

大米蛋白水解条件的响应面法优化^{*}

黄艳燕¹,王升²,冯涛³,唐智慧³,莫君明^{3,4**}

(1.广西科学院,非粮生物质酶解国家重点实验室,国家非粮生物质能源工程技术研究中心,广西南宁 530007;2.南宁庞博生物工程技术有限公司,广西南宁 530004;3.广西民族大学化学化工学院,广西林产化学与工程重点实验室,广西南宁 530006;4.南宁穗肽生物技术有限公司,广西南宁 530006)

摘要:运用响应面法优化大米蛋白酶法水解条件,提高大米蛋白水解度和提取率。本研究首先应用单因素实验法分析酶添加量、温度、pH值以及酶解时间对大米蛋白水解的影响;然后在单因素实验基础上,进一步采用Box-Behnken法进行实验设计,考察上述4个因素对大米蛋白水解度和蛋白质提取率的影响。研究结果表明最佳酶解条件为温度62℃,酶添加量2.5%,pH值8.2,酶解时间10.5h,此时大米蛋白的水解度可达到41.5%,蛋白质提取率可达93.1%。研究成果可为酶解制备可溶性大米蛋白肽的工业化应用提供参考。

关键词:响应面法 大米蛋白 酶解 水解度 蛋白质提取率

中图分类号:S565.1 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2020)02-0175-07

DOI:10.13656/j.cnki.gxkx.20200421.001

0 引言

大米是全球范围内种植的主要粮食之一,大米中所含的蛋白质是公认的优质谷类蛋白,大米蛋白氨基酸组成合理,含有人体所需多种氨基酸,具有极高的营养价值^[1]。目前大米蛋白主要被加工成高蛋白粉、蛋白胨和大米蛋白发泡粉等产品^[2]。另外,大米蛋白是低抗原性蛋白质,过敏性低,适用作易过敏人群和婴幼儿的蛋白质补充剂^[3]。同时,大米蛋白的保健功能也受到很多研究者的关注,比如大米蛋白能预防糖尿病、高血压等慢性疾病^[4]。但是由于大米蛋白溶解性较差,导致其乳化性、胶凝性等性质不佳,进而影响

大米蛋白在食品领域的进一步开发利用^[5]。

为改善大米蛋白的功能性质,目前常用物理法、化学法或酶法对大米蛋白进行改性,主要以溶解度、乳化性和起泡性等性质的提升为目标^[6]。物理法改性成本低、毒副作用小,但是改性效果不明显,提取率低^[7]。化学法改性应用最为广泛,对大米蛋白的功能性质有较大改善,但缺点是有时会破坏蛋白质的原有营养特性,且存在化学试剂残留的隐患^[8]。酶法改性专一性高、反应条件温和,对环境的污染小、适合工业化生产、水解产物营养价值高,是目前研究的热点^[9],如汪洋等^[10]研究中性蛋白酶制备大米蛋白抗氧化肽的酶解工艺。但是目前酶法水解大米蛋白的研究主

^{*} 国家自然科学基金青年基金项目(21702033),广西自然科学基金回国基金项目(2016GXNSFCA380018),广西高校引进海外高层次人才“百人计划”项目(桂教人[2016]59号)和广西民族大学引进人才科研启动项目(2016MDQD003)资助。

【作者简介】

黄艳燕(1982—)女,硕士,助理研究员,主要从事酶工程和微生物发酵工程研究,E-mail:hyy.ssss@163.com。

【**通信作者】

莫君明(1983—)男,副教授,博士,主要从事有机合成、生物酶研究,E-mail:moandli@163.com。

【引用本文】

黄艳燕,王升,冯涛,等.大米蛋白水解条件的响应面法优化[J].广西科学,2020,27(2):175-181,194.

HUANG Y Y,WANG S,FENG T,et al.Optimization of Enzymatic Hydrolysis for Rice Protein via Response Surface Methodology [J].Guangxi Sciences,2020,27(2):175-181,194.

要集中在考察蛋白质的水解度和蛋白肽的抗氧化活性,其中大多数研究的蛋白水解度不高($< 30\%$)^[5,11-12],且不涉及蛋白质提取率。对工业生产而言,水解度和蛋白质提取率都是生产中决定产品质量和生产成本的重要指标。本实验以大米蛋白粉为原料,采用大米蛋白水解酶对大米蛋白进行酶解,以水解度和蛋白质提取率为指标,通过单因素实验和响应面分析实验确定最优条件,为酶解制备可溶性大米蛋白肽的工业化应用提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 试剂

大米蛋白粉(粗蛋白质 70%),大海粮油工业(防城港)有限公司生产;大米蛋白水解酶(为木瓜酶、风味酶和碱性酶的复合物,8 000 U/g——在一定的条件下,每分钟水解酪蛋白生成 1 μg 酪氨酸所需的酶量,为 1 个酶活力单位 U),南宁穗肽生物技术有限公司生产;其他试剂,国产分析纯。

1.2 仪器

DK-8D 型电热恒温水槽,上海精宏实验设备有限公司生产;DELTA320 型 pH 计,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司生产;RD-50GAT 型台式离心机,上海卢湘仪离心机仪器有限公司生产;KDN-1 型凯氏定氮仪,上海仪电科学仪器股份有限公司生产。

1.3 方法

1.3.1 大米蛋白粉的酶法水解

称取大米蛋白粉 10 g,加入 100 mL 蒸馏水,用 0.1 mol/L 氢氧化钠或盐酸溶液调至酶的最适 pH 值,加入一定量的水解酶,在预定温度的水浴锅中恒温酶解,达到酶解时间后,于沸水中水浴 15 min 使酶失活,自然冷却,4 000 r/min 离心 20 min,取上清液测定游离氨基氮的含量和总氮含量,并计算大米蛋白的水解度和蛋白质提取率。

1.3.2 大米蛋白水解度和蛋白质提取率的计算

游离氨基氮的测定采用甲醛电位滴定法,总氮含量测定采用凯氏定氮法。

大米蛋白水解度 = $\frac{\text{氨基氮}}{\text{总氮}} \times 100\%$,蛋白质提取率 = $\frac{\text{酶解液的粗蛋白质}}{\text{原料的粗蛋白质}} \times 100\%$ 。

1.3.3 单因素实验

设定初始水解条件:酶添加量 2.0%(W : W),pH 值为 8,温度 60 $^{\circ}\text{C}$,酶解时间 9 h。在此基础上分别改变酶添加量(1.0%、1.5%、2.0%、2.5%、3.0%),pH 值(6,7,8,9,10),温度(40,50,60,70,

80 $^{\circ}\text{C}$),酶解时间(3,6,9,12,15 h),测定大米蛋白的水解度和蛋白质提取率。

1.3.4 响应面法分析实验

根据单因素实验的结果,以大米蛋白水解度和蛋白质提取率为响应值,选取酶添加量、温度、pH 值、酶解时间 4 个因素进行 Box-Behnken 实验设计,确定大米蛋白水解的最优条件。实验因素水平如表 1 所示。

表 1 Box-Behnken 实验设计因素水平编码表

Table 1 Coding table of factors and levels used in Box-Behnken test design

水平 Level	因素 Factors			
	温度 Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	酶添加量 Enzyme addition (%)	pH 值 pH value	时间 Time (h)
-1	50	1.5	7	6
0	60	2.0	8	9
1	70	2.5	9	12

2 结果与分析

2.1 单因素实验结果

2.1.1 酶添加量对大米蛋白水解度和提取率的影响

由图 1 可知,随着酶添加量的增加,大米蛋白的水解度和蛋白质提取率均有提高,当酶添加量达到 2.0% 之后,水解度和提取率增幅较小。这是由于酶作为一种催化剂,浓度的提高可以加快反应速度,但是在酶添加量达到一定限度时,酶在底物表面的作用已达到饱和,而底物上可供酶切割的位点有限,多出的酶不能在底物上起作用^[13],因此水解度趋于平衡。从成本的角度考虑,初步确定酶添加量为 2.0% 较为合适。

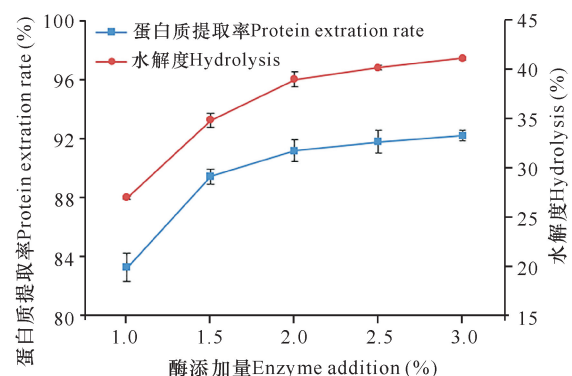


图 1 酶添加量对水解度和提取率的影响

Fig. 1 Effect of enzyme addition on the degree of hydrolysis and protein extraction rate

2.1.2 温度对大米蛋白水解度和提取率的影响

从图2可知,大米蛋白水解度和蛋白质提取率在60℃时最高,温度太低或太高时水解度和蛋白质提取率均会下降。这是由于酶对温度较为敏感,在其最适温度范围内活性最高。温度较低时,酶活力也较低,水解速度慢,而当温度过高时酶蛋白质会因变性而失活,造成水解度和提取率的下降^[14]。因此初步选择反应温度为60℃。

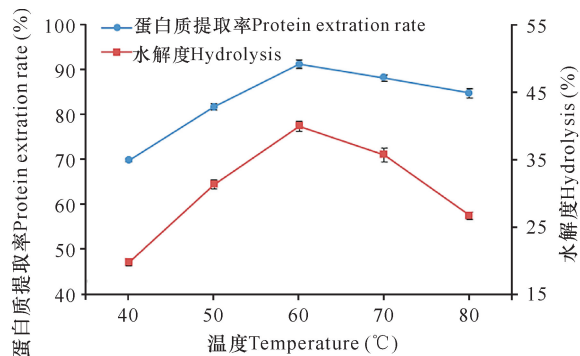


图2 温度对水解度和提取率的影响

Fig. 2 Effect of temperature on the degree of hydrolysis and protein extraction rate

2.1.3 pH值对大米蛋白水解度和提取率的影响

由图3可见,在pH值为8时水解度和蛋白质提取率达到最大,pH值低于或高于8时,水解度和蛋白质提取率均有所降低。这是由于pH值会影响酶分子和底物分子上羧基、氨基等基团的解离状态,这些基团的解离状态会影响酶与底物的结合催化^[15]。因此初步确定pH值为8。

2.1.4 酶解时间对大米蛋白水解度和提取率的影响

从图4可以看出,随着酶解时间的延长,水解度和提取率都会逐渐提高。但由于底物浓度不断降低,酶解9h之后水解度和提取率的增长趋于平缓。因

表2 实验方案和结果

实验号 No.	温度 Temperature	酶添加量 Enzyme addition	pH值 pH value	酶解时间 Time	水解度 Hydrolysis degree (%)	提取率 Protein extraction rate (%)
1	-1	-1	0	0	29.1	78.8
2	1	-1	0	0	33.1	84.7
3	-1	1	0	0	34.1	84.9
4	1	1	0	0	37.7	88.5
5	0	0	-1	-1	25.1	74.1
6	0	0	1	-1	28.6	77.8
7	0	0	-1	1	28.2	79.9
8	0	0	1	1	36.8	83.9
9	-1	0	0	-1	28.9	79.4

此,从节约成本角度考虑,初步将酶解时间定为9h。

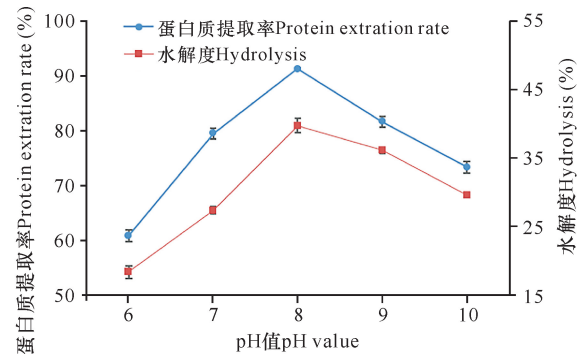


图3 pH值对水解度和提取率的影响

Fig. 3 Effect of pH value on the degree of hydrolysis and protein extraction rate

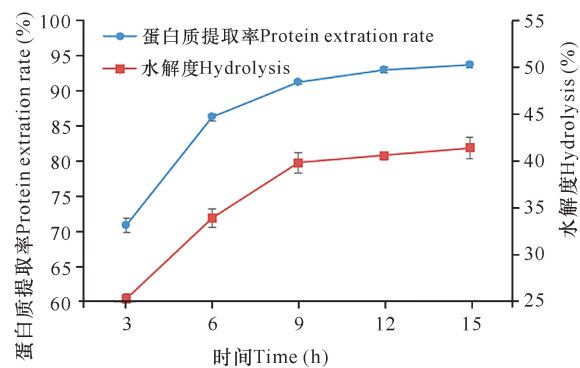


图4 酶解时间对水解度和提取率的影响

Fig. 4 Effect of time on the degree of hydrolysis and protein extraction rate

2.2 响应面实验数据分析

2.2.1 实验模型的建立

根据单因素实验结果,以温度(A)、酶添加量(B)、pH值(C)、酶解时间为自变量(D),水解度(DH)和蛋白质提取率(E)为响应值,进行响应面实验,实验方案和结果见表2。

续表 2

Continued table 2

实验号 No.	温度 Temperature	酶添加量 Enzyme addition	pH 值 pH value	酶解时间 Time	水解度 Hydrolysis degree (%)	提取率 Protein extraction rate (%)
10	1	0	0	-1	31.6	80.6
11	-1	0	0	1	33.9	83.2
12	1	0	0	1	36.9	89.0
13	0	-1	-1	0	24.9	75.5
14	0	1	-1	0	31.9	80.2
15	0	-1	1	0	32.2	80.1
16	0	1	1	0	36.3	85.2
17	-1	0	-1	0	23.4	71.9
18	1	0	-1	0	25.7	75.9
19	-1	0	1	0	28.6	76.3
20	1	0	1	0	32.4	80.2
21	0	-1	0	-1	30.4	82.2
22	0	1	0	-1	36.6	89.6
23	0	-1	0	1	37.5	90.3
24	0	1	0	1	40.8	93.2
25	0	0	0	0	40.5	90.3
26	0	0	0	0	40.0	91.5
27	0	0	0	0	39.1	91.9
28	0	0	0	0	39.4	90.7
29	0	0	0	0	39.6	91.1

用 Design Expert 8.06 软件对表 2 的结果进行多元回归分析,得到水解度(DH)与温度(A)、酶添加量(B)、pH 值(C)、酶解时间(D)的二次多项式回归方程:

$$DH = 39.72 + 1.62A + 2.52B + 2.98C + 2.74D - 0.10AB + 0.37AC + 0.075AD - 0.73BC - 0.73BD + 1.27CD - 4.80A^2 - 1.15B^2 - 7.46C^2 - 2.31D^2$$

由表 3 可知,模型 P 值 < 0.0001 ,失拟项为 $0.7042 > 0.05$,表明该模型拟合程度较好;决定系数

$R^2 = 0.9957$,说明水解度实测值与预测值之间有较好拟合度。由表 3 中的 F 值大小顺序可知,各因素对水解度的影响顺序为 $C > D > B > A$,即 pH 值 $>$ 酶解时间 $>$ 酶添加量 $>$ 温度。温度(A)、酶添加量(B)、pH 值(C)、酶解时间(D)的一次项及二次项均达到极显著水平;交互项 BC、BD、CD 对水解度的影响也达到极显著水平,交互项 AB、AC 和 AD 对水解度的影响不显著。综上分析可知该模型与实际情况拟合较好,可用于大米蛋白水解度的优化。

表 3 方差分析(水解度)

Table 3 Analysis of variance for the quadratic model (degree of hydrolysis)

来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 Freedom	均方 Mean squares	F 值 F value	P 值 P value
模型 Model	759.23	14	54.23	231.79	< 0.0001
A	31.36	1	31.36	134.05	< 0.0001
B	76.00	1	76.00	324.85	< 0.0001
C	106.21	1	106.21	453.95	< 0.0001
D	90.20	1	90.20	385.53	< 0.0001
AB	0.040	1	0.040	0.17	0.6855
AC	0.56	1	0.56	2.40	0.1433
AD	0.023	1	0.023	0.096	0.7610
BC	2.10	1	2.10	8.99	0.0096
BD	2.10	1	2.10	8.99	0.0096

续表 3

Continued table 3

来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 Freedom	均方 Mean squares	F 值 F value	P 值 P value
CD	6.50	1	6.50	27.79	0.000 1
A ²	149.29	1	149.29	638.10	<0.000 1
B ²	8.54	1	8.54	36.51	<0.000 1
C ²	360.98	1	360.98	1 542.90	<0.000 1
D ²	34.61	1	34.61	147.94	<0.000 1
失拟项 Lack of fit	2.09	10	0.21	0.70	0.704 2
纯误差 Pure error	1.19	4	0.30		
总和 Sum	762.50	28			

同样可得到提取率(E)与温度(A)、酶添加量(B)、pH值(C)、酶解时间(D)的二次多项式回归方程:

$$E = 91.10 + 2.03A + 2.50B + 2.17C + 2.98D - 0.58AB - 0.025AC + 1.15AD + 0.10BC - 1.12BD + 0.075CD - 5.77A^2 - 0.79B^2 - 9.82C^2 - 2.04D^2$$

由表 4 可知,模型 P 值 < 0.000 1,失拟项为 0.440 7 > 0.05,表明该模型拟合程度较好;决定系数

$R^2 = 0.993 7$,说明提取率实测值与预测值之间有较好拟合度。由表 4 中的 F 值大小顺序可知,各因素对提取率的影响顺序为 $D > B > C > A$,即酶解时间 > 酶添加量 > pH 值 > 温度。一次项 A、B、C、D 对蛋白质提取率的影响达到极其显著水平;交互项 AD、BD 对提取率的影响极显著,其余交互项均不显著。综合分析可知该模型与实际情况拟合较好,可用于优化蛋白质的提取率。

表 4 方差分析(蛋白质提取率)

Table 4 Analysis of variance for the quadratic model (protein extraction rate)

来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 Freedom	均方 Mean squares	F 值 F value	P 值 P value
模型 Model	1 047.34	14	74.81	156.71	<0.000 1
A	49.61	1	49.61	103.93	<0.000 1
B	75.00	1	75.00	157.11	<0.000 1
C	56.33	1	56.33	118.00	<0.000 1
D	106.80	1	106.80	223.73	<0.000 1
AB	1.32	1	1.32	2.77	0.118 2
AC	0.002 5	1	0.002 5	0.005 2	0.943 3
AD	5.29	1	5.29	11.08	0.005 0
BC	0.040	1	0.040	0.084	0.776 5
BD	5.06	1	5.06	10.60	0.005 7
CD	0.022	1	0.022	0.047	0.831 3
A ²	215.70	1	215.70	451.85	<0.000 1
B ²	4.07	1	4.07	8.52	0.011 2
C ²	625.08	1	625.08	1 309.40	<0.000 1
D ²	27.04	1	27.04	56.64	<0.000 1
失拟项 Lack of fit	5.08	10	0.51	1.27	0.440 7
纯误差 Pure error	1.60	4	0.40		
总和 Sum	1 054.03	28			

2.2.2 水解度的因素交互效应分析

响应面图的等高线形状反映交互作用的强弱程度,圆形表示两个因素的交互作用不明显,而椭圆形则表示交互作用明显^[16]。从图5可以看出,水解度随着酶解时间和酶添加量的增加而升高;水解度随着

pH值和温度的增加呈现先升高后降低的趋势。椭圆形的等高线说明交互作用对水解度影响显著;pH值与温度、酶添加量、酶解时间的交互作用显著,表明pH值对水解度的影响比其他因素要大,与方差分析结果一致。

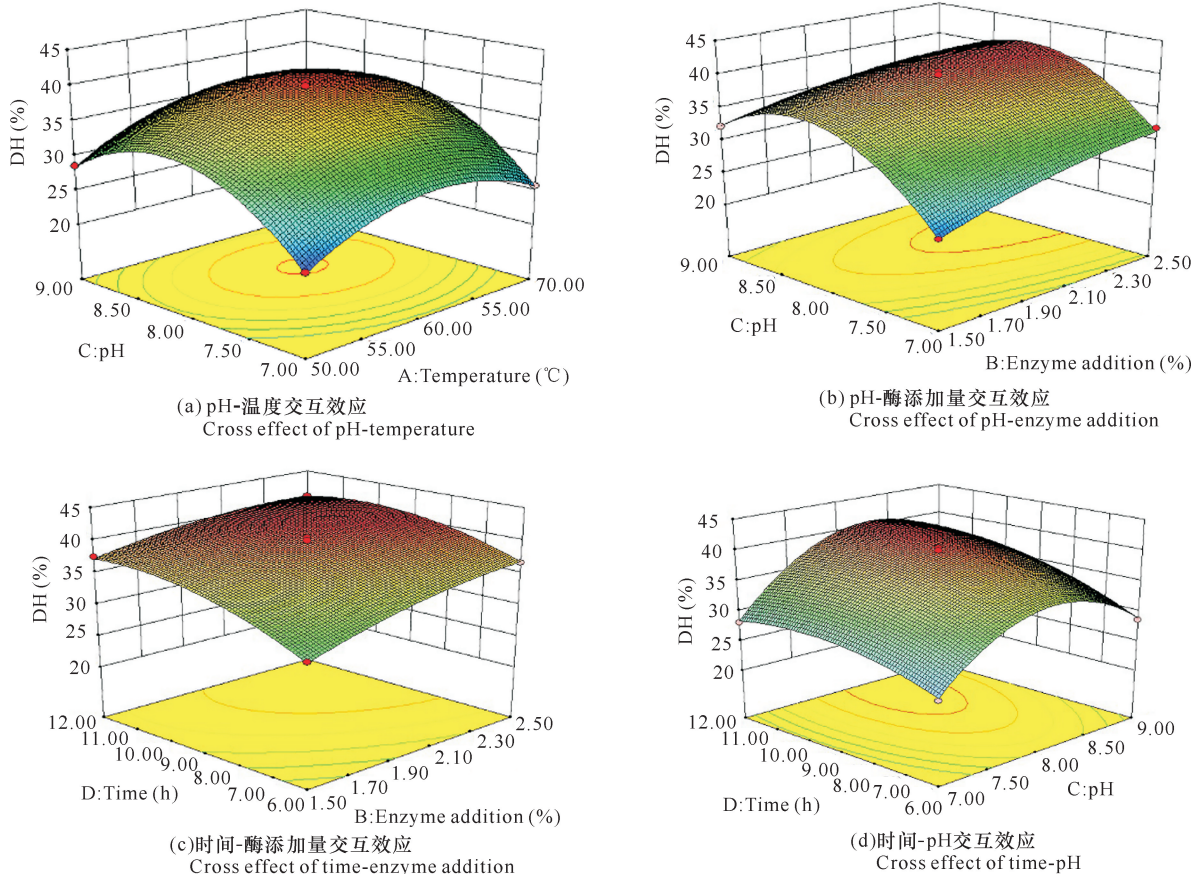


图5 各因素交互效应的响应面曲线(水解度)

Fig. 5 Response surface map of cross effect of each factors (degree of hydrolysis)

2.2.3 蛋白质提取率的因素交互效应分析

从图6a可以看出,温度一定时,随着酶解时间的增加提取率缓慢升高;酶解时间固定时,随着温度升高,提取率是先增加再降低。从图6b可知,酶添加量固定时,随着酶解时间的增加提取率缓慢升高;当酶解时间一定时,随着酶添加量的增加,提取率逐渐上升。图6a等高线为椭圆形,说明时间-温度交互作用显著;而时间-酶添加量之间的交互作用亦较明显(图6b),与方差分析结果一致。

2.2.4 酶解实验的优化与验证

软件优化后的最佳水解条件:温度 61.72℃,酶

添加量 2.5%,pH 值 8.16,时间 10.48 h,此时预测水解度为 41.93%,预测提取率为 93.52%。考虑到实际生产的方便,水解条件调整为温度 62℃,酶添加量 2.5%,pH 值 8.2,时间 10.5 h,预测水解度为 41.93%,提取率为 93.47%。按照优化条件验证实验得到实际水解度为 41.5%,提取率 93.1%,两者误差小于 1%,说明方程拟合较好,响应面优化得到的酶解工艺参数准确。实验结果表明响应面优化得到的酶解条件相比现有的水解工艺在水解度(<30%)方面有较大提高,具有实用价值。

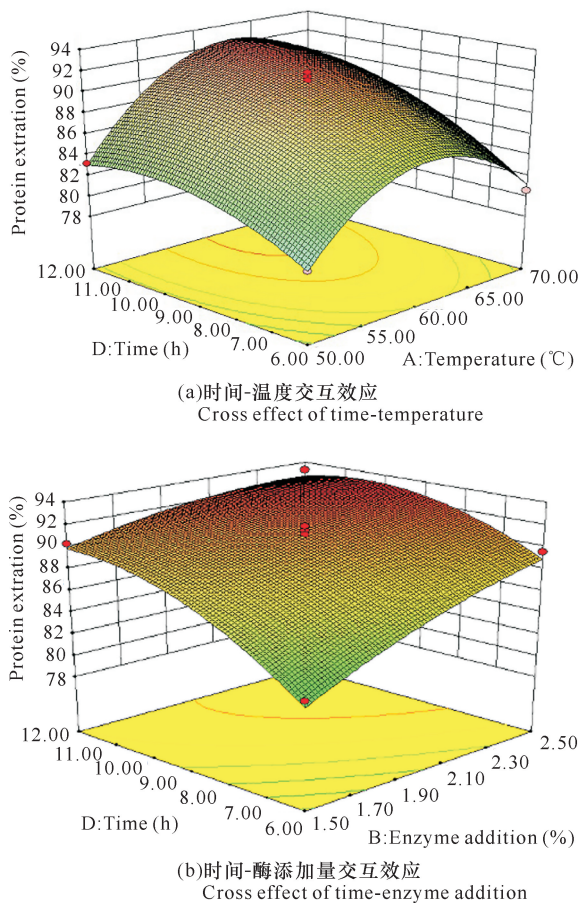


图6 各因素交互效应的响应面曲线(蛋白质提取率)

Fig. 6 Response surface map of cross effect of each factors (protein extraction rate)

3 结论

本实验通过响应面实验设计优化了大米蛋白的酶解工艺。通过响应面法分析发现,酶解的温度、酶添加量、酶解时间、pH值均对水解度和提取率有显著影响。最后通过软件得到优化的酶解工艺条件:温度 62°C ,酶添加量 2.5% ,pH值 8.2 ,时间 10.5 h ,此时大米蛋白的水解度可达到 41.5% ,蛋白质提取率可达 93.1% 。本研究成果可为水解大米蛋白的实际生产提供参考。

参考文献

[1] 李超楠,鹿保鑫,周义,等. 大米蛋白提取分离的研究进

展[J]. 农产品加工, 2017, 429(4):63-64.

- [2] 张慧娟,夏雪芬,王静,等. 大米蛋白及其酶解产物的功能性质[J]. 中国食品学报, 2015, 15(8):63-70.
- [3] 徐鑫,覃永华,刘虹,等. 大米蛋白综合利用研究进展[J]. 现代农业科技, 2019(6):204-205, 209.
- [4] 王一侠,陆路,徐姗姗,等. 大米过敏的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(4):1093-1098.
- [5] 崔沙沙,钟俊楨,方冲,等. 不同低水解度的大米蛋白溶解性与结构变化的关系[J]. 食品工业科技, 2016, 37(7):86-91.
- [6] 莫文敏,曾庆孝. 蛋白质改性研究进展[J]. 食品科学, 2000, 21(6):6-10.
- [7] 银波,李亦蔚,汪霞丽,等. 大米蛋白改性技术的研究进展[J]. 食品与机械, 2011, 27(3):147-151.
- [8] 鲁倩,林亲录,梁盈. 糖基化修饰对大米蛋白功能性质影响[J]. 粮食与油脂, 2013, 26(4):11-14.
- [9] 吕乐,刘冬,万红霞,等. 碱性蛋白酶 Alcalase 酶解大米蛋白制备小分子肽的动力学研究[J]. 现代食品科技, 2014, 30(7):149-154.
- [10] 汪洋,周晓瑞,张浩,等. 大米蛋白的提取及抗氧化肽的制备工艺[J]. 现代面粉工业, 2020, 34(1):29-32.
- [11] 陈倩倩,佟立涛,钟葵,等. 大米蛋白酶解物的 ACE 抑制活性研究[J]. 现代食品科技, 2015, 31(3):91-96.
- [12] 孙通,谭春明. 大米蛋白抗氧化肽的酶法制备工艺研究及其优化[J]. 粮油加工, 2016, 41(4):23-28.
- [13] 陈新,陈庆森,庞广昌. 不同变性方式对 Alcalase AF2. 4L 酶解玉米蛋白水解度的影响[J]. 食品与发酵工业, 2005, 31(2):42-44.
- [14] 温建丰,杨文鸽,徐大伦. 响应面法优化花蟹肉制备抗氧化肽的酶解工艺[J]. 核农学报, 2013, 27(12):1881-1886.
- [15] 王婧. 钙离子、pH 值以及成熟时间对干酪蛋白质降解的影响[D]. 泰安:山东农业大学, 2006.
- [16] GHAEDI A M, GHAEDI M, VAFAEI A, et al. Adsorption of copper (II) using modified activated carbon prepared from Pomegranate wood: Optimization by bee algorithm and response surface methodology [J]. Journal of Molecular Liquids, 2015, 206:195-206.

(下转第 194 页 Continued on page 194)

Effects of Supernatant and Secondary Condensate from Industrial Waste Water on Fuel Ethanol Fermentation

ZHOU Yong

(Cofco Biotechnology Co., Ltd., Bengbu, Anhui, 233010, China)

Abstract: In order to study the feasibility of reusing the waste water from fuel ethanol production, the organic acids in the supernatant and secondary condensate samples produced during the process of fuel ethanol fermentation were taken as the research object to analyze the compositions of organic acids in these samples as well as to investigate the effects of single organic acid, water samples before and after D318 ion exchange resin treatment on the growth and ethanol production of *S. cerevisiae* NJ-2019. Results showed that acetic acid, lactic acid, propionic acid and citric acid were the main organic acids in the supernatant, but the main organic acids in the secondary condensate were acetic acid and lactic acid. Lactic acid and propionic acid showed significant inhibition on the growth and fermentation of *S. cerevisiae* NJ-2019, with the minimum inhibitory concentrations of 7.0 and 1.0 g/L, respectively. When the supernatant and secondary condensate samples were reused directly, the supernatant presented stronger inhibition on ethanol fermentation process. However, removal or partial removal of organic acids in the supernatant and secondary condensate samples could increase ethanol production by 10.11% and 9.85%, respectively. Therefore, both the supernatant and the secondary condensate produced in the fuel ethanol fermentation had potential for reuse, which was conducive to energy conservation and emission reduction in the ethanol production process.

Key words: fuel ethanol, supernatant, secondary condensate, reuse, energy conservation and emission reduction, organic acids, fermentation

责任编辑: 陆雁

(上接第 181 页 Continued from page 181)

Optimization of Enzymatic Hydrolysis for Rice Protein via Response Surface Methodology

HUANG Yanyan¹, WANG Sheng², FENG Tao³, TANG Zhihui³, MO Junming^{3,4}

(1. National Engineering Research Centre for Non-food Biorefinery, State Key Laboratory of Non-food Biomass and Enzyme Technology, Guangxi Academy of Sciences, Nanning, Guangxi, 530007, China; 2. Nanning Pangbo Biological Engineering Co., Ltd., Nanning, Guangxi, 530004, China; 3. Guangxi Key Laboratory of Chemistry and Engineering of Forest Products, School of Chemistry and Chemical Engineering, Guangxi University for Nationalities, 530006, China; 4. Nanning Chemmatic Biotech Co., Ltd., Nanning, Guangxi, 530006, China)

Abstract: In order to improve the degree of rice protein hydrolysis and extraction rate, response surface method was used to optimize the hydrolysis process of rice proteins. In this study, first of all, the single factor experiment method was used to analyze the effect of enzyme addition amount, temperature, pH value and enzymatic hydrolysis time on rice protein hydrolysis. Furthermore, on the basis of single factor experiment, Box-Behnken method was used to design the experiment to investigate the influence of the above four factors on the degree of rice protein hydrolysis and protein extraction rate. The results showed that the optimum conditions of enzymatic hydrolysis were temperature 62°C, enzyme addition 2.5%, pH 8.2, and hydrolysis time 10.5 h. Under this condition, the degree of hydrolysis of rice protein could reach 41.5%, and the rate of protein extraction could reach 93.1%. The research results can provide references for the industrial application of soluble rice protein peptide prepared by enzymatic hydrolysis.

Key words: response surface method, rice protein, enzymatic hydrolysis, degree of hydrolysis, protein extraction rate

责任编辑: 米慧芝