

响应曲面法优化 云南武定鸡胸肉酶解工艺

宋武刚^{1,2}, 王桂瑛^{1,2}, 程志斌², 谷大海^{1,2}, 徐志强^{1,2}, 朱仁俊^{1,*}, 廖国周^{1,2,*}

(1. 云南农业大学食品科学技术学院, 云南昆明 650201;

2. 云南农业大学云南省畜产品加工工程技术研究中心, 云南昆明 650201)

摘要:以 150 日龄的云南武定阉母鸡鸡胸肉为原料, 水解度为指标, 在单因素实验基础上, 经过 Box-Behnken 试验优化得到两种酶复配后最佳酶解工艺条件。结果表明, 响应面的模型极显著 ($p < 0.0001$), 失拟项不显著 ($p = 0.1441 > 0.05$), $R^2 = 0.9919$, $R^2_{\text{adj}} = 0.9815$; 最佳反应条件为木瓜蛋白酶和中性蛋白酶同时添加, 添加量分别为 0.27% 和 0.13%, 反应温度 54.3 °C, pH 为 6.8, 在此条件下反应 5 h, 所得鸡胸肉酶解液, 水解度为 $36.03\% \pm 0.31\%$, 与预测值 36.26% 基本吻合。因此, 该模型拟合度良好, 可为实际应用提供参考。

关键词:武定鸡, 鸡胸肉, 水解度

Optimization of enzymatic hydrolysis process of Yunnan Wuding chicken breast meat by response surface methodology

SONG Wu-gang^{1,2}, WANG Gui-ying^{1,2}, CHENG Zhi-bin², GU Da-hai^{1,2},

XU Zhi-qiang^{1,2}, ZHU Ren-jun^{1,*}, LIAO Guo-zhou^{1,2,*}

(1. College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. Livestock Product Processing Engineering and Technology Research Center of
Yunnan Province, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: The 150 days old castrated hen breasts in Yunnan Wuding were used as material, the degree of hydrolysis (DH) was analyzed, based on the results of the single-factor tests, the optimal hydrolysis condition for chicken breast hydrolyzed by papain and neutral protease was obtained through the Box-Behnken methodology. The results showed that the model was highly significant ($p < 0.0001$), and the lack of fit was not significant ($p = 0.1441 > 0.05$), $R^2 = 0.9919$, $R^2_{\text{adj}} = 0.9815$. The optimal enzymolysing process was as follows: papain and neutral protease were mixed and added at the same time, papain and neutral protease was 0.27% and 0.13% respectively, temperature 54.3 °C, pH 6.8, after 5 h under the above reaction conditions, the DH reached $36.03\% \pm 0.31\%$, agreed with the predicted value 36.26%. Therefore, the model has a good fit result and provides reference for practical application.

Key words: Wuding chicken; chicken breast; degree of hydrolysis

中图分类号: TS251.5+5

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2017)18-0099-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2017.18.020

我国拥有极为丰富的地方优质肉鸡品种资源, 目前已经成为第二大鸡肉生产和消费国。肉鸡在国内市场上除整只活鸡销售外, 主要是以各部位分割后制成熟食销售, 一些带骨产品受到我国消费者的普遍欢迎, 而具有高蛋白、低脂肪等特点的鸡胸肉, 因其口感不佳, 市场开拓不够广, 价格也偏低^[1-3]。由于生产技术和加工设备的落后, 我国肉鸡的精深加工程度仅为 5.8%, 与世界的 20% 存在较大差距,

而云南可能更低, 而且受制于传统消费观念和饮食习惯及资金支持, 云南地方优质肉鸡产业发展缓慢^[4-6]。云南武定鸡具有耐粗饲、抗逆性强、肉质细嫩鲜美的特点, 为云南“六大名鸡”之首, 武定阉鸡则是武定鸡中的精品, 被称为“武定壮鸡”, 其肉质更细嫩, 氨基酸、必需氨基酸和风味氨基酸含量更高^[7-9]。目前, 武定鸡的研究主要集中在营养成分测定及营养代谢相关基因的分析, 对武定鸡进行精深

收稿日期: 2017-02-07

作者简介: 宋武刚(1987-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 肉品加工与质量控制, E-mail: allens1987@126.com。

* 通讯作者: 朱仁俊(1968-), 男, 硕士, 教授, 研究方向: 食品安全与质量控制, E-mail: 2421125021@qq.com。

廖国周(1978-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 畜产品加工与质量控制, E-mail: liaoguo Zhou@ynau.edu.cn。

基金项目: 云南特色资源风味调料产品开发及产业化(2013IB010); 云南省科技计划项目重大科技专项(2016ZA008)。

加工和产品开发鲜有报道^[10-13]。

蛋白酶解技术在畜产品和水产品的开发利用方面已经被广泛应用,通过蛋白酶水解蛋白质可以提供高附加值产品,产品包括药物、人类和动物营养品、化妆品、微生物氮源和天然抗氧化生物活性肽等,这些酶解产物经过精深加工后,不仅具有优于其他生物活性化合物的特点,而且能赋予产品营养与功能等性质^[14-17]。Schmidt^[18]、白腾辉^[19]、闫利萍^[20]等人对鸡胸肉酶解工艺条件进行了研究,孙杨赢^[21]、唐道邦^[22]等对鸡胸肉酶解液的抗氧化活性做了研究,而利用这些酶解产物与氨基酸、还原糖和(或)香辛料发生美拉德反应制备热反应香精和天然调味料的技术可以避免风味的损失以及营养的流失,一直是研究的热点^[23]。因此,利用蛋白酶解技术可以对鸡胸肉进行精深加工,不仅可以扩大鸡胸肉产品的市场,还可以提高鸡胸肉的附加值,创造更大的经济效益,具有广泛的开发前景。本研究以150日龄武定阉母鸡胸肉为原料,通过筛选高效的水解酶,研究了两种酶复配的最佳酶解工艺条件,为后期开发特色风味调味料提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

150日龄武定阉母鸡鸡胸肉 云南农业大学实验种鸡场;木瓜蛋白酶(80 U/g)、中性蛋白酶(10 U/g)、风味蛋白酶(10 U/g)、动物蛋白酶(15 U/g) 江苏锐阳生物科技有限公司;甲醛和氢氧化钠(分析纯) 天津市凤船化学试剂科技有限公司;磷酸二氢钠和磷酸氢二钠(食品级) 连云港友进食品添加剂技术开发有限公司;其他试剂 均为国产分析纯。

BCD-254 冰箱 SIEMENS;101 型干燥箱 北京中兴;MJ-BL25c4 搅拌机 广东美的;JJ-1 增力搅拌器 常州澳华;DK-98-II 电热恒温水浴锅 天津泰斯特;DT5-2 型低速台式离心机 北京时代北利;KDN-04B 半自动凯氏定氮仪 浙江托普。

1.2 实验方法

1.2.1 水分测定 采用 GB/5009.3-2010 中直接干燥法测定^[24]。

1.2.2 总氮测定 参照 GB/T 9695.11-2008 测定^[25]。

1.2.3 酶解工艺 鸡胸肉→捣碎→一定 pH 缓冲液溶解→加酶→恒温水解→灭酶(100 ℃,10 min)→离心(5000 r/min,10 min)→上清液为酶解产物。

1.2.4 单一酶筛选实验 根据风味蛋白酶、动物蛋白酶、木瓜蛋白酶、中性蛋白酶性质及预实验结果确定酶解基本条件,以水解度为指标,考察不同酶的酶解效果。

1.2.4.1 酶添加量实验 固定温度 50 ℃,初始 pH6.5,酶解时间 4 h,四种酶添加量分别为 0.10%、0.15%、0.20%、0.25%、0.30%、0.35% (以鸡胸肉干重计,下同),考察酶添加量对水解度的影响。

1.2.4.2 酶解时间实验 固定温度 50 ℃,初始 pH6.5,四种酶添加量为 0.25%,酶解时间分别为 3、3.5、4、4.5、5、5.5、6 h,考察反应时间对水解度的

影响。

1.2.4.3 酶解温度实验 固定四种酶添加量为 0.25%,初始 pH6.5,酶解时间 4 h,酶解温度分别为 45、50、55、60 ℃,考察酶解温度对水解的影响。

1.2.4.4 酶解 pH 实验 固定四种酶添加量为 0.25%,酶解温度 50 ℃,酶解时间 4 h,酶解 pH 分别为 5.5、6、6.5、7、7.5,考察酶解初始 pH 对水解度的影响。

1.2.5 复配酶单因素实验 根据 1.2.4 所得到的实验结果,以水解度为指标,研究酶复配比例、酶添加量、反应时间、反应温度和 pH 对复配酶酶解效果的影响。

1.2.5.1 酶复配比例 固定温度 50 ℃,初始 pH6.5,酶解时间 5 h,木瓜蛋白酶和中性蛋白酶总添加量为 0.3%,研究两种酶不同比例(3:1、2:1、1:1、1:2、1:3)对酶解效果的影响。

1.2.5.2 复配酶添加量 固定温度 50 ℃,初始 pH6.5,酶解时间 5 h,木瓜蛋白酶与中性蛋白酶添加比例为 2:1,研究不同添加量(0.15%、0.225%、0.3%、0.375%、0.45%)对酶解效果的影响。

1.2.5.3 酶解时间 固定复配酶添加量 0.3% (木瓜蛋白酶:中性蛋白酶=2:1),温度 50 ℃,初始 pH6.5,研究不同酶解时间(3、3.4、4、4.5、5、5.5、6 h)对酶解效果的影响。

1.2.5.4 酶解温度 固定复配酶添加量 0.3% (木瓜蛋白酶:中性蛋白酶=2:1),时间 5 h,初始 pH6.5,研究不同酶解温度(45、50、55、60 ℃)对酶解效果的影响。

1.2.5.5 酶解 pH 固定复配酶添加量 0.3% (木瓜蛋白酶:中性蛋白酶=2:1),时间 5 h,温度 50 ℃,研究不同酶解 pH(6.0、6.5、7.0、7.5)对酶解效果的影响。

1.2.6 响应面试验 根据 1.2.5 实验结果,运用 Box-Behnken 中心组合试验设计原理,以水解温度(X_1)、水解 pH(X_2)、酶添加量(X_3)为变量,水解度为指标,实验设计详见表 1 及表 3。

表 1 Box-Behnken 试验设计

Table 1 Design of Box-Behnken response surface experiments

水平	X_1 温度(℃)	X_2 pH	X_3 酶添加量(%)
-1	50	6.5	0.30
0	55	7	0.375
1	60	7.5	0.45

1.2.7 水解度的测定 采用甲醛滴定法测定酶解液中氨基酸态氮的含量,参照 GB 18186-2000 酿造酱油中氨基酸态氮测定方法,具体操作方法如下:吸取 5 mL 酶解液上清液于 100 mL 容量瓶中,加水至刻度,混匀后,吸取 20.0 mL,置于 200 mL 烧杯中,加入 60 mL 蒸馏水,用氢氧化钠标准溶液滴定至 pH 计指示 pH=8.2,加入 10.0 mL 甲醛溶液,混匀,再用氢氧化钠标准滴定溶液继续滴定至 pH=9.2,记下消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积 V_2 ,同时,做空白对照实验,记下消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积 V_1 ^[26]。水解度(%)=(氨基酸态氮/总氮)×100,水解度越

大,酶解效果越好。

氨基态氮 = $\frac{(V_2 - V_1) \times c_1 \times 0.014 \times 100}{V_3 \times 5} \times 100$

式中, V_3 - 样品体积, mL; c_1 - 氢氧化钠标准滴定溶液的浓度, mol/L; 0.014-1.00 mL 氢氧化钠标准滴定溶液 [$c(\text{NaOH}) = 1.000 \text{ mol/L}$] 相当于氮的质量, g。

1.3 数据分析

数据处理与分析采用 SPSS 19.0 软件进行单因素方差分析与多重比较, 以平均值 $\pm$ 标准差表示; 响应面实验由 Design-Expert 8.0.5b 设计并进行分析。

2 结果与分析

2.1 武定鸡胸肉基本成分分析

为计算蛋白酶的添加量(以鸡胸肉的干重计)和水解度, 故测定鸡肉原料的水分含量和总氮含量, 结果见表 2。

表 2 武定鸡胸肉基本成分

Table 2 The basic ingredients of chicken meat

成分	水分 (%)	总氮 (g/100 g)
含量	72.53 $\pm$ 0.01	4.26 $\pm$ 0.16

2.2 单一酶对鸡胸肉水解度的影响

2.2.1 单一酶添加量对鸡胸肉水解度的影响 由图 1 知, 随着酶添加量增加, 水解度增大, 达到一定量后变化趋于平稳。其中, 木瓜蛋白酶是水解度最大酶, 在 0.25% 时, 水解度最大, 为 26.49%, 且与 0.3%、0.35% 添加量的水解度差异不明显 ($p > 0.05$); 风味蛋白酶、动物蛋白酶和中性蛋白酶在添加量为 0.3% 时水解度达到最大, 分别为 8.65%、17.50% 和 22.37%, 且与其他添加量的水解度相比, 差异极显著 ($p < 0.01$), 当添加量为 0.35% 时, 水解度却有所下降。

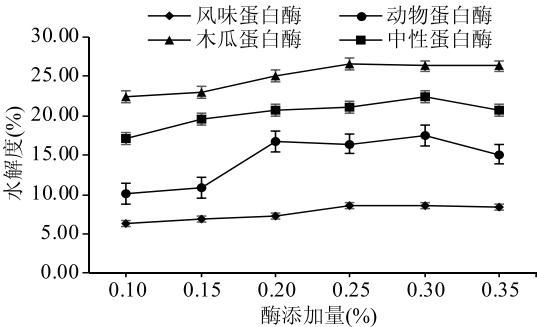


图 1 单一酶添加量对水解度的影响

Fig.1 Effect of addition of single enzyme on DH

2.2.2 单一酶酶解时间对鸡胸肉水解度的影响 由图 2 可知, 随着反应的进行, 水解度逐渐增大, 在反应 5 h 后趋于平缓, 说明反应接近完成, 反应 5 h 时, 风味蛋白酶、动物蛋白酶、木瓜蛋白酶和中性蛋白酶的水解度分别为 10.16%、18.53%、25.74%、18.94%。从实验结果分析可知, 四种酶 5 h 水解度与 3、3.5、4、4.5 h 的水解度差异极显著 ($p < 0.01$), 且与 6 h 的水解度差异不显著 ($p > 0.05$), 说明底物在 5 h 内基本被酶解完全, 而且酶解时间过长, 会提高生产成本, 因此适宜酶解时间为 5 h。

2.2.3 单一酶酶解温度对鸡胸肉水解度的影响 由

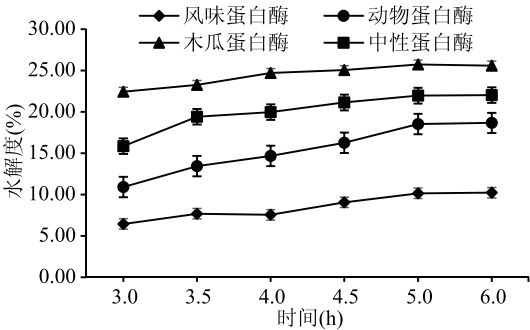


图 2 单一酶酶解时间对水解度的影响

Fig.2 Effect of enzymatic time of single enzyme on DH

图 3 可知, 随着反应温度的升高, 水解度先上升后下降。风味蛋白酶在 50 $^{\circ}\text{C}$ 时水解度达到最大, 水解度为 10.43%, 相比其他反应温度的水解度, 差异极显著 ($p < 0.01$), 而动物蛋白酶、木瓜蛋白酶和中性蛋白酶在 55 $^{\circ}\text{C}$ 时, 水解度达到最大, 分别为 17.09%、26.49%、21.34%。其中, 木瓜蛋白酶在 55 $^{\circ}\text{C}$ 的水解度相比其他温度的水解度, 差异极显著 ($p < 0.01$), 中性蛋白酶在 45~55 $^{\circ}\text{C}$ 之间, 水解度差异不明显, 但与 60 $^{\circ}\text{C}$ 相比, 差异极显著 ($p < 0.01$)。

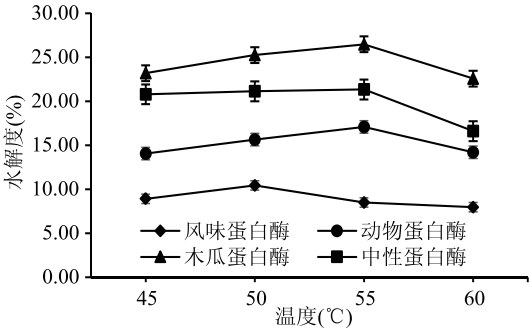


图 3 单一酶酶解温度对水解度的影响

Fig.3 Effect of enzymatic temperature of single enzyme on DH

2.2.4 单一酶酶解 pH 对鸡胸肉水解度的影响 由图 4 可知, 风味蛋白酶在 pH 为 6.5 时, 水解度最大, 为 11.94%, 而动物蛋白酶、木瓜蛋白酶和中性蛋白酶的水解度在 pH 为 7.0 时, 达到最大, 分别为 20.52%、28.82%、24.84%。通过对实验数据进行分析可知, 风味蛋白酶在 pH 为 6.5 时的水解度与 pH 为 5.5、6.0、7.5 时的水解度差异极显著 ($p < 0.01$), 而木瓜蛋白酶和中性蛋白酶在 pH 为 7.0 时的水解度与 pH 为 5.5、6.0、6.5、7.5 时的水解度相比, 差异极显著 ($p < 0.01$), 动物蛋白酶在 pH 为 7.0 时的水解度与 pH 为 5.5、6.0 和 6.5 时的水解度相比, 差异也极显著 ($p < 0.01$)。

通过以上实验, 考察了酶添加量, 酶解时间、温度和 pH 四个因素对水解度的影响, 发现木瓜蛋白酶在四个因素实验中, 水解度都是最高的, 而中性蛋白酶次之, 且与木瓜蛋白酶反应条件相似, 在各个单因素实验中, 最高的木瓜蛋白酶水解度大概是水解度最低的风味蛋白酶的 3 倍。木瓜蛋白酶属于半胱氨酸蛋白酶类, 能水解甘氨酸、赖氨酸和精氨酸等的蛋白底物, 中性蛋白酶属于金属蛋白酶类, 能水解苯丙氨酸、亮氨酸、色氨酸等的底物, 两种酶复配, 极大的增大了可水解的底物范围, 且本研究以水解度为指

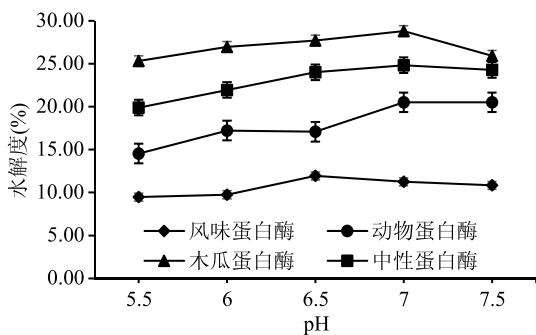


图4 单一酶酶解 pH 对水解度的影响

Fig.4 Effect of reaction pH of single enzyme on DH

标,发现木瓜蛋白酶和中性蛋白酶水解鸡胸蛋白的水解度明显高于其余两种蛋白酶,两种蛋白酶复配水解鸡胸肉蛋白的水解度明显高于单一酶水解,故选出木瓜蛋白酶和中性蛋白酶进行复配。

2.3 复配酶对鸡胸肉水解度的影响

2.3.1 复配酶复配比例对鸡胸肉水解度的影响 鸡胸肉蛋白质中的各种氨基酸含量是不同的,而木瓜蛋白酶和中性蛋白酶所作用的氨基酸残基是不同的,因此,不同比例酶组合,水解度不同。由图 5 可知,酶复配比例在木瓜蛋白酶与中性蛋白酶比为 2:1 时,水解度最大,为 32.87%,通过实验数据分析发现,木瓜蛋白酶比中性蛋白酶为 2:1 时的水解度与其余复配比例相比,差异极显著 ($p < 0.01$),因此,实验选择木瓜蛋白酶与中性蛋白酶复配比例为 2:1。

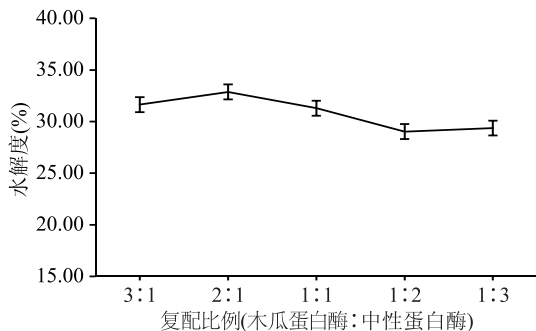


图5 酶复配比例对水解度的影响

Fig.5 Effect of the ratio of two enzymes on DH

2.3.2 复配酶添加量对鸡胸肉水解度的影响 由图 6 可知,木瓜蛋白酶和中性蛋白酶添加量 0.15% ~ 0.375% 时,水解度不断增大,且差异极显著 ($p < 0.01$),在 0.375% 时水解度最大,为 36.92%。当酶添加量从 0.375% 增加到 0.45%,水解度不再增加反而出现下降,且两者水解度差异极显著 ($p < 0.01$),当酶浓度过高时,可能还会不利于反应的进行,这可能是由酶的性质决定的,酶既能促进正反应,也能促进逆反应的进行,因此,酶的添加量要适可而止。

2.3.3 复配酶酶解时间对鸡胸肉水解度的影响 由图 7 可知,当酶解时间由 3 h 增至 5 h 时,水解度明显增大,差异极显著 ($p < 0.01$),在 5 h 时,水解度达到了 34.25%,当酶解时间由 5 h 增加到 6 h 时,水解度趋于平缓,差异也不显著 ($p > 0.05$),从实际成本及其他因素考虑,选择反应时间为 5 h。

2.3.4 复配酶酶解温度对鸡胸肉水解度的影响 由

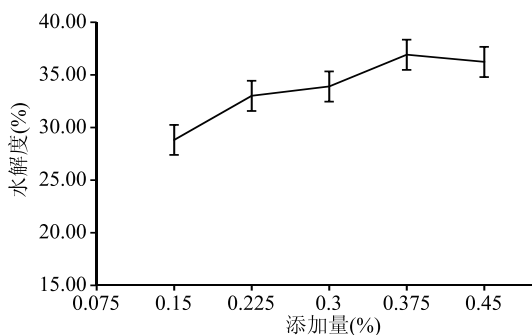


图6 复配酶添加量对水解度的影响

Fig.6 Effect of addition of two enzymes on DH

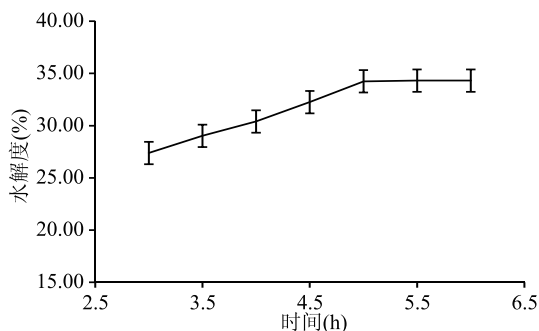


图7 复配酶酶解时间对水解度的影响

Fig.7 Effect of enzymatic time of two enzymes on DH

图 8 可知,当温度从 45 °C 上升到 55 °C 时,水解度逐渐增大,在 55 °C 时水解度达到最大值,为 34.38%,与 45 和 50 °C 的水解度相比,差异极显著 ($p < 0.01$),温度继续升高,可能部分酶失去了活性,水解度降低,实验数据分析显示与温度为 55 °C 时水解度相比,差异也是极显著的 ($p < 0.01$)。

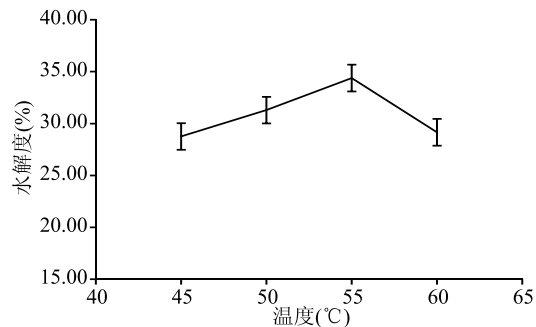


图8 复配酶酶解温度对水解度的影响

Fig.8 Effect of enzymatic temperature of two enzymes on DH

2.3.5 酶解 pH 对鸡胸肉水解度的影响 由图 9 可知,当 pH 由 6.0 上升到 7.0 时,水解度呈上升趋势,在 pH 为 7.0 时,达到最大值为 31.77%,当 pH 超过 7.0 后,水解度又下降,结果显示 pH 7.0 时的水解度与 pH 6.0、7.5 时的水解度差异极显著 ($p < 0.01$),这结果是完全符合酶的特性,因为酶都具有一定适宜的反应 pH,不适宜的条件都会影响酶的活性。

通过单一酶的单因素和复配酶的实验结果可知,复配酶解的效果要优于单一酶酶解,水解度随反应时间延长呈现先上升后平缓,且考虑到经济成本等原因,选择 5 h,该因素不参与后续的响应面实验的优化,所以选择了温度、pH、酶添加量等三个因素

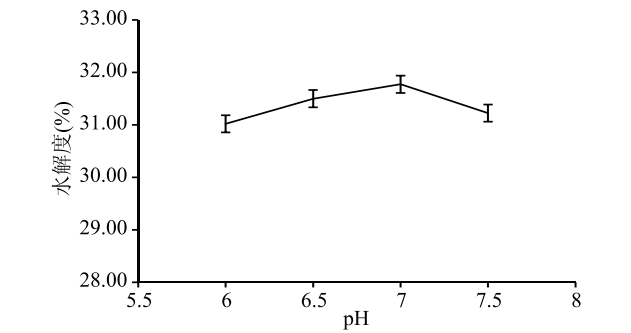


图9 复配酶酶解 pH 对水解度的影响

Fig.9 Effect of reaction pH of two enzymes on DH

进行优化实验。

2.4 响应曲面实验结果

由表 4 可知,模型的 $p < 0.0001$, 是极显著的; 失拟项 $p = 0.1441 > 0.05$, 不显著, $R^2 = 0.9919$, $R^2_{adj} = 0.9815$, 该模型的拟合度较好。对实验数据进行多项式拟合回归, 以水解度 (Y) 为因变量, 温度 (X_1)、pH (X_2)、酶添加量 (X_3) 为自变量, 建立回归方程: $Y = 35.95 - 1.08 X_1 - 0.20 X_2 + 1.36 X_3 - 0.033 X_1 X_2 - 0.93 X_1 X_3 + 0.015 X_2 X_3 - 4.26 X_2^1 - 0.67 X_2^2 - 1.29 X_2^3$, 由图 10 和回归系数的显著性分析结果表明, X_1 、 X_3 、 $X_1 X_3$ 、 X_1^2 、 X_2^2 、 X_3^2 为极显著项, 其它项均不显著, 即温度与酶添加量交互作用显著, 温度与 pH 和酶添加量与 pH 交互作用不显著, 说明温度和酶添加量对水解度的影响大, 这一实验结果与白腾辉^[20]的研究结果相似。通过响应面的分析得到最优的组合为木瓜蛋白酶和中性蛋白酶的添加量分别为 0.27% 和 0.13%, 反应温度 54.33 ℃, pH 为 6.77, 反应时间 5 h。为了验证响应面实验的可靠性, 对最佳酶解条件进行实验, 从实际角度出发, 实验酶解条件为木瓜蛋白酶和中性蛋白酶的添加量分别为 0.27% 和 0.13%, 反应温度 54.3 ℃, pH 为 6.8, 反应时间 5 h。在此条件下, 水解度的理论预测值为 36.26%。验证实验中

表 3 Box-Behnken 实验方案及结果

Table 3 Design and results of the response surface experiments

实验号	X ₁	X ₂	X ₃	Y 水解度 (%)
1	-1	0	1	34.11
2	1	1	0	29.72
3	0	-1	1	35.21
4	0	0	0	36.24
5	0	1	-1	32.74
6	-1	0	-1	28.96
7	0	0	0	35.75
8	0	0	0	36.17
9	-1	-1	0	32.25
10	0	1	1	34.93
11	0	-1	-1	33.08
12	0	0	0	35.62
13	-1	1	0	31.84
14	1	0	1	29.99
15	0	0	0	35.96
16	1	-1	0	30.26
17	1	0	-1	28.55

水解度为 36.03% ± 0.31%, 与预测值基本符合, 从而说明此方程与实际拟合较好, 验证了此模型的合理性。

3 结论

在单因素实验的基础上, 采用 Box-Behnken 实验设计并通过响应面法优化修正后得到鸡胸肉最佳的酶解工艺条件为木瓜蛋白酶和中性蛋白酶的添加量分别为 0.27% 和 0.13%, 反应温度 54.3 ℃, pH 为 6.8, 在此条件下, 反应时间 5 h 后, 鸡胸肉酶解液的水解度达到了 36.03% ± 0.31%, 与预测值 36.26% 基本吻合, 说明此方程与实际拟合较好, 验证了此模型的合理性。

表 4 回归模型方差分析

Table 4 Variance analysis of regression model

变异来源	平方和	自由度	均方	F	Pr > F	显著性
模型	118.04	9	13.12	95.51	<0.0001	**
X ₁	9.33	1	9.33	67.95	<0.0001	**
X ₂	0.31	1	0.31	2.24	0.1778	
X ₃	14.88	1	14.88	108.35	<0.0001	**
X ₁ X ₂	4.225 × 10 ⁻³	1	4.225 × 10 ⁻³	0.031	0.8657	
X ₁ X ₃	3.44	1	3.44	25.06	0.0016	**
X ₂ X ₃	9.000 × 10 ⁻⁴	1	9.000 × 10 ⁻⁴	6.554 × 10 ⁻³	0.9377	
X ₂ ¹	76.38	1	76.38	556.17	<0.0001	**
X ₂ ²	1.90	1	1.90	13.83	0.0075	**
X ₂ ³	6.97	1	6.97	50.75	0.0002	**
残差	0.96	7	0.14			
失拟项	0.68	3	0.23	3.22	0.1441	不显著
净误差	0.28	4	0.070			
总离差	119.00	16				

注: “**”表示差异极显著, $p < 0.01$ 。

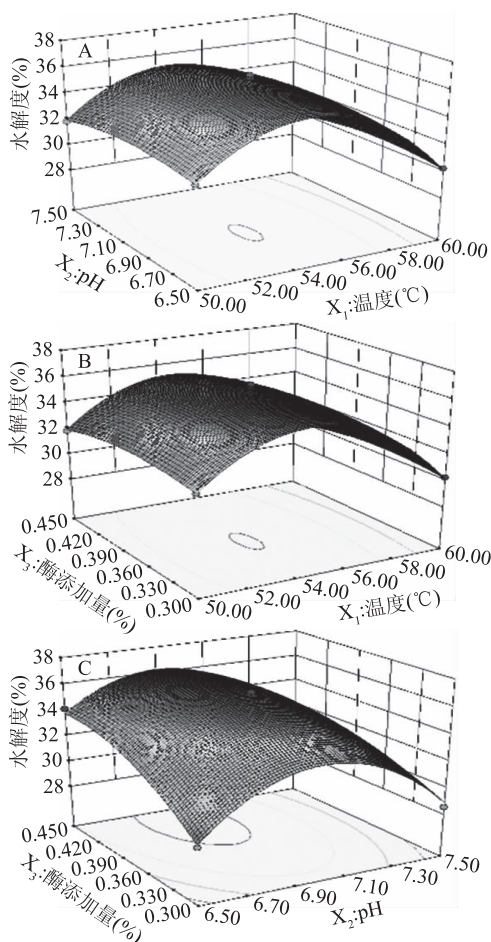


图10 温度与pH(A)、温度与酶添加量(B)和pH与酶添加量(C)交互影响鸡胸肉水解度曲面图

Fig.10 Graph on interaction effect of reaction temperature and pH(A), reaction temperature and enzyme addition(B), pH and enzyme addition(C) on the degree of chicken breast hydrolysis

参考文献

- [1] 朱仁俊,唐臻睿,李清,等.武定鸡肌肉肌苷酸及相关核苷酸含量的比较[J].食品研究与开发,2014(11):19-22.
- [2] 杨二刚.酶解鸡肉制备热反应天然鸡肉香精的研究[D].无锡:江南大学,2008.
- [3] 陈怡颖,张玥琪,孙颖,等.鸡肉及其酶解液挥发性风味成分的对比分析[J].精细化工,2015,32(4):426-433.
- [4] 张英,白杰,张海峰.鸡肉制品的现状与发展[J].肉类研究,2009(8):72-75.
- [5] 王吉报,蒋永宁.云南畜牧业产业发展状况分析[J].云南农业大学学报:社会科学版,2012,6(2):23-26.
- [6] 姜义洲,谢璞,苗永旺,等.云南肉鸡业的现状及发展对策[J].云南畜牧兽医,2002(3):19-20.
- [7] 李石友,徐英,李琦华,等.云南地方鸡肉品质品质的比较[J].西南农业学报,2008,21(1):177-179.
- [8] 朱仁俊,唐臻睿,黄启超,等.云南武定鸡肉品质分析[J].

现代畜牧兽医,2012(4):23-26.

- [9] 杨明银,文忠,段纲,等.阉割对武定鸡肉品质的影响[J].中国畜牧兽医,2009,36(3):221-223.
- [10] 张斌,赵智勇,相德才,等.武定鸡 APOB、ADFP、FATP1 基因表达量变化及其与脂肪沉积的相关性[J].中国家禽,2016,38(24):11-17.
- [11] 荣华,刘丽仙,豆腾飞,等.武定鸡和大围山微型鸡器官指数比较及其与屠体性状的相关性分析[J].中国家禽,2014,36(22):12-15.
- [12] 朱仁俊,黄启超,唐臻睿,等.云南武定鸡肌肉组织学特性与嫩度分析[J].食品科技,2012(7):128-130.
- [13] 朱仁俊,唐臻睿,李清,等.不同日龄武定鸡氨基酸含量比较研究[J].黑龙江畜牧兽医,2012(8):65-66.
- [14] Mahmoud M I. Physicochemical and functional properties of protein hydrolysates in nutritional products[J]. Food Technology, 1994, 48(10):89-95.
- [15] Bhaskar N, Modi V, Govindaraju K, et al. Utilization of meat industry by products: protein hydrolysate from sheep visceral mass[J]. Bioresource Technology, 2007, 98(2):388-394.
- [16] Choi J H, Kim K T, Sang M K. Optimization and biochemical characteristics of an enzymatic squid hydrolysate for manufacture of a squid complex seasoning [J]. Food Science and Biotechnology, 2014, 23(2):417-423.
- [17] Je J Y, Park P J, Kim S K. Antioxidant activity of a peptide isolated from Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) frame protein hydrolysate [J]. Food Research International, 2005, 38(1):45-50.
- [18] Schmidt C G, Salasmellado M. Influence of alcalase and flavourzyme performance on the degree of hydrolysis of the proteins of chicken meat [J]. Química Nova, 2009, 32(32):1144-1150.
- [19] 白腾辉,马亚萍,康壮丽,等.响应面法优化鸡胸肉肌原纤维蛋白酶法水解工艺条件[J].食品工业科技,2016,37(1):219-225.
- [20] 闫利萍,汪张贵,彭增起.复合酶法水解鸡胸肉蛋白工艺的优化[J].江苏农业科学,2011,39(5):367-370.
- [21] 孙杨赢,潘道东,郭宇星.鸡肉蛋白的酶解及其抗氧化活性研究[J].食品科学,2010,31(24):56-61.
- [22] 唐道邦,裴小平,徐玉娟,等.响应曲面法优化鸡肉蛋白抗氧化肽制备工艺研究[J].食品科学,2010,31(6):86-90.
- [23] Plancken I V D, Loey A V, Hendrickx M E. Combined effect of high pressure and temperature on selected properties of egg white proteins [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2005, 6(1):11-20.
- [24] 中华人民共和国卫生部. GB 5009.3-2010 食品中水分的测定[S].北京:中国标准出版社,2010.
- [25] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB/T 9695.11-2008 肉与肉制品氮含量测定[S].北京:中国标准出版社,2008.
- [26] 国家质量技术监督局. GB 18186-2000 酿造酱油[S].北京:中国国家标准出版社,2000.

(上接第98页)

- [19] 刘冬梅,吴晖,余以刚,等.高效液相色谱法对泡菜中L-乳酸和D-乳酸的手性分离和测定[J].现代食品科技,2007(8):74-76.

- [20] Kolbert C P, Persing D H. Ribosomal DNA sequencing as a tool for identification of bacterial pathogens[J]. Current Opinion in Microbiology, 1999, 2(3):299-305.