

# 茶花花粉蛋白酶解的最佳工艺研究

董捷<sup>1</sup>, 李慧岩<sup>1</sup>, 张红城<sup>1,\*</sup>, 李春阳<sup>2</sup>, 文镜<sup>3</sup>

(1. 中国农业科学院蜜蜂研究所, 北京 100093

2. 江苏省农科院农产品加工研究所, 江苏 南京 210014 3. 北京联合大学应用文理学院生物系, 北京 100083)

**摘要:** 茶花花粉蛋白经过风味酶(外切酶)和中性蛋白酶(内切酶)组成的复合酶水解得到活性肽。通过单因素试验及正交试验得到各因素的优化组合, 结果表明, 复合酶的最佳水解工艺为: 水解 pH7, 水解温度 40℃, 加酶量 8%, 两种酶比 2:1, 水解时间 12h。此工艺水解所测得的茶花花粉蛋白水解度为 40%, 溶解指数为 0.8, 水解效果明显改善。

**关键词:** 茶花花粉; 复合酶; 酶法水解

## Research on Optimal Process of Enzymatic Hydrolysis of Protein from Camellia Pollen

DONG Jie<sup>1</sup>, LI Hui-yan<sup>1</sup>, ZHANG Hong-cheng<sup>1,\*</sup>, LI Chun-yang<sup>2</sup>, WEN Jing<sup>3</sup>

(1. Institute of Apicultural Research, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100093, China

2. Institute of Agro-food Science and Technology, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China

3. Department of Biology, College of Applied Arts and Science, Beijing Union University, Beijing 100083, China)

**Abstract:** The complex of flavourzyme and neutral protease was used to hydrolyze camellia pollen to obtain bioactive peptides. The optimal process of enzymatic hydrolysis was determined by orthogonal test. The test results indicated that the optimal conditions of enzymatic hydrolysis are pH value 7, temperature 40℃, amount added 8%, ratio of flavourzyme to neutral protease 2:1, time of hydrolysis 12h. Under optimal conditions, the degree of hydrolysis is 40% and the nitrogen solution index is 0.8. The effect of hydrolysis was improved obviously.

**Key words** camellia pollen; complex-enzyme; enzymatic hydrolysis

中图分类号: Q944.42

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2007)07-0226-06

我国是世界著名产茶大国, 茶花花粉资源巨大<sup>[1]</sup>。茶花花粉在“高蛋白、低脂肪”这个特点上表现的尤为突出, 经测得其蛋白质含量为 29.18%, 脂肪含量为 2.34%。所以茶花花粉是一种优良的蛋白质营养源<sup>[2]</sup>。

但是花粉作为植物的雄性生殖细胞, 外面有一层坚硬的花粉壁。在没有破壁的情况下花粉中的营养物质只能通过花粉壁上少量的萌发孔缓慢溶出, 减少了营养物质的吸收。

本研究通过实验筛选出了对茶花花粉蛋白水解效果最好的两种酶, 分别为外切酶和内切酶, 组成复合酶。通过单因素试验和正交试验确定了复合酶的最佳水解工艺, 从而利用酶解方法促进花粉中蛋白质的溶出。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与设备

#### 1.1.1 材料与试剂

茶花花粉 中国农业科学院蜜蜂研究所。

无水乙醇(分析纯); 石油醚(分析纯); 氢氧化钠(分析纯); 浓盐酸(分析纯); 甲基红(指示剂); 甲醛(分析纯); 酚酞(指示剂); 溴甲酚绿(分析纯); 溴麝香草酚蓝(分析纯); 中性蛋白酶和木瓜蛋白酶 北京奥博星生物技术有限责任公司; 胃蛋白酶和风味蛋白酶 诺维信生物技术有限公司; 胰蛋白酶 北京科昊生物技术有限公司; 酸性蛋白酶和碱性蛋白酶 南宁东恒华道生物科技有限责任公司。

#### 1.1.2 设备与仪器

TDL-5-A 型台式离心机 上海安亭科学仪器厂;  
DZF-6090 型真空干燥箱 上海恒科学仪器有限公司;  
KQ-50DB 型数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司;  
HZS-H 型摇床水浴 哈尔滨市东明医疗仪器厂;  
SevenEasy 型 pH 计 梅特勒-托利多仪器上海有限公司;  
HYP-1014 消化炉 上海纤检仪器有限公司; 碱式滴定

收稿日期: 2007-05-21

\*通讯作者

作者简介: 董捷(1966-), 女, 副研究员, 研究方向为蜂产品开发与利用。

管; 酸式滴定管; 微量凯氏定氮仪; PL303 型精密天平 梅特勒—托利多仪器 上海有限公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 花粉前处理

取茶花花粉, 用一定量的无水乙醇溶液研磨均匀, 静置 10min 后 5000r/min 离心弃去上清液。按同样的方法用无水乙醇浸提两次。接下来沉淀用石油醚, 按同样的方法浸提两次弃去上清液, 保留沉淀。最后将沉淀置于真空干燥箱中 30℃ 干燥 3h。将干燥好的花粉倒入装有 30ml 蒸馏水的锥形瓶中, 20℃ 超声 10min。

### 1.2.2 酶解

将处理好的花粉液, 加入一定的酶, 调相应的 pH, 在一定温度下摇床水浴水解。作为空白的样品既不加酶, 也不调 pH 值。最后将水解好的水解液 5000r/min 离心, 分离上清液和沉淀。

### 1.2.3 水解度的测定

$$DH = (AN/TN) \times 100\%^{[3]}$$

式中, DH 为氨基酸态氮生成率(%); AN 为氨基酸态氮含量(g/lg); TN 为全氮含量(g/lg)。

#### 1.2.3.1 氨基酸态氮的测定

甲醛滴定法<sup>[4]</sup>。

#### 1.2.3.2 总氮的测定

微量凯氏定氮法<sup>[5]</sup>。

### 1.2.4 溶解指数的测定

$$\text{溶解指数} = \frac{1 - \text{酶解沉淀物含氮量}}{\text{空白沉淀物含氮量}}$$

将酶解沉淀物与空白沉淀物进行微量凯氏定氮, 具体过程同总氮的测定过程。

### 1.2.5 正交试验确定最佳酶解工艺

将处理好的花粉液调 pH 值, 以水解温度、加酶量、两种酶比和水解时间为影响因素, 各因素取三个水平, 采用  $L_9(3^4)$  正交表设计的试验进行酶解, 以水解度和溶解指数为考察指标, 对水解工艺进行优化。具体设计见表 1。另取 3 瓶样品不调 pH、不加酶, 分别在 30、40、50℃ 水浴 12h 作为空白。

表 1 正交试验因素水平表  
Table 1 Table of factors and levels of orthogonal test

	温度(℃)	加酶量(%)	两种酶比(风:中)	水解时间(h)
1	30	6	1:1	8
2	40	8	1:2	10
3	50	10	2:1	12

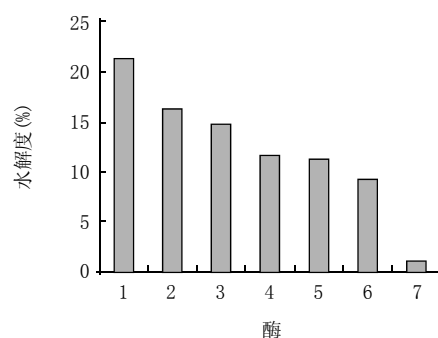
酶解结束后 5000r/min 离心, 分离上清和沉淀。上清进行水解度的测定, 沉淀进行溶解指数的测定。

## 1.2.6 统计学分析

用正交试验直观分析法<sup>[6]</sup>和 SPSS 软件<sup>[7]</sup>对正交试验的结果进行分析, 确定复合酶的最佳酶解工艺。

## 2 结果与分析

### 2.1 单一酶的选择

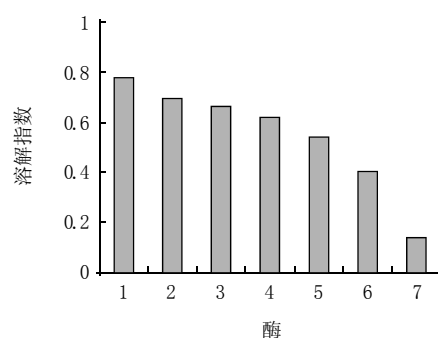


1. 风味酶; 2. 中性蛋白酶; 3. 酸性蛋白酶; 4. 碱性蛋白酶; 5. 胰蛋白酶; 6. 木瓜蛋白酶; 7. 胃蛋白酶。风味酶、中性蛋白酶、酸性蛋白酶、碱性蛋白酶、胰蛋白酶、木瓜蛋白酶、胃蛋白酶水解的 pH 分别为 6、7、3、8、8、6、和 3。加酶量均为 8%, 均在 50℃ 摇床水浴中水浴 12h<sup>[8]</sup>。

图 1 不同酶对水解度的影响

Fig.1 Effects of different proteases on hydrolysis degree

由图 1 可知, 水解度最好酶是风味酶 21.3%, 风味酶是外切酶可以从蛋白质末端以一个氨基酸为单位水解蛋白质, 因此氨基酸态氮含量就高, 水解度也就高。其次是中性蛋白酶水解度为 16.3% 和酸性蛋白酶水解度为 14.78%。水解效果最不好是胃蛋白酶, 水解度仅为 1.17%。



1. 中性蛋白酶; 2. 酸性蛋白酶; 3. 风味酶; 4. 碱性蛋白酶; 5. 胰蛋白酶; 6. 木瓜蛋白酶; 7. 胃蛋白酶。风味酶、中性蛋白酶、酸性蛋白酶、碱性蛋白酶、胰蛋白酶、木瓜蛋白酶、胃蛋白酶水解的 pH 分别为 6、7、3、8、8、6、和 3。加酶量均为 8%, 均在 50℃ 摇床水浴中水浴 12h。

图 2 不同酶对溶解指数的影响

Fig.2 Effects of different proteases on the solution index

由图 2 可知, 溶解指数最好的是中性蛋白酶为 0.778, 其次是酸性蛋白酶为 0.698, 和风味酶为 0.664, 最不好

的是胃蛋白酶溶解指数为 0.142, 与没加酶的空白相比它们的溶解指数分别提高了 78%、70%、66% 和 14.2%。

由图 1 和图 2 可见几种酶对水解度和溶解指数的影响彼此之间的差异较显著。水解度最好的酶是风味酶, 溶解指数最好的酶是中性蛋白酶和酸性蛋白酶, 因为风味酶是外切酶可以提高水解度, 而中性蛋白酶和酸性蛋白酶是内切酶能改善溶解指数<sup>[9]</sup>, 所以综合水解度和溶解指数两个指标考虑风味酶作为提高水解度的必选酶, 中性蛋白酶和酸性蛋白酶作为改善溶解指数的必选酶, 组合成两组复合酶。

## 2.2 不同 pH 值对两组复合酶酶解效果的影响

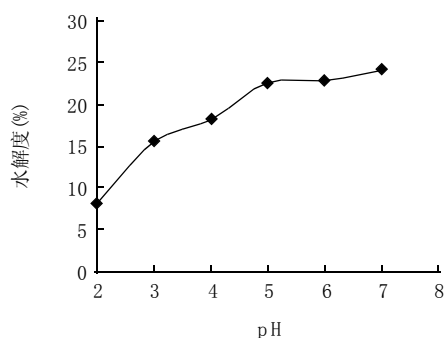


图3 风味酶和酸性蛋白酶组成的复合酶在不同 pH 的水解度

Fig.3 Hydrolysis degree of complex of flavourzyme and acidic protease at different pH values

由图 3 可知, 风味酶和酸性蛋白酶组合成的复合酶水解度是随着 pH 值的增加而增加, pH7 时复合酶(风味酶、酸性蛋白酶)的水解度最高为 24.1%。

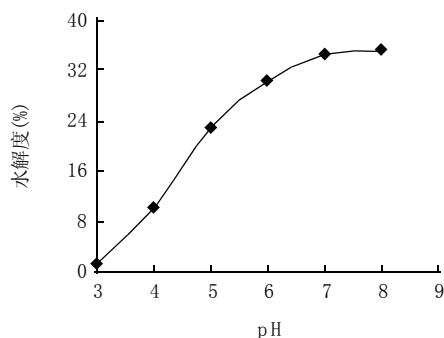


图4 风味酶和中性蛋白酶组成的复合酶在不同 pH 的水解度

Fig.4 Hydrolysis degree of complex of flavourzyme and neutral protease in different pH values

由图 4 可知, 风味酶和中性蛋白酶组合成的复合酶水解度也是随着 pH 值的增加而增加。

出现这种结果的原因是蛋白质有碱溶酸沉的特点, 偏碱时蛋白质溶解性增加水解度自然就增加了。pH8 时复合酶(风味酶、中性蛋白酶)的水解度最高为 35.39%。但是 pH 偏碱时, 一方面影响了产品口味, 另一方面又

影响其营养价值。使用酶解物制成的产品的 pH 一般是偏酸的, 但如果酶解时是在偏碱的条件下进行, 最后就需要把 pH 重新调到酸性, 这样会产生大量的盐, 直接影响产品的离子强度和口感。另外蛋白质在碱性条件下易产生消旋作用, 使其在体内的消化性明显降低, 而且在碱性条件下, 人体必须的赖氨酸因产生交联而被破坏, 直接影响营养价值<sup>[10]</sup>。所以以水解度为评价指标综合考虑, pH7 为这两组复合酶的最适 pH。

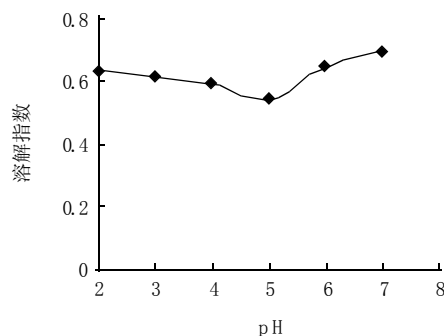


图5 风味酶和酸性蛋白酶组成的复合酶在不同 pH 的溶解指数

Fig.5 Solution index of complex of flavourzyme and acidic protease at different pH values

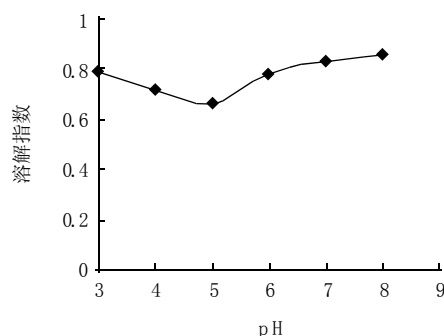


图6 风味酶和中性蛋白酶组成的复合酶在不同 pH 的溶解指数

Fig.6 Solution index of complex of flavourzyme and neutral protease at different pH values

由图 5 可知, 风味酶和酸性蛋白酶组成的复合酶, 在 pH7 时溶解指数达到最高为 0.694, pH5 时溶解指数最低。由图 6 可知, 风味酶和中性蛋白酶组成的复合酶在 pH8 时溶解指数达到最高为 0.855, pH5 时溶解指数也最低。

出现这种情况是因为大多数植物蛋白等电点都在 pH5 附近<sup>[10]</sup>, 所以造成了茶花花粉蛋白在此时的溶解指数最低。但是 pH 偏碱时, 一方面影响了产品口味, 另一方面又影响其营养价值。所以 pH7 为这两组复合酶的最适 pH。

通过以上分析可知, 以水解度和溶解指数为评价指标, 可以确定两组复合酶的最适 pH 均为 7。另外风味酶和中性蛋白酶组成的复合酶, 酶解效果明显好于风味酶和酸性蛋白酶组成的复合酶。故选择由风味酶和中性

蛋白酶组成的复合酶。

## 2.3 复合酶(风味酶、中性蛋白酶)最佳酶解工艺的确 定

### 2.3.1 用正交试验直观分析法对试验结果进行分析

表2 最佳酶解工艺正交试验结果表

Table 2 Design and data of orthogonal test for optimum process

试验号	温度 (℃)	加酶量 (%)	酶比 (风:中)	水解时间 (h)	水解度 (%)	溶解 指数
1	30	6	1:1	8	29.5	0.599
2	30	8	1:2	10	31	0.713
3	30	10	2:1	12	33	0.702
4	40	6	1:2	12	26.5	0.736
5	40	8	2:1	8	28	0.736
6	40	10	1:1	10	30.5	0.724
7	50	6	2:1	10	29	0.688
8	50	8	1:1	12	32.5	0.718
9	50	10	1:2	8	29.5	0.707
水解度	T <sub>1</sub>	93.5%	85%	92.5%	87%	
	T <sub>2</sub>	85%	92%	87%	90.5%	
	T <sub>3</sub>	91%	93%	90%	92%	
	R <sub>1</sub>	3%	3%	2%	1%	
溶解指数	T <sub>4</sub>	2.01	2.03	2.04	2.05	
	T <sub>5</sub>	2.2	2.17	2.16	2.12	
	T <sub>6</sub>	2.12	2.13	2.13	2.16	
	R <sub>2</sub>	0.06	0.04	0.04	0.04	

从表2可以看出,以水解度为评价指标的最佳酶解工艺是:水解温度30℃、加酶量10%、酶比(风味酶:中性酶)1:1、水解时间12h。以溶解指数为评价指标的最佳工艺是水解温度40℃、加酶量8%、酶比(风味酶:

中性酶)1:2、水解时间12h。各因素对水解度影响的大小顺序为温度>加酶量>酶比>水解时间。各因素对溶解指数影响的大小顺序为温度>加酶量、酶比、水解时间。

### 2.3.2 多因素方差分析结果

经正交试验直观分析,对水解度影响最好的温度是30℃,对溶解指数影响最好的温度是40℃。经SPSS软件分析,由表3和表4可知,温度的三个水平30、40、50℃对水解度和溶解指数的影响,彼此之间均存在显著性差异( $p < 0.05$ )。但是从没破壁的花粉特性考虑,蛋白质只有从花粉的萌发孔中溶解出来,才能被水解成氨基酸氮。所以改善了溶解性才能进一步提高水解度。故溶解指数应为优先考虑指标,选择40℃为最佳水解温度。

经正交试验直观分析,水解度最好的加酶量是10%,溶解指数最好的加酶量是8%。经SPSS软件分析,三种加酶量对水解度的影响(表5),6%与8%和10%之间均存在显著性差异( $p < 0.05$ ),8%和10%之间无显著性差异,所以就水解度而言,选择加酶量为10%。三种加酶量对溶解指数的影响(表6),6%与8%和10%之间均存在显著性差异( $p < 0.05$ ),8%和10%之间无显著性差异。所以就溶解指数而言,选择加酶量为8%。因为只有改善了茶花花粉蛋白的溶解性才能进一步提高其水解度,所以溶解指数应为优先考虑指标,故选择加酶量8%为最佳加酶量。

经正交试验直观分析,水解度最好的酶比(风味酶:中性酶)是1:1,溶解指数最好的酶比是1:2。经SPSS软

表3 温度对水解度影响的多重比较

Table 3 Multiple comparisons of effect of hydrolysis temperature on hydrolysis degree

	(I)水解时间	(J)水解时间	均差(I-J)	标准误差	概率	95%置信度	
						下限	上限
LSD	1.00	2.00	0.0287*	0.00395	0.000	0.0197	0.0376
		3.00	0.0123*	0.00395	0.012	0.0034	0.0213
	2.00	1.00	-0.0287*	0.00395	0.000	-0.0376	-0.0197
		3.00	-0.0163*	0.00395	0.003	-0.0253	-0.0074
	3.00	1.00	-0.0123*	0.00395	0.012	-0.0213	-0.0034
		2.00	0.0163*	0.00395	0.003	0.0074	0.0253

表4 温度对溶解指数影响的多重比较

Table 4 Multiple comparisons of effects of hydrolysis temperature on the solution index

	(I)水解时间	(J)水解时间	均差(I-J)	标准误差	概率	95%置信度	
						下限	上限
LSD	1.00	2.00	-0.0620*	0.00513	0.000	-0.0736	-0.0504
		3.00	-0.0340*	0.00513	0.000	-0.0456	-0.0224
	2.00	1.00	0.0620*	0.00513	0.000	0.0504	0.0736
		3.00	0.0280*	0.00513	0.000	0.0164	0.0396
	3.00	1.00	0.0340*	0.00513	0.000	0.0224	0.0456
		2.00	-0.0280*	0.00513	0.000	-0.0396	-0.0164

表5 加酶量对水解度影响的多重比较  
Table 5 Multiple comparisons of effects of concentration on hydrolysis degree

	(I)水解时间	(J)水解时间	均差(I-J)	标准误差	概率	95%置信度	
						下限	上限
LSD	1.00	2.00	-0.0215*	0.00395	0.000	-0.0304	-0.0126
		3.00	-0.0275*	0.00395	0.000	-0.0364	-0.0186
	2.00	1.00	0.0215*	0.00395	0.000	0.0126	0.0304
		3.00	-0.0060	0.00395	0.163	-0.0149	0.0029
	3.00	1.00	0.0275*	0.00395	0.000	0.0186	0.0364
		2.00	0.0060	0.00395	0.163	-0.0029	0.0149

表6 加酶量对溶解指数影响的多重比较  
Table 6 Multiple comparisons of effects of concentration on the solution index

	(I)水解时间	(J)水解时间	均差(I-J)	标准误差	概率	95%置信度	
						下限	上限
LSD	1.00	2.00	-0.0470*	0.00513	0.000	-0.0586	-0.0354
		3.00	-0.0363*	0.00513	0.000	-0.0479	-0.0247
	2.00	1.00	0.0470*	0.00513	0.000	0.0354	0.0586
		3.00	0.0107	0.00513	0.066	-0.0009	0.0223
	3.00	1.00	0.0363*	0.00513	0.000	0.0247	0.0479
		2.00	-0.0107	0.00513	0.066	-0.0223	0.0009

表7 两种酶比(风味酶:中性蛋白酶)对水解度影响的多重比较  
Table 7 Multiple comparisons of effects of ratio of flavourzyme to neutral protease on hydrolysis degree

	(I)水解时间	(J)水解时间	均差(I-J)	标准误差	概率	95%置信度	
						下限	上限
LSD	1.00	2.00	0.0187*	0.00395	0.001	0.0097	0.0276
		3.00	0.0083	0.00395	0.064	-0.0006	0.0173
	2.00	1.00	-0.0187*	0.00395	0.001	-0.0276	-0.0097
		3.00	-0.0103*	0.00395	0.028	-0.0193	-0.0014
	3.00	1.00	-0.0083	0.00395	0.064	-0.0173	0.0006
		2.00	0.0103*	0.00395	0.028	0.0014	0.0193

表8 两种酶比(风味酶:中性蛋白酶)对溶解指数的影响的多重比较  
Table 8 Multiple comparisons of effects of ratio of flavourzyme to neutral protease on the solution index

	(I)水解时间	(J)水解时间	均差(I-J)	标准误差	概率	95%置信度	
						下限	上限
LSD	1.00	2.00	-0.0369*	0.00513	0.000	-0.0485	-0.0253
		3.00	-0.0280*	0.00513	0.000	-0.0396	-0.0163
	2.00	1.00	0.0369*	0.00513	0.000	0.0253	0.0485
		3.00	0.0089	0.00513	0.116	-0.0027	0.0205
	3.00	1.00	0.0280*	0.00513	0.000	0.0163	0.0396
		2.00	-0.0089	0.00513	0.116	-0.0205	0.0027

件分析, 三种酶比(风味酶:中性酶)对水解度的影响, 1:2与1:1和2:1之间均存在显著性差异( $p < 0.05$ ), 1:1和2:1之间无显著差异(表7)。就水解度而言, 酶比既可以选择1:1也可以选择2:1。(表8)对溶解指数的影响, 1:1与1:2和2:1之间均存在显著性差异( $p < 0.05$ ), 1:2和2:1无显著差异。就溶解指数而言, 酶比既可以选择1:2也可以选择2:1。所以综合考虑水解度和溶解指数两个指标, 选择2:1为最佳酶比。

经正交试验直观分析, 水解度和溶解指数最好的水解时间均为12h。经SPSS软件分析, 三个水解时间对水解度和溶解指数的影响(表9、10), 8h与10h和12h之间有显著性差异( $p < 0.05$ ), 10h和12h之间无显著性差异。所以选择最佳水解时间为12h。

综上所述, 复合酶(风味酶、中性蛋白酶)最佳酶解工艺为: pH7, 温度40℃, 加酶量8%, 酶比(风味酶:中性酶)2:1, 水解时间12h。

表9 水解时间对水解度影响的多重比较  
Table 9 Multiple comparisons of effects of hydrolysis time on hydrolysis degree

	(I)水解时间	(J)水解时间	均差(I-J)	标准误差	概率	95%置信度	
						下限	上限
LSD	1.00	2.00	-0.0127*	0.00395	0.011	-0.0216	-0.0037
		3.00	-0.0198*	0.00395	0.001	-0.0288	-0.0109
	2.00	1.00	0.0127*	0.00395	0.011	0.0037	0.0216
		3.00	-0.0072	0.00395	0.103	-0.0161	0.0018
	3.00	1.00	0.0198*	0.00395	0.001	0.0109	0.0288
		2.00	0.0072	0.00395	0.103	-0.0018	0.0161

表10 水解时间对溶解指数影响的多重比较  
Table 10 Multiple comparisons of effects of hydrolysis time on the solution index

	(I)水解时间	(J)水解时间	均差(I-J)	标准误差	概率	95%置信度	
						下限	上限
LSD	1.00	2.00	-0.0272*	0.00513	0.000	-0.0388	-0.0156
		3.00	-0.0381*	0.00513	0.000	-0.0497	-0.0265
	2.00	1.00	0.0272*	0.00513	0.000	0.0156	0.0388
		3.00	-0.0109	0.00513	0.063	-0.0225	0.0007
	3.00	1.00	0.0381*	0.00513	0.000	0.0265	0.0497
		2.00	0.0109	0.00513	0.063	-0.0007	0.0225

### 2.3.3 工艺验证

用复合酶(风味酶、中性蛋白酶)的最佳酶解工艺对茶花花粉进行酶解,并对其水解度和溶解指数进行测定。测定结果:水解度为40%,溶解指数为0.8,与正交试验的九组结果相比水解度和溶解指数均有显著提高。

## 3 结 论

改善水解度最好的酶是风味酶,改善溶解指数最好的酶是中性蛋白酶和酸性蛋白酶。因为风味酶是外切酶,可以提高水解度;而中性蛋白和酸性蛋白酶是内切酶,能改善溶解指数。风味酶分别和酸性蛋白酶、中性蛋白酶组成复合酶的最适pH值都为7。风味酶和中性蛋白酶组成复合酶的水解效果,明显高于风味酶和酸性蛋白酶组成的复合酶。因此选择了风味酶和中性蛋白酶组成的复合酶。

通过正交试验直观分析和SPSS 12.0软件进行分析,得出了风味酶和中性蛋白酶组成的复合酶的最佳酶解工艺是:pH值为7,温度40℃,加酶量8%,酶比(风味酶:中性蛋白酶)2:1,水解时间12h。并对最佳工艺进

行验证,水解度可达到40%,溶解指数可达到0.8,明显高于正交试验中的九组试验结果。

### 参考文献:

- [1] 李晋玲. 茶花氨基酸和蛋白质含量测定及研究[J]. 茶叶通报, 2003, 25(2): 61.
- [2] 王晓婧, 翁蔚, 杨子银, 等. 茶花研究利用现状及展望[J]. 中国茶叶, 2004(4): 8-10.
- [3] 何昕. 大豆蛋白酶解工艺条件的研究[J]. 科技通报, 2000, 16(4): 278-281.
- [4] 天津轻工业学院, 大连轻工业学院, 无锡轻工业学院, 等. 工业发酵分析[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1980: 89-93.
- [5] 农业部蜂产品质量监督检测中心(北京). 蜂产品检测实用技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 75-78.
- [6] 辛淑亮, 蔡秋芳. 现代农业试验统计[M]. 北京: 中国计量出版社, 1999: 233.
- [7] 张文彤. SPSS11 统计分析教程[M]. 北京: 北京希望电子出版社, 2002: 21-26.
- [8] 段刚, 赵振锋, 钱莹. 酶制剂在蛋白加工行业的应用[J]. 食品与生物技术学报, 2005, 24(4): 104-110.
- [9] 沈同, 王镜岩. 生物化学[M]. 2版. 北京: 高等教育出版社, 1993: 268.
- [10] 杨铭铎, 付斌, 陈克杰, 等. 食品加工中的化学变化[M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1989: 411-421.