

响应面法优化啤酒酵母粉酶解条件的研究

梁天姣, 叶盛权*

(广东海洋大学食品科技学院, 湛江 524088)

摘要: **目的** 确定酵母抽提酶水解啤酒酵母粉的最优工艺条件。**方法** 通过响应面法优化啤酒废酵母的酶解条件。首先, 以温度、pH值、加酶量、底物浓度为因子, 水解度为指标进行单因素试验, 初步确定各因素的最适水平。然后, 在此基础上, 以水解度为响应值, 利用二次回归正交旋转组合设计的试验方法建立数学模型, 进行响应面分析。最后, 探讨酶解时间对水解度的影响。**结果** 最佳酶解工艺为温度 59.9 °C, pH值 7.5, 加酶量 6.0%, 底物浓度 1:10, 酶解时间 12 h, 水解度值为 33.23%。**结论** 实际值与预测值的误差在允许的范围内, 模型预测的结果可靠。

关键词: 酶解条件; 啤酒废酵母粉; 响应面法; 水解度

Optimization of brewer's yeast hydrolysis condition by response surface methodology

LIANG Tian-Jiao, YE Sheng-Quan*

(College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

ABSTRACT: Objective To determine the optimal conditions of enzymatic hydrolysis of brewer's yeast. **Methods** Brewer's yeast hydrolysis condition was optimized by response surface methodology. The optimal level of each factor was determined initially based on the single factor experiment with the temperature, pH, enzyme dosage and substrate concentration as affecting factors and the degree of hydrolysis as response value. A mathematical model was established by the test method of quadratic regression orthogonal rotation design for response surface analysis, with the degree of hydrolysis as response value. The effect of hydrolysis time on the degree of hydrolysis was also investigated. **Results** The optimum enzymatic hydrolysis conditions were listed as follow: temperature 59.9 °C, pH 7.5, enzyme dosage 6.0%, substrate concentration 1:10, hydrolysis time 12 h, and hydrolysis value 33.23%. **Conclusion** Actual value shows a less difference with predicted value, which means the model is reliable to predict results.

KEY WORDS: hydrolysis conditions; brewer's yeast; response surface methodology; degree of hydrolysis

基金项目: 湛江市财政资金科技专项竞争性分配项目重大科技专项(2012A03003、2013A02004)

Fund: Supported by Competing Allocated Science and Technology Objects of Financial Funds of Zhanjiang (2012A03003, 2013A02004)

*通讯作者: 叶盛权, 博士, 教授, 主要从事酵母工程化制备技术研究。E-mail: yeshengq@163.com

*Corresponding author: YE Sheng-Quan, Professor, College of Food Science and Technology, Guangdong Ocean University, No.67, Haining Road, Xiashan District, Zhanjiang 524005, China. E-mail: yeshengq@163.com

1 引言

啤酒废酵母为啤酒工业的副产物,是在啤酒生产过程中经主发酵和后发酵酿造工艺后产生的^[1]。啤酒酵母中不但含有丰富的蛋白质、核酸、维生素和矿物质等营养成分,且氨基酸组成合理^[2]。我国是啤酒生产大国,每年产生的啤酒废酵母约5万吨。这些啤酒废酵母除了部分经粗加工制成饲料等低附加值产品外,大部分直接排弃,不但浪费了资源,还造成了环境污染^[3,4]。

啤酒酵母粉中蛋白质含量约50%,在蛋白酶的作用下,酵母蛋白可以降解为具有生物活性的多肽类^[5]。现代营养学研究发现,蛋白质经消化道酶作用后并不是完全以游离氨基酸的形式被吸收,而是主要以短肽的形式被吸收^[6]。利用废啤酒酵母制备的短肽很好地保留了啤酒酵母原有的营养和功能成分,可作为功能性保健品原料广泛应用在食品、医药及饲料行业^[7]。

本试验以啤酒酵母粉为原料,酵母抽提酶为催化剂,同时运用二次回归正交旋转组合设计的方法优化酶解工艺参数,得到最佳的酶解条件,为推动我国啤酒废酵母的综合应用提供试验参数和工艺基础。本研究的创新之处在于:第一,选用一种专用的酵母水解酶——酵母抽提酶。酵母抽提酶是一种由内切酶、外切酶的复合酶,对酵母有很强的酶解能力。第二,实验方法上选择二次回归正交旋转组合设计的方法对酶解条件进行优化,具有实验次数少、计算简便、消除了回归系数间的相关性等优点,同时能在各个方向上提供等精度的估计值。

2 材料与方法

2.1 材料与试剂

啤酒废酵母(广东某啤酒厂);酵母抽提酶(广西南宁庞博生物工程有限公司)。

NaOH(分析纯,广州市金华大化学试剂有限公司);邻苯二甲酸氢钾(分析纯,天津市百世化工有限公司);37%甲醛溶液(广州化学试剂厂);盐酸(廉江市爱廉化试剂有限公司);硫酸铜(分析纯,天津市百世化工有限公司);浓硫酸(廉江市爱廉化试剂有限公司);磷酸二氢钠(分析纯,广州市金华大化学试剂有限公司);磷酸氢二钠(分析纯,广州市金华大化学试

剂有限公司)。

2.2 仪器与设备

KDN-F 半自动凯氏定氮仪(上海纤检仪器有限公司);UV2550 紫外分光光度计(岛津仪器(苏州)有限公司);HH-8 数显恒温水浴锅(常州澳华仪器有限公司);PS-40T 超声波清洗器(深圳市洁康洗净电器有限公司);BSA124S-CW 分析天平(赛多利斯科技仪器(北京)有限公司);CR22G II 离心机(日本日立ATTACHI);磁力搅拌器、电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);PHS-3C 雷磁 pH 计(上海精科仪器有限公司)。

2.3 实验方法

2.3.1 酵母粉中粗蛋白含量的测定

参照 GB 5009.5-2010 凯氏定氮法^[8]。

2.3.2 酵母抽提酶活力测定

参照 GB/T 23527-2009 紫外分光光度法^[9],酶活力的计算公式见式(1-1):

$$X = \frac{x \times 8}{2 \times C} \times \frac{1}{10} \quad (1-1)$$

式中, X: 酶活力, U/mg;

x: 由酪氨酸标准曲线查得的酪氨酸浓度, $\mu\text{g/mL}$;

8: 反应体系的总体积, mL;

2: 所加样品酶液的体积, mL;

C: 样品酶液的浓度, mg/mL;

10: 反应时间, min。

2.3.3 啤酒酵母粉酶解液的制备

取一定量的啤酒酵母粉,按比例加入蒸馏水,搅拌均匀制成酵母粉悬浮液,用 0.1000 mol/L 的 NaOH 溶液调节 pH 到一定值,按比例加入酵母抽提酶。放入恒温振荡水浴锅水浴 2 h,沸水浴 15 min 灭酶,6000 r/min 离心取上清液,测定水解度。

2.3.4 水解度的测定

采用甲醛滴定法^[10]。取 10 mL 酶解液,加入 60 mL 蒸馏水,用 0.10 mol/L 的 NaOH 溶液滴定到 pH 为 8.2,记下读数 v_1 。加入 10 mL 中性甲醛溶液(用 0.10 mol/L 的 NaOH 溶液调到 pH=8.2),再用 0.10 mol/L 的 NaOH 溶液滴定到 pH 为 9.2,记下读数 v_2 ,计算消耗 NaOH 的体积数 $V_1=v_2-v_1$,做三次平行试验,同时做空白对照。根据公式 1-2^[11]计算水解度。

$$DH = \frac{M(V_1 - V_2)}{C_W \times X \times V \times h_{tot}} \times 100\%$$

(1-2)

式中: DH : 蛋白水解度, %; M : NaOH 标准溶液的摩尔浓度, mol/L; V_1 : 滴定样品稀释液消耗的 NaOH 标准溶液的体积, mL; V_2 : 滴定空白所消耗的 NaOH 标准溶液的体积, mL; C_w : 酵母溶液的质量浓度, g/mL; X : 为酵母原料中的蛋白含量; V : 用于甲醛滴定的酶解液的体积数, 10mL; h_{tot} : 底物蛋白质中肽键总数, 对于酵母蛋白, 取值 8.38 mmol/g。

2.3.5 单因素试验

分别对温度、pH 值、加酶量、底物浓度进行单因素试验。

2.3.6 响应面优化试验

在单因素试验的基础上, 根据二次回归正交旋转组合设计试验方法对温度、pH 值、加酶量和底物浓度这四个因素进行响应面优化。在试验设计的基础上, 进行多组试验得出数据, 最后运用 Design Expert8.05 软件对所得数据进行处理, 最终得到优化试验工艺参数, 进行验证性试验。

3 结果与分析

3.1 酵母粉中粗蛋白含量

根据蛋白质换算系数 6.25 和样品的质量得到原料酵母粉中的粗蛋白含量为 $(43.873 \pm 0.779)\%$ ($w:w$)。

3.2 酵母抽提酶的酶活力

酵母抽提酶是一种由内切酶、外切酶复合的酶, 对酵母有很强的酶解能力, 外切酶的比例影响水解度^[12]。利用酶法制备酵母活性肽的过程中, 酶的活力很关键。贮藏过久或者贮藏条件不利都会使酶活不同程度的降低, 所以研究过程中要妥善保存酶制剂, 同时定期对酶活力进行测定。参照紫外分光光度法, 通过公式(1-1)和酪氨酸标准曲线(图 1), 得到酶活力为 (287.50 ± 2.04) U/mg。

3.3 酶解条件的单因素试验

3.3.1 温度对水解度的影响

在 pH 值为 7.0, 加酶量为 3.5% ($w:w$), 底物浓度为 1:10($w:v$)的条件下水解 2 h, 考察不同酶解温度对水解度的影响, 结果如图 2 所示。

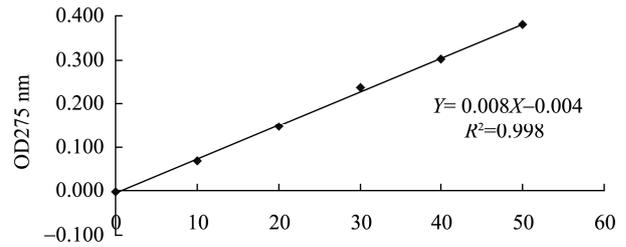


图 1 酪氨酸标准曲线

Fig. 1 Standard curve of Tyrosine

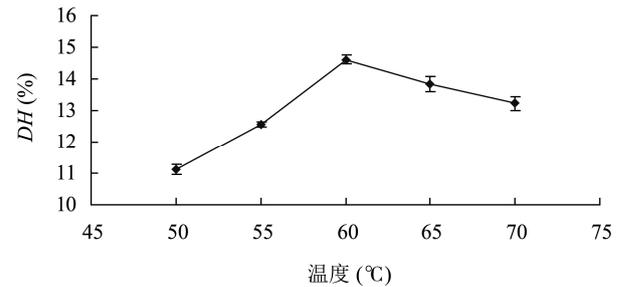


图 2 温度对水解度的影响

Fig. 2 Effect of temperature on degree of hydrolysis

从图 2 可以看出从 50 °C 到 60 °C, 水解度随着温度的升高逐渐增大, 当温度达到 60 °C 时, 水解度达到最大, 说明此温度是酶的最适温度。当温度高于 60 °C, 随着温度的升高, 酶促反应反而减缓, 这是由于酶蛋白的热变性作用, 影响了酶促反应的进行。

3.3.2 起始 pH 值对水解度的影响

在温度为 60 °C, 加酶量为 3.5% ($w:w$), 底物浓度为 1:10($w:v$)的条件下水解 2 h, 考察不同 pH 值对水解度的影响, 结果如图 3 所示。

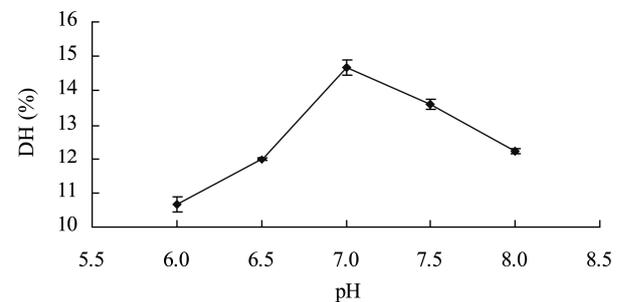


图 3 pH 值对水解度的影响

Fig. 3 Effect of pH on degree of hydrolysis

酶作为一种特殊的蛋白质分子, 其催化反应的能力与体系的 pH 值密切相关。随着反应体系中 pH

值的变化, 酶分子的构象、酶分子和底物分子的解离状态也发生变化, 从而影响酶与底物的结合, 促进或抑制酶的活性和酶促反应速度^[13]。从图 3 可以看出, 当 pH 为 7.0 时, 酶的催化能力最强, 水解度最大。根据文献^[14]知, 酵母抽提酶的最适 pH 为 5.5。这是因为实际应用中, 还不能做到酶解整个过程中的 pH 值的在线控制, 方便控制的是酵母悬浮液的起始 pH 值。蛋白酶在水解蛋白质的过程中一般 pH 会下降, 这主要是因为氨基酸中羧基的解离度远大于氨基的解离度, 氨基酸的溶液会释放出大量的质子, 导致 pH 值下降。所以, 实际所调节的起始 pH 值略高于酶的最适 pH 值。

3.3.3 加酶量对水解度的影响

在温度为 60 °C, pH 为 7.0, 底物浓度为 1:10 的条件下酶解 2 h, 考察不同加酶量对水解度的影响, 结果如图 4 所示。

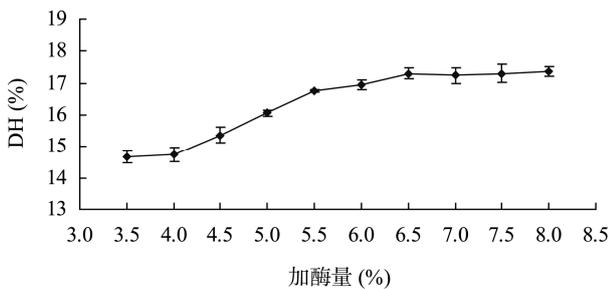


图 4 加酶量对水解度的影响

Fig. 4 Effect of E/S on degree of hydrolysis

由图 4 可以看出, 随着加酶量从 3.5%增加到 5.5%, 水解度增加较快。这是因为当底物浓度远大于酶的浓度, 增加酶的用量, 酶与底物接触机会增加, 结合效率增加, 加快产物的生成。酶用量从 5.5%增加到 6.5%, 水解速率增加缓慢, 说明酶分子的浓度慢慢达到饱和。当加酶量超过 6.5%, 可以看到水解

度基本保持不变, 继续提高加酶量不能有效提高酶解效率。综合效率和成本两方面考虑, 选用 5.5%左右的加酶量比较合适。

3.3.4 底物浓度对水解度的影响

在温度为 60 °C, pH 为 7.0, 加酶量为 3.5% (w:w) 条件下酶解 2 h, 考察不同底物浓度对水解度的影响, 结果如图 5 所示。

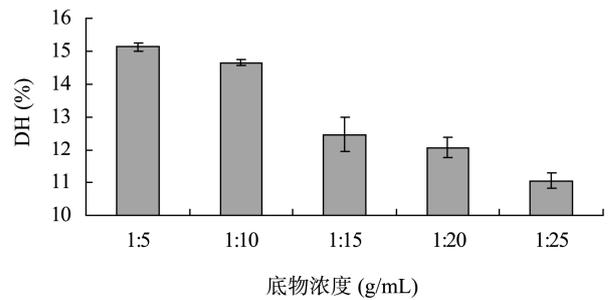


图 5 底物浓度对水解度的影响

Fig. 5 Effect of S on degree of hydrolysis

底物浓度(w:v)从 1:25 到 1:10 的范围内, 底物浓度渐渐增大, 加酶量固定的情况下, 在底物浓度很低时, 反应速度随着底物浓度的增加而急剧加快, 两者呈正比关系。底物浓度达到 1:10 时, 反应速率增加的幅度不断下降。继续加大底物浓度, 此时酶已经被底物所饱和, 水解度基本不再增加。

3.4 二次回归正交旋转组合试验优化酶解条件

影响酶解的各个因素并不是孤立地作用, 它们之间相互关联。在单因素试验的基础上, 根据二次回归正交旋转组合设计的原理, 选用温度(X_1)、pH 值(X_2)、加酶量(X_3)、底物浓度(X_4)四个因素为自变量, 水解度为响应值, 设计 4 因素 5 水平试验, 共 30 个试验点, 其中 24 个为分析因子(1-24), 6 个中心试验点(25-30)^[15], 试验水平因素编码表见表 1。

表 1 正交旋转组合设计因素及水平
Table 1 Factors and their levels of response surface design

水平	因素			
	X_1 温度(°C)	X_2 pH 值	X_3 加酶量(g)	X_4 底物浓度
+r(2)	70	8.0	6.5	1:5
上水平(1)	65	7.5	6.0	1:6
零水平(0)	60	7.0	5.5	2:15
下水平(-1)	55	6.5	5.0	1:10
-r(-2)	50	6.0	4.5	1:15

3.4.1 二次回归正交旋转组合设计试验方案及结果
以水解度 DH 为响应值, 根据表 2 的试验结果, 对其进行多元二次回归分析。

表 2 响应面试验结果
Table 2 The result of response surface design

试验号	X1	X2	X3	X4	DH(%)
1	-1	-1	-1	-1	14.64
2	-1	-1	-1	1	13.16
3	-1	-1	1	-1	15.54
4	-1	-1	1	1	14.28
5	-1	1	-1	-1	17.58
6	-1	1	-1	1	15.78
7	-1	1	1	-1	18.25
8	-1	1	1	1	16.90
9	1	-1	-1	-1	15.25
10	1	-1	-1	1	14.44
11	1	-1	1	-1	16.41
12	1	-1	1	1	15.91
13	1	1	-1	-1	17.63
14	1	1	-1	1	16.34
15	1	1	1	-1	17.88
16	1	1	1	1	17.65
17	-2	0	0	0	14.06
18	2	0	0	0	15.82
19	0	-2	0	0	13.69
20	0	2	0	0	18.57
21	0	0	-2	0	17.58
22	0	0	2	0	17.22
23	0	0	0	2	17.95
24	0	0	0	-2	15.73
25	0	0	0	0	15.77
26	0	0	0	0	16.21
27	0	0	0	0	15.53
28	0	0	0	0	16.25
29	0	0	0	0	16.76
30	0	0	0	0	16.89

3.4.2 模型的建立及显著性检验
利用 Design Expert 8.05 软件对表 2 的数据进行

二次回归拟合, 从回归分析中可以看出方程一次项、二次项及交互项都有显著影响。各试验因子对响应值的影响可表现为下式:

$$Y=16.235 + 0.3708X_1 + 1.1725X_2 + 0.4533X_3 - 0.5483X_4 - 0.2125X_1X_2 + 0.0238X_1X_3 - 0.0813X_2X_3 + 0.1913X_1X_4 - 0.039X_2X_4 + 0.1275X_3X_4 - 0.3238X_1^2 - 0.0263X_2^2 + 0.0663X_3^2 + 0.1513X_4^2$$

对该模型进行显著性分析, 结果见表 3。

由表 3 可知, 模型的 $P < 0.0001 < 0.01$, 表明回归模型极显著; 复相关系数为 0.9686, 说明该模型拟合程度良好, 试验误差小, 同时失拟合不显著 ($P > 0.05$), 所以可以用此模型来分析和预测酵母蛋白酶解效果。由表 4 回归模型系数显著性检验结果可知回归方程的一次项 X_1, X_2, X_3, X_4 极显著, 二次项 X_1^2 极显著, X_4^2 显著, 交互项 X_1X_2, X_1X_4 显著。表明酶解温度、pH 值、加酶量和底物浓度对酶解效果都具有极大的影响。另外, 温度和 pH 值以及温度和底物浓度的交互作用对酶解也有明显的影响。

3.4.3 酶解条件的响应面分析与优化

通过软件分析, 得到交互项显著的两项 X_1X_2, X_1X_4 的响应面图(图 6、图 7), 从图中可看出因素的交互作用对响应值的影响。

图 6 显示了加酶量和底物浓度在中心值的条件下, 温度和 pH 值对水解度的影响。可以看出随着温度的升高, 水解度呈现一个先快速上升, 65 °C 以上开始下降的情况; 随着 pH 的升高, 水解度一直在增大, 特别是在低温时(50 °C 左右)表现得明显。当 pH 值达到 8.0 时, 60 °C 左右水解度就开始下降。总体来看, pH 7.5 左右, 温度 60 °C 左右有利于酵母蛋白的水解。

图 7 显示了加酶量和 pH 值在中心值的条件下, 温度和底物浓度的交互作用对水解度的影响呈现一个“马鞍面”。底物浓度低的酵母粉悬浮液的酶解效果要好于底物浓度高的悬浮液, 低温 50 °C 有利于底物浓度低的悬浮液的酶解, 高温 70 °C 有利于底物浓度高的悬浮液的酶解。在拟定的底物浓度的水平内, 60 °C 时水解度均达到最大值。

由响应面三维图以及回归方程得到最优组合为: 温度 59.90 °C, pH 值 7.5、加酶量 6.0%, 底物浓度 1:10, 预测水解度最大值为 18.43%。为验证响应面所得结果的可靠性, 在以上优化条件下酶解 2 h, 测得水解度值 18.88%, 与预测值相差不大, 预测可靠。

表 3 回归模型的方差分析结果
Table 3 Variance analysis of regression

方差来源	SS	f	MS	F 值	P 值
模型	54.34	14	3.88	33.04	<0.0001**
失拟合	0.34	10	0.034	0.12	0.9975
纯误差	1.42	5	0.28		
总和	56.10	29			

表 4 回归模型系数的显著性检验结果
Table 4 Significant test results of regression coefficients

系数项	回归系数	自由度	t 比率	P 值
Intercept	16.235	1	116.02	< 0.0001**
X ₁	0.3708	1	5.30	< 0.0001**
X ₂	1.1725	1	16.76	< 0.0001**
X ₃	0.4533	1	6.48	< 0.0001**
X ₄	-0.5483	1	-7.84	< 0.0001**
X ₁ X ₂	-0.2125	1	-2.48	0.0255*
X ₁ X ₃	-0.0238	1	0.28	0.7854
X ₂ X ₃	-0.0813	1	-0.95	0.3581
X ₁ X ₄	0.1913	1	2.23	0.0413*
X ₂ X ₄	-0.0388	1	-0.45	0.6576
X ₃ X ₄	0.1275	1	1.49	0.1575
X ₁ ²	-0.3238	1	-4.95	0.0002**
X ₂ ²	-0.0263	1	-0.40	0.6940
X ₃ ²	0.0663	1	1.01	0.3275
X ₄ ²	0.1513	1	2.31	0.0355*
复相关系数(R ²)	0.9686			
调整复相关系数(R _{adj} ²)	0.9393			

注: **表示极显著(P<0.01); *表示显著(0.01<P<0.05)。

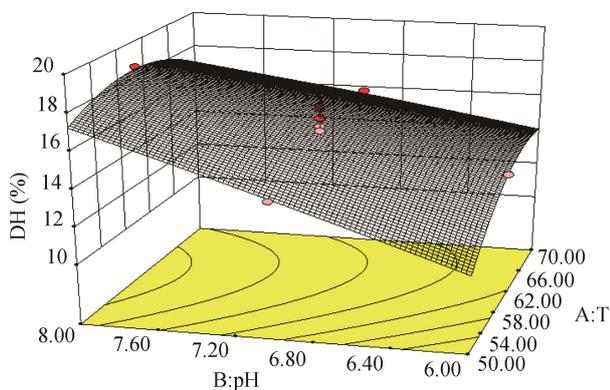


图 6 温度和 pH 对水解度影响的三维曲面

Fig. 6 3D surface of effects of temperature and pH on the degree of hydrolysis

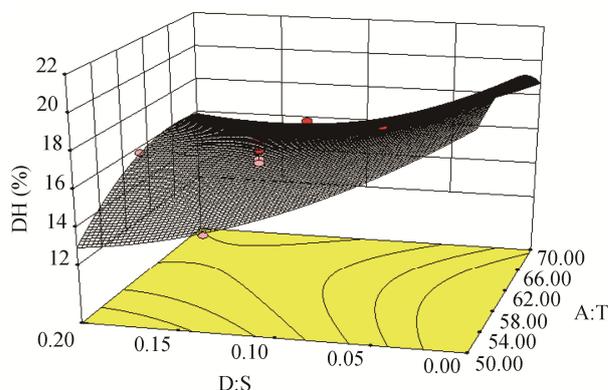


图 7 温度和底物浓度对水解度影响的三维曲面

Fig. 7 3D surface of effects of temperature and substrate concentration on the degree of hydrolysis

3.5 酶解时间对水解度的影响

在响应面优化的得到的最佳酶解温度、pH值、加酶量和底物浓度条件下进行酶解, 隔0.5、1、2、4、6、8、10、12、24 h, 取酶解液离心, 测上清液水解度, 得到酶解时间对水解度的影响如图8所示。

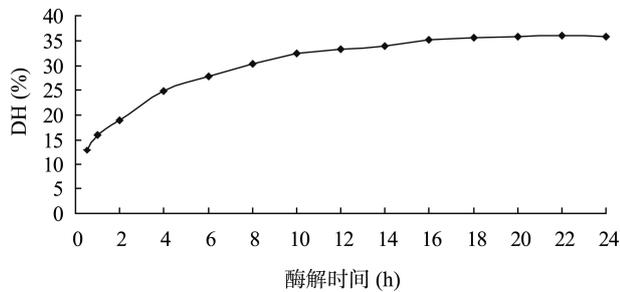


图8 酶解时间对水解度的影响

Fig. 8 Effect of time on degree of hydrolysis

由图8可以看出, 随着时间的延长, 水解度逐渐增加。当达到12 h时, 水解度增加变慢, 再延长酶解时间已不能有效增加水解度, 因此选定的酶解时间为12 h。

4 结论

选用啤酒酵母粉水解专用酶对其进行酶解, 并对其酶解条件进行响应面优化, 得到的最佳酶解条件为: 温度59.9℃, pH值7.5、加酶量6.0%, 底物浓度1:10, 酶解时间12 h, 水解度值较大为33.23%。该优化工艺提高了酵母粉的酶解效率, 减少了酶解时间, 为推动啤酒废酵母的综合应用提供了试验参数和工艺基础。

本研究探讨了啤酒酵母粉制备生物活性肽的最优酶解条件, 后期将对产物进行定性定量分析, 进一步确定条件的合理性。

参考文献

[1] Ferreira IMPLVO, Pinho O, Vieira E, *et al.* Brewer's *Saccharomyces* yeast biomass: characteristics and potential applications [J]. *Trend Food Sci Technol*, 2010, (21): 77–84.

[2] 于学娟, 陈英乡, 马新亮. 粉状酵母提取物生产工艺的研究[J]. *中国调味品*, 2012, 2(6): 95–97.

Yu XJ, Chen YX, Ma XL. Research on production process of

powdered yeast extract [J]. *China Cond*, 2012, (21): 77–84.

- [3] 张霁, 王俊杰, 等. 利用啤酒废酵母制备酵母抽提物的试验研究[J]. *中国酿造*, 2008, 7(15): 75–77.
- Zhang J, Wang JJ, *et al.* Study on the production of yeast extract using waste beer yeast [J]. *China Brew*, 2008, 7(15): 75–77.
- [4] Lee SK, Park KH, Pek UH, *et al.* Production of brewer's yeast extract by enzymatic method [J]. *Microbiol Biotechnol*, 1993, 21: 276–280.
- [5] Bucha Y, Clara C, Philippe J, *et al.* Enzymatic hydrolysis of thermo-sensitive grape proteins by a yeast protease as revealed by a proteomic approach [J]. *Food Res Inter*, 2013, 54: 1298–1301.
- [6] 王煜, 王家林. 废啤酒酵母的综合应用[J]. *酿酒科技*, 2009, (10): 98–102.
- Wang Y, Wang JL. Comprehensive utilization of waste brewer's yeast [J]. *Liquor-Making Sci Technol*, 2009, (10): 98–102.
- [7] Eun YJ, Hyun SL, Jang WC, *et al.* Glucose tolerance and antioxidant activity of spent brewer's yeast hydrolysate with a high content of Cyclo-His-Pro (CHP) [J]. *J Food Sci*, 2011, (76): 272–278.
- [8] GB5009.5-2010 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定[S]. GB5009.5-2010 National food safety standards-The determination of protein content in food [S].
- [9] GBT 23527-2009 蛋白酶制剂[S]. GBT 23527-2009 Protease [S].
- [10] 黄晓钰, 刘邻渭. 食品化学综合实验[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2002.
- Huang XJ, Liu LW. Food chemistry integrated experiments [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2002.
- [11] 郭莎莎. 酶解酵母蛋白制备生物活性肽的研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2012.
- Guo SS. Preparation of bioactive peptides from yeast protein by enzymatic hydrolysis [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2012.
- [12] Hee JC, H YJ, Man JI. Utilization of brewer's yeast cells for the production of food-grade yeast extract. Part 1: effects of different enzymatic treatments on solid and protein recovery and flavor characteristics [J]. *Biores Technol*, 2001, (76): 253–258.
- [13] 孙伟峰. 酵母活性肽制备及其抗氧化活性研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2009.
- Sun WF. Studies on preparation and antioxidant activity of bioactive peptides from yeast [D]. Beijing: Chinese Academy of

Agricultural Sciences, 2009.

[14] Claude PC, Julie B, *et al.* Interaction between pH, autolysis promoters and bacterial contamination on the production of yeast extracts [J]. Food Res Inter, 1999, (32): 575-583.

[15] 张仲欣. 食品试验设计与数据处理[M]. 郑州: 郑州大学出版社, 2011.

Zhang ZX. Food experimental design and data processing [M]. Zhengzhou: Zhengzhou University Press, 2011.

(责任编辑: 杨翠娜)

作者简介



梁天姣, 硕士研究生, 主要研究方向为食品加工与安全。

E-mail: 13106602596@163.com



叶盛权, 博士, 教授, 主要研究方向为酵母工程化制备技术。

E-mail: yeshengq@163.com