

不同酶解条件对米糠蛋白提取率影响的研究

张 敏, 程志飞, 王 鹏

(东北农业大学食品学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要: 分别采用复合蛋白酶和纤维素酶对脱脂米糠进行蛋白质提取。结果表明, 复合蛋白酶的米糠蛋白提取率明显高于纤维素酶解的米糠蛋白提取物。在复合蛋白酶用量 2%、料水比 1:10、pH5.5 的条件下, 米糠蛋白的提取率可达 52.7%。

关键词: 米糠蛋白; 提取; 酶解

Study on Effects of Different Enzymatic Hydrolysis Conditions on Extraction Rate of Rice Bran Protein

ZHANG Min, CHENG Zhi-fei, WANG Peng

(Food College, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: Protein was extracted from defatted rice bran with protamex and cellulase respectively. The results showed that the extraction rate of rice bran protein by Protamex is obviously higher than that by cellulase; The optimum hydrolysis conditions with protamex are as follows: pH 5.5, Protamex amount 2%, ratio of liquid to material 10:1; Under the conditions extraction rate of rice bran protein is 52.7%.

Key words: rice bran protein; extraction; enzymatic hydrolysis

中图分类号: Q814.7

献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2008)09-0178-03

米糠是稻谷碾米加工过程中的主要副产物, 约占整个糙米的 8%~10%。我国是稻谷生产大国, 同时也是世界上米糠资源最为丰富的国家, 年产米糠超过 1000 万吨^[1]。研究表明, 米糠是最具开发潜力的一种高附加值的资源, 其必需氨基酸组成平衡合理, 且米糠蛋白是低过敏性蛋白, 可作为理想的食用蛋白源加以开发利用^[2]。由于米糠的有效利用率很低, 联合国工业发展组织把米糠称为一种未充分利用的原料^[3]。

在天然状态下, 米糠蛋白与米糠中的植酸和半纤维素等结合在一起。早在 1966 年 Cagampanget 就采用碱法从米糠中提取蛋白质^[4]。碱法提取虽然简单易行, 但产品风味和色泽不理想, 同时还会引起营养物质的损失。其后采用酶法提取蛋白的研究相当活跃。1995 年, Hamada 采用碱性蛋白酶分离米糠蛋白, 蛋白质提取率随着其水解度的增加而增加, 在水解度为 10% 时, 米糠蛋白提取率可达 92%^[5-6]。1997 年, Ansharullah 采用糖酶破坏植物细胞壁来改善植物蛋白的提取率^[7]。此后的研究表明, 纤维素酶、木质素酶、木聚糖酶和植酸酶的应用可显著提高米糠蛋白提取效果, 蛋白质得率达 75%, 蛋白含量可达 92%^[8-9]。何东平^[10]将脱脂米糠粕经碱溶酸沉后, 用中性蛋白酶进行水解, 得到相应蛋白

质转化率高的水解蛋白。金世合^[11]通过对各种蛋白酶的筛选, 认为复合蛋白酶能够迅速对蛋白质进行水解, 在较低水解度的情况下, 对蛋白质水解产物不会产生明显的苦味, 较适合米糠蛋白质的水解。如果在提取过程中应用两种或多种蛋白酶, 则所得蛋白水解物的物化性能更佳、更经济^[12]。由于酶法提取反应条件较为温和, 对蛋白质影响很小, 而且降解后的多肽具有一定的生理活性作用, 在增大米糠蛋白溶解度同时, 能改善蛋白质发泡、乳化等物化性能, 它已成为研究米糠蛋白高效提取的主要方法^[13]。

本研究分别采用蛋白酶与纤维素酶对米糠蛋白进行提取, 重点考察两种不同酶制剂在对米糠蛋白提取过程中的工艺参数和蛋白提取率差别, 为今后米糠蛋白的生产提供理论帮助。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜米糠 黑龙江省哈尔滨市香坊粮库提供, 经测定米糠总氮含量 14.2%、脂肪含量 15.1%、水分 18.7%; 纤维素酶(酶活 5 万 U/g)、复合蛋白酶(酶活 1 万 U/g) 丹麦诺维信有限公司。

收稿日期: 2008-06-14

资助项目: 黑龙江省青年基金项目(QC06C016)

作者简介: 张敏(1972-), 女, 副教授, 研究方向为农产品加工与贮藏。E-mail: xzm7777@sina.com

1.2 方法

1.2.1 米糠蛋白的提取工艺

新鲜米糠→石油醚脱脂→脱脂米糠→加水至合适料水比→适宜pH值和温度下加酶→提取2h→灭酶(100℃, 10min)→离心(2000r/min, 20min)→取上清液(米糠蛋白液)

分别采用纤维素酶和复合蛋白酶对米糠进行蛋白质的提取实验,以蛋白提取率作为指标,获得最佳的提取工艺参数。

1.2.2 米糠蛋白提取率的测定

蛋白质含量采用凯氏定氮法测定。

$$\text{提取率}(\%) = \frac{\text{米糠蛋白提取液中蛋白质含量}}{\text{脱脂米糠样品中蛋白质含量}} \times 100$$

2 结果与分析

2.1 纤维素酶对蛋白质提取率的影响

米糠中存在的大量纤维对蛋白质束缚作用很大,增大蛋白质提取难度。通过对影响蛋白提取率的单因素实验分析,选择纤维素酶的作用条件:酶的添加量、pH值、料水比等因素进行 $L_9(3^4)$ 正交试验,试验的方案及结果分析见表1。

表1 纤维素酶提取米糠蛋白的正交试验方案及结果分析
Table 1 Results and analysis of orthogonality test on extraction of rice bran protein by cellulase

试验号	A 酶的添加量	B pH	C 料水比	蛋白提取率(%)
1	1(2%)	1(5.0)	1(1:8)	36.7
2	1	2(5.5)	2(1:10)	34.2
3	1	3(6.0)	3(1:12)	33.4
4	2(3%)	2	3	35.6
5	2	3	1	39.8
6	2	1	2	39.1
7	3(4%)	3	2	34.4
8	3	1	3	35.1
9	3	2	1	36.4
k ₁	34.77	36.97	36.97	
k ₂	38.17	35.4	35.9	
k ₃	35.3	35.87	34.7	
R	3.4	1.57	2.27	

由表1可知,纤维素酶对米糠蛋白提取率的影响因素的显著顺序为:酶用量>料水比>pH值。

本研究获得的蛋白提取率普遍低于40%。有研究表明,用碳水化合物水解酶如纤维素酶、果胶酶、半纤维素酶处理米糠可生产大米分离蛋白和浓缩蛋白,其原因在于这些酶可解除米糠纤维素对蛋白质束缚。当用纤维素酶处理米糠时,其蛋白质含量从12.6%增加到18.9%。若

将米糠微粉碎和均质处理后再进行酶技术应用,可更有利于蛋白质提取,与未经微粉碎和均质相比,蛋白质溶出量可提高75%^[14]。

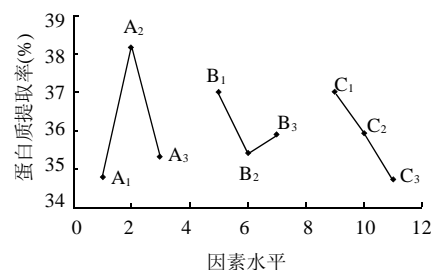


图1 纤维素酶提取米糠蛋白的各因素水平趋势图

Fig.1 Trend charts of levels of factors of orthogonal test on extraction of rice bran protein by cellulase

由图1可知,纤维素酶对米糠蛋白提取的最优工艺方案组合是 $A_2B_1C_1$ 。进一步验证试验确定,纤维素酶解米糠蛋白提取合理工艺条件为:酶用量3%,料水比1:8、pH5.0,此条件下的米糠蛋白提取率可达40.3%。

2.2 复合蛋白酶对蛋白质提取率的影响

蛋白酶用于米糠蛋白提取,其作用在于水解米糠蛋白,使其变成相对小分子,更容易从米糠中释放出来。通过对影响蛋白提取率的单因素试验分析,选择符合蛋白酶的作用条件:酶的添加量、pH值、料水比等因素进行 $L_9(3^4)$ 正交试验,试验的方案及结果分析见表2。

表2 蛋白酶提取米糠蛋白的试验方案及结果分析
Table 2 Results and analysis of orthogonality test on extraction of rice bran protein by protamex

试验号	A酶的添加量(%)	B pH	C料水比	蛋白提取率(%)
1	1(2)	1(5.0)	1(1:8)	49.5
2	1	2(5.5)	2(1:10)	52.7
3	1	3(6.0)	3(1:12)	50.2
4	2(3)	2	3	48.3
5	2	3	1	47.4
6	2	1	2	49.1
7	3(4)	3	2	48.6
8	3	1	3	47.7
9	3	2	1	48.1
k ₁	50.8	48.77	48.33	
k ₂	48.27	49.7	50.13	
k ₃	48.13	48.73	48.73	
R	2.67	0.97	1.8	

有研究表明,当蛋白水解度(DH)为10%时,蛋白提取率可达92%,应用 Na_2SO_3 、SDS等破坏蛋白质二硫键后,即使水解度只有2%,米糠蛋白提取率也能达到84%^[15]。本实验的蛋白提取率较低,分析原因在于原料的来源、酶制剂品种的选择和提取率计算方法之间的差别。在提取过

程中若应用两种或多种蛋白酶,因具有不同水解位点,水解效率更高,所得蛋白水解物物化性能也优于一种酶效果。

由表2可知,复合蛋白酶对米糠蛋白提取率影响因素的显著顺序为:酶用量>料水比>pH值。

酶用量对米糠蛋白的提取率发挥着重要作用,在底物量不变的情况下,一定酶量范围内,酶量与蛋白提取率之间存在正性关系,但酶量达到饱和状态即当全部底物与蛋白酶结合的时候,提取率就不再提高。因此,寻求最适酶量显得非常重要。

料液比和酶与底物的传质作用紧密相关,在一定的料液比范围内,料液比越小传质过程将会越快,但料液比过小,反应液的黏度增大,反而影响酶与底物的相互作用。料液比增大,虽然可以降低黏度而有助于传质作用,但过大,不仅影响酶与底物的传质作用,而且增加了工业生产中浓缩过程的能量消耗。

pH值同样对米糠蛋白提取率存在很大影响。一般在碱性环境有利于米糠蛋白质的提取,但如果提取反应pH值超过蛋白酶的耐受范围,将抑制蛋白酶的活性,势必会影响蛋白质的提取效果及蛋白质的品质。

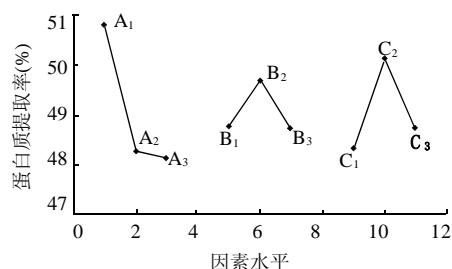


图2 复合蛋白酶提取米糠蛋白的各因素水平趋势图

Fig.2 Trend charts of levels of factors of orthogonal test on extraction of rice bran protein by protamex

由图2可知,复合蛋白酶对米糠蛋白提取的最优方案组合是A₁B₂C₂。确定米糠蛋白提取合理工艺条件为:酶用量2%、料水比1:10、pH5.5,此条件下米糠蛋白的提取率可达52.7%。

3 结论

采用纤维素酶和复合蛋白酶对脱脂米糠进行蛋白质提取的正交试验中,影响米糠蛋白提取率因素的重要性为:酶用量>料水比>pH值。纤维素酶的作用下,在酶用量3%、料水比1:8、pH5.0的较优条件下,可获得米糠蛋白的提取率为40.3%。复合蛋白酶则在料水比1:10,酶用量2%,pH5.5的条件下,获得较高的米糠蛋白提取率为52.7%。比较两种酶的米糠蛋白质提取效果发现,复合蛋白酶的作用优于纤维素酶。

参考文献:

- [1] 姚惠源,周素梅,王丽.米糠与米糠蛋白质的开发利用[J].无锡轻工业大学学报,2002,21(3):312-316.
- [2] 陈义勇,王伟,沈宗根,等.米糠与米糠蛋白深度开发现状[J].粮食加工,2006,3(5):24-25.
- [3] 王立,周素梅,陈正行.提取米糠蛋白的探讨[J].西部粮油科技2002,(3):15-17.
- [4] 李喜红,代红丽,魏安池.酶法从脱脂米糠中提取蛋白质[J].粮油加工与食品机械,2005(6):62-64.
- [5] HAMMOND N. Functional and nutritional characteristics of rice bran extracts[J]. Cereal Foods World, 1994, 39(10):752-754.
- [6] HAMADA J S. Characterization of protein fractions of rice bran to devise effective methods of protein solubilization [J]. Cereal Chemistry, 1997, 74: 662-668.
- [7] ANSHARULLAH JAH, CHESTERMAN C F. Application of carbohydrases in extracting protein from rice bran [J]. Journal of Science Food Agriculture, 1997, 74: 141-146.
- [8] WANG M, HETTIARACHY N S Q, BURK M, et al. Preparation and functional properties of rice bran protein isolate [J]. J Agric. Food Chem 1999, 7 (2):411-416.
- [9] HANNMOURGJAI P. Enzymatic process for extracting oil and protein from rice bran[J]. J Amer Oil Chem Soci, 2001,78(8): 817-821.
- [10] 何东平,张世宏,姚理,等.脱脂米糠饼制备米糠多肽的研究[J].粮食与饲料工业,2004(12):25-27.
- [11] 金世合,陈正行,周素梅.酶解米糠蛋白的功能性质研究[J].食品工业科技,2004(3):56-58.
- [12] HAMADA J S. Characterization and functional properties of rice bran Protein[J]. J Food Science, 2000, 65(2): 305-310.
- [13] 康艳玲,章存.米糠蛋白研究现状[J].粮食与油脂,2006(3):22-24.
- [14] ANDERSON A K. Extractability of protein in physically processed rice bran [J]. J Amer Oil Chem Soci, 2001,78 (9): 969-972.
- [15] HAMADA J S. Use of protease to enhance solubilization of rice bran protein[J]. J Food Biochem, 1999, 23(3): 307-321.