

低值淡水鱼蛋白酶法水解工艺研究

李丁宁,刘良忠*,刘培勇,刘 亮,王 燕

(武汉工业学院食品科学与工程学院,湖北武汉 430023)

摘 要:以水解度为指标,考察酶解温度、pH、底物浓度、加酶量等因素对鲢鱼蛋白水解度的影响。在单因素实验基础上采用中心复合组合设计实验对酶解温度、pH和加酶量进行优化,以氨基酸态氮为指标,确定最佳酶解时间。结果表明:酶解pH9.37,酶解温度48.33℃,酶与底物比93.87AU/kg,酶解时间6h,在此条件下水解体系水解度为39.54%,氨基酸态氮含量为2.31g/L,总氮回收率为93.55%,蛋白质浓度为3.62%。

关键词:白鲢鱼,碱性蛋白酶,水解

Study on the process of hydrolyzing protein by enzyme in low value freshwater fish

LI Ding-ning, LIU Liang-zhong*, LIU Pei-yong, LIU Liang, WANG Yan

(College of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China)

Abstract: As an index to the degree of hydrolysis, the influence of factors such as enzymatic hydrolysis temperature, pH value, substrate concentration, and enzyme dosage to the degree of silver carp protein hydrolysis was investigated. The reaction temperature, pH, and enzyme dosage was optimized by a combination of central composite design experiment based on the single-factor experiment and the best enzymatic hydrolysis time was made as an index to amino nitrogen. The best hydrolysis condition was pH 9.37, enzymatic hydrolysis temperature 48.33℃, [E]/[S] 93.87AU/kg, reaction time 6h, under the condition, the protein concentration was 3.62%, the degree of hydrolysis 39.54%, amino acid nitrogen content 2.31g/L, and total nitrogen recovery rate was 93.55%.

Key words: silver carp; alcalase; hydrolysis

中图分类号: TS254.1

文献标识码: B

文章编号: 1002-0306(2012)03-0232-05

近年来,我国的渔业生产发展很快,尤其是淡水鱼生产加工的发展更为迅速。生产成本低廉、高产的低值淡水鱼已占到淡水鱼生产总量的50%以上。但是除鲜销极少量冷冻冷藏制品外,淡水鱼深加工产品仅占其总产量的3%左右。因此,通过发展淡水鱼精深加工,实现其二次、三次加工增值,使淡水鱼加工向系列化、多样化和高附加值方向发展,成为淡水鱼加工利用的一个重要研究方向^[1-2]。利用酶解的方法水解鱼蛋白,将低值淡水鱼进行精深加工已成为淡水鱼加工利用的一个重要研究方向^[3-4]。国内外对鱼蛋白酶解方面及低值鱼类综合利用做了不少的研究^[5-8]。但是利用白鲢鱼蛋白水解液开发鱼调味品的研发尚处于初级阶段^[9-11]。实验以去鳞、去内脏、脱腥后的鲢鱼为原料,采用碱性蛋白酶水解,确定了酶解

的最佳工艺条件,从而为后续鱼调味品的研发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

白鲢鱼 购于武汉工业学院常青花园菜市场(粗蛋白18.10%,水分72.3%);木瓜蛋白酶(Papain)、碱性蛋白酶(Alcalase)、中性蛋白酶(Neutrase)、风味蛋白酶 南宁庞博生物技术责任有限公司;氢氧化钠、甲醛 分析纯。

DF-1数显集热式磁力搅拌器 常州国华电器有限公司;PHS-25 pH计、722S型可见分光光度计 上海精密科学仪器有限公司;TDL-80-2B型离心机 上海沪西分析仪器厂。

1.2 实验方法

1.2.1 水解液的制备工艺 原料预处理→原料解冻→加水混匀→调节温度→调节pH→加酶→控制适宜的温度和pH进行水解→灭酶(95℃,15min)→冷却→离心(3500r/min,15min)→取上清液→浓缩→冷冻干燥→低值淡水鱼呈味蛋白粉。

原料预处理:将去鳞、去内脏的白鲢鱼用清水清

收稿日期:2011-05-09 * 通讯联系人

作者简介:李丁宁(1982-),男,硕士研究生,主要从事食品新资源开发与利用研究。

基金项目:湖北省教育厅高校产学研合作资助项目(C2010040)。

洗干净,放入鱼肉5倍重量的脱腥液中脱腥10min,用清水冲洗3遍,沥干后加入一定比例的水,用搅拌器绞成糜状(为保证原料的均匀一致及绞碎程度,进行了两次绞碎处理),分装后置于-18℃的冰柜冻藏备用。

1.2.2 水解条件的优化

1.2.2.1 单因素实验方法 考察酶解温度、pH、底物浓度、加酶量等因素对鲢鱼鱼蛋白水解的影响。

1.2.2.2 中心复合实验设计 根据单因素实验的结果,以影响白鲢鱼蛋白水解度的pH(X_1)、温度(X_2)及酶与底物比(X_3 , $[E]/[S]$)为3个实验因子,以白鲢鱼蛋白的水解度(Y)为指标,做三因素中心复合响应面设计,共计23个实验点,确定白鲢鱼蛋白水解的最优工艺条件。

表1 白鲢鱼蛋白水解三因素二次中心复合设计

Table 1 Code of central composite design with 3 factors on enzymatic hydrolysis of silver carp protein

编码值	X_1 pH	X_2 酶解温度(℃)	X_3 酶与底物比(AU/kg)
-2	8	40	24
-1	8.5	45	48
0	9	50	72
1	9.5	55	96
2	10	60	120

1.2.2.3 单因素实验方法研究水解时间对水解的影响 根据水解液中氨基酸态氮含量、水解度等指标综合研究适宜水解时间。

1.2.3 测定方法 总蛋白质含量:凯氏定氮法;氨基酸态氮含量:甲醛滴定法^[12];水解度(DH)的测定^[13]:pH-stat法。

1.3 数据处理

采用Minitab软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

2.1.1 酶的筛选 选用四种酶分别为:木瓜蛋白酶(最适pH6、最适温度55℃、 $[E]/[S]$ 2%)、碱性蛋白酶(最适pH9、最适温度50℃、 $[E]/[S]$ 2%)、中性蛋白酶(最适pH7、最适温度50℃、 $[E]/[S]$ 2%)、风味蛋白酶(最适pH7、最适温度50℃、 $[E]/[S]$ 2%),按照蛋白酶说明书中推荐的最适条件对白鲢鱼进行水解,自反应开始每间隔1h测水解度。不同酶制剂对白鲢鱼蛋白水解度的影响见图1。

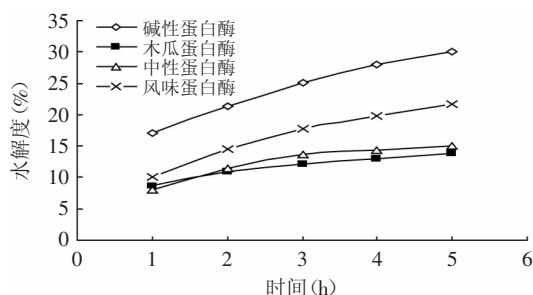


图1 酶的种类对蛋白水解度的影响

Fig.1 Effect of the enzyme sorts on the DH of silver carp protein

由图1可知,四种蛋白酶的水解效果由好到差依次为:碱性蛋白酶>风味蛋白酶>中性蛋白酶>木瓜蛋

白酶。其原因可能是由于四种蛋白酶具有不同的纯度、活性或底物专一性,因此选用碱性蛋白酶水解较为合适。

2.1.2 底物浓度对碱性蛋白酶水解鱼蛋白的影响 在pH为9.0、酶与底物比为24AU/kg、水解温度为50℃,以鱼肉浓度为15%、20%、25%和30%的条件下进行酶解,不断滴加1mol/L氢氧化钠使pH保持在9.0,记录不同时间(15、30、60、90、120、150、180min)碱液的消耗量,根据pH-stat法计算水解度。

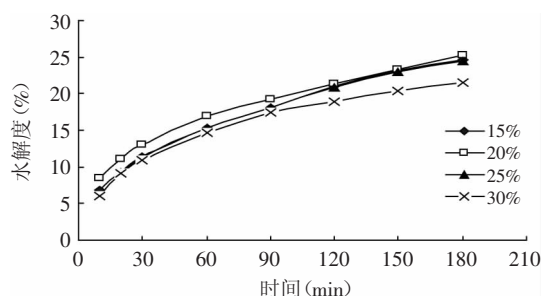


图2 碱性蛋白酶在不同底物浓度时的水解进程曲线

Fig.2 Hydrolysis curves for fish protein with alcalase at different substance concentrations

由图2可知,随着鱼肉浓度的增加水解度增加,当鱼肉的浓度达到20%时,水解度最大,此后,随着鱼肉浓度的增加水解度降低。这可能是因为鱼肉浓度过高,溶液粘度升高,不利于碱性蛋白酶与鱼蛋白契合。因此,选用鱼肉的浓度为20%。

2.1.3 pH对碱性蛋白酶水解鱼蛋白的影响 以鱼肉浓度为20%、酶与底物比为24AU/kg、水解温度为50℃,用1mol/L氢氧化钠调pH为8、8.5、9、9.5和10。随着酶解的进行,不断滴加1mol/L氢氧化钠使pH保持在8、8.5、9、9.5和10,记录不同时间(15、30、60、90、120、150、180min)碱液的消耗量,根据pH-stat法计算水解度。

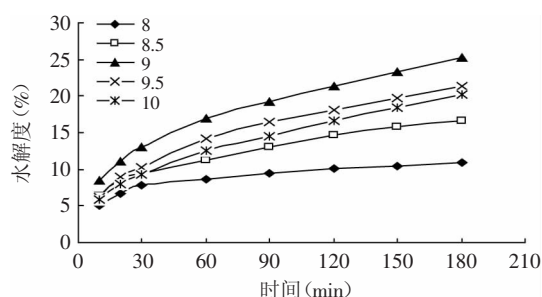


图3 碱性蛋白酶在不同pH时的水解进程曲线

Fig.3 Hydrolysis curves for fish protein with alcalase at different pH values

由图3可知,对环境pH的敏感是碱性蛋白酶的特点之一^[14]。当pH在8~9范围内,随着pH的增加水解度增加,当pH大于9.5时,随着pH的增加水解度降低。因此,碱性蛋白酶水解鲢鱼蛋白时应控制pH在9左右。

2.1.4 水解温度对碱性蛋白酶水解鱼蛋白的影响 在鱼肉浓度为20%、酶与底物比为24AU/kg、pH为9,水解温度分别为40、45、50、55℃的条件下进行酶解,随着酶解的进行,pH保持在9,记录不同时间(15、30、

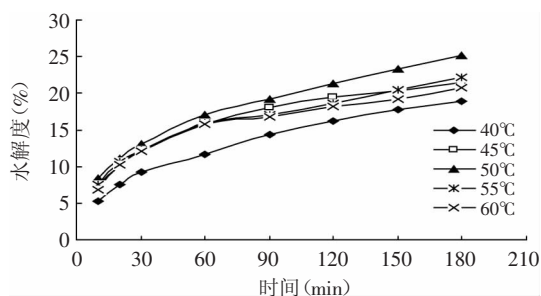


图4 碱性蛋白酶在不同温度时的水解进程曲线

Fig.4 Hydrolysis curves for fish protein with alcalase at different temperatures

60、90、120、150、180min) 碱液的消耗量, 根据pH-stat法计算水解度。

由图4可知, 酶在一定条件下都有其一定的最适温度^[14]。当温度在40~50℃范围内, 随着温度的增加水解度增加, 当温度大于50℃时, 随着温度的增加水解度降低。因此, 碱性蛋白酶水解鲢鱼蛋白时应控制温度在50℃左右。

2.1.5 不同酶与底物比对碱性蛋白酶水解鱼蛋白的影响 在鱼肉浓度为20%、pH为9、水解温度为50℃的条件下改变酶的添加量, 酶与底物比分别为96、72、48、24、12AU/kg。随着酶解的进行, pH保持在9, 记录不同时间碱液的消耗量(15、30、60、90、120、150、180min), 根据pH-stat法计算水解度。

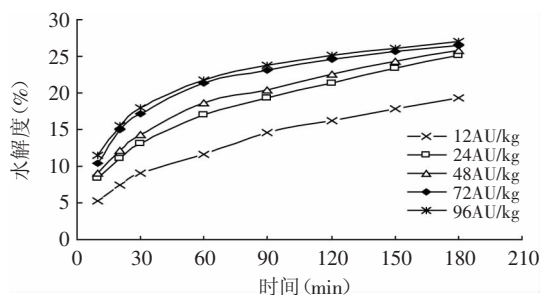


图5 碱性蛋白酶在不同酶与底物比时的水解进程曲线

Fig.5 Hydrolysis curves for fish protein with alcalase at different [E]/[S]

酶与底物比能在一定值上下自由变动。在此值以下, 有些酶将出现特异性变窄现象, 即在很低的酶与底物比时, 即使反应在适当的水解度终止, 但酶的水解作用并不完全; 在此值以上, 酶与底物比越高反应速度越快, 但酶用量增大引起成本增加, 因此应控制酶与底物比在可以接受的时间内完成反应^[15]。

由图5可知, 随着酶的浓度的增加, 碱性蛋白酶水解鱼蛋白的速度升高, 但水解度的升高并不与加酶量同倍数增加。考虑到碱性蛋白酶价格较贵, 因此选用的酶与底物比为72AU/kg。

2.2 中心复合设计实验结果及其模型分析与检验

在单因素实验基础上, 以影响白鲢鱼蛋白水解度的pH(X_1)、温度(X_2)及酶与底物比(X_3)为3个实验因子, 以白鲢鱼蛋白的水解度(Y)为指标, 做三因素中心复合响应面设计, 共计23个实验点, 白鲢鱼蛋白的水解度见表2。用Minitab软件进行实验数据处理,

表2 三因素中心复合设计结果

Table 2 Results of central composite design tests with 3 factors

实验号	X_1	X_2	X_3	Y	实验号	X_1	X_2	X_3	Y
1	-1	-1	-1	21.330	13	0	0	-1.68	23.068
2	1	-1	-1	28.040	14	0	0	1.68	30.014
3	-1	1	-1	22.760	15	0	0	0	28.440
4	1	1	-1	24.386	16	0	0	0	28.140
5	-1	-1	1	24.145	17	0	0	0	28.120
6	1	-1	1	30.612	18	0	0	0	28.280
7	-1	1	1	28.040	19	0	0	0	27.910
8	1	1	1	28.750	20	0	0	0	28.150
9	-1.68	0	0	20.930	21	0	0	0	28.350
10	1.68	0	0	26.893	22	0	0	0	28.790
11	0	-1.68	0	27.578	23	0	0	0	28.830
12	0	1.68	0	28.640					

注: 输出值Y: 白鲢鱼蛋白水解度(%)。

建立水解度Y与调控因子 X_i 间的回归方程式为:

$$Y = 28.335 + 1.8702x_1 + 0.1168x_2 + 1.9560x_3 - 1.5739x_1^2 - 0.0899x_1x_2 - 0.6442x_1x_3 - 1.3551x_2^2 - 0.1449x_2x_3 + 0.5321x_3^2$$

模型(1)

对回归方程进行方差分析, 结果见表3。F_{回归}=166.14>F_{0.005}(9, 22)=4.97, P<0.005表明模型极显著, 失拟项为0.331>0.05, 表明所建立的回归方程拟合性很好。

表3 回归方程的方差分析

Table 3 Variance analysis of regression equation

方差来源	自由度	平方和	F值	P	显著性
总回归	9	163.15	166.14	<0.0001	**
一次项	3	100.205	306.13	<0.0001	**
二次项	3	45.824	139.99	<0.0001	**
交互项	3	17.124	52.31	<0.0001	**
失拟项	5	0.653	1.37	0.331	
误差项	8	0.765			
总误差	22	164.572			

注: * 显著, P<0.05; ** 极显著, P<0.005; 表4同。

由表4可知, 回归方程及回归系数的检验结果表明, 在本实验条件下, 主因素对水解度影响大小顺序为: X_1 (pH)> X_3 (酶与底物的比)> X_2 (酶解温度)。

表4 各因素的方差分析

Table 4 Variance analysis of factors

因素	自由度	离均差平方和	均方和	F值	P	显著性
X_1	4	88.41	22.10	5.22	0.006	*
X_2	4	12.73	3.18	0.38	0.822	
X_3	4	65.62	16.40	2.98	0.047	*

2.2.1 响应面分析 根据拟合函数, 用Minitab对每两个因素对水解度绘制出响应面图, 此时考虑到定性分析各因素对水解度的关系, 固定另外两个因素时, 均做“0”水平处。图6显示为pH(X_1)和酶解温度(X_2)与白鲢鱼蛋白水解度的关系; 图7显示为pH(X_1)和酶与底物比(X_3)与白鲢鱼蛋白水解度的关系; 图8显示为酶解温度(X_2)和酶与底物比(X_3)与白鲢鱼蛋白水解度的关系。

2.2.2 数学模型分析 从响应面图分析可知, 酶解

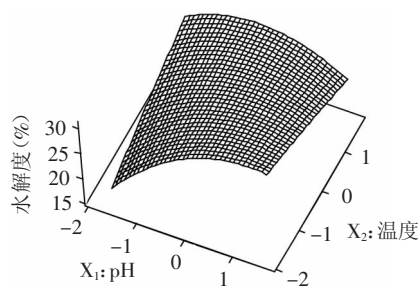


图6 酶解温度(X_1)与pH(X_2)的交互作用

Fig.6 The interaction between temperature(X_1) and pH(X_2)

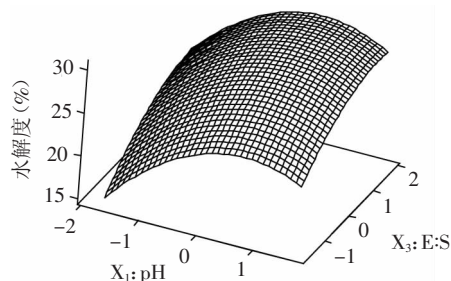


图7 pH(X_2)和酶与底物比(X_3)的交互作用

Fig.7 The interaction between pH(X_2) and [E]/[S](X_3)

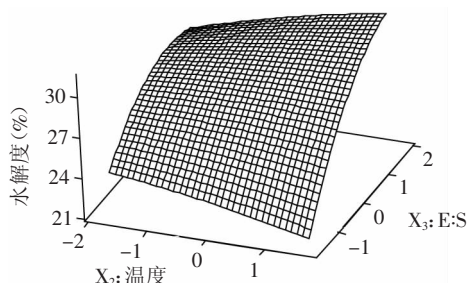


图8 酶解温度(X_1)和酶与底物比(X_3)的交互作用

Fig.8 The interaction of temperature(X_1) and [E]/[S](X_3)

温度、pH、酶与底物比对白鲢鱼蛋白水解度具有一定的影响,同时它们之间在蛋白水解过程相互作用,采用对拟合数学模型进行定量分析。

主因素效应分析:为了分析各主因素对鱼鳞胶原蛋白水解度的单独影响,由模型(1)可通过“降维法”把其他2个因素固定在零水平得3个偏回归模型:

$$y_1=28.335+1.8702x_1-1.5739x_1^2 \quad \text{模型(2)}$$

$$y_2=28.335+0.1168x_2-1.3551x_2^2 \quad \text{模型(3)}$$

$$y_3=28.335+1.9560x_3+0.5321x_3^2 \quad \text{模型(4)}$$

对其分别求导,可得

$$dy_1/dx_1=1.8702-3.1478x_1 \quad \text{模型(5)}$$

$$dy_2/dx_2=0.1168-2.7102x_2 \quad \text{模型(6)}$$

$$dy_3/dx_3=1.9560-1.0642x_3 \quad \text{模型(7)}$$

令 $dy_i/dx_i=0$ ($i=1, 2, 3$)可求出 y_i 极大值时各种因素单独最适量: $X_1=0.5941$, $X_2=0.0431$, $X_3=1.8380$ 。由主效应模型得出各因素不同水平下水解度(见表5)可得:a.随pH的提升蛋白水解度升高,1水平时增幅最高,随后增幅度变小;b.随酶解温度的提升蛋白水解度增高,到0水平时最高,随后水解度降低;c.随酶与底物比的升高蛋白水解度增高,到2水平时达到最高。

因素间交互效应分析。固定该模型任何3因素为0水平时可得另2因素交互效应模型:

表5 各因素效应分析(%)

Table 5 Effective analysis of single factor(%)

因子	水解度					平均水解度
	-2	-1	0	1	2	
X_1	18.299	24.891	28.335	28.631	25.780	25.187
X_2	22.681	26.863	28.335	27.097	23.148	25.625
X_3	26.551	26.911	28.335	30.823	34.375	29.399

$$y_{12}=28.335+1.8702x_1+0.1168x_2-0.0899x_1x_2-1.5739x_1^2-1.3551x_2^2 \quad \text{模型(8)}$$

$$y_{13}=28.335+1.8702x_1+1.9506x_3-0.6442x_1x_3-1.5739x_1^2+0.5321x_3^2 \quad \text{模型(9)}$$

$$y_{23}=28.335+0.1168x_2+1.9506x_3-0.1449x_2x_3-1.3551x_2^2+0.5321x_3^2 \quad \text{模型(10)}$$

由表6知,pH(X_1)、温度(X_2)的交互效应为水解度随pH和温度都是先增大后减小;通过分析可得,当在pH(X_1)、温度(X_2)为(1,0)水平时为两因素最佳水解度组合。同理可分析其他条件下的水解度。

表6 酶解温度(X_1)与pH(X_2)交互效应下的水解度(%)

Table 6 The interplay of hydrolysis temperature(X_1) and the pH(X_2)

X ₂	水解度					平均水解度 ȳ
	X ₁					
	-2	-1	0	1	2	
-2	12.285	19.057	22.681	23.1574	20.485	19.533
-1	12.402	23.329	26.863	27.249	25.144	22.997
0	19.174	24.890	28.335	28.631	25.780	25.362
1	17.357	23.743	27.097	27.303	24.361	23.972
2	13.472	19.884	23.148	23.265	20.233	20.000
ȳ	14.938	22.181	25.625	25.921	23.201	

2.2.3 水解度模型优化 根据建立的数学模型通过计算机进行模拟实验,可得到116种水解度理论值分布在0%~35%之间组合方案。其中水解度在0%~20%组合方案没有;20%~25%组合方案有38套;25%~30%组合方案有39套;30%~35%组合方案有39套。通过计算机模拟寻优,在水解度最高的30%~35%组合方案39套中,可得最高水解度为30.13%,对应组合方案为(0.733, -0.333, 0.911),真实值是pH9.37,酶解温度48.33℃,酶与底物的比93.87AU/kg。

2.3 水解时间的确定

经过中心组实验,得到碱性蛋白酶水解鲢鱼蛋白最佳工艺参数:pH9.37、酶解温度48.33℃、酶与底物的比93.87AU/kg、蛋白质浓度3.62%,在此条件下

表7 酶解时间对蛋白水解度的影响

Table 7 The effect of hydrolysis time on the DH of fish scale collagen

时间(h)	氨基酸态氮(g/L)	水解度(%)
1	1.35	25.11
2	1.43	29.91
3	1.71	33.32
4	1.95	35.92
5	2.10	38.95
6	2.31	39.54
7	2.31	40.72
8	2.31	40.77

进行酶解,每隔1h测定氨基酸态氮含量、水解度,实验结果如表7。

由表7可知,在前6h内,水解体系中的氨基酸态氮含量、水解度不断增加,当水解时间为6h时,体系的氨基酸态氮含量达到了2.31g/L。此后,水解度上升缓慢,氨基酸态氮的含量不再上升。因此,综合经济利益,水解白鲢鱼蛋白时间应控制在6h左右。

3 结论

用低值淡水鱼制备蛋白水解液的最佳工艺参数为:酶解pH9.37,酶解温度48.33℃,酶与底物的比93.87AU/kg,酶解时间6h,在此条件下水解体系水解度为39.54%,氨基酸态氮含量为2.31g/L,总氮回收率为93.55%,蛋白质浓度为3.62%。酶解制得的水解液,经浓缩、真空冷冻干燥后制得鱼粉,便于鱼调味品的研发。

参考文献

- [1] 张慤,张骏.国内外低值淡水鱼加工与下脚料利用的研究进展[J].食品与生物技术学报,2006,25(5):115-126.
- [2] 戴新明,熊善柏.湖北省淡水鱼加工与综合利用[J].渔业现代化,2004(2):42-43.
- [3] 赵玉红,孔保华.鱼蛋白水解的研究进展[J].肉类工业,2002(3):31-34.
- [4] 郑伟,石伟勇.低值鱼高值化研究进展综述[J].中国水产,

2005(9):70-71.

- [5] Stein I A, Svein J H, Vincent G H. Enzymatic hydrolysis of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) viscera[J]. Process Biochemistry, 2005(40):1957-1966.
- [6] 杨天宝,王杨,赵剑飞.天然肉类风味调味料-动物水解蛋白及其在食品工业中的应用[J].肉类食品,2005(1):79-81.
- [7] 鲁肇元,杨立革,李月.复合调味料及其产品开发[J].中国酿造,2004(3):1-5.
- [8] Bhaskar N, Benila T, Radha C, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of Carla for preparing protein hydrolysate using a commercial protease[J]. Bioresource Technology, 2007:1-9.
- [9] 黄翠姬,刘昭明.复合调味品调味理论探讨[J].中国调味品,1999(6):5-8.
- [10] 靳挺,武玉学,徐东.龙头鱼海鲜调味料的制备研究[J].中国食品学报,2010,10(1):128-132.
- [11] 余杰,陈美珍.酶法制取龙头鱼水解蛋白及海鲜风味料的研究[J].食品与发酵工业,2000,26(3):39-42.
- [12] 大连轻工业学院.食品分析[M].北京:中国轻工业出版社,1994:75-380.
- [13] Adler-Nissen J. Enzymatic hydrolysis of food protein[M]. Essex Elsevier Applied Science Publishers LTD, 1986:122-144.
- [14] 郭霭.光基础生物化学[M].北京:高等教育出版社,2001.
- [15] 王璋.食品酶学[M].北京:中国轻工业出版社,1990:180-185.

(上接第173页)

2-4,其固体发酵产木聚糖酶的最佳条件为:玉米芯:麸皮为7:3(w/w);最佳氮源为酵母膏和胰蛋白胨的混合氮源,添加量为1.5%;吐温-80添加量为0.5%,初始pH为7.2,培养基含水量为80%,250mL三角瓶装料量为8g,发酵温度50℃,发酵时间72h,该条件下木聚糖酶产量达27952U/g干基。该酶的最适反应温度为75℃,最适反应pH为4.5,在70℃以下具有良好的稳定性,在室温下储藏150d仍然保留87%的活性。

木聚糖酶在饲料加工、造纸漂白、面包改良及啤酒和果汁的澄清中有广泛的应用,目前市场上的木聚糖酶绝大多数是中低温木聚糖酶,其最适酶反应温度为50℃,热稳定性较差,通常超过60℃活性基本丧失,难以满足某些工业应用过程要求。如在啤酒制造过程中,木聚糖酶通常在大麦液化和糖化工段加入,此时的料温一般为70~80℃左右,传统的中低温木聚糖酶在此温度下很快就失去其活性,不适合用于啤酒行业。而本研究所获得的木聚糖酶的最适反应温度为75℃,具有良好的温度稳定性,非常适合于啤酒生产过程的澄清工艺,是一种很有工业化生产应用前景的木聚糖酶。

参考文献

- [1] 江正强,李里特,李颖.耐热木聚糖酶研究进展[J].中国生物工程杂志,2003,23(8):47-51.
- [2] Brienzo M, Arantes V, Milagres AMF. Enzymology of the thermophilic ascomycetous fungus *Thermoascus aurantiacus* [J].

Fungal Biol Rev, 2008, 22:120-130.

- [3] 谢响明,何晓青.微生物的木聚糖酶及其生物漂白研究进展[J].北京林业大学学报,2003,25(3):111-116.
- [4] 李里特,李秀婷,江正强,等.嗜热真菌耐热木聚糖酶对面包品质的改善[J].中国粮油学报,2004,19(5):11-15.
- [5] 郑翔鹏,王国川,林海峰,等.木聚糖酶在啤酒中的应用研究[J].啤酒科技,2008(9):27-36.
- [6] 钟茂,谢和芳.饲料木聚糖酶的开发[J].饲料工业,2005,26(14):56-59.
- [7] Knob A, Terrasan CRF, Carmona EC. β -Xylosidases from filamentous fungi: an overview[J]. World J Microbiol Biotechnol, 2010, 26:389-407.
- [8] Polizeli MLTM, Rizzatti ACS, Monti R, et al. Xylanases from fungi: properties and industrial applications[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2005, 67:577-591.
- [9] 李秀婷,杨绍青,江正强,等.利用农业废弃物生产嗜热真菌(*T. lanuginosus*)耐热木聚糖酶的固体发酵研究[J].工业微生物,2004,34(4):13-18.
- [10] 杨绍青,闫巧娟,江正强,等.嗜热拟青霉固体发酵产木聚糖酶条件的优化[J].微生物学通报,2006,33(3):1-6.
- [11] Sonia KG, Chadha BS, Saini HS. Sorghum straw for xylanase hyper-production by *Thermomyces lanuginosus* (D2W3) under solid-state fermentation[J]. Bioresour Technol, 2005, 96:1561-1569.
- [12] Badhan AK, Chadha BS, Sonia KG, et al. Functionally diverse multiple xylanases of thermophilic fungus *Myceliophthora* sp. IMI 387099[J]. Enzyme Microb Technol, 2004, 35:460-466.