

# 粳碎米蛋白质碱法提取工艺的优化

## Optimizing the alkaline extraction technology of broken long-grain rice protein

李玉珍 肖怀秋

LI Yu-Zhen XIAO Huai-Qiu

(湖南化工职业技术学院制药与生物工程学院, 湖南 株洲 412000)

(Pharmaceutical and Bioengineering School, Hunan Vocational Technical College  
of Chemical and Industrial Technology, Zhuzhou, Hunan 412000, China)

**摘要:**为提高粳碎米蛋白质碱法提取效率,在 Min-Run Res IV 析因设计和爬陡坡试验的基础上,利用二次旋转中心组合响应面优化方法研究碱液浓度、粳碎米粒度、固液比对大米蛋白质提取的影响规律,并优化其提取工艺条件。结果表明,粳碎米蛋白质最优碱法提取工艺为碱液浓度 0.09 mol/L,粳碎米粒度 80 目,固液比 1:13.5(g/mL),碱提温度 50 ℃,碱提时间 120 min。该条件下蛋白质提取率为 $(82.25 \pm 2.53)\%$ ,大米蛋白质产物纯度为 $(91.68 \pm 1.26)\%$ 。

**关键词:**粳碎米;蛋白质;碱法提取

**Abstract:** To improve the efficiency of protein extraction from broken long-grain rice, a quadratic rotatable central composite response surface methodology (qrCCD-RSM) was utilized to investigate the affecting mechanism of alkali concentrations, broken long-grain rice particle sizes and solid-liquid ratios (SLR), based on the results of Min-Run Res IV factorial design and steep ascent experiments (SAE). The optimal extraction condition was obtained, i.e. 80 mesh of broken long-grain rice was used to extrat proteins, soluting in 0.09 mol/L of NaOH buffer, with the SLR 1 g:13.5 mL at 50 ℃ for 120 min. Under this optimized condition, the protein extraction rate and its purity was found to be  $(82.25 \pm 2.53)\%$  and  $(91.68 \pm 1.26)\%$ , respectively.

**Keywords:** broken long-grain rice; protein; alkaline extraction

由于现有碾米技术的限制,在大米加工中约产生 10%~15% 的碎米<sup>[1]</sup>,特别是粳米,由于其细胞结构的特殊性,加工过程中碎米率更高<sup>[2]</sup>。近几年,随着人们对大米优质蛋白质资源研究的深入和对大米蛋白低过敏性的认同,大米蛋白质

逐渐成为研究的新热点<sup>[3]</sup>。大米蛋白氨基酸配比合理,生物效价高,特别是赖氨酸含量是谷物中最高的,而且是唯一可免于过敏试验的谷物蛋白<sup>[4-5]</sup>,可作为婴幼儿食品的蛋白质营养基料<sup>[6]</sup>,具有良好的应用价值和市场前景。大米蛋白质主要为碱溶性的米谷蛋白,其在胚乳中与淀粉结合紧密,较难溶出。由于碱液能降低大米蛋白质与淀粉的结合作用力,使极性基团发生解离,并使大米蛋白质分子表面带负电荷,从而起到增溶作用,同时,也促使淀粉与蛋白质的有效分离,因此碱法提取适合于粳米及碎米中蛋白质的提取<sup>[7]</sup>。孙庆杰等<sup>[8]</sup>以 0.09 mol/L NaOH 为碱提溶剂进行了大米中碱溶性米谷蛋白的碱法提取,优化条件下蛋白质提取率和纯度分别为 80.16% 和 90.10%;万娟等<sup>[9]</sup>以粳碎米为原料,采用传统碱法提取大米蛋白并优化了大米碱溶性米谷蛋白提取工艺,优化条件下蛋白提取率和纯度分别为 77.3% 和 80.5%;王威等<sup>[10]</sup>以质量分数为 0.35% 的 NaOH 进行碱法提取大米蛋白,并对提取参数进行了优化分析,优化条件下蛋白质提取率为 80.4%。目前来看,有部分学者进行了碱法提取米谷蛋白的试验研究,但局限于以单因素试验与正交试验进行提取工艺参数的优化,由于单因素与正交试验优化方法本身的不足,因素间交互作用考虑较少,而析因设计和响应面优化设计可以较好考虑各因素及因素间交互作用对响应值的影响。响应面优化是一种寻找多因素系统中最优条件的试验设计方法,主要用于受多个变量影响的复杂灰色体系的优化分析,可用于多变量非线性复杂体系的优化和考察交互作用影响,通过构建全局函数关系可实现快速建模和缩短优化时间并能提高应用可信度;二次旋转中心组合设计是响应面优化方法的一种,具有试验次数少、计算简便、回归系数间无相关性的优点,并可利用旋转性克服预测值方差对试验点在因子空间位置的依赖性<sup>[11]</sup>,广泛应用于试验条件的优化<sup>[12]</sup>。虽然碱提工艺会对大米蛋白氨基酸及提取设备造成一定的影响,但该法提取效率高、成本低且适宜于工业化生产<sup>[13]</sup>。因此,本试验以粳碎米为研究对象,以低浓度碱液作为提取溶剂,在析因设计和爬陡坡试验基础上采用响应面试验优化

**基金项目:**湖南省高校科研项目(编号:12C1049);国家自然科学基金(编号:31050012);湖南化工职业技术学院院级课题(编号:HNHY2015002)

**作者简介:**李玉珍,女,湖南化工职业技术学院讲师,硕士。

**通讯作者:**肖怀秋(1981—),男,湖南化工职业技术学院副教授,硕士。E-mail: xiaohuaiqiu@163.com

**收稿日期:**2015—12—06

粳碎米蛋白质的碱法提取工艺,旨在为粳碎米蛋白质资源的综合利用提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

#### 1.1.1 材料与试剂

粳碎米:市售;其它试剂均为分析纯。

#### 1.1.2 主要仪器设备

冷冻干燥仪:LABCONCO 型,美国 labconco 公司;

冷冻离心机:HERMLE Z323K 型,德国 Hermle 公司;

电热恒温水浴箱:DK-98-11A 型,天津市泰斯特仪器有限公司;

紫外可见分光光度计:752 型,上海舜宇恒平仪器有限公司。

### 1.2 方法

1.2.1 粳碎米常规组分的分析 蛋白质测定采取凯氏定氮法、脂肪测定采取索氏抽提法、水分测定采取直接干燥法、灰分测定采取灼烧法进行含量测定<sup>[14]</sup>。

#### 1.2.2 粳碎米蛋白质碱法提取工艺

粳碎米→烘干(50℃恒温鼓风干燥24h)→粉碎→碱提→过滤→离心(4 000 r/min,20 min)→上清液→调 pH(用 0.1 mol/L HCl 调节 pH 至 5.2)→离心(4 000 r/min,20 min)→沉淀→水洗→调节沉淀 pH 至中性(用 0.1 mol/L NaOH 调节 pH 至 7.0 左右)→离心(4 000 r/min,20 min)→冷冻干燥(−83℃预冷,−53℃下冷冻干燥 48 h)→大米蛋白质

#### 1.2.3 粳碎米蛋白质碱法提取工艺的优化

(1) Min-Run Res IV 析因设计:在预试验基础上拟考察碱液浓度、碱提温度、碱提时间、粳碎米粒度和固液比对粳碎米蛋白质提取的影响,因素编码水平与实际水平见表 1。

表 1 析因设计编码与实际水平

| Table 1 Coded levels and real levels of factorial design |                                            |                       |                         |                        |                          |
|----------------------------------------------------------|--------------------------------------------|-----------------------|-------------------------|------------------------|--------------------------|
| 编码水平                                                     | X <sub>1</sub> 碱液浓度/(mol·L <sup>−1</sup> ) | X <sub>2</sub> 碱提温度/℃ | X <sub>3</sub> 碱提时间/min | X <sub>4</sub> 粳碎米粒度/目 | X <sub>5</sub> 固液比(g/mL) |
| −1                                                       | 0.02                                       | 30                    | 30                      | 40                     | 1:6                      |
| 0                                                        | 0.04                                       | 50                    | 75                      | 50                     | 1:8                      |
| 1                                                        | 0.06                                       | 70                    | 120                     | 60                     | 1:10                     |

(2) 爬陡坡试验:由于响应面优化需在响应值最优邻域才能充分近似真实条件<sup>[15]</sup>,因此,各因素同时逼近其最优邻域时可表征各因素的真实影响。同时,基于析因设计方差分析与因素显著性分析设置因素变化方向及步长。

(3) 响应面优化:采用二次旋转中心组合响应面优化设计分析碱液浓度、粳碎米粒度和固液比对粳碎米蛋白质提取的影响。利用 Design Expert 8.0.6 进行三因素五水平旋转中心组合设计,共 17 次试验(中心点重复试验点为 3 个)。

1.2.4 蛋白质提取率与蛋白质纯度的测定 固体蛋白质含量采用凯氏定氮法测定(转换系数为 5.95<sup>[13]</sup>),溶液蛋白质含量采用考马氏亮兰法<sup>[16]</sup>测定。蛋白质提取率与蛋白质纯

度分别按式(1)和(2)计算:

$$\text{蛋白质提取率} = \frac{\text{上清液中蛋白质质量}}{\text{粳碎米中总蛋白质质量}} \times 100\%, \quad (1)$$

$$\text{蛋白质纯度} = \frac{\text{样品中蛋白质质量}}{\text{样品总质量}} \times 100\%。 \quad (2)$$

## 2 结果与分析

### 2.1 粳碎米常规组分分析结果

对粳碎米的主要组分含量进行了测定,结果见表 2。

表 2 粳碎米主要常规成分含量

| Table 2 Key components for broken long-grain rice (n=3) |           |           |           | % |
|---------------------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|---|
| 水分                                                      | 蛋白质       | 脂肪        | 灰分        |   |
| 10.6±1.02                                               | 8.17±0.81 | 1.34±0.07 | 0.87±0.04 |   |

### 2.2 Min-Run Res IV 析因设计

碱液浓度、碱提温度、碱提时间、粳碎米粒度和固液比对粳碎米蛋白质提取率的影响见表 3。

利用 Design expert 8.0.6 对表 3 进行线性回归拟合得到回归方程为:

$$y = 27.02 + 2.65X_1 + 0.90X_2 + 1.40X_3 + 7.35X_4 + 15.67X_5。 \quad (3)$$

对表 3 数据进行方差分析与因素显著性分析,结果见表 4。

由表 4 可知,模型显著性分析为显著(P<0.05),模型信噪比(signal to noise ratio,SNR)为 6.795(>4),说明模型精度符合要求。当模型存在因素间交互作用时,不能用回归系数绝对值进行主效因素的筛选,宜用因子百分贡献率进行比较<sup>[17]</sup>,其中X<sub>1</sub>、X<sub>4</sub>和X<sub>5</sub>百分贡献率分别为1.54%,11.88%,

表 3 析因设计因素水平与结果

| Table 3 Levels and results of factorial design |                |                |                |                |                |         |
|------------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------|
| 序号                                             | X <sub>1</sub> | X <sub>2</sub> | X <sub>3</sub> | X <sub>4</sub> | X <sub>5</sub> | 蛋白提取率/% |
| 1                                              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 33.19   |
| 2                                              | 1              | 1              | −1             | 1              | 1              | 47.74   |
| 3                                              | 1              | −1             | −1             | −1             | −1             | 14.48   |
| 4                                              | −1             | −1             | −1             | 1              | 1              | 54.65   |
| 5                                              | 1              | 1              | 1              | −1             | −1             | 15.08   |
| 6                                              | −1             | −1             | 1              | 1              | −1             | 16.50   |
| 7                                              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 34.23   |
| 8                                              | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 21.04   |
| 9                                              | 1              | 1              | −1             | −1             | 1              | 47.74   |
| 10                                             | 1              | −1             | 1              | −1             | 1              | 28.81   |
| 11                                             | −1             | 1              | 1              | 1              | 1              | 63.27   |
| 12                                             | 1              | −1             | 1              | 1              | −1             | 12.91   |
| 13                                             | −1             | −1             | 1              | −1             | −1             | 4.26    |
| 14                                             | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 33.50   |
| 15                                             | 0              | 0              | 0              | 0              | 0              | 35.99   |
| 16                                             | −1             | 1              | −1             | 1              | −1             | 9.30    |
| 17                                             | −1             | 1              | −1             | −1             | 1              | 16.42   |

表 4 析因设计方差分析与因素显著性分析<sup>†</sup>

Table 4 ANOVA and factors significant analysis of factorial design

| 误差来源           | 平方和      | 自由度 | 均方       | F 值   | P 值                   | 因子百分贡献率/% |
|----------------|----------|-----|----------|-------|-----------------------|-----------|
| 模型             | 3 485.52 | 5   | 697.10   | 4.11  | 0.027 4 *             |           |
| X <sub>1</sub> | 74.71    | 1   | 74.71    | 0.44  | 0.522 0 <sup>ns</sup> | 1.54      |
| X <sub>2</sub> | 8.16     | 1   | 8.16     | 0.048 | 0.830 9 <sup>ns</sup> | 0.17      |
| X <sub>3</sub> | 19.65    | 1   | 19.65    | 0.12  | 0.740 7 <sup>ns</sup> | 0.41      |
| X <sub>4</sub> | 575.92   | 1   | 575.92   | 3.39  | 0.095 3 <sup>ns</sup> | 11.88     |
| X <sub>5</sub> | 2 457.03 | 1   | 2 457.03 | 14.48 | 0.003 5 * *           | 50.70     |
| 曲度             | 13.39    | 1   | 13.39    | 0.079 | 0.784 6 <sup>ns</sup> |           |
| 残差             | 1 697.28 | 10  | 169.73   |       |                       |           |
| 失拟项            | 1 004.28 | 6   | 167.38   | 0.97  | 0.539 1 <sup>ns</sup> |           |
| 纯误差            | 693.00   | 4   | 173.25   |       |                       |           |
| 总误差            | 5 196.18 | 16  |          |       |                       |           |

<sup>†</sup> \* \* 表示影响极显著(P<0.01); \* 表示影响显著(P<0.05); ns 表示影响不显著(P>0.05)。

50.70%，三因素累积贡献率之和为 64.12%，为主效因子且均为正效应，应进一步增加这些因素的取值水平。

2.3 爬陡坡试验

基于析因设计结果设定因素爬坡方向及步长，见表 5。  
由表 5 可知，邻优区域在 2 号，提取率最高。因此，以该条件为中心组合设计中心点。

2.4 响应面优化结果与分析

对碱液浓度、粳碎米粒度和固液比进行中心组合响应面优化设计，因素编码与实际水平见表 6。

响应面优化试验方案与结果见表 7。为减少试验误差，

表 5 爬陡坡试验设计与结果<sup>†</sup>

Table 5 Design and results of steep accent experiment

| 试验号 | 步长                   | X <sub>1</sub> 碱液浓度/<br>(mol · L <sup>-1</sup> ) | X <sub>2</sub> 粳碎米<br>粒度/目 | X <sub>3</sub> 固液比<br>(g/mL) | 蛋白提<br>取率/% |
|-----|----------------------|--------------------------------------------------|----------------------------|------------------------------|-------------|
| 1   | X                    | 0.06                                             | 60                         | 1 : 10                       | 35.79       |
| 2   | X + ΔX <sub>i</sub>  | 0.08                                             | 80                         | 1 : 12                       | 73.05       |
| 3   | X + 2ΔX <sub>i</sub> | 0.10                                             | 100                        | 1 : 14                       | 43.56       |
| 4   | X + 3ΔX <sub>i</sub> | 0.12                                             | 120                        | 1 : 16                       | 60.25       |
| 5   | X + 4ΔX <sub>i</sub> | 0.14                                             | 140                        | 1 : 18                       | 58.79       |

<sup>†</sup> ΔX<sub>1</sub> = +0.02 mol/L; ΔX<sub>2</sub> = 20 目; ΔX<sub>3</sub> = 1 : 2(g/mL)。

试验随机安排。

2.4.1 模型序贯分析与数学模型的构建 模型序贯分析(model sequential analysis, MSA)是响应面模型构建的重要依据，各阶模型序贯分析结果见表 8。

由表 8 可知，一阶线性模型显著性分析为不显著(P>0.05)，失拟项极显著(P<0.01)。失拟项显著表示此阶数值模型数据拟合效果较差，需用更高阶模型对数据进行拟合<sup>[18]</sup>；二因素交互关系模型失拟项极显著(P<0.01)，也不宜对数据进行拟合；二阶模型显著性分析为极显著(P<0.01)，R<sup>2</sup> = 0.960 7, Adj. R<sup>2</sup> = 0.910 3，失拟项不显著(P>0.05)，

表 6 响应面优化因素编码与实际水平

Table 6 Coded levels and real levels of RSM

| 水平     | X <sub>1</sub> 碱液浓度/<br>(mol · L <sup>-1</sup> ) | X <sub>2</sub> 粳碎米<br>粒度/目 | X <sub>3</sub> 固液比<br>(g/mL) |
|--------|--------------------------------------------------|----------------------------|------------------------------|
| 1.682  | 0.11                                             | 120                        | 1 : 15                       |
| 1      | 0.10                                             | 100                        | 1 : 14                       |
| 0      | 0.08                                             | 80                         | 1 : 12                       |
| -1     | 0.06                                             | 60                         | 1 : 10                       |
| -1.682 | 0.05                                             | 20                         | 1 : 9                        |

表 7 响应面优化设计与试验结果

Table 7 Experimental matrix and results of qrCCD-RSM

| 序号 | X <sub>1</sub> | X <sub>2</sub> | X <sub>3</sub> | 蛋白提取率/% |
|----|----------------|----------------|----------------|---------|
| 1  | 0              | 0              | 0              | 80.04   |
| 2  | 0              | 0              | 1.682          | 85.10   |
| 3  | -1.682         | 0              | 0              | 35.54   |
| 4  | 0              | 0              | 0              | 82.05   |
| 5  | 0              | 0              | 0              | 83.15   |
| 6  | -1             | 1              | -1             | 58.58   |
| 7  | 1              | -1             | 1              | 74.22   |
| 8  | 0              | 1.682          | 0              | 68.78   |
| 9  | -1             | -1             | 1              | 45.10   |
| 10 | -1             | -1             | -1             | 28.08   |
| 11 | -1             | 1              | 1              | 50.44   |
| 12 | 1.682          | 0              | 0              | 55.20   |
| 13 | 1              | 1              | 1              | 57.91   |
| 14 | 1              | -1             | -1             | 45.00   |
| 15 | 1              | 1              | -1             | 70.59   |
| 16 | 0              | -1.682         | 0              | 50.15   |
| 17 | 0              | 0              | -1.682         | 57.00   |

表 8 响应面模型构建序贯分析<sup>†</sup>

Table 8 Sequential analysis for the building of RSM model

| 项目        | df | 平方和      | 均方和    | F 值    | P 值                   | R <sup>2</sup> | Adj. R <sup>2</sup> | 失拟项 P 值               |
|-----------|----|----------|--------|--------|-----------------------|----------------|---------------------|-----------------------|
| 一阶线性模型    | 11 | 3 202.01 | 291.09 | 117.04 | 0.154 8 <sup>ns</sup> | 0.322 5        | 0.166 1             | 0.008 5 * *           |
| 二因素交互关系模型 | 8  | 2 544.37 | 318.05 | 127.88 | 0.493 1 <sup>ns</sup> | 0.461 4        | 0.138 3             | 0.007 8 * *           |
| 二阶模型      | 5  | 180.82   | 36.16  | 14.54  | 0.000 2 * *           | 0.960 7        | 0.910 3             | 0.065 6 <sup>ns</sup> |
| 三阶模型      | 1  | 38.73    | 38.73  | 15.57  | 0.245 0 <sup>ns</sup> | 0.990 8        | 0.950 8             | 0.058 6 <sup>ns</sup> |
| 纯误差       | 2  | 4.97     | 2.49   |        |                       |                |                     |                       |

<sup>†</sup> \* \* 表示影响极显著(P<0.01); \* 表示影响显著(P<0.05); ns 表示影响不显著(P>0.05)。

因此,用二阶模型对数据进行拟合其精度是符合要求的。三阶模型的模型显著性分析和失拟项显著性分析均不显著( $P>0.05$ ),不宜对数据进行拟合,而且所拟合回归方程相对复杂,应用不便,因此,本试验宜用二阶模型对数据进行回归拟合。拟合回归方程为:

$$Y=81.97+7.22X_1+5.60X_2+5.32X_3-3.32X_1X_2+0.96X_1X_3-8.38X_2X_3-13.64X_1^2-8.65X_2^2-4.56X_3^2。$$
 (4)

2.4.2 模型方差分析与回归分析 从模型方差分析和回归分析结果(表 9)可看出,回归模型极显著( $P<0.01$ ), $R^2=0.960\ 7$ ,Adj.  $R^2=0.910\ 3$ ,说明该模型能解释总变异的 91.03%。模型失拟项不显著( $P>0.5$ )表明用该模型对数据进行预测不会造成数值失真。变异系数(CV)是衡量模型精密度和可靠性的重要评价指标,数值越小,模型越可靠<sup>[18]</sup>,模型 CV 为 8.53%。模型 SNR 为 14.107( $>4$ ),说明该模型可很好的应用于数据分析和结果预测。

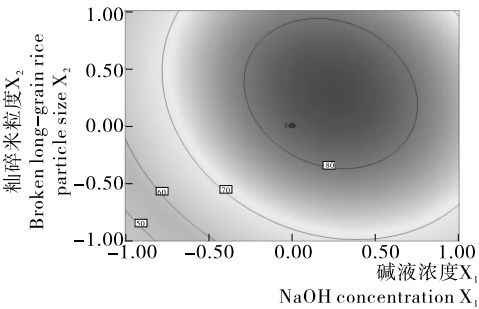
由表 9 可知,模型全一次项和二次项  $X_1^2$  和  $X_2^2$  均极显著( $P<0.01$ ),二次项  $X_3^2$  显著( $P<0.05$ );交互作用项  $X_1X_2$  和  $X_1X_3$  不显著( $P>0.05$ ), $X_2X_3$  极显著( $P<0.01$ )。

2.4.3 模型降维分析(交互作用分析) 当其它因素为零水平时,可观察某两个因素对响应值的影响并得到交互作用项的响应面图和等高线图(图 1)。响应曲面坡度比较平缓时表

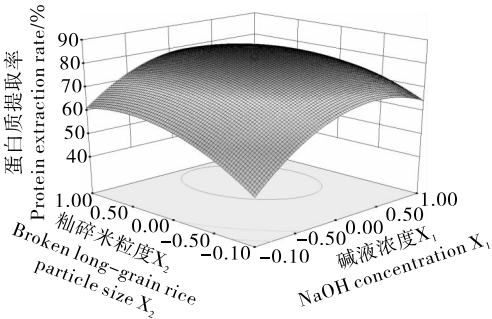
表 9 回归模型方差分析与回归分析<sup>†</sup>  
Table 9 ANOVA and regression analysis of regression equation

| 方差来源                          | 平方和      | 自由度 | 均方和      | F 值   | P 值          |
|-------------------------------|----------|-----|----------|-------|--------------|
| 回归模型                          | 4 547.59 | 9   | 505.29   | 19.04 | 0.000 4 **   |
| X <sub>1</sub>                | 711.64   | 1   | 711.64   | 26.81 | 0.001 3 **   |
| X <sub>2</sub>                | 427.98   | 1   | 427.98   | 16.12 | 0.005 1 **   |
| X <sub>3</sub>                | 386.78   | 1   | 386.78   | 14.57 | 0.006 6 **   |
| X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> | 88.18    | 1   | 88.18    | 3.32  | 0.111 1 ns   |
| X <sub>1</sub> X <sub>3</sub> | 7.33     | 1   | 7.33     | 0.28  | 0.615 4 ns   |
| X <sub>2</sub> X <sub>3</sub> | 562.13   | 1   | 562.13   | 21.18 | 0.002 5 **   |
| X <sub>1</sub> <sup>2</sup>   | 2 095.88 | 1   | 2 095.88 | 78.96 | < 0.000 1 ** |
| X <sub>2</sub> <sup>2</sup>   | 843.83   | 1   | 843.83   | 31.79 | 0.000 8 **   |
| X <sub>3</sub> <sup>2</sup>   | 233.98   | 1   | 233.98   | 8.82  | 0.020 8 *    |
| 残差项                           | 185.79   | 7   | 26.54    |       |              |
| 失拟项                           | 180.82   | 5   | 36.16    | 14.56 | 0.065 6 ns   |
| 纯误差项                          | 4.97     | 2   | 2.49     |       |              |
| 总误差项                          | 4 733.39 | 16  |          |       |              |

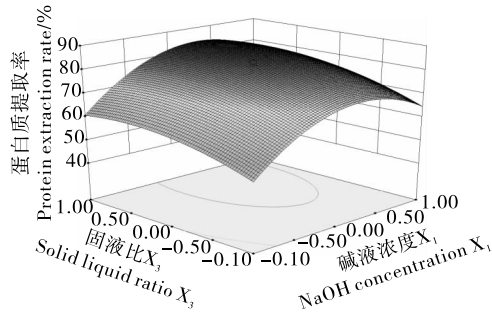
<sup>†</sup> \*\* 表示影响极显著( $P<0.01$ ); \* 表示影响显著( $P<0.05$ ); ns 表示影响不显著( $P>0.05$ );模型确定系数  $R^2=0.960\ 7$ ,模型调整确定系数 Adj.  $R^2=0.910\ 3$ 。



(a)  $X_1X_2$



(b)  $X_1X_3$



(c)  $X_2X_3$

图 1 因素交互作用响应曲面图和等高线图

Figure 1 Response surface and contour plot for factors interaction

明交互作用对响应值影响不大,若非常陡,则表明交互作用对响应值影响显著。等高线图呈椭圆形且排列致密说明交互作用项对响应值影响显著,若呈圆形则此时交互效应可忽略<sup>[9]</sup>。由图 1 可知,交互作用项  $X_1 X_2$  和  $X_1 X_3$  对响应值影响较弱,而交互项  $X_2 X_3$  影响则较强。

2.4.4 模型最优解及验证实验 响应变量分别对各自变量求偏导并令结果为零,联立得到三元一次方程组,解逆矩阵得到响应面函数驻点(最优解),即  $X_1 = 0.085\ 8\ \text{mol/L}$ ,  $X_2 = 78.8\ \text{目}$ ,  $X_3 = 1 : 13.32(\text{g/mL})$ 。为操作方便,将结果修约为碱液浓度  $0.09\ \text{mol/L}$ ,粳碎米粒度 80 目,固液比为  $1 : 13.5(\text{g/mL})$ ,优化条件下大米蛋白质提取率为  $(82.25 \pm 2.53)\%$  ( $n = 3$ ),比表 7 中第 2 组试验结果稍低,可能是试验误差造成的,比模型预测值  $84.655\ 1\%$  稍低,偏差为  $-0.48\%$ 。制备得到的大米蛋白纯度为  $(91.68 \pm 1.26)\%$  ( $n = 3$ )。

### 3 结论

因大米蛋白碱提效率受碱液浓度、碱提温度、碱提时间、粳碎米粒度和固液比等多因素综合影响,是一个复杂的灰色体系,为解析各因素的影响规律,本试验在析因设计和爬陡坡试验的基础上应用二次旋转中心组合响应面优化方法研究了碱液浓度、粳碎米粒度和固液比的影响规律并获得优化条件,即碱液浓度  $0.09\ \text{mol/L}$ ,粳碎米粒度 80 目,固液比  $1 : 13.5(\text{g/mL})$ ,碱提温度  $50\ ^\circ\text{C}$ ,碱提时间 120 min。优化条件下大米蛋白质提取率和纯度分别为  $82.25\%$  和  $91.68\%$ 。结果表明,析因设计与响应面优化技术联用可很好用于粳碎米蛋白质碱法提取工艺的优化分析。

#### 参考文献

[1] 滕蔚蔚. 碎米资源及其综合利用概述[J]. 轻工科技, 2013(1): 13-14.  
[2] 张玉荣, 王云光, 周显青, 等. 发酵碎米理化性质的变化及与米粉品质的关联性[J]. 粮食与饲料工业, 2013(11): 20-24.  
[3] WANG Hong-bin, WANG Jing, ZHANG Jia-Lv, et al.

Preparing oligopeptides from broken rice protein by ultrafiltration-coupled enzymatic hydrolysis[J]. European Food Research and Technology, 2013, 236(3): 419-424  
[4] 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.  
[5] 王申, 周佳, 徐晶, 等. 超声、微波联合预处理大米蛋白制备 ACE 抑制肽工艺优化[J]. 食品与机械, 2014, 30(3): 159-161.  
[6] ROMERO A, BEAUMAL V, DAVID-BRIANDE E, et al. Interfacial and emulsifying behaviour of rice protein concentrate[J]. Food Hydrocolloids, 2012, 29(1): 1-8.  
[7] 顾林, 姜军, 孙婧. 碎米提取大米蛋白工艺及功能特性研究[J]. 粮食与饲料工业, 2007(12): 5-7.  
[8] 孙庆杰, 田正文. 碱法提取浓缩大米蛋白工艺条件的研究[J]. 食品工业科技, 2003(9): 38-42.  
[9] 万娟, 陈嘉东, 钟国才, 等. 碱法提取粳碎米中大米蛋白工艺的研究[J]. 现代食品科技, 2009, 25(9): 1 073-1 075.  
[10] 王威, 张月天, 曾凡骏. 响应面优化碱法提取大米蛋白工艺[J]. 粮食与饲料工业, 2007(9): 20-21, 25.  
[11] 蒋之坝, 黄仲青. 关于二次正交旋转组合设计试验数据的中心点处理法[J]. 安徽农业大学学报, 1989(4): 290-295.  
[12] 肖怀秋, 李玉珍, 赵谋明, 等. 二次旋转中心组合响应面法优化冷榨花生粕脱脂工艺[J]. 粮油食品科技, 2014(6): 33-38.  
[13] 郭梅, 郭伟, 王娜, 等. 碱法提取大米蛋白的研究[J]. 粮食加工, 2011, 36(2): 42-44.  
[14] 杨月欣. 实用食品营养成分分析手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2006: 36-85, 162-163.  
[15] SUHAIL A H, ISMAIL N, WONG S, et al. Response surface methodology[J]. J. Appl Sci., 2011, 11: 308-315.  
[16] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1): 248-254.  
[17] 徐向英, 王岸娜, 林伟静, 等. 响应面法优化燕麦全粉中蛋白质提取工艺[J]. 食品与机械, 2011, 27(5): 96-99.  
[18] 肖怀秋, 李玉珍, 林亲录, 等. 响应面优化冷榨花生粕酶法制备多肽工艺的研究[J]. 中国粮油学报, 2013, 28(9): 50-55.

(上接第 158 页)

进行洗脱,洗脱率为  $79.49\%$ ,将解析液浓缩冷冻干燥,测得干粉中黄酮含量为  $90.35\%$ 。本试验建立的 AB-8 型大孔吸附树脂分离纯化薄荷总黄酮的工艺,具有绿色环保、操作简便、稳定可靠、高效经济等优点,适合大规模产业化生产。

#### 参考文献

[1] 中国药典编委会. 中国药典[S]. 2015 版. 北京: 化学工业出版社, 2015: 377.  
[2] 徐凌玉, 李振麟, 蔡芷辰, 等. 薄荷化学成分的研究[J]. 中草药, 2013, 44(20): 2 798-2 802.  
[3] 吕爽, 田呈瑞, 韩莎莎. 薄荷属植物精油和多酚类的抑菌性及抗氧化性研究[J]. 食品与生物技术学报, 2011, 30(6): 827-831.  
[4] SHE Gai-mei, XU Chao, LIU Bin, et al. Antioxidant activity of volatile oil from leaves of mentha haplocalyx briq[J]. Journal of Food Science, 2010, 75(4): 359-362.  
[5] DONG Wen-jiang, NI Yong-nian, KOKOT S. A novel near-infrared spectroscopy and chemometrics method for rapid analysis of several chemical components and antioxidant activity of mint (Mentha haplo-

calyx Briq.) samples[J]. Appl Spectrosc, 2014, 68(2): 245-254.  
[6] 黄华艺, 查锡良. 黄酮类化合物抗肿瘤作用研究进展[J]. 中国新药与临床杂志, 2002, 21(7): 428-433.  
[7] 吕燕柏, 王锡宁, 季萍. 保健食品中薄荷脑和冰片含量的测定方法研究[J]. 预防医学文献信息, 2003, 9(6): 677-679.  
[8] 朱卫红, 许时婴, 江波. 微胶囊化薄荷油的制备及其热稳定性研究[J]. 食品与机械, 2006, 22(5): 32-39.  
[9] 屠鹏飞, 贾存勤, 张洪全. 大孔吸附树脂在中药新药研究和生产中的应用[J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2004, 6(3): 22-28.  
[10] 黎海彬, 李小梅. 大孔吸附树脂及其在天然产物研究中的应用[J]. 广东化工, 2005, 32(3): 22-25.  
[11] 钟昆芮, 张凡, 姜艳艳, 等. 薄荷总黄酮的纯化工艺优选[J]. 中国试验方剂学杂志, 2013, 19(6): 11-14.  
[12] 于智峰, 王敏. 大孔吸附树脂在黄酮类化合物分离中的应用[J]. 中草药, 2006, 29(12): 1 380-1 383.  
[13] 杜若源, 谢晶, 王婷, 等. 超声波辅助提取银杏叶中总黄酮的工艺优化[J]. 食品与机械, 2015, 31(1): 167-170.  
[14] 方贺, 宋旺弟, 陈文. 大孔吸附树脂纯化黄花柳花总黄酮工艺研究[J]. 北方园艺, 2016(6): 120-124.