

# 豆粕酶解及其品质改善研究

陈思<sup>1</sup>, 张雪芳<sup>1</sup>, 肖琼<sup>1,2,3</sup>, 陈艳红<sup>1,2,3</sup>, 倪辉<sup>1,2,4</sup>, 肖安风<sup>1,2,3,4</sup>

(1. 集美大学食品与生物工程学院, 福建 厦门 361021; 2. 福建省海洋功能食品工程技术研究中心, 福建 厦门 361021;  
3. 厦门市海洋功能食品重点实验室, 福建 厦门 361021; 4. 福建省食品微生物与酶工程重点实验室, 福建 厦门 361021)

**[摘要]** 为充分利用豆粕资源, 提高蛋白质消化率, 减轻非淀粉多糖的抗营养作用, 采用中性蛋白酶、酸性蛋白酶、纤维素酶和木聚糖酶 4 种酶制剂, 以不同组合方式在自然 pH 值的条件下对豆粕进行酶解, 逐一研究酶用量及酶解时间对豆粕品质的影响, 并对 pH 值、蛋白质水解度、还原糖释放量和感官评价等指标进行综合分析。结果表明: 添加 30 U/g 中性蛋白酶和 50 U/g 酸性蛋白酶水解 48 h 后, 最大蛋白质水解度达到 22.7%; 添加 30 U/g 中性蛋白酶、50 U/g 酸性蛋白酶、50 U/g 纤维素酶和 50 U/g 木聚糖酶 48 h 后, 还原糖释放量达到最大值 1.91%。

**[关键词]** 豆粕; 酶解; 蛋白质水解度; 品质分析

**[中图分类号]** Q 556.9

## Study on Characterization Analysis and Enzymolysis of Soybean Meal

CHEN Si<sup>1</sup>, ZHANG Xuefang<sup>1</sup>, XIAO Qiong<sup>1,2,3</sup>, CHEN Yanhong<sup>1,2,3</sup>,  
NI Hui<sup>1,2,4</sup>, XIAO Anfeng<sup>1,2,3,4</sup>

(1. College of Food and Biological Engineering, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. Fujian Provincial Engineering Technology Research Center of Marine Functional Food, Xiamen 361021, China;

3. Xiamen Key Laboratory of Marine Functional Food, Xiamen 361021, China;

4. Key Laboratory of Food Microbiology and Enzyme Engineering of Fujian Province, Xiamen 361021, China)

**Abstract:** In order to make full use of soybean meal, improve the protein digestibility and reduce the anti-nutritional effects of non-starch polysaccharides, four exogenous enzymes( neutral protease, acid protease, cellulase, xylanase) were added to hydrolyze soybean meal in different combinations under the condition of natural pH. The effects of enzyme dosage and enzymolysis time on the quality of soybean meal were investigated and the different treatments were compared by comprehensive analysis of pH, degree of hydrolysis, release of reducing sugar and sensory evaluation. The results showed that with the addition of 30 U/g neutral protease and 50 U/g acid protease for 48 h, the maximum degree of proteolysis was 22.7%; Under the action of adding protease with 30 U/g, acid protease with 50 U/g, cellulose with 50 U/g and xylanase with 50 U/g for 48 h, the release of reducing sugar reached the maximum of 1.91%.

**Keywords:** soybean meal; enzymolysis; degree of hydrolysis; characterization analysis

[收稿日期] 2017-11-29

[修回日期] 2018-04-20

[基金项目] 福建省高校产学研合作项目(2016N5008); 福建省科技重大专项项目(2015NZ0001-1)

[作者简介] 陈思(1995—), 女, 硕士生, 从事食品生物技术方向研究。通信作者: 肖安风(1973—), 男, 教授, 博士, 从事食品生物技术方向研究, E-mail: xxaaffeng@jmu.edu.cn。

0 引言

豆粕是大豆提取豆油后的残渣再经过适度加工得到的副产品<sup>[1]</sup>, 是目前饲料行业中使用范围较广的一种优质植物性蛋白饲料源<sup>[2]</sup>。豆粕蛋白质质量分数在 40% 以上, 但是分子质量大、结构紧密, 导致消化利用率不高<sup>[3]</sup>。在适宜的条件下添加蛋白酶制剂, 将大分子蛋白质降解成小分子蛋白质、小肽和氨基酸, 从而使蛋白质分子质量降低<sup>[4]</sup>, 具有低抗原性, 更易于吸收, 可大大提高蛋白质的利用率<sup>[5]</sup>。李树品等<sup>[6]</sup>选用中性蛋白酶酶解豆粕, 蛋白质消化率可达 70% 以上, 并适当添加纤维素酶和  $\alpha$ -淀粉酶后, 对提高蛋白质消化率有利。李磊等<sup>[7]</sup>对大豆饼粕进行中性蛋白酶和酸性蛋白酶双酶联合水解处理, 探索出了最适工艺条件: 先加中性蛋白酶, 温度为 40 ℃, pH = 8.0, 料水比 ( $m/V$ ) 为 1:9, 加酶量为 7%, 水解 6 h, 后加酸性蛋白酶, 温度为 45 ℃, pH = 3.0, 加酶量为 3%, 水解 8 h, 蛋白质水解度可达 42.2%。

蛋白酶系对非淀粉多糖如纤维素、棉籽糖、水苏糖等不起作用, 而此成分在豆粕中占较大比例 (约 20%), 在动物消化道内结合大量水, 阻碍营养物质的消化利用<sup>[8]</sup>。所以, 必须添加适宜的酶制剂降解这些抗营养因子, 降低对动物消化系统、免疫系统的伤害<sup>[9]</sup>。何中山<sup>[10]</sup>研究得出: 应用中性蛋白酶、纤维素酶、果胶酶和  $\beta$ -甘露聚糖酶酶解豆粕, 酶解后产品中还原糖为 8.2%, 蛋白质水解度为 4.5%。为了解决豆粕中所含的蛋白质分子质量较大、动物对其利用率相对较低、一些抗营养因子限制了豆粕的使用<sup>[11]</sup>等问题, 本文采用单因素试验设计, 探究蛋白酶和非淀粉多糖 (non-starch polysaccharide, NSP) 酶复合添加、反应时间对豆粕中蛋白质水解度、还原糖释放量、总糖含量的影响, 对酶解豆粕品质进行评价, 从而提高其利用率。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

中性蛋白酶、酸性蛋白酶、纤维素酶和木聚糖酶均购自和氏璧生物技术有限公司; 豆粕购自厦门夏商淘化大同食品有限公司, 质量符合 GB/T 19541—2004 规定: 颗粒 40 目, 色泽呈浅黄色, 具有烤大豆香味, 没有酸败、霉变、焦化等异味, 均匀流动性好, 呈不规则碎片状, 不含过量杂质, 粗蛋白质量分数为 46.2%。

甲醛、浓硫酸、氢氧化钠、三羟甲基氨基甲烷、葡萄糖、酒石酸钾钠、无水亚硫酸钠均为分析纯, 购自国药集团化学试剂有限公司; 苯酚、3, 5-二硝基水杨酸、邻苯二甲酸氢钾均为分析纯, 购自西陇化工股份有限公司。

1.2 豆粕酶解工艺

1.2.1 酶添加量对豆粕品质的影响

将 20 g 豆粕装于 250 mL 三角瓶中密封, 121 ℃、高压灭菌 20 min, 冷却后加入中性蛋白酶, 设定料水比 ( $m/V$ ) 为 1:1, 温度为 45 ℃, 酶解时间为 48 h, 研究不同加酶量对豆粕品质的影响; 添加 30 U/g 中性蛋白酶和不同用量的酸性蛋白酶, 研究其对豆粕品质的影响; 添加 30 U/g 中性蛋白酶、50 U/g 酸性蛋白酶和不同用量的纤维素酶, 研究其对豆粕品质的影响; 添加 30 U/g 中性蛋白酶、50 U/g 酸性蛋白酶、50 U/g 纤维素酶和不同用量的木聚糖酶, 研究其对豆粕品质的影响。

1.2.2 酶解时间对豆粕品质的影响

添加 30 U/g 的中性蛋白酶到装有 20 g 豆粕的 250 mL 三角瓶中, 料水比 ( $m/V$ ) 为 1:1, 搅拌均匀, 置于 45 ℃恒温摇床中, 研究酶解时间 (12, 24, 36, 48, 60, 72 h) 对豆粕的影响; 固定以上酶解条件, 添加 30 U/g 的中性蛋白酶和 50 U/g 的酸性蛋白酶, 研究 2 种酶共同作用时不同酶解时间对豆粕品质的影响; 添加 30 U/g 的中性蛋白酶、50 U/g 的酸性蛋白酶和 50 U/g 的纤维素酶, 研究 3 种酶共同作用时不同酶解时间对豆粕品质的影响; 添加 30 U/g 的中性蛋白酶、50 U/g 的酸性蛋白酶、50 U/g 的纤维素酶和 50 U/g 的木聚糖酶, 研究 4 种酶共同作用时不同酶解时间对豆粕品质的影响。

1.3 主要检测指标和分析方法

1.3.1 感官评价

参照国标 GB 21172—2007<sup>[12]</sup> 和农业行业标准 NYT 2218—2012<sup>[13]</sup> 的规定以及陈萱等<sup>[14]</sup> 使用的感官分析方法并有所改进。设定在光线正常及无异味的环境下，将适量各种酶解豆粕样品倒入干净的玻璃容器中，通过目测、鼻嗅、手感分别评定样品的颜色、气味和质地，具体标准见表 1。

表 1 酶解豆粕感官评价标准表  
Tab.1 Sensory evaluation of soybean meal enzymolysis

评价项目 Items	分值(10 分制)Score/分		
	0 ~ 3	4 ~ 6	7 ~ 10
颜色 Color	浅黄色,接近原料色 Light yellow, close to raw material	深黄色 Dark yellow	褐色至深褐色 From brown to dark brown
气味 Odor	烤大豆香味兼轻微发酵味 Roasted soy aroma and slight fermented taste	无豆香味,偏重于发酵味 No bean odor,heavy fermented taste	发酵味浓郁 Rich yeast flavor
质地 Texture	干燥粗糙且颗粒明显 Dry rough and particles significantly	柔软粘手 Soft and sticky	水润粘稠、非常粘手 Watery and sticky

1.3.2 pH 值的测定

取各个酶解豆粕样品 1.0 g，加蒸馏水 50 mL，于摇床上 180 r/min 振荡 20 min，过滤，测上清液 pH 值。

1.3.3 蛋白质水解度的测定

蛋白质水解度测定采用甲醛滴定法<sup>[15-16]</sup>：称取 5 g 样品，加入 50 mL 煮沸冷却的蒸馏水，磁力搅拌 30 min，调整 pH 值为 8.2，量取 20 mL 质量分数 37% 中性甲醛溶液加入到水解液中，持续搅拌，用 0.1 mol/L NaOH 溶液滴定，当 pH = 9.2 时记录消耗的碱液体积。蛋白质水解度（degree of hydrolysis, DH）计算公式为： $DH/\% = (c \times V \times 1.4008)/(m \times 7.8) \times 100$ ，式中：DH 为蛋白质水解度（%）； $c$  为 NaOH 溶液浓度（mol/L）； $V$  为 NaOH 溶液消耗体积（mL）；1.4008 为 1 mL 0.1 mol/L NaOH 相当的氮量； $m$  为样品的质量（g）；7.8 为每克原料蛋白质肽键的物质的量（mmol）。

1.3.4 还原糖含量的测定

还原糖含量测定采用 DNS 法<sup>[17]</sup>：称取 0.1 g 样品，加入 30 mL 蒸馏水，用磁力搅拌器搅拌溶解 20 min 后 3 000 r/min 离心 15 min，取上清液 1 mL 加 DNS 溶液混匀后于沸水浴显色 5 min，冷却后加蒸馏水补足体积至 10 mL，再次混合均匀后于波长 540 nm 处测吸光度值。每组做 3 个平行，根据葡萄糖标准曲线计算得到样品中还原糖含量。

总糖含量采用硫酸-苯酚法测定<sup>[18]</sup>：取 1 g 样品加入 15 mL 纤维素酶液（pH = 5.5），60 ℃ 下振荡水浴 1 h，离心、过滤，取上清液适当稀释后，取 2 mL 稀释液与 1 mL 质量分数 6% 苯酚混匀，快速加入浓硫酸 5 mL，混匀，室温条件下静置 30 min，每组做 3 个平行，于波长 490 nm 处测吸光度值。根据葡萄糖标准曲线计算得到样品中总糖含量。 $总糖得率/\% = (X \times D/m) \times 100$ ，式中： $X$  为样品溶液的葡萄糖质量（μg）； $D$  为样品溶液的稀释倍数； $m$  为样品的质量（μg）。 $水解度/\% = 还原糖释放量/总糖含量 \times 100$ 。

2 结果与分析

2.1 酶解工艺对豆粕品质的影响

2.1.1 中性蛋白酶添加量对豆粕品质的影响

参考李树品等<sup>[6]</sup> 用中性蛋白酶水解豆粕，在料水比为 1:10、pH = 7.5、温度为 40 ℃ 条件下水解 64 ~ 72 h，得到的蛋白质消化率 ≥ 70%。采用中性蛋白酶水解豆粕，在料水比为 1:1、温度为 45 ℃ 条

件下水解 48 h, 考察其添加量对豆粕品质的影响。结果 (见图 1) 表明, 加酶量达到 30 U/g 后, 感官品质不再变化; 加酶量对 pH 值无明显影响; 30 U/g 时蛋白质水解度最高可达 20.7%; 总糖质量分数随着酶量增加而上升, 70 U/g 时最高为 8.5%, 还原糖的释放量和水解度变化不明显, 说明中性蛋白酶对还原糖分解作用不大。综上, 将中性蛋白酶的添加量确定为 30 U/g。

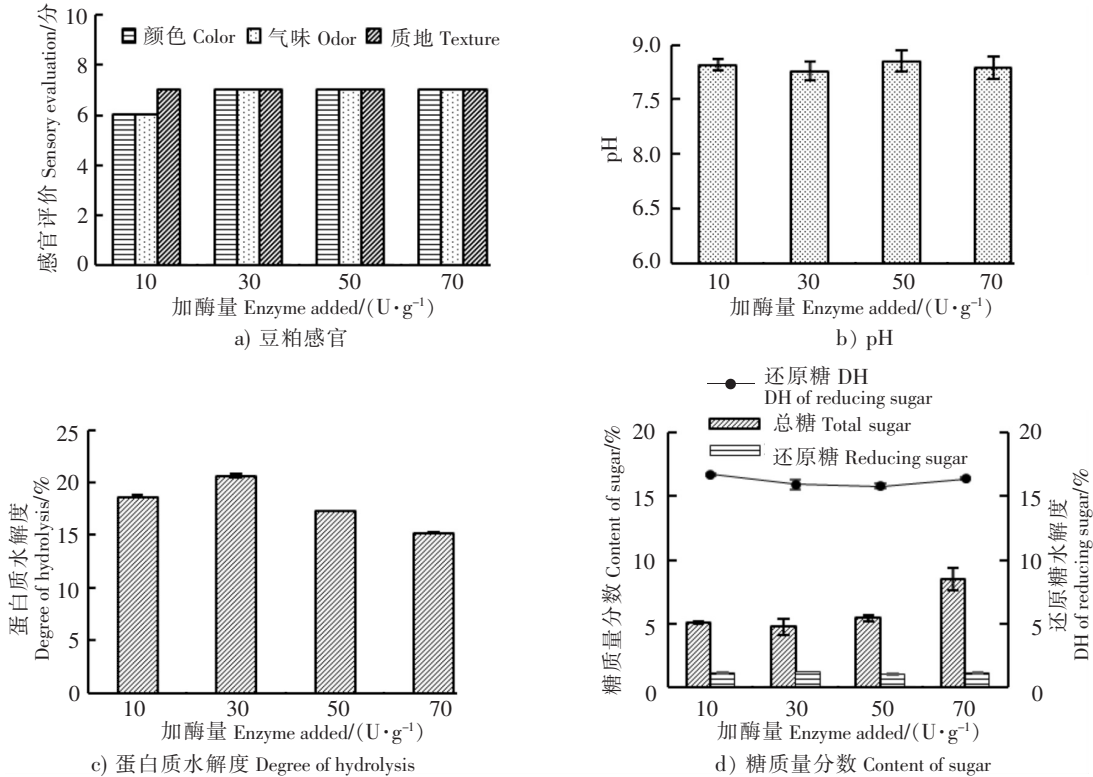


图 1 中性蛋白酶添加量对豆粕感官、pH 值、蛋白质水解度和糖质量分数的影响  
Fig.1 The effects of amount of neutral protease on sensory, pH, degree of hydrolysis and content of sugar of soybean meal

2. 1. 2 酸性蛋白酶添加量对豆粕品质的影响

参考李磊等<sup>[7]</sup>在 pH = 8.0、料液比为 1:9、温度为 40 ℃ 的条件下加入质量分数 7% 中性蛋白酶作用 6 h, 后调 pH = 3.0, 45 ℃ 下加入质量分数 5% 酸性蛋白酶作用 8 h, 蛋白质水解度达到了 44.2%, 以料水比为 1:1, 温度为 45 ℃, 酶解时间为 48 h, 添加 30 U/g 中性蛋白酶和不同用量的酸性蛋白酶, 确定适宜添加量。由图 2 可见, 加入酸性蛋白酶后, 豆粕气味由单一的酱香味转变为浓厚的醇香味; pH 值都接近于 8.4, 与单酶水解时比较, pH 值上升, 但是酸性蛋白酶适宜的 pH 值范围为 2.5 ~ 6.0, 可能发挥不出酸性蛋白酶的优势; 酸性蛋白酶添加量 30 U/g 以上, 蛋白质水解度 20% 左右, 与单酶蛋白质水解度相比没有提升; 总糖质量分数明显提高, 50 U/g 时为最小值也达到了 18.2%; 但还原糖质量分数变化幅度较小, 仅提高了 0.3%, 说明非淀粉多糖需要加入特定的酶 (NSP 酶) 才能水解。综上, 确定酸性蛋白酶的添加量为 50 U/g。

2. 1. 3 纤维素酶添加量对豆粕品质的影响

考虑到蛋白酶系对非淀粉多糖不起作用, 而此成分又在豆粕中占较大比例 (约 20%), 在动物消化道内可结合大量水, 阻碍营养物质的消化利用, 所以必须添加适宜的酶制剂分解<sup>[8]</sup>。其中豆皮主要是粗纤维, 细胞壁中也含有纤维素, 故 NSP 酶可选纤维素酶。高红岩等<sup>[19]</sup>利用纤维素酶制剂降解豆粕中的纤维素, 以提高豆粕蛋白质水溶出率, 加入蛋白酶和纤维素酶后蛋白质水溶出率达到 76.2%, 比仅以蛋白酶水解豆粕的蛋白质水溶出率 (67.8%) 高, 说明通过降解纤维素可提高豆粕蛋白质的溶出率。

添加中性蛋白酶和酸性蛋白酶后考察纤维素酶添加量对豆粕品质的影响, 结果见图 3。



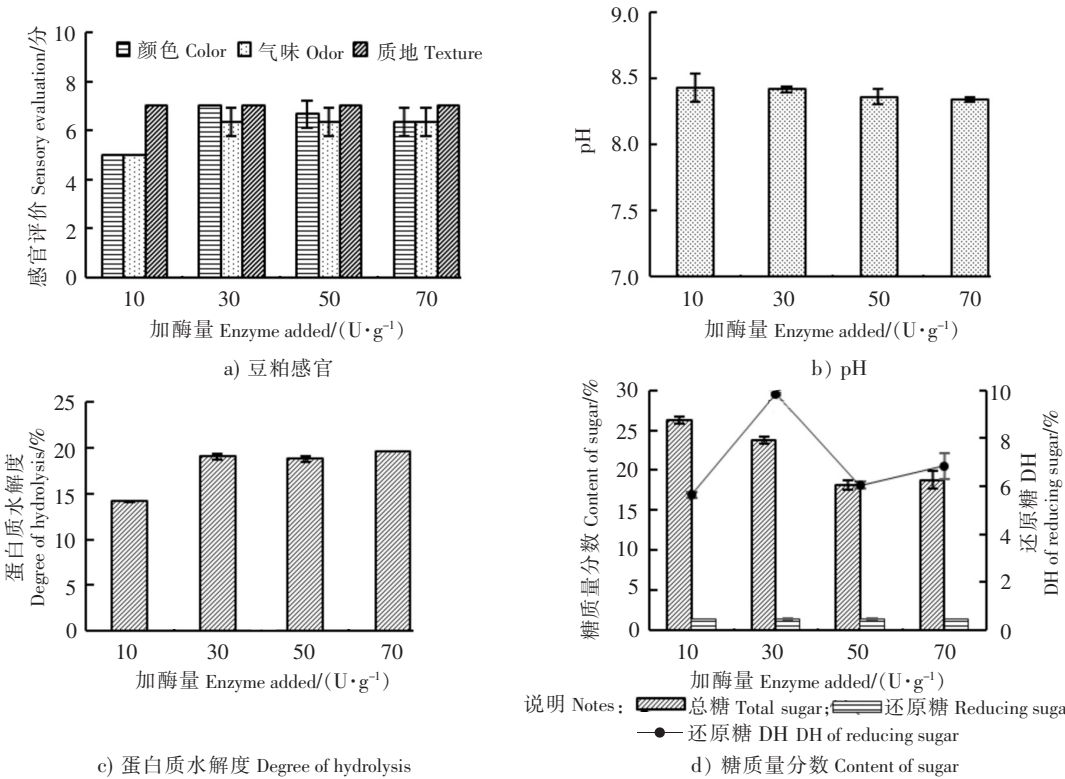


图 2 酸性蛋白酶添加量对豆粕感官、pH 值、蛋白质水解度和糖质量分数的影响

Fig.2 The effects of amount of acid protease on sensory,pH,degree of hydrolysis and content of sugar of soybean meal

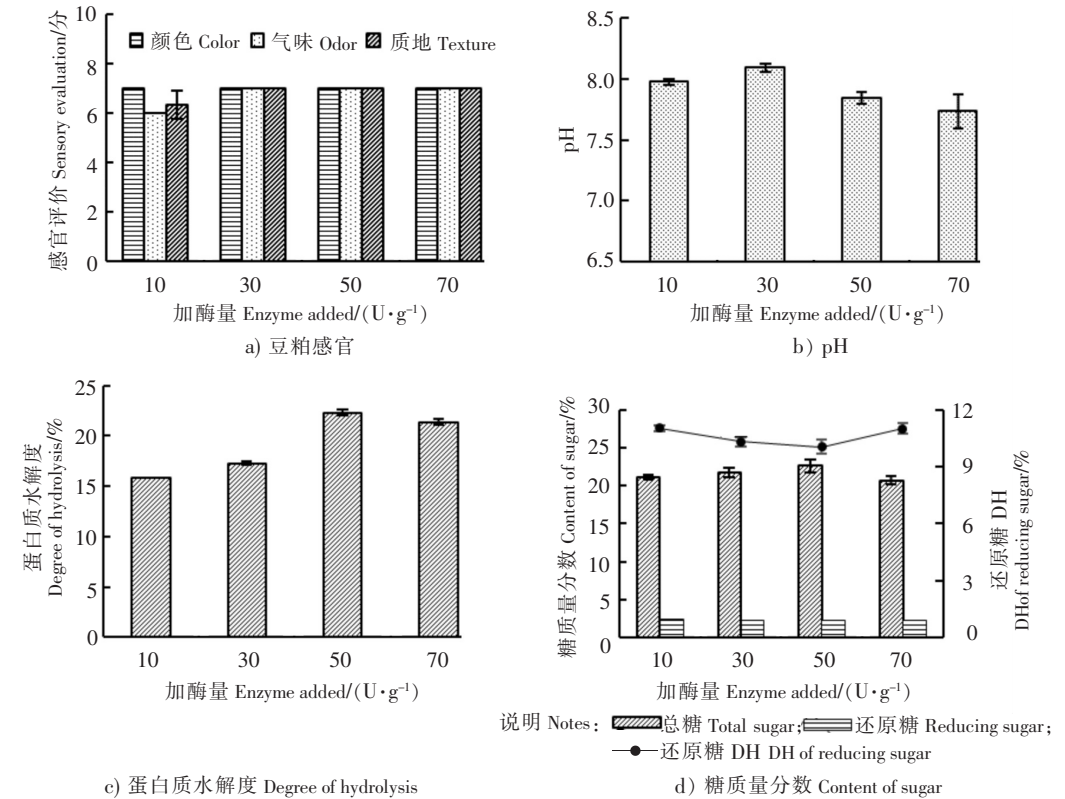


图 3 纤维素酶添加量对豆粕感官、pH 值、蛋白质水解度和糖质量分数的影响

Fig.3 The effects of added amount of cellulase on sensory,pH,degree of hydrolysis and content of sugar of soybean meal

图3表明, 主要感官指标维持在稳定状态, 关键指标蛋白质水解度在 50 U/g 时达到最大值 22.3%, 还原糖释放量明显增加, 最大值达到了 2.3%, 总糖质量分数仍保持在 20% 以上, 还原糖水解度整体提高到了 10% 以上, 说明纤维素酶对非淀粉多糖分解有一定作用。综上, 选择 50 U/g 的纤维素酶做后续实验。

2.1.4 木聚糖酶添加量对豆粕品质的影响

非淀粉多糖的化学结构非常复杂, 一种酶只能特异降解一种糖苷键<sup>[20]</sup>, 因此考虑再加入木聚糖酶形成复合酶共同作用降解豆粕中 NSP。图4表明: 主要感官指标维持在稳定状态, 但是蛋白质水解度变化不大, 添加复合 NSP 酶没有起到强化蛋白质酶解效果。究其原因可能有 3 点: 一是蛋白酶的水解环境导致 NSP 酶失活, 在添加有蛋白酶的前提下, NSP 酶同样作为蛋白质极有可能作为底物而被降解; 二是酶来源不同, 其最佳酶活性的温度和 pH 值等条件也不同, 因而在同一水解条件下应用的效果就不同, 且一般 NSP 酶比较适合酸性环境, 因此, 在偏碱性环境下其酶活就可能受到抑制, 达不到酶解的合适条件; 三是随着蛋白酶水平的增加, 可作用的底物浓度降低, 水解度的差异变小。总糖质量分数明显下降, 最小值为 11.7%, 降低了近 10%, 还原糖质量分数与添加三酶时没有太大区别, 可能是总糖被分解时还产生了其他非还原糖类物质。

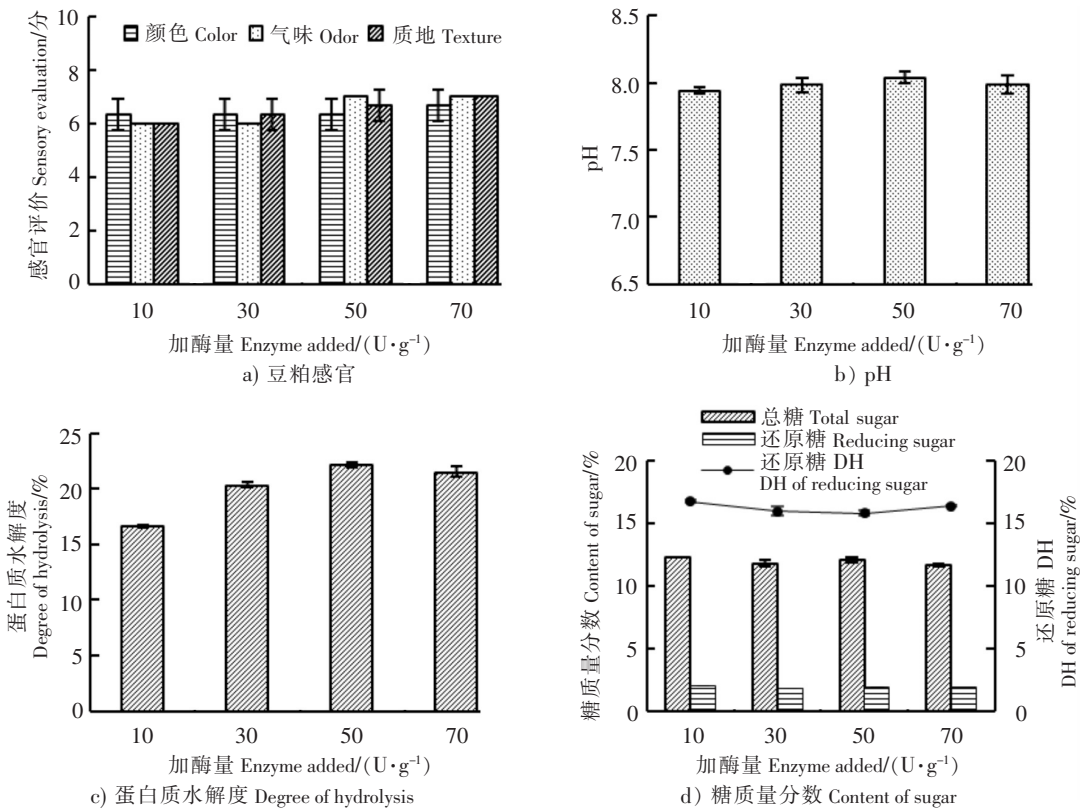


图4 木聚糖酶添加量对豆粕感官、pH 值、蛋白质水解度和糖质量分数的影响  
Fig.4 The effects of added amount of xylanase on sensory ,pH, degree of hydrolysis and content of sugar of soybean meal

2.2 酶制剂动态酶解过程的优化

2.2.1 酶解时间对豆粕感官的影响

由图5可以看出, 酶解时间对豆粕的颜色、气味和质地等感官指标均有影响。在 36 h 之内, 时间越长指标变化越明显, 48 h 后变化趋势趋于平缓, 说明, 在 48 h 各酶制剂组合酶解豆粕可达到较佳的效果。由图5还可见, 同一时间段内, 酶制剂种类的增加并没有达到感官优化的效果。在酶解时间较长后 (48 ~ 72 h) 豆粕为褐色, 具有浓郁的香味和粘手的触感。

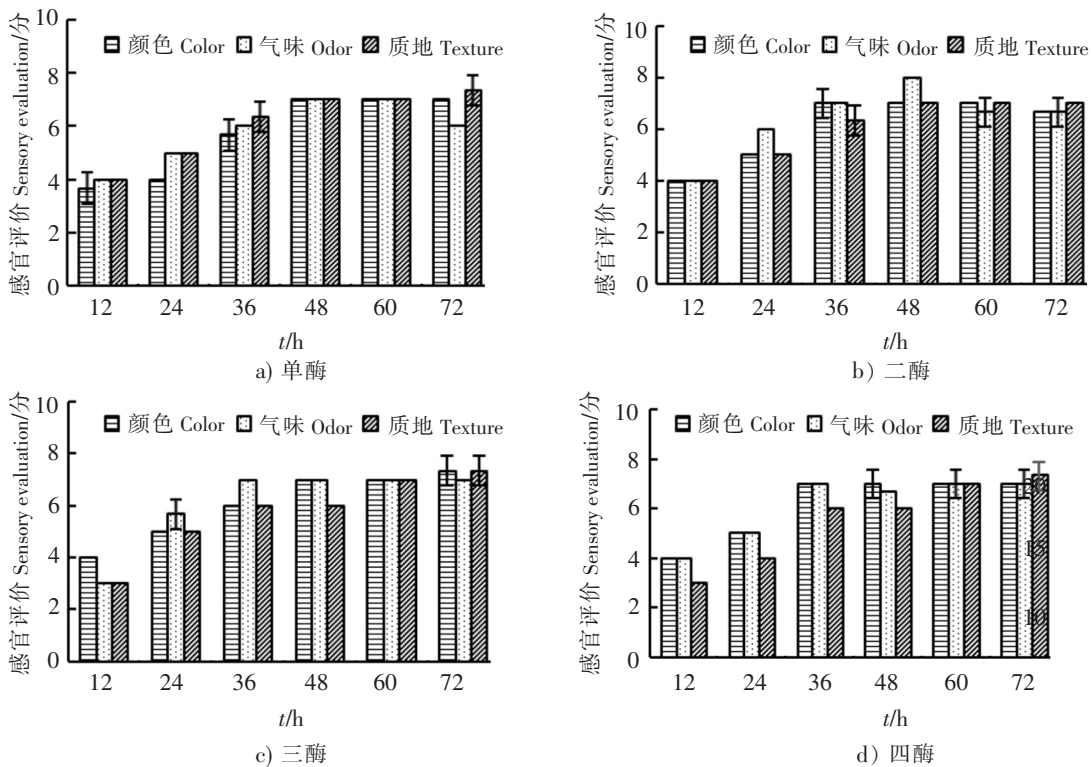


图 5 酶解时间对单酶、二酶、三酶、四酶酶解豆粕的感官评价

Fig.5 The enzymolysis time on sensory evaluation of single enzyme, tow enzyme, three enzyme, four enzyme for soybean meal

2. 2. 2 酶解时间对豆粕 pH 值的影响

由图 6 可知，在短时间内（12 h）酶解豆粕 pH 值接近于中性或偏酸性，倾向于原料 pH 值，这可能是该时间段为初期，酶与物料的接触不够充分，酶解效率低导致 pH 值的变化较小。随着时间的延长，pH 值随之增大，在后期稳定在 7.8 ~ 8.2。pH 值偏中性，说明酶解作用增强且中性蛋白酶的影响最大。

2. 2. 3 酶解时间对豆粕蛋白质水解度的影响

蛋白质通过水解作用水解为二肽或三肽的产物，具有特殊的生理活性<sup>[21-23]</sup>，在动物体内要比自由氨基酸和没有水解的蛋白质更易于吸收<sup>[24]</sup>，所以蛋白质水解度是衡量蛋白质酶解效率的重要指标。由图 7 可知，不同组合的酶制剂在一定的水解时间内，均可以提高豆粕的蛋白质水解度，且随着反应时间的增加而提高。当达到 60 h 后，水解度变化趋于平缓。仅添加中性蛋白酶，36 h 后蛋白质水解

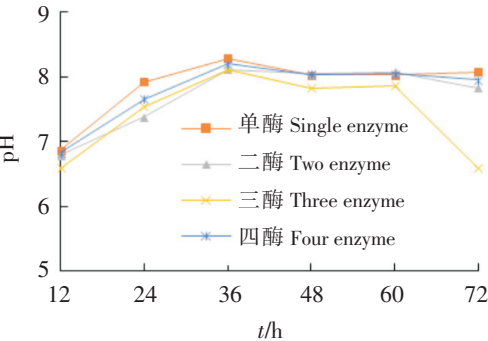


图 6 酶解时间对酶解豆粕 pH 值的影响

Fig.6 The effect of enzymolysis time on pH of soybean meal

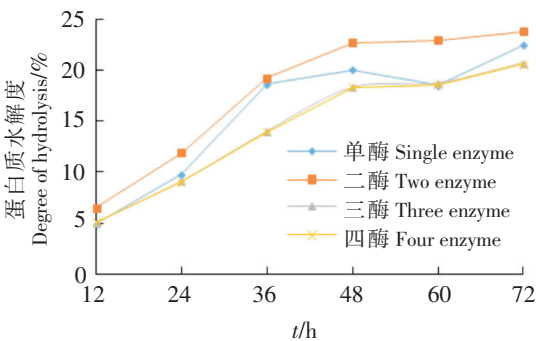


图 7 酶解时间对酶解豆粕 DH 的影响

Fig.7 The effect of enzymolysis time on DH of soybean meal

增长幅度减小, 72 h 测得最大水解度值为 22.5% ; 加入酸性蛋白酶后, 水解度在实验前期得到很大提升, 48 ~ 72 h 后水解程度趋于稳定且达到最大值 23.8% , 优于中性蛋白酶单酶水解度, 说明两种酶复合作用可以提高蛋白的水解度; 但同时加入 NSP 酶如纤维素酶或和木聚糖酶后, 酶解样品与中性蛋白酶单独酶解的对照样品相比, 水解度并没有得到提高, 说明 NSP 酶并没有起到强化酶解蛋白质的作用。考虑到蛋白质的水解效果和时间效益, 将酶解时间均定为 48 h。

2.2.4 酶解时间对豆粕糖质量分数的影响

酶制剂酶解时间对豆粕还原糖、总糖质量分数、还原糖水解度的影响见图 8。由图 8 可见, 同一时间段还原糖水解度大小并未同外源酶种类的增加而呈现规律性的变化。添加中性蛋白酶、酸性蛋白酶所得还原糖水解度较低, 但与单酶相比较, 其总糖含量提升。添加三酶或四酶时的总糖和还原糖含量均提高。

综上, 考虑酶解时间对豆粕各方面品质的影响, 将酶解时间确定为 48 h。

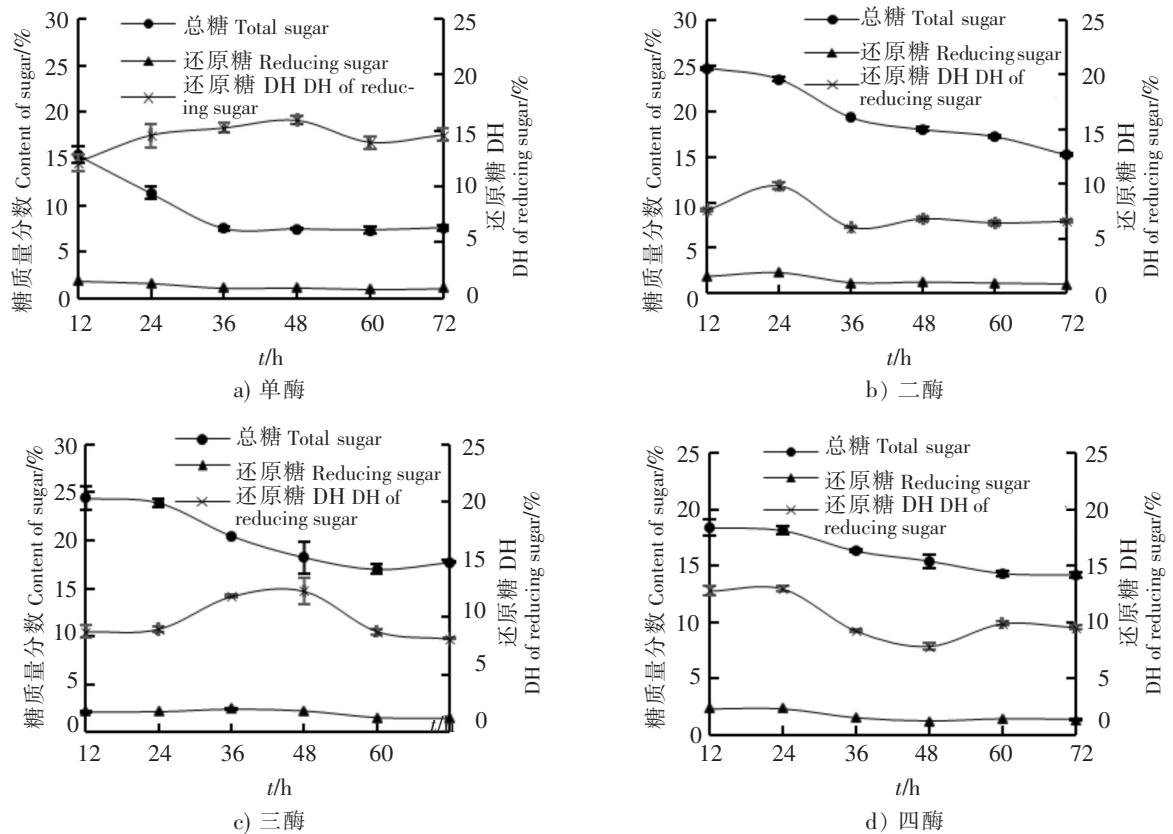


图 8 酶解时间对单酶、二酶、三酶、四酶酶解豆粕糖质量分数的影响  
Fig.8 The effect of enzymolysis time on polysaccharide content of single enzyme,two enzyme,three enzyme,four enzyme for soybean meal

3 结论

本文采用单因素试验设计, 研究酶用量及酶解时间对豆粕品质的影响, 表明: 中性蛋白酶酶解豆粕最佳用量及时间为 30 U/g, 48 h, 该条件下获得蛋白质水解度为 20.1% , 还原糖释放量和总糖质量分数分别为 1.18% , 7.44% ; 双酶联合酶解豆粕优化酸性蛋白酶的添加量及酶解时间为 50 U/g, 48 h, 测得豆粕蛋白质水解度、还原糖释放量和总糖质量分数分别为 22.7% , 1.23% , 18.01% ; 三酶复合酶解时优化纤维素酶的加酶量及酶解时间为 50 U/g, 48 h, 此时豆粕蛋白质水解度、总糖质量分数分别为 18.3% , 18.22% , 还原糖释放量增加, 提高了 1% ; 多酶复合酶解木聚糖酶的适宜添加量及反应时间分别是 50 U/g, 48 h, 蛋白质水解度、还原糖释放量和总糖质量分数分别为 18.3% ,



1.91%, 15.41%。说明,在自然 pH 值的条件下进行酶解,仅添加中性蛋白酶和酸性蛋白酶复合酶解的蛋白水解度比较好,同时添加 NPS 酶对水解度影响不大,但是还原糖释放量比较高。

## [ 参 考 文 献 ]

- [1] 李建. 发酵豆粕研究进展 [J]. 粮食与饲料工业, 2009(6): 31-35.
- [2] 曹钰, 蔡国林, 陆健. 提高豆粕营养价值的研究进展 [J]. 饲料与畜牧: 新饲料, 2007(6): 13-15.
- [3] 张晓峰, 杨建平, 潘春梅, 等. 双酶法酶解豆粕蛋白最佳工艺条件研究 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2017(18): 184-185.
- [4] COSCUETA E R, AMORIM M M, VOSS G B, et al. Bioactive properties of peptides obtained from Argentinian defatted soy flour protein by corolase PP hydrolysis [J]. Food Chemistry, 2016, 198: 36. DOI:10.1016/j.foodchem.2015.11.068.
- [5] 孙永生, 叶金云, 孙启中, 等. 一种用于豆粕发酵的发酵酶解剂及其应用: 201511014600.4 [P]. 2015-12-31.
- [6] 李树品, 李梅. 植物蛋白的酶法水解 [J]. 山东科学, 1997(1): 53-57.
- [7] 李磊, 陈均志. 中性蛋白酶与酸性蛋白酶双酶法水解大豆蛋白的研究 [J]. 陕西科技大学学报, 2002, 20(1): 35-38.
- [8] LUO Z, LIU Y J, MAI K S. Partial replacement of fish meal by soybean protein in diets for grouper *Epinephelus coioides* juveniles [J]. Journal of Fisheries of China, 2004, 28(2): 176-181.
- [9] JI Y J, LEE S H, CHE O J. Microbial community dynamics during fermentation of doenjang-meju, traditional Korean fermented soybean [J]. International Journal of Food Microbiology, 2014, 185: 112-120.
- [10] 何中山. 豆粕酶解参数及酶解豆粕饲用效果的研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2004.
- [11] 王建华. 发酵豆粕致敏原分子检测与标准研究 [C] // 2012 饲料蛋白源应用新技术研讨会暨蛋白源大会. 南京: 中国农业科学院饲料研究所, 2012.
- [12] 中国标准化研究院. 感官分析 食品颜色评价的总则和检验方法: GB/T 21172—2007 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2008.
- [13] 全国饲料工业标准化技术委员会. 饲料原料 发酵豆粕: NY/T 2218—2012 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2013.
- [14] 陈莹. 豆粕发酵工艺改进与发酵豆粕功能拓展的研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2005.
- [15] 檀志芬, 生庆海, 邱泉若, 等. 蛋白质水解度的测定方法 [J]. 食品工业科技, 2005(7): 174-175.
- [16] 刘晓艳, 杨国力, 国立东, 等. 混菌固态发酵法生产大豆多肽饲料的研究 [J]. 饲料工业, 2012, 33(6): 51-56.
- [17] 令博, 田云波, 吴洪斌, 等. 微生物发酵法制取葡萄皮渣膳食纤维的工艺优化 [J]. 食品科学, 2012, 33(15): 178-182.
- [18] 李旺军, 方华, 季春源. 豆粕发酵蛋白中抗原蛋白和不良寡糖的检测 [J]. 粮食与饲料工业, 2013, 12(4): 61-65.
- [19] 高红岩, 石彦国, 马永强. 纤维素酶解对高变性大豆蛋白溶出率影响的研究 [J]. 食品科技, 2001, 1(1): 22-24.
- [20] 吴非, 霍贵成. 酶法钝化大豆胰蛋白酶抑制剂的的研究 [J]. 食品研究与开发, 2002, 23(6): 26-28.
- [21] SEO S H, CHO S J. Changes in allergenic and antinutritional protein profiles of soybean meal during solid-state fermentation with *Bacillus subtilis* [J]. LWT-Food Science and Technology, 2016, 70: 208-212. DOI:10.1016/j.lwt.2016.02.035.
- [22] 鲁志勇, 冀小龙, 姜建阳, 等. 不同菌种来源蛋白酶配合作用效果的体外试验研究 [J]. 养猪, 2013(3): 14-16.
- [23] 何中山, 余冰, 丁雪梅, 等. 非淀粉多糖酶和蛋白酶体外酶解豆粕适宜参数的研究 [C] // 四川省畜牧兽医学学会 2005 年学术会议. 成都: 中国畜牧兽医学会, 2005.
- [24] 陈乃松, 杨志刚, 崔惟东, 等. 酶制剂体外酶解豆粕中抗营养因子的研究 [J]. 大豆科学, 2008, 27(4): 663-668.

(责任编辑 马建华 英文审校 刘静雯)