

响应面试验优化超声波辅助木瓜蛋白酶嫩化河蚌肉工艺

周 丹¹, 文连奎¹, 董周永², 周亚军^{2,*}

(1. 吉林农业大学食品科学与工程学院, 吉林 长春 130118; 2. 吉林大学生物与农业工程学院, 吉林 长春 130022)

摘 要: 为解决河蚌肉的肉质粗韧问题, 提高其食用品质, 利用超声波辅助木瓜蛋白酶对其嫩化处理。通过Box-Behnken试验设计, 建立了综合评分与超声功率、超声时间、木瓜蛋白酶质量分数之间的二次回归模型; 确定超声波辅助木瓜蛋白酶嫩化河蚌肉的最佳工艺参数为木瓜蛋白酶质量分数6%、超声功率150 W、超声时间27 min, 此时河蚌肉嫩化效果最佳。与木瓜蛋白酶、超声波、CaCl₂嫩化效果相比, 可溶性蛋白含量提高48%, 硬度和咀嚼性分别降低63%和65%。

关键词: 河蚌肉; 嫩化; 超声波; 木瓜蛋白酶

Optimization of Ultrasound-Assisted Papain Treatment for Tenderization of Freshwater Mussel

ZHOU Dan¹, WEN Liankui¹, DONG Zhouyong², ZHOU Yajun^{2,*}

(1. College of Food Science and Engineering, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China;
2. College of Biological and Agricultural Engineering, Jilin University, Changchun 130022, China)

Abstract: In order to improve the taste of freshwater mussel meat, tenderization was carried out by ultrasound-assisted papain treatment. Using Box-Behnken experimental design, a quadratic regression model was developed indicating the effect of ultrasonic power, ultrasonication time, and enzyme concentration on tenderization efficiency. Through response surface analysis of the established model, the optimal parameters that provide the best tenderness of mussel meat were determined as 6%, 150 W and 27 min for enzyme concentration, ultrasonic power and ultrasonication time, respectively. Compared with individual treatment with papain, ultrasound and CaCl₂, the combined treatment resulted in a 48% increase in soluble protein content of mussel meat, with a simultaneous decrease in hardness and chewiness by 63% and 65%, respectively.

Key words: freshwater mussel; tenderness; ultrasound-assisted treatment; papain

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201604011

中图分类号: TS254.9

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2016) 04-0062-06

引文格式:

周丹, 文连奎, 董周永, 等. 响应面试验优化超声波辅助木瓜蛋白酶嫩化河蚌肉工艺[J]. 食品科学, 2016, 37(4): 62-67.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201604011. <http://www.spkx.net.cn>

ZHOU Dan, WEN Liankui, DONG Zhouyong, et al. Optimization of ultrasound-assisted papain treatment for tenderization of freshwater mussel[J]. Food Science, 2016, 37(4): 62-67. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201604011. <http://www.spkx.net.cn>

河蚌是一种普通的淡水双壳类动物, 是中国特有资源。在我国河蚌业中, 河蚌主要为了获得珍珠, 产珠后大多数河蚌肉被丢弃, 带来资源浪费和环境污染。河蚌肉营养丰富, 有凉血降脂、滋阴明目等功效^[1], 其蛋白含量高、脂肪含量低, 是大多消费者普遍追求的健康食品^[2], 但河蚌肉因肉质粗韧而一直未被充分利

用。超声波辅助木瓜蛋白酶嫩化河蚌肉是利用超声波的空化效应及机械作用^[3]使细胞结构发生改变, 增加酶的接触量, 提高嫩化效果。超声波辅助酶法主要应用于有效成分的提取^[4-5], 而在肉嫩化方面的应用研究至今鲜有报道。本实验将超声波辅助木瓜蛋白酶用于野生河蚌肉嫩化, 为蚌肉嫩化提供一种新方法, 同时拓

收稿日期: 2015-06-08

基金项目: 长春市现代农业发展科技支撑计划项目 (13NK13); 吉林省现代农业重点科技攻关项目 (20150204034NY)

作者简介: 周丹 (1991—), 女, 硕士研究生, 研究方向为农产品加工及贮藏工程。E-mail: 1174774559@qq.com

*通信作者: 周亚军 (1966—), 男, 教授, 博士, 研究方向为肉品科学与加工技术。E-mail: zhouruyilang@163.com

宽超声波的应用领域,对提高蚌肉食用品质及商业价值具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

河蚌产于吉林省松原市扶余市长春岭镇。

碳酸氢钠、磷酸氢二钾、磷酸二氢钾、氯化钾、氯化钠、氢氧化钠、无水乙醇 北京化工厂;硫酸铜 天津市福晨化学试剂厂;酒石酸钾钠 天津市华东试剂厂;过硫酸铵、溴酚蓝、丙烯酰胺 西陇化工股份有限公司;甘氨酸、十二烷基硫酸钠、考马斯亮蓝R250 上海惠世生化试剂有限公司;N,N-甲叉双丙烯酰胺、三羟甲基氨基甲烷 上海化学试剂采购供应站分装厂;甲醇 天津市富宇精细化工有限公司;乙二醇四乙酸二钠、1,4-二硫代苏糖醇、四甲基乙二胺、丙三醇、冰醋酸 国药集团化学试剂有限公司。以上试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

KQ-250DB数控超声波仪 昆山市超声仪器有限公司;pH S-25型数字酸度计 杭州东星仪器设备有限公司;MZS-小型实验均质机 无锡市永如轻化设备厂;TGL-16gR型高速冷冻离心机 上海安亭科学仪器厂;JA3003A型电子天平 上海精天电子仪器有限公司;DYCA-24DN型双垂直板电泳仪 北京六一仪器厂;TU-1810型紫外-可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司;CT3-50 kg质构仪 美国Brookfield公司。

1.3 方法

1.3.1 样品处理

新鲜的河蚌清洗干净,去除蚌壳、蚌泪及内脏,将河蚌肉切成大小薄厚均匀,质量9 g的肉块,并与配制好的100 mL木瓜蛋白酶溶液装在双层聚乙烯塑料袋中,在真空度600 Pa条件下真空包装,进行超声处理。嫩化处理后,所有样品贮存在4℃条件下备用。

1.3.2 指标测定

1.3.2.1 可溶性蛋白含量

可溶性蛋白含量的变化对肉的嫩度有影响^[6]。参照李兰会等^[7]的方法,根据实验条件进行适当修改,取河蚌肉9.00 g,剪碎后加入90 mL提取液(20 mmol/L K_3PO_4 、1 mmol/L $CaCl_2$ 、100 mmol/L KCl 、1 mmol/L 乙二胺四乙酸二钠, pH 7.0),提取液贮存于0~4℃。用均质机将河蚌肉捣碎均匀,匀浆后倒入10 mL离心管中,在8 500 r/min条件下冷冻离心30 min,用双缩脲法^[8]测定上清液中可溶性蛋白含量。

1.3.2.2 质构特性

通过质构仪穿透法^[9-10]测定河蚌肉的硬度和咀嚼性。室温条件下检测,每组样品测量8次,取平均值。

1.3.2.3 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)

河蚌肉大分子蛋白质在超声波辅助酶法处理条件下,部分降解为小分子蛋白和多肽,分子质量变小,用SDS-PAGE可直观地表示这一现象^[11]。浓缩胶和分离胶的质量分数分别为5%和12%。用1.0 mol/L Tris-HCl溶液(pH 7.0)将可溶性蛋白的质量浓度调整至(3.0±0.5) mg/mL,取20 μL样品,加入5 μL 5倍稀释的样品缓冲液,沸水浴5 min。取5 μL处理后的液体点样,进行凝胶电泳^[12]。

1.3.2.4 感官特性评价

感官评定小组由7名硕士研究生组成,对嫩化后河蚌肉的色泽、黏度、弹性进行感官评价^[1],感官评分标准见表1。

表1 感官评分标准

标准分值	色泽	黏度	弹性
5	蚌肉有光泽,黄色均匀	外表微干不黏手,新切面湿润	指压后凹陷,立即恢复
3	蚌肉有光泽,黄色均匀,稍有变白	外表干燥或黏手,新切面微干	指压后凹陷,恢复慢,且不能完全恢复
1	蚌肉无光泽,肉色差,变白较明显	发黏严重	无弹力

1.3.2.5 蒸煮损失率

将嫩化处理后的蚌肉样品分别放入聚乙烯塑料薄膜袋中、封口,于95℃水浴锅中加热40 min,取出后立即用流动水冷却至室温。用滤纸吸干蚌肉样品表面水分,用分析天平称量样品加热处理前后的质量,按下式计算蒸煮损失率。每个处理重复测量3次,取平均值作为测量数据。

$$\text{蒸煮损失率}/\% = \frac{\text{煮前质量} - \text{煮后质量}}{\text{煮前质量}} \times 100$$

1.3.3 超声波辅助木瓜蛋白酶嫩化蚌肉工艺优化试验

对木瓜蛋白酶质量分数、超声时间、超声功率3个主要因素,进行基于Box-Behnken设计的响应面优化试验研究^[14],因素水平编码见表2。以可溶性蛋白含量、质构特性、感官评价为指标对河蚌肉嫩化效果进行综合评价,采用SPSS 17.0软件中的因子分析,将评价指标结合得出综合评分,探索超声波辅助酶法嫩化蚌肉的最佳工艺参数。

表2 Box-Behnken试验因素与水平

水平	因素		
	X_1 木瓜蛋白酶质量分数/%	X_2 超声功率/W	X_3 超声时间/min
-1	5	125	20
0	6	150	25
1	7	175	30

1.4 统计分析

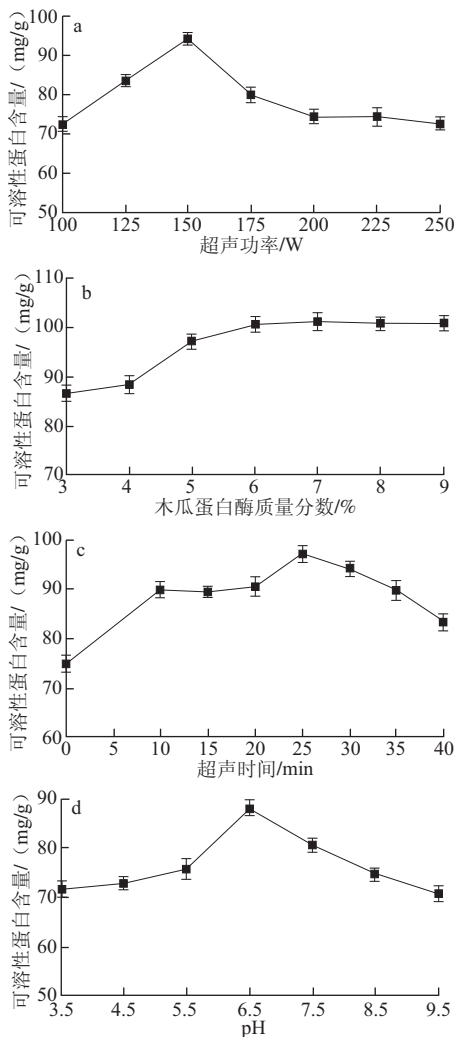
采用Origin 8.1、Design-Expert 8.0.6和SPSS 17.0统计软件进行数据处理。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

2.1.1 各单因素对可溶性蛋白含量的影响

木瓜蛋白酶是特异性蛋白水解酶,可将河蚌肉肌浆蛋白、肌原纤维蛋白、胶原蛋白和结缔组织弹性蛋白降解生成其他小分子蛋白^[15-16]。在超声波作用下,可削弱肌球蛋白和肌动蛋白间相互作用,肌纤维受到破坏。将超声波与木瓜蛋白酶同时作用于河蚌肉,超声波处理对肌纤维蛋白产生机械物理破坏作用,同时其空化作用使线粒体、肌质网和溶酶体膜破坏,加快木瓜蛋白酶溶液的扩散和渗透,提高嫩化效果^[17-18]。



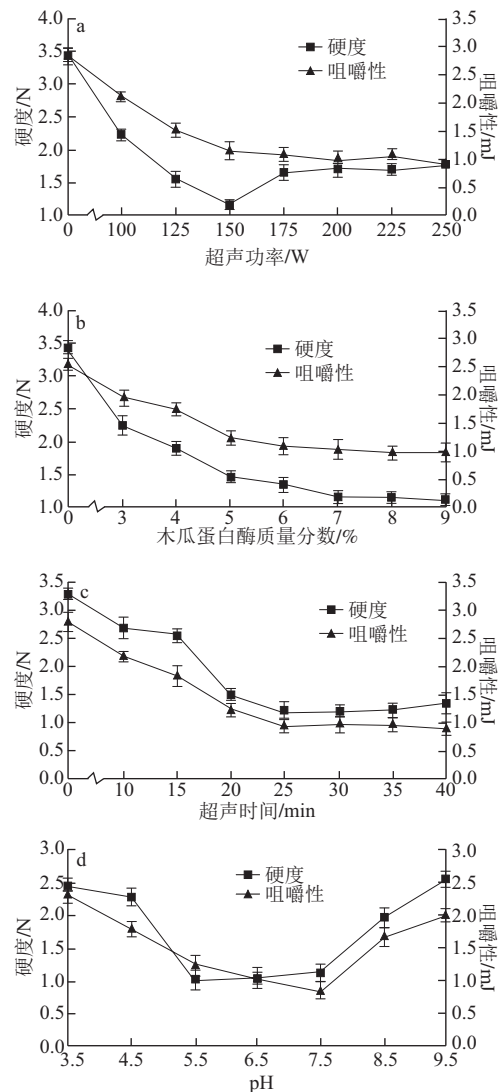
a.超声功率; b.木瓜蛋白酶质量分数; c.超声时间; d. pH值。

图1 不同因素对可溶性蛋白含量的影响

Fig.1 Effects of tenderization conditions on soluble protein content

由图1a可知,随着超声功率的增加,可溶性蛋白含量先增大后减小,功率在150 W时,可溶性蛋白含量达到最大值,比对照组(未作处理)增加30%。由图1b可知,随着木瓜蛋白酶质量分数的增大,可溶性蛋白含量逐渐增大,当木瓜蛋白酶质量分数达到6%时,可溶性蛋白含量逐渐平缓并趋于稳定。由图1c可知,随着超声时间的延长,可溶性蛋白含量快速增大,25 min时可溶性蛋白含量达到最大,之后有缓慢减小的趋势,结果与刘新玲等^[19]的研究基本一致。由图1d可知,随着pH值的升高,可溶性蛋白含量逐渐增加后降低,pH值达到6.5时,可溶性蛋白含量达到最大。

2.1.2 各单因素对质构特性的影响



a.超声功率; b.木瓜蛋白酶质量分数; c.超声时间; d. pH值。

图2 不同因素对质构特性的影响

Fig.2 Effects of tenderization conditions on texture properties of mussel

由图2a可知,当超声功率在150 W时,硬度最小,咀嚼性趋于平稳。结果与Siró等^[20]的研究基本一致。由图

2b可知,随着木瓜蛋白酶质量分数的增大,硬度和咀嚼性显著降低,当木瓜蛋白酶质量分数达到6%时,硬度和咀嚼性分别降低60%、57%,结果与苏丹^[12]的研究基本一致。由图2c可知,超声时间在25 min时,硬度和咀嚼性分别降低63%和66%。由图2d可知,木瓜蛋白酶pH值对河蚌肉硬度和咀嚼性影响明显,pH 5.5时硬度达到最小,pH 7.5时咀嚼性最小。这说明,超声波与木瓜蛋白酶对提高蚌肉嫩度有协同作用,可有效降低蚌肉硬度和咀嚼性。

2.2 响应面试验结果

以木瓜蛋白酶质量分数(X_1)、超声功率(X_2)、超声时间(X_3)为试验因素,应用SPSS统计软件中因素分析将硬度、咀嚼性、弹性、感官评价以及可溶性蛋白含量拟合为响应值,设计三因素三水平的Box-Behnken优化试验。试验设计因素水平及结果见表3。

表3 响应面试验设计方案及结果

Table 3 Box-Behnken experimental design with experimental results

试验号	X_1 木瓜蛋白酶质量分数	X_2 超声功率	X_3 超声时间	硬度/N	咀嚼性/mJ	弹性/mm	色泽评分	黏度评分	弹性评分	可溶性蛋白含量/(mg/g)	综合评分
1	-1	-1	0	1.6	1.57	1.2	3.7	3.8	3.2	71.62	-0.620 98
2	1	-1	0	1.59	1.43	1.17	4.0	4.0	3.1	72.05	-0.218 13
3	-1	1	0	1.71	1.35	1.15	3.8	3.8	2.9	70.74	-0.471 33
4	1	1	0	1.62	1.18	1.12	4.1	4.1	3.3	73.81	0.347 76
5	-1	0	-1	1.64	1.58	1.12	3.3	3.4	3.2	73.81	-1.002 48
6	1	0	-1	1.67	1.37	1.19	3.5	3.0	3.1	71.62	-0.943 3
7	-1	0	1	1.45	1.43	1.19	4.4	3.3	3.1	80.96	-0.280 7
8	1	0	1	1.53	1.17	1.14	3.8	4.1	3.0	74.46	0.303 73
9	0	-1	-1	1.59	1.55	1.36	3.3	2.9	3.2	74.90	-1.135 35
10	0	1	-1	1.45	1.52	1.37	3.4	2.9	3.0	72.92	-1.024 2
11	0	-1	1	1.41	1.29	1.22	3.2	3.0	3.6	82.78	-0.232 36
12	0	1	1	1.33	1.19	1.19	4.1	3.9	3.4	84.31	0.730 94
13	0	0	0	1.21	1.17	1.46	3.1	3.5	3.3	100.5	0.739 15
14	0	0	0	1.25	1.14	1.59	3.0	3.8	3.6	96.40	0.991 34
15	0	0	0	1.23	1.02	1.38	3.3	3.3	4.2	91.28	1.024 99
16	0	0	0	1.19	1.07	1.38	3.1	3.0	4.3	96.62	0.870 806
17	0	0	0	1.17	1.11	1.52	3.1	3.5	3.4	99.91	0.923 24

试验数据通过Design-Expert软件回归分析,得到超声波辅助木瓜蛋白酶嫩化河蚌肉综合评分 Y 与影响因素关系的二次多项回归方程:

$$Y = -51.632 2 + 6.248 39X_1 + 0.201 80X_2 + 1.267 62X_3 + 4.162 4 \times 10^{-3}X_1X_2 + 0.026 262X_1X_3 + 1.704 3 \times 10^{-3}X_2X_3 - 0.608 01X_1^2 - 8.681 04 \times 10^{-4}X_2^2 - 0.031 303X_3^2$$

如表4所示,该模型 F 值为45.32, $P < 0.000 1$,说明回归方程模型极显著;失拟项 P 值为0.152 6,表明该模型相对于绝对误差并不显著,说明通过试验得到的二次回归方程能很好地对响应面值进行预测。模型的相关系数 $R^2 = 0.983 1$,表明自变量与响应值之间的线性关系显著,可用于试验的理论预测。调整确定系数 $R^2_{Adj} = 0.961 4$,表明回归方程与试验值具有高度拟合性,说明该模型可很好解释响应值的变化^[21]。因此,该回归模型可用来对

超声波辅助酶法嫩化河蚌肉的工艺优化。经回归系数显著性检验可知,木瓜蛋白酶质量分数、超声功率、超声时间的一次项和平方项、超声功率和超声时间交互作用均为显著项。

表4 回归模型方差分析表

Table 4 Analysis of variance of regression model

来源	平方和	自由度	均方差	F 值	P 值	显著性
模型	9.79	9	1.09	45.32	<0.000 1	**
X_1 木瓜蛋白酶质量分数	0.44	1	0.44	18.12	0.003 8	**
X_2 超声功率	0.40	1	0.40	16.68	0.004 7	**
X_3 超声时间	2.68	1	2.68	111.47	<0.000 1	**
X_1X_2	0.043	1	0.043	1.80	0.221 1	
X_1X_3	0.069	1	0.069	2.87	0.133 9	
X_2X_3	0.18	1	0.18	7.56	0.028 5	*
X_1^2	1.56	1	1.56	64.84	<0.000 1	**
X_2^2	1.24	1	1.24	51.63	0.000 2	**
X_3^2	2.58	1	2.58	107.42	<0.000 1	**
残差	0.17	7	0.024			
失拟性	0.12	3	0.039	3.08	0.152 6	
纯误差	0.051	4	0.013			
总变异	9.96	16				
$R^2 = 0.983 1$		变异系数=0.803 6		$R^2_{Adj} = 0.961 4$		

注: **.差异极显著, $P < 0.01$; *.差异显著, $P < 0.05$ 。

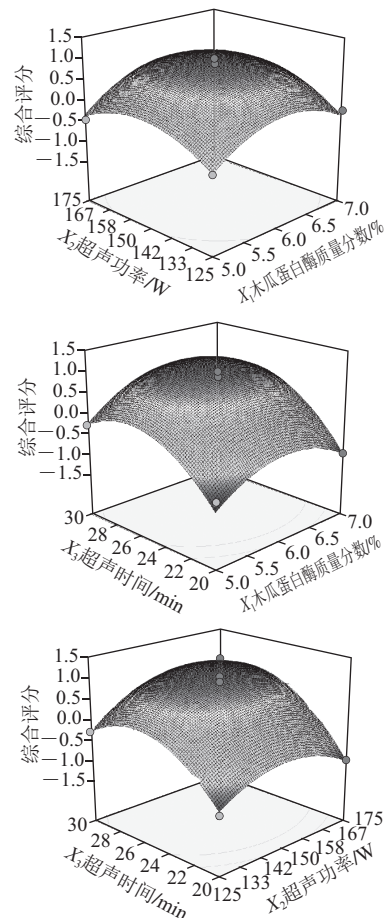


图3 各因素交互影响的响应面图

Fig.3 Response surface plots showing the effects of operating parameters on tenderization efficiency

从图3可以看出,木瓜蛋白酶质量分数、超声功率、超声时间3个因素的两两交互作用中,超声功率和超声时间的交互作用显著,并且较高的综合评分出现在3D效果的中心区域,综合评分由中心向边缘逐渐减小。

通过Design-Expert软件对各因素求导,得出超声波辅助酶法嫩化河蚌肉的最佳工艺条件为:木瓜蛋白酶质量分数6.27%、超声功率157.91 W、超声时间27.17 min。在此最佳条件下,综合评分的理论值为1.102 17。为进一步验证响应面分析结果的可靠性,对最优条件进行实际调整,在木瓜蛋白酶质量分数6%、超声功率150 W、超声时间27 min的条件下进行3次验证实验。得到嫩化效果的综合评分值为0.992 34,与预测综合评分值接近。因此,采用响应面分析优化得到的超声波辅助酶法嫩化河蚌肉的参数准确可靠,可为河蚌肉的嫩化工艺提供理论依据。

2.3 不同嫩化方法的对比实验结果

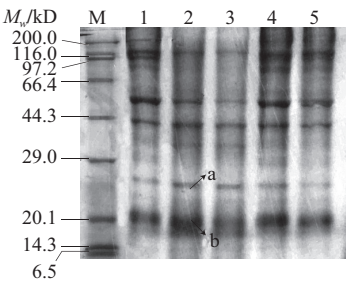
表5 不同嫩化方法的对比

Table 5 Comparison of different tenderization methods

嫩化方法	超声功率/W	处理时间/min	质量分数/%	pH	可溶性蛋白含量/(mg/g)	硬度/N	咀嚼性/mJ	感官评分	蒸煮损失率/%
对照					66.37	3.12	2.87	4.6 4.3 2.5	56
超声波-木瓜蛋白酶	150	25	6	6.5	98.56	1.15	0.98	4.4 4.1 4.5	33
木瓜蛋白酶		60	7	6.5	87.69	1.78	1.75	3.2 3.4 4.2	38
CaCl ₂		60	3		72.14	2.02	2.09	2.9 2.4 3.5	48
超声波	200	30			78.82	1.98	1.67	3.8 3.9 3.8	40

使用不同的嫩化方法的最佳条件,对河蚌肉嫩化处理。由表5可知,不同嫩化方法均能使河蚌肉可溶性蛋白含量、质构特性、感官评分和蒸煮损失率发生改变。超声波-木瓜蛋白酶、木瓜蛋白酶、CaCl₂、超声波处理后河蚌肉的可溶性蛋白含量分别比对照提高48%、32%、8%、19%。其中超声波辅助木瓜蛋白酶处理的河蚌肉可溶性蛋白含量最高。超声波-木瓜蛋白酶处理后样品的硬度和咀嚼性比对照组降低63%、65%,且低于其他嫩化方法。这表明超声波-木瓜蛋白酶处理的河蚌肉更易消化。

由表5可知,超声波-木瓜蛋白酶嫩化处理后样品黄色均匀,外表微干不黏,新切面湿润,弹性有大幅度提高。木瓜蛋白酶处理后的样品弹性提高也很明显,但样品变白严重,外表较黏,这可能是由于木瓜蛋白酶质量分数过大或作用时间过长,使蚌肉胶原蛋白和肌原纤维蛋白过度降解,从而肉的色泽和形态变差。超声波-木瓜蛋白酶处理后的蒸煮损失率减少23%,这可能是由于超声波处理使肌肉纤维间距和肌节变宽、细胞破裂,使水分进入到细胞中,使细胞的持水性增加,蒸煮损失率减小。



M. Marker; 1.对照; 2.超声波-木瓜蛋白酶处理; 3.木瓜蛋白酶处理; 4. CaCl₂处理; 5.超声波处理。a、b.电泳特征条带。

图4 不同嫩化方法处理后河蚌肉蛋白质SDS-PAGE图

Fig.4 SDS-PAGE of mussel treated by different tenderization methods

由图4可知,不同嫩化方法对河蚌肉的蛋白都有降解,与对照组相比,分子质量约为220 kD的肌动蛋白和97.2 kD的大分子蛋白消失,介于14.3~29 kD的a条带和b条带明显变宽且颜色加深,且2号泳道变化最明显,这表明,超声波-木瓜蛋白酶处理后,河蚌肉中的肌动蛋白和胶原蛋白等大分子蛋白降解生成小分子蛋白或多肽,嫩化效果明显。

综上所述,超声波-木瓜蛋白酶嫩化处理改善肌肉组织结构,提高嫩化效率,使肉的硬度和咀嚼性降低、弹性和持水性提高,使蚌肉易消化吸收。同时降低酶添加量,较大程度减轻酶对蚌肉色泽的影响,使蚌肉具有良好的感官特性。因此,超声波-木瓜蛋白酶优于木瓜蛋白酶处理等其他嫩化方法。

3 结论

Box-Behnken试验设计优化出超声波-木瓜蛋白酶嫩化河蚌肉的最佳工艺参数为木瓜蛋白酶质量分数6%、超声功率150 W、超声时间27 min。不同嫩化方法对比实验表明,超声波-木瓜蛋白酶嫩化处理后样品可溶性蛋白含量提高48%,硬度和咀嚼性分别降低63%和65%,蒸煮损失率减少23%,持水性和弹性提高,样品色泽和形态较好。因此,超声波辅助木瓜蛋白酶嫩化蚌肉效果最佳,耗时最短。

参考文献:

[1] 张缓,姜启兴,许艳顺,等. 采珠后河蚌副产物的营养成分分析及评价[J]. 食品工业科技, 2012, 33(19): 346-349. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2012.19.069.

[2] CAGLAK E, CAKLI S, KILINC B. Microbiological, chemical and sensory assessment of mussels (*Mytilus galloprovincialis*) stored under modified atmosphere packaging[J]. European Food Research and Technology, 2008, 226(6): 1293-1299. DOI:10.1007/s00217-007-0657-1.

[3] 杨性民,刘青梅,罗海波,等. 超声波结合嫩化剂对虾干嫩化效果的影响[J]. 农业工程学报, 2006, 22(9): 267-269. DOI:10.3321/j.issn:1002-6819.2006.09.058.

- [4] 李亚辉, 马艳弘, 黄开红, 等. 超声波辅助酶法提取黑莓酒渣中花色苷工艺优化及其生物活性[J]. 食品科学, 2015, 36(6): 63-68. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201506012.
- [5] 范三红, 李静, 王亚云, 等. 超声波辅助复合酶提取菊糖工艺优化[J]. 食品科学, 2015, 36(4): 23-28. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201504005.
- [6] 余海霞, 杨水兵, 杨志坚, 等. 超声波技术嫩化鱿鱼的研究[J]. 中国食品学报, 2013, 13(11): 6-14.
- [7] 李兰会, 张志胜, 李艳琴, 等. 超声波在羊肉嫩化中的应用研究[J]. 食品科学, 2005, 26(4): 107-111. DOI:10.3321/j.issn:1002-6630.2005.04.023.
- [8] GORNALL A G, BARDAWILL C J, DAVID M M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction[J]. Journal of Biological Chemistry, 1949, 177(2): 751-766.
- [9] 雒莎莎, 童彦, MUHAMMAD M J, 等. 超高压处理对鳙鱼质构特性的影响[J]. 中国食品学报, 2012, 12(5): 182-187. DOI:10.3969/j.issn.1009-7848.2012.05.029.
- [10] 张馨木. 质构仪测定冷鲜肉新鲜度方法的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2012.
- [11] de HUIDOBRO F R, MIGUEL E, BLAZQUEZ B, et al. A comparison between two methods (Warner-Bratzler and texture profile analysis) for testing either raw meat or cooked meat[J]. Meat Science, 2005, 69(3): 527-536. DOI:10.1016/j.meatsci.2004.09.008.
- [12] 苏丹. 老龄梅花鹿肉嫩化方法研究[D]. 长春: 吉林大学, 2012.
- [13] SALLAM K I. Chemical, sensory and shelf life evaluation of sliced salmon treated with salts of organic acids[J]. Food Chemistry, 2007, 101(2): 592-600. DOI:10.1016/j.foodchem.2006.02.019.
- [14] 任露泉. 回归设计及其优化[M]. 长春: 吉林科学技术出版社, 2009.
- [15] 明建, 李洪军. 不同酶嫩化处理对牛肉物性的影响[J]. 食品科学, 2008, 29(12): 156-159. DOI:10.3321/j.issn:1002-6630.2008.12.031.
- [16] 李作为, 张立彦, 芮汉明, 等. 蛋白酶处理对鸡骨泥营养组成的影响[J]. 现代食品科技, 2011, 27(6): 618-621. DOI:10.3969/j.issn.1673-9078.2011.06.003.
- [17] 吕东坡, 胡永金, 朱仁俊, 等. 宰后肉的嫩化机制及其影响因素[J]. 食品科学, 2008, 29(8): 710-717. DOI:10.3321/j.issn:1002-6630.2008.08.173.
- [18] 黄六容, 马海乐, 穆丽君, 等. 超声波对木瓜蛋白酶的活性及动力学和热力学参数的影响[J]. 高校化学工程学报, 2012, 26(1): 89-92.
- [19] 刘新玲, 黄明, 孙京新, 等. 超声波处理对猪肉腌制效果的影响[J]. 食品研究与开发, 2010, 31(4): 28-31. DOI:10.3969/j.issn.1005-6521.2010.04.008.
- [20] SIRÓ I, VEN C, BALLA C, et al. Application of an ultrasonic assisted curing technique for improving the diffusion of sodium chloride in porcine meat[J]. Journal of Food Engineering, 2009, 91(2): 353-362. DOI:10.1016/j.jfoodeng.2008.09.015.
- [21] MARAN J P, MANIKANDAN S, PRIYA B, et al. Box-Behnken design based multi-response analysis and optimization of supercritical carbon dioxide extraction of bioactive flavonoid compounds from tea (*Camellia sinensis* L.) leaves[J]. Journal of Food Science and Technology, 2015, 52(1): 92-104. DOI:10.1007/s13197-013-0985-z.