaOH 溶液滴定到 pH 8.2,加入 10 mL 37% 的甲醛溶液(所用甲醛溶液先用 0.1 mol · L⁻¹ 的 NaOH 溶液滴定到 pH 8.2),再用 0.05 mol · L⁻¹ 的 NaOH 标准溶液滴定到 pH 9.2。记录加入甲醛后把溶液滴定到 pH 9.2 时所耗碱量。然后按照下式计算发酵液中 α-N 含量^[6-7]。

$$X = \frac{(V_1 - V_0) \times c \times 0.014}{2 \times V_2 / 40} \times 10^6$$

X——样品中氨基态氮的含量, μg · mL⁻¹;

V₀——空白试验加入甲醛后消耗氢氧化钠标准溶液的体积, mL;

V₁——测定用样品稀释液加入甲醛后消耗氢氧化钠标准溶液的体积, mL;

V₂——样品稀释液取用量, mL;

C——氢氧化钠标准溶液的浓度, mol · L⁻¹;

0.014——1.00 mL 氢氧化钠标准溶液(浓度为 1.000 mol · L⁻¹)相当的氮的质量, g。

1.3 数据分析

采用 SAS 9.1.3 和 Matlab 2010 进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 响应面设计及其回归分析

2.1.1 响应面设计结果 为获得枯草芽孢杆菌发酵高温豆粕制备大豆肽的最佳工艺参数,在单因素试验基础上,以种子培养时间、碳源用量、豆粕用量和接种量 4 个因素为自变量,发酵液 α-N 含量为响应值,设计 4 因素 5 水平的二次回归方程来拟合因素和响应值之间的函数关系,采用响应面分析法来寻求发酵最优工艺参数。其因素水平编码见表 1,试验方案与结果见表 2。

表 1 因素水平编码表

Table 1 Factors and levels in central composite design

因素 Factor	种子培养时间 Culture time/h	碳源用量 Carbon source content/%	豆粕用量 Soybean meal content/%	接种量 Inoculation volume/%
	x ₁	x ₂	x ₃	x ₄
γ(2)	18	2.5	12	8
1	17	2	11	7
0	16	1.5	10	6
-1	15	1	9	5
-γ(-2)	14	0.5	8	4

表 2 响应面设计试验方案及结果

Table 2 The experimental program and results in central composite design

实验号 Test No.	x ₁	x ₂	x ₃	x ₄	Y(发酵液 α-N 含量) α-N content of fermentation fluid /μg · mL ⁻¹
1	-1	-1	-1	-1	1352
2	-1	-1	-1	1	1389
3	-1	-1	1	-1	1427
4	-1	-1	1	1	1380
5	-1	1	-1	-1	1374
6	-1	1	-1	1	1497
7	-1	1	1	-1	1576
8	-1	1	1	1	1591
9	1	-1	-1	-1	1353
10	1	-1	-1	1	1428
11	1	-1	1	-1	1543
12	1	-1	1	1	1585
13	1	1	-1	-1	1389
14	1	1	-1	1	1501
15	1	1	1	-1	1552
16	1	1	1	1	1658
17	-2	0	0	0	1445
18	2	0	0	0	1560
19	0	-2	0	0	1464
20	0	2	0	0	1624
21	0	0	-2	0	1363
22	0	0	2	0	1651
23	0	0	0	-2	1355
24	0	0	0	2	1447
25	0	0	0	0	1688
26	0	0	0	0	1692
27	0	0	0	0	1703
28	0	0	0	0	1677
29	0	0	0	0	1695
30	0	0	0	0	1717
31	0	0	0	0	1654
32	0	0	0	0	1673
33	0	0	0	0	1669
34	0	0	0	0	1705
35	0	0	0	0	1701
36	0	0	0	0	1699

2.1.2 回归分析 试验数据通过统计分析软件 SAS 9.1.3 进行二次回归分析,建立二次响应面回归模型为:

$$Y = 1689.42 + 27.21x_1 + 41.71x_2 + 66.88x_3 + 26.96x_4 - 18.69x_1x_2 + 19.06x_1x_3 + 12.94x_1x_4 + 12.69x_2x_3 + 15.56x_2x_4 - 14.44x_3x_4 - 49.05x_1^2 - 38.68x_2^2 - 47.93x_3^2 - 74.4x_4^2$$

通过二次回归方差分析(ANOVA)、拟合统计(Fit Statistics)分析和参数估计(Parameter Estimates)分析对建立的二次响应面回归模型进行检验。二次回归方差分析结果见表 3,回归模型拟合统计结果见表 4,回归方程参数估计检验结果见表 5。

表 3 二次回归方差分析

Table 3 Analysis of variance quadratic regression

来源 Source	自由度 DF	平方和 Sum of squares	均方 Mean square	F 值 F Value	Pr > F
x_1	1	17767.04	17767.04	33.78376	0.0001
x_2	1	41750.04	41750.04	79.38708	0.0001
x_3	1	107334.4	107334.4	204.0947	0.0001
x_4	1	17442.04	17442.04	33.16578	0.0001
x_1x_1	1	76995.42	76995.42	146.4056	0.0001
x_1x_2	1	5587.563	5587.563	10.62467	0.003747
x_1x_3	1	5814.063	5814.063	11.05535	0.003217
x_1x_4	1	2678.063	2678.063	5.092296	0.034816
x_2x_2	1	47869.34	47869.34	91.02282	0.0001
x_2x_3	1	2575.563	2575.563	4.897393	0.038105
x_2x_4	1	3875.063	3875.063	7.368373	0.012986
x_3x_3	1	73504.17	73504.17	139.7671	0.0001
x_3x_4	1	3335.063	3335.063	6.341571	0.019974
x_4x_4	1	177260.5	177260.5	337.0582	0.0001
模型误差 Model Error	14	583788.3	41699.16	79.29033	0.0001
失拟项总和 Lack of fit Total	21	11044	525.9048	2.323129	0.091442
	10	7495.083	749.5083		
	35	594832.3			

表 4 回归模型拟合统计结果

Table 4 Fitting results of regression model

项目 Term	均值 Mean	均方根误差 RMSE	R^2 R-square	停止 R^2 Adj. R-square	变异系数 CV
数值 Value	1549.361	22.93261	98.14%	96.91%	1.480134

表 5 回归方程参数估计检验结果

Table 5 Estimation test results of regression parameter

项目 Term	估计值 Estimate	标准误 Standard error	t 值 t value	Pr > t
x_1	27.208333	4.681100	5.812380	0.0001
x_2	41.708333	4.681100	8.909943	0.0001
x_3	66.875000	4.681100	14.286170	0.0001
x_4	26.958333	4.681100	5.758974	0.0001
x_1x_1	-49.052080	4.053952	-12.099800	0.0001
x_1x_2	-18.687500	5.733153	-3.259550	0.003747
x_1x_3	19.062500	5.733153	3.324959	0.003217
x_1x_4	12.937500	5.733153	2.256612	0.034816
x_2x_2	-38.677080	4.053952	-9.540590	0.0001
x_2x_3	12.687500	5.733153	2.213006	0.038105
x_2x_4	15.562500	5.733153	2.714475	0.012986
x_3x_3	-47.927080	4.053952	-11.822300	0.0001
x_3x_4	-14.437500	5.733153	-2.518250	0.019974
x_4x_4	-74.427080	4.053952	-18.359100	0.0001

由表 3 可知, x_1 、 x_2 、 x_3 、 x_4 、 x_1x_1 、 x_1x_2 、 x_1x_3 、 x_2x_2 、 x_3x_3 、 x_4x_4 对 Y 值影响极显著($P < 0.01$), x_1x_4 、 x_2x_3 、 x_2x_4 、 x_3x_4 对 Y 值影响显著($P < 0.05$)。模型(Model)极显著($P < 0.01$), 失拟项(Lack of fit, 表示模型预测值与实际值不拟合的概率)^[8]不显著($P > 0.05$), 说明该回归模型选择合适、显著成立。

表 4 中的 R^2 和 Adj. R^2 (修正 R^2) 用于描述回归模型所能解释的方差比例。由表 4 可知, 二者都大于 95%, 说明该回归模型拟合程度很高。表 5 给出了用普通最小二乘法(OLS)计算的参数估计, 可以看出回归模型各项参数估计的显著

性检验 P 值($Pr > |t|$) 都小于 0.05, 说明它们对回归模型的贡献都是显著的。综合以上分析可以确定, 该回归模型方程能够很好的反映真实的试验值, 可以用该模型来分析响应值的变化。

2.2 响应面分析

由表 3 可知, x_1 和 x_2 、 x_1 和 x_3 交互作用对响应值影响极显著, x_1 和 x_4 、 x_2 和 x_3 、 x_2 和 x_4 、 x_3 和 x_4 交互作用对响应值影响显著, 故此根据回归模型方程绘制 $Y=f(x_1, x_2)$ 、 $Y=f(x_1, x_3)$ 、 $Y=f(x_1, x_4)$ 、 $Y=f(x_2, x_3)$ 、 $Y=f(x_2, x_4)$ 、 $Y=f(x_3, x_4)$ 的响应面和等高线图, 并进行分析。

2.2.1 种子培养时间(x_1)和碳源用量(x_2)对发酵液 α -N 含量(Y)的影响 将模型中的豆粕用量(x_3)和接种量(x_4)固定在 0 水平上,可以得到种子培养时间(x_1)和碳源用量(x_2)对发酵液 α -N 含量(Y)的子模型:

$$Y = 1689.42 + 27.21x_1 + 41.71x_2 - 18.69x_1x_2 - 49.05x_1^2 - 38.68x_2^2$$

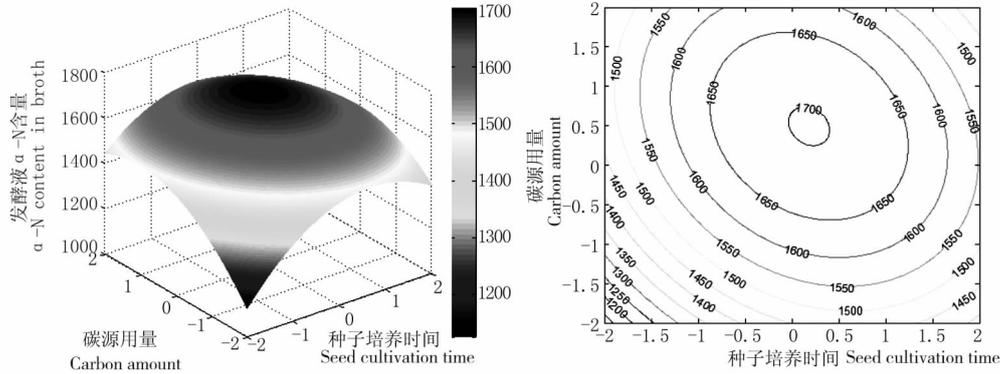


图1 图1 种子培养时间(x_1)和碳源用量(x_2)对发酵液 α -N 含量(Y)的影响

Fig.1 Effect of of seed dultivation time (x_1) and t carbon amount (x_2) on broth α -N content (Y)

2.2.2 种子培养时间(x_1)和豆粕用量(x_3)对发酵液 α -N 含量(Y)的影响 将模型中的碳源用量(x_2)和接种量(x_4)固定在 0 水平上,可以得到种子培养时间(x_1)和豆粕用量(x_3)对发酵液 α -N 含量(Y)的子模型:

$$Y = 1689.42 + 27.21x_1 + 66.88x_3 + 19.06x_1x_3 - 49.05x_1^2 - 47.93x_3^2$$

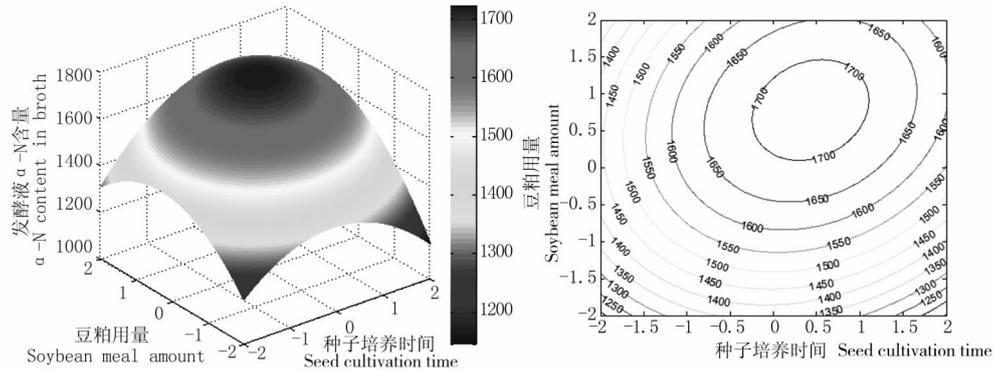


图2 种子培养时间(x_1)和豆粕用量(x_3)对发酵液 α -N 含量(Y)的影响

Fig.2 Effect of seed cultivation time(x_1) and soybean meal amount(x_3) on broth α -N content(Y)

2.2.3 种子培养时间(x_1)和接种量(x_4)对发酵液 α -N 含量(Y)的影响 将模型中的碳源用量(x_2)和豆粕用量(x_3)固定在 0 水平上,可以得到种子培养时间(x_1)和接种量(x_3)对发酵液 α -N 含量(Y)的子模型:

$$Y = 1689.42 + 27.21x_1 + 26.96x_4 + 12.94x_1x_4 - 49.05x_1^2 - 74.4x_4^2$$

由图 3 可以看出,当碳源用量(x_2)和豆粕用量(x_3)固定在 0 水平上(即碳源用量为 2%,豆粕用量为 11%)、种子培养时间(x_1)不变时,随着接种量(x_4)的增加,发酵液 α -N 含量(Y)先增高后降低;当

由图 1 可以看出,当豆粕用量(x_3)和接种量(x_4)固定在 0 水平上(即豆粕用量为 11%,接种量为 6%)、种子培养时间(x_1)不变时,随着碳源用量(x_2)的增加,发酵液 α -N 含量(Y)先增高后降低;当 x_2 不变时,随着 x_1 的增加, Y 先增高后降低。综合 2 个图得出: x_1 在 16 ~ 17 h、 x_2 在 1.5% ~ 2.0% 时, Y 极值可取到 1 651.9 ~ 1 689.4 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

由图 2 可以看出,当豆粕用量(x_2)和接种量(x_4)固定在 0 水平上(即碳源用量为 2%,接种量为 6%)、种子培养时间(x_1)不变时,随着豆粕用量(x_3)的增加,发酵液 α -N 含量(Y)先增高后降低;当 x_3 不变时,随着 x_1 的增加, Y 先增高后降低。综合 2 个图得出: x_1 在 16 ~ 17 h、 x_3 在 10.5% ~ 11.0% 时, Y 极值可取到 1 705.6 ~ 1 710.9 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

x_4 不变时,随着 x_1 的增加, Y 先增高后降低。综合 2 个图得出: x_1 在 16 ~ 17 h、 x_4 在 6.0% ~ 6.5% 时, Y 极值可取到 1 668.9 ~ 1 689.4 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.2.4 碳源用量(x_2)和豆粕用量(x_3)对发酵液 α -N 含量(Y)的影响 将模型中的种子培养时间(x_1)和接种量(x_4)固定在 0 水平上,可以得到碳源用量(x_2)和豆粕用量(x_3)对发酵液 α -N 含量(Y)的子模型:

$$Y = 1689.42 + 41.71x_2 + 66.88x_3 + 12.69x_2x_3 - 38.68x_2^2 - 47.93x_3^2$$

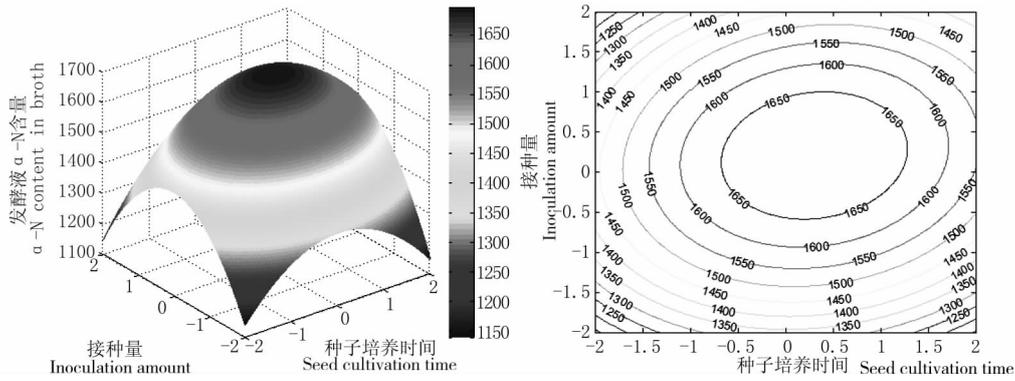


图3 种子培养时间(x_1)和接种量(x_4)对发酵液 α -N 含量(Y)的影响

Fig.3 Effect of seed cultivation time(x_1) and inoculation amount (x_4) on α -N content in broth (Y)

由图4可以看出,当种子培养时间(x_1)和接种量(x_4)固定在0水平上(即种子培养时间为16 h,接种量为6%)、碳源用量(x_2)不变时,随着豆粕用量(x_3)的增加,发酵液 α -N 含量(Y)先增高后降低;当 x_3 不

变时,随着 x_2 的增加, Y 先增高后降低。综合2个图得出: x_2 在1.75%~2.00%、 x_3 在10.5%~11.0%时, Y 极值可取到1 724.1~1 725.2 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

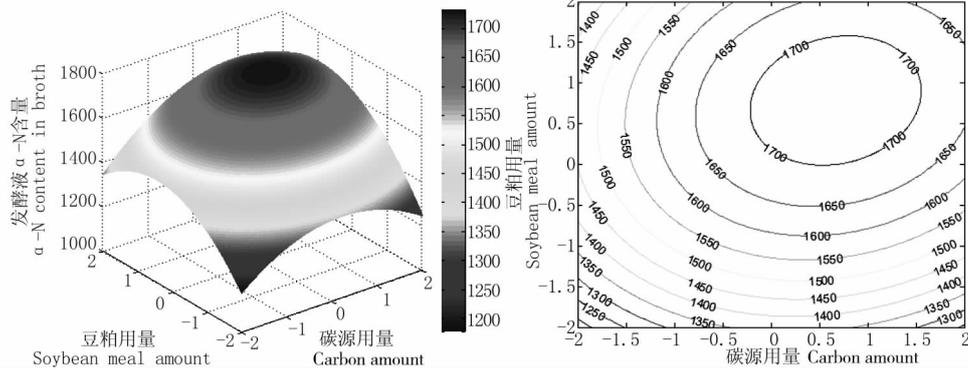


图4 碳源用量(x_2)和豆粕用量(x_3)对发酵液 α -N 含量(Y)的影响

Fig.4 Effect of carbon amount (x_2) and soybean meal amount (x_3) on broth α -N content (Y)

2.2.5 碳源用量(x_2)和接种量(x_4)对发酵液 α -N 含量(Y)的影响 将模型中的种子培养时间(x_1)和豆粕用量(x_3)固定在0水平上,可以得到碳源用量(x_2)和接种量(x_4)对发酵液 α -N 含量(Y)的子模型:

用量(x_3)固定在0水平上(即种子培养时间为16 h,豆粕用量为11%)、碳源用量(x_2)不变时,随着接种量(x_4)的增加,发酵液 α -N 含量(Y)先增高后降低;当 x_4 不变时,随着 x_2 的增加, Y 先增高后降低。综合2个图得出: x_2 在1.75%~2.00%之间、 x_4 在6.0%~6.5%时, Y 极值可取到1 695.1~1 700.6 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

$$Y = 1689.42 + 41.71x_2 + 26.96x_4 + 15.56x_2x_4 - 38.68x_2^2 - 74.4x_4^2$$

由图5可以看出,当种子培养时间(x_1)和豆粕

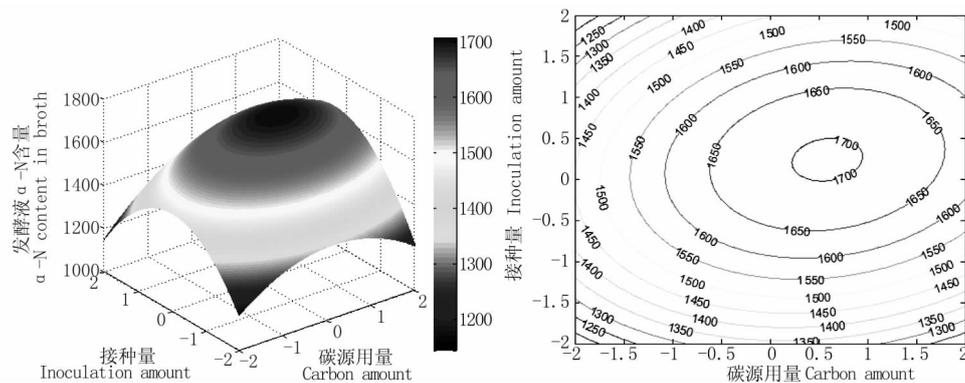


图5 碳源用量(x_2)和接种量(x_4)对发酵液 α -N 含量(Y)的影响

Fig.5 Effect of carbon amount(x_2) and inoculation amount (x_4) on broth α -N content (Y)

2.2.6 豆粕用量(x_3)和接种量(x_4)对发酵液 α -N含量(Y)的影响 将模型中的种子培养时间(x_1)和碳源用量(x_2)固定在0水平上,可以得到豆粕用量(x_3)和接种量(x_4)对发酵液 α -N含量(Y)的子模型:

$$Y = 1689.42 + 66.88x_3 + 26.96x_4 - 14.44x_3x_4 - 47.93x_3^2 - 74.4x_4^2$$

由图6可以看出,当种子培养时间(x_1)和碳源

用量(x_2)固定在0水平上(即种子培养时间为16 h,碳源用量为2%)、豆粕用量(x_3)不变时,随着接种量(x_4)的增加,发酵液 α -N含量(Y)先增高后降低;当 x_4 不变时,随着 x_3 的增加, Y 先增高后降低。综合2个图得出: x_3 在10.5%~11.0%、 x_4 在6.0%~6.5%时, Y 极值可取到1696.0~1710.9 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

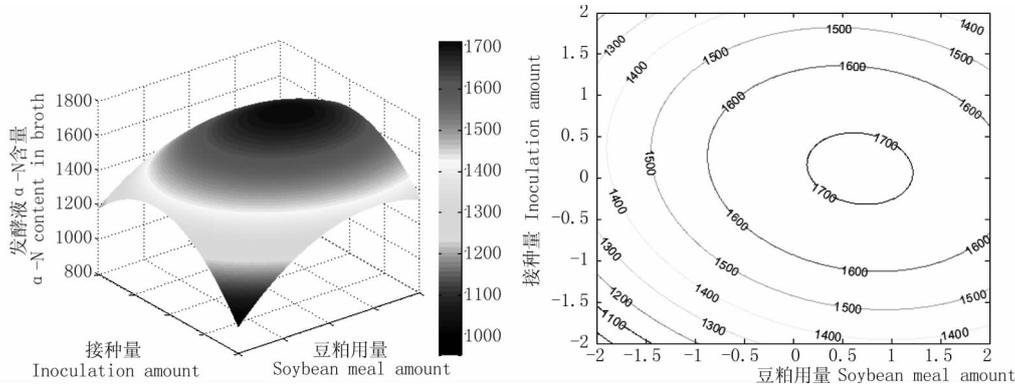


图6 豆粕用量(x_3)和接种量(x_4)对发酵液 α -N含量(Y)的影响

Fig. 6 Effect of soybean meal (x_3) and inoculation amount (x_4) on broth α -N content (Y)

2.2.7 响应面优化结果 通过响应面分析得到发酵液最大 α -N含量预测值条件为:种子培养时间16.25 h、碳源用量1.75%、豆粕用量10.75%、接种量6.25%,该条件下发酵液 α -N含量为1735.67 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.3 验证试验

对响应面分析得出的最优条件进行验证试验(3次平行试验),得到发酵液 α -N含量平均值为1737 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,与回归方程预测值吻合良好,表明该回归模型是合理有效的。

3 结论

利用枯草芽孢杆菌发酵高温豆粕来生产大豆肽,以发酵液 α -N含量来反映高温豆粕降解成大豆肽的程度。在单因素试验基础上,以发酵液 α -N含量为响应值,对摇瓶发酵条件进行了响应面优化。综合单因素和响应面分析结果,确定摇瓶发酵生产大豆肽最优条件为:发酵培养基豆粕粒度40目,自然pH(6.8左右),种子培养时间16.25 h,碳源用量1.75%,豆粕用量10.75%,接种量6.25%,发酵时间48 h。经验证,在此条件下发酵液 α -N含量为可达1737 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

参考文献

[1] 黄骊虹. 大豆多肽的生理功能及应用(一)[J]. 食品科技, 1999(3):50-51. (Huang L H. The physiological function and application of soybean peptide(I)[J]. Food Technology, 1999(3):50-51.)

[2] 黄骊虹. 大豆多肽的生理功能及应用(二)[J]. 食品科技, 1999(4):51-52. (Huang L H. The physiological function and application of soybean peptide (II) [J]. Food Technology, 1999(4):51-52.)

[3] 陈宏军. 饲用大豆肽生产菌株的初步筛选及发酵条件研究[J]. 饲料与添加剂, 2008(5):48-50. (Chen H J. The research of fermentation conditions and the initial screening for feeding strain of soybean peptides production[J]. Feed and Additives, 2008(5):48-50.)

[4] 刘唤明, 黄志诚. 固态发酵法生产大豆肽的工艺研究[J]. 饲料研究, 2008(12):12. (Liu H M, Huang Z C. The technology for solid-state fermentation production of soybean peptides [J]. Feed Research, 2008(12):12.)

[5] 刘昊飞, 陈霞, 赵贵兴, 等. 豆粕生物肽的生产工艺研究[J]. 大豆科学, 2010, 29(1):101-102. (Liu H F, Chen X, Zhao G X, et al. Processing technology of biological peptide from soybean meal [J]. Soybean Science, 2010, 29(1):101-102.)

[6] 沈晓东. 脱脂豆粕酸法水解条件的研究[J]. 江南大学学报, 2000, 15(4):86-88. (Shen X D. The research of acid hydrolysis conditions for defatted soybean meal [J]. Journal of Jiangnan University, 2000, 15(4):86-88.)

[7] 赵新淮, 冯志彪. 蛋白质水解物水解度的确定[J]. 食品科学, 1994(11):65-67. (Zhao X H, Feng Z B. Determine on hydrolysis degree for protein hydrolyzate [J]. Food Science, 1994(11):65-67.)

[8] 许晶, 江连洲, 李杨, 等. 酶水解高温豆粕制备高水解度大豆肽的研究[J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(4):98-102. (Xu J, Jiang L Z, Li Y, et al. Study on preparation of high-DH soy peptides by enzymatic hydrolysis high-temperature soybean meal [J]. Food and Fermentation Industry, 2009, 35(4):98-102.)