

# 响应面法优化玉米胚芽多肽提取的工艺条件

魏涵伟<sup>1</sup>,王成忠<sup>1\*</sup>,赵晓红<sup>1</sup>,任振峰<sup>2</sup>

<sup>1</sup>齐鲁工业大学,济南 250353;<sup>2</sup>山东神州翔宇科技集团有限公司,枣庄 277400

**摘要:**找到一种具有高水解度的丝氨酸蛋白酶 Savinase<sup>®</sup> 16 L,水解脱脂玉米胚芽粕,得到玉米胚芽多肽水解液中玉米胚芽多肽的浓度较高。通过复合酶法水解玉米胚芽粕制备玉米胚芽多肽,调节酶的复配比例,在单因素实验的基础上,再利用 Design-Expert 软件设计实验,以温度、pH、酶添加量、反应时间四个因素,对酶解液中多肽浓度的影响来探究玉米胚芽多肽提取的最佳工艺,得出:在 Savinase<sup>®</sup> 16 L: 风味蛋白酶 = 1:1,温度 55 °C, pH7.3,酶添加量 1.80%,时间 190 min,此条件下实际测得酶解液中玉米胚芽多肽浓度为 5.839 mg/mL,水解度 25.62%。相较单酶水解玉米胚芽粕,本次采用的复合酶水解其水解液中多肽浓度提高了 26%。响应面优化提取工艺后,多肽浓度提高了 13%。

**关键词:**玉米胚芽多肽;提取;响应面分析

中图分类号:TS218

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2020) Suppl-0116-09

DOI:10.16333/j.1001-6880.2020.S.019

## Optimization of process conditions for extraction of corn germ polypeptide by response surface methodology

WEI Han-wei<sup>1</sup>, WANG Cheng-zhong<sup>1\*</sup>, ZHAO Xiao-hong<sup>1</sup>, REN Zhen-feng<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Qilu University of Technology, Jinan 250353, China;

<sup>2</sup>Shandong Shenzhou Xiangyu Technology Group Co., Ltd., Zaozhuang 277400, China

**Abstract:** A highly hydrolyzed serine protease Savinase<sup>®</sup> 16 L was obtained, which hydrolyzed defatted corn germ buds to obtain a higher concentration of corn germ polypeptide in the corn germ polypeptide hydrolysate. The corn germ polypeptide was prepared by hydrolysis of corn germ buds by complex enzymatic hydrolysis, and the ratio of enzymes was adjusted. Based on the single factor experiment, Design-Expert software was used to design experiments with temperature, pH, enzyme addition and reaction time. Factors, the effect of the concentration of the polypeptide in the enzymatic hydrolysate to explore the optimal process for the extraction of corn germ polypeptide, and found: Savinase<sup>®</sup> 16 L: flavourzyme = 1:1, temperature 55 °C, pH7.3, enzyme addition amount 1.80%, time 190 min, under this condition, the concentration of corn germ polypeptide in the enzymatic hydrolysate was 5.839 mg/mL, and the degree of hydrolysis was 25.62%. Compared with the single enzyme hydrolysis of corn germ buds, the compound enzyme used in this hydrolysis hydrolyzed the polypeptide concentration in the hydrolysate by 26%. After the response surface optimized extraction process, the peptide concentration increased by 13%.

**Key words:** corn germ polypeptide; extraction; response surface analysis

玉米胚芽,是玉米淀粉生产后的下脚料,其中含有丰富的蛋白质资源<sup>[1]</sup>,而现有研究对于玉米胚芽多肽的提取多用常见的碱性蛋白酶,中性蛋白酶,木瓜蛋白酶<sup>[2,3]</sup>等。提取多肽的效率偏低,且得到的多肽产物苦味难除<sup>[4]</sup>。

本实验选用来自枯草芽孢杆菌的 Savinase<sup>®</sup> 16 L<sup>[5]</sup>碱性蛋白酶,结合风味蛋白酶,调整复配比例,

以提取率和水解度为指标来选用最佳的提取工艺。其中, Savinase<sup>®</sup> 16 L 能够增加玉米胚芽浸提物中生物活性物质的含量,而风味蛋白酶可以脱除蛋白水解液的苦味,增进和改善多肽的风味<sup>[6]</sup>。

Savinase<sup>®</sup> 16 L 是一种从枯草芽孢杆菌中得到的丝氨酸内切肽酶,立体选择性水解氨基酸酯,适合于水解蛋白质,可用于酯交换和转肽反应,不仅能催化一些酯类的立体选择水解,还能在碱性条件下抑制酰胺,目前,多用于纺织业,处理羊毛制品来使羊毛蛋白的结构发生改变,从而达到防缩的效果<sup>[7]</sup>。

有资料显示 Savinase<sup>®</sup> 16 L 提取小扁豆,得到的提取物中多肽以及可溶性酚类物质都有较高的含量,且表现出较高的 ACE 抑制活性,以及降血糖、降血脂活性<sup>[8]</sup>。但对于采用 Savinase<sup>®</sup> 16 L 来水解玉米蛋白得到玉米肽在国内的研究还基本没有。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

脱脂玉米胚芽粕(山东神州翔宇科技集团有限公司);Savinase<sup>®</sup> 16 L 和风味蛋白酶(诺维信公司);蒸馏水、氢氧化钠、浓盐酸、三氯乙酸、氢氧化铜、甲醛(国药集团化学试剂有限公司);Gly-Gly-Tyr-Arg(Sigma 公司)。

DRHH-S4 数显恒温水浴锅(上海双捷实验设备有限公司);TGL-16M 型高速离心机(湘仪仪器有限公司);UV759 紫外可见分光光度计、SY204 型电子分析天平、pHS-3E 实验室 pH 计(上海佑科仪器仪表有限公司)、纳滤膜分离设备(颇尔过滤器(北京)有限公司)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 玉米胚芽多肽的提取<sup>[9]</sup>

脱脂玉米胚芽粕粉碎,过 80 目筛,备用。称取玉米胚芽粉,加水,混匀,水浴锅加热至中心温度达到 50 ℃,调节 pH 至 7.5,加入 Savinase<sup>®</sup> 16 L 和风味蛋白酶,每隔 15 分钟测一次 pH,维持在 7.5 左右,酶解 180 min。反应结束后,取出沸水浴灭酶 10 min,室温冷却,离心留上清。即为玉米胚芽多肽粗

提液。

#### 1.2.2 多肽浓度的测定

本实验采用 Lu<sup>[10]</sup>的方法测定玉米胚芽粗提液中多肽的浓度。先制备 Gly-Gly-Tyr-Arg 四肽标准曲线,再 10% 三氯乙酸沉淀粗提液中大分子蛋白质,离心过滤得上清液,加入双缩脲试剂,测 540 nm 下吸光度值,在标准曲线上差得多肽浓度。

#### 1.2.3 水解度的测定

甲醛滴定法<sup>[11]</sup>测定多肽粗提液的水解度。吸取粗提液样品 5 mL,定容至 100 mL,吸取 20 mL 置于烧杯中,加水 60 mL,开动磁力搅拌器,先 NaOH 溶液滴定至 pH 为 8.2,加入 10 mL 甲醛溶液,混匀,再用 0.05 mol/L NaOH 标准溶液滴定至 pH 为 9.2,记录消耗 NaOH 标准溶液的体积。

#### 1.2.4 玉米胚芽多肽粗提液粗分离

玉米胚芽粕经过酶解后得到的多肽粗提液,分别过 5、3、1 kDa 纳滤膜,将样品分成分子量大于 5 kDa 的,小于 5 kDa 大于 3 kDa 的,小于 3 kDa 大于 1 kDa 的,以及小于 1 kDa 的<sup>[12]</sup>,以便进一步测定不同分子量的各项生理生化活性。

#### 1.2.5 玉米胚芽多肽提取工艺优化

在单因素实验的基础上,以提取温度、pH、酶添加量、提取时间为考察变量,采用 Box-Behnken 实验设计方案<sup>[13]</sup>,采用四因素三水平对工艺条件进行响应面分析实验。响应面设计因素<sup>[14-16]</sup>水平如下表 5 所示。

表 1 响应面设计因素水平表

Table 1 Factors and levels in response surface design

水平 Level	因素 Factor			
	A 温度 Temperature(℃)	C pH	D 酶添加量 Enzyme addition(%)	E 反应时间 Reaction time(min)
1	45	7.0	1.0	120
2	50	7.5	1.5	180
3	55	8.0	2.0	240

## 2 结果与讨论

### 2.1 最佳复合酶的选择

选择中性蛋白酶、碱性蛋白酶、木瓜蛋白酶、风味蛋白酶以及 Savinase<sup>®</sup> 16 L 在各自最优条件下酶解玉米胚芽,加酶量为 1.5%,水解 180 min,测水解液中多肽的浓度,并计算水解度,其结果如图 1 所示。

在中性蛋白酶、碱性蛋白酶、木瓜蛋白酶、风味

蛋白酶以及 Savinase<sup>®</sup> 16 L 最适条件下,提取脱脂玉米胚芽中的玉米胚芽多肽,经试验测得通过 Savinase<sup>®</sup> 16 L 提取玉米胚芽多肽的浓度最高,水解度最大,其次是碱性蛋白酶,风味蛋白酶,中性蛋白酶,木瓜蛋白酶。根据各项研究表明,蛋白质水解后,暴露的疏水性末端是导致多肽苦味产生的原因,而碱性蛋白酶酶解蛋白质后,暴露的疏水性末端较多,普遍苦味值偏高<sup>[17]</sup>,所以选择酶解能力较高的 Savinase<sup>®</sup>

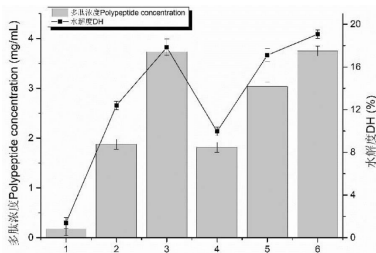


图1 不同酶提取玉米胚芽多肽时水解液的多肽浓度及水解度

Fig. 1 Polypeptide concentration and DH of in enzymatic hydrolysate with different enzymes

注:1. 空白;2. 中性蛋白酶;3. 碱性蛋白酶;4. 木瓜蛋白酶;5. 风味蛋白酶;6. 赛威蛋白酶。Note: 1. Blank; 2. Neutral protease; 3. Alkaline protease; 4. Papain; 5. Flavourzyme; 6. Savinase® 16 L.

16 L 和风味蛋白酶,以得到风味品质较好的的多肽。

## 2.2 单因素试验确定玉米胚芽多肽的最佳实验条件

### 2.2.1 最复合酶配比的选择

取过筛后的玉米胚芽粉,在温度 50 °C, pH = 7.5, 将 Savinase® 16 L 和风味蛋白酶以 1:1、1:2、2:1 的比例配比混合,加酶量为 1.5%, 水解 180 min, 测水解液中多肽的浓度,并计算水解度,其结果如图 2 所示。

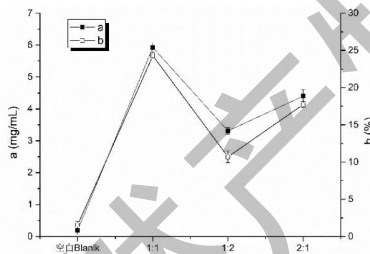


图2 不同酶配比下酶解液中多肽浓度及水解度

Fig. 2 Polypeptide concentration and DH in enzymatic hydrolysate at different enzyme ratios

注:a. 多肽浓度;b. 水解度,下同。Note: a. Polypeptide concentration; b. DH, the same below.

由图 2 可以看出,与不加酶的空白对照相比,当 Savinase® 16 L 和风味蛋白酶的复合酶配比例为 1:1 时酶解液中多肽浓度最高,此时水解度也达到最大。

### 2.2.2 最适提取温度的选择

取过筛后的玉米胚芽粉,在提取温度分别为 40、45、50、55、60 °C, 取 Savinase® 16 L 和风味蛋白酶的复合酶配比例为 1:1, 其余条件同“2.1.1”。测

最终水解液中多肽的浓度,并计算水解度,其结果如图 3 所示。

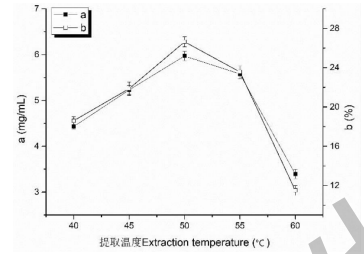


图3 不同提取温度下酶解液中多肽浓度及水解度

Fig. 3 Peptide concentration and DH in enzymatic hydrolysate at different extraction temperatures

由图 3 可以看出在温度达到 50 °C 时酶解液中多肽浓度最高,水解度也达到最大,之后随着温度的升高,多肽浓度开始下降,原因可能是低温状态下酶活性降低,温度过高又会导致的酶的变性失活,因而升高温度可以增加多肽的提取率,但超过最适温度后酶解液中多肽浓度开始下降。所以确定最佳提取温度为 50 °C。

### 2.2.3 最佳提取 pH 的选择

取过筛后的玉米胚芽粉,在 pH 分别是 7.0、7.5、8.0、8.5, 提取温度为 50 °C, 其余条件同 2.1.2。测最终水解液中多肽的浓度,并计算水解度,其结果如图 4 所示。

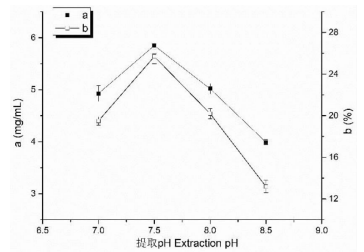


图4 不同 pH 条件下酶解液中多肽浓度及水解度

Fig. 4 Polypeptide concentration and DH in enzymatic hydrolysate under different pH conditions

由图 4 可以看出,随着 pH 的增大,酶解液中多肽的浓度逐渐升高,水解度也逐渐增大,当 pH 在 7.5 时达到最大值,之后开始下降。Savinase® 16 L 和风味蛋白酶的最适 pH 分别为 7.0 和 8.0, 取这个范围附近的几个 pH 值,发现在 pH 为 7.5 时酶活力达到最高,酶解液中多肽浓度最高。原因可能是因为, pH 影响底物蛋白分子的结构的同时,也影响酶分子的结构, pH 值过高过低都会引起酶的变性失活,所以确定最佳酶解 pH 条件为 7.5。

### 2.2.4 最佳加酶量的选择

取过筛后的玉米胚芽粉,在酶添加量分别为0.5、1.0、1.5、2.0、2.5%,其余条件不变,酶解结束后,测水解液中的多肽含量,并计算水解度,其结果如图5所示。

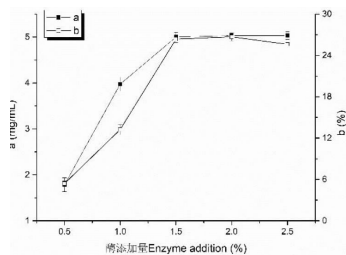


图5 不同酶添加量条件下酶解液中多肽浓度及水解度

Fig. 5 Polypeptide concentration and DH in enzymatic hydrolysate under different enzyme addition conditions

由图5可以看出随着酶添加量的不断增加,酶解液中多肽浓度以及水解度逐渐上升,在酶添加量增加到1.5%后,再加大酶添加量,其酶解液中的多肽浓度基本保持不变,而观察到水解度在加酶量为2.5%时,较之前甚至略有下降,原因可能是因为,在一定底物浓度的条件下,增加酶的添加量,可以增加酶解效率,当酶分子与底物作用位点逐渐饱和后,相应酶的利用率开始降低,从而导致酶解液中的多肽浓度不再增加。综合考虑经济以及实际效益,选择最佳的酶添加量为1.5%。

### 2.2.5 最佳水解时间的选择

取过筛后的玉米胚芽粉,酶解时间分别为60、120、180、240 min 其余条件不变,酶解结束后,测水解液中的多肽含量,并计算水解度,其结果如图6所示。

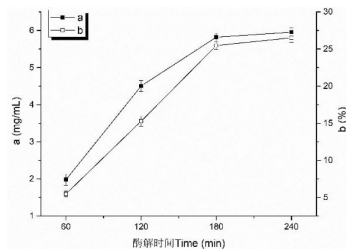


图6 不同水解时间条件下酶解液中多肽浓度及水解度

Fig. 6 Polypeptide concentration and DH in enzymatic hydrolysate under different hydrolysis time conditions

由图6可以得出随着酶解时间的不断增加,酶解液中多肽浓度及水解度不断增加,但时间达到180 min后,再随着时间的增加,产物增加得不再明显,原因可能是底物浓度的限制,随着酶解反应的进行,底物浓度不断降低,且抑制作用增强。因此当玉米胚芽蛋白水解到一定程度就会趋于平稳,增加得不再显著。所以确定最佳水解时间为180 min。

单因素实验确定最佳的酶解工艺条件为当 Savinase<sup>®</sup> 16 L 和风味蛋白酶的复合酶配比例为1:1,最佳提取温度为50℃,最佳酶解pH条件为7.5,最佳的酶添加量为1.5%,最佳水解时间为180 min。验证实验,在最佳酶解工艺下水解玉米胚芽粕,得到的水解液计算得多肽浓度为5.033 mg/mL,水解度为23.57%。

### 2.2.6 响应面法确定最佳酶解工艺

以多肽浓度为响应值,在单因素实验的基础上,以提取温度、pH、酶添加量、提取时间为考察变量,采用 Box-Behnken 实验设计方案,采用四因素三水平对工艺条件进行响应面分析实验,结果如表2和表3所示。

表2 Box-Behnken 中心组合实验结果

Table 2 Box-Behnken design matrix and experimental values

实验序号 No.	温度 Temperature (°C)	pH	酶添加量 Enzyme addition (%)	时间 Time (min)	多肽浓度 Peptide concentration (mg/mL)
1	0	0	0	0	5.642
2	1	1	0	0	3.401
3	1	0	0	-1	4.311
4	0	-1	1	0	5.494
5	-1	0	0	1	4.152
6	1	0	-1	0	3.751
7	-1	-1	0	0	4.193
8	-1	0	0	-1	3.626
9	1	-1	0	0	4.728

续表 2(Continued Tab. 2)

实验序号 No.	温度 Temperature(°C)	pH	酶添加量 Enzyme addition(%)	时间 Time(min)	多肽浓度 Peptide concentration(mg/mL)
10	0	1	0	-1	3.218
11	0	0	0	0	5.984
12	0	0	-1	1	3.995
13	0	-1	-1	0	2.642
14	1	0	1	0	5.423
15	-1	1	0	0	3.218
16	-1	0	-1	0	3.670
17	1	0	0	1	4.486
18	0	0	0	0	5.766
19	0	1	1	0	3.035
20	0	1	0	1	3.119
21	-1	0	1	0	4.322
22	0	-1	0	1	4.785
23	0	0	-1	-1	3.607
24	0	0	1	-1	4.514
25	0	0	0	0	5.634
26	0	1	-1	0	3.079
27	0	0	0	0	5.700
28	0	0	1	1	4.619
29	0	-1	0	-1	3.190

表 3 多肽浓度响应面回归模型方差分析结果

Table 3 ANOVA for response surface quadratic model

差异来源 Variance source	平方和 Sum of squares	自由度 df	均方 Mean square	<i>F</i>	<i>P</i> Prob > <i>F</i>	显著性 Significance
模型 Model	26.48	14	1.89	41.01	< 0.000 1	***
<i>A</i>	0.71	1	0.71	15.40	0.001 5	**
<i>B</i>	2.96	1	2.96	64.24	< 0.000 1	***
<i>C</i>	3.70	1	3.70	80.23	< 0.000 1	***
<i>D</i>	0.60	1	0.60	13.08	0.002 8	**
<i>AB</i>	0.03	1	0.03	0.67	0.426 2	
<i>AC</i>	0.26	1	0.26	5.64	0.032 4	*
<i>AD</i>	0.03	1	0.03	0.67	0.427 5	
<i>BC</i>	2.10	1	2.10	45.47	< 0.000 1	***
<i>BD</i>	0.72	1	0.72	15.56	0.001 5	**
<i>CD</i>	0.02	1	0.02	0.43	0.520 6	
<i>A</i> <sup>2</sup>	2.77	1	2.77	60.03	< 0.000 1	***
<i>B</i> <sup>2</sup>	10.97	1	10.97	237.95	< 0.000 1	***
<i>C</i> <sup>2</sup>	4.09	1	4.09	88.79	< 0.000 1	***

续表 3 (Continued Tab. 3)

差异来源 Variance source	平方和 Sum of squares	自由度 df	均方 Mean square	F	P Prob > F	显著性 Significance
$D^2$	4.80	1	4.80	104.19	< 0.000 1	***
残差 Residual	0.65	14	0.05			
失拟项 Lack of fit	0.56	10	0.06	2.73	0.172 8	Not significant
纯误差 Pure error	0.08	4	0.02			
总和 Cor total	27.12	28				
$R^2$	0.976 2					
$R^2_{Adj}$	0.952 4					
CV (%)	5.05					

注: \*  $P < 0.05$ , 差异显著; \*\*  $P < 0.01$ , 差异高度显著; \*\*\*  $P < 0.001$ , 表示差异极显著。

Note: \*  $P < 0.05$ , significant difference; \*\*  $P < 0.01$ , highly significant difference; \*\*\*  $P < 0.001$ , extremely significant difference.

利用的 Design-Expert 软件将实验数据进行多元回归拟合, 得到以玉米胚芽多肽浓度为目标函数的二元多次回归方程:

$$Y = 5.75 + 0.24A - 0.50B + 0.56C + 0.22D - 0.088AB + 0.26AC - 0.088AD - 0.72BC - 0.42BD - 0.071CD - 0.65A^2 - 1.30B^2 - 0.79C^2 - 0.86D^2$$

由表 3 方差分析的结果可以看出, 回归模型具有较高的 F 值以及较低的 P 值  $< 0.0001$  (极显著), 失拟项 P 值  $= 0.1728 > 0.05$  (不显著), 表明模型对

实验有较好的拟合性, 实验误差较小。决定系数 ( $R^2$ ) 表示回归模型的适合度, 其值越接近于 1 说明实验值与预测值的相关性越好, 此决定系数  $R^2$  值为 0.976 2, 表明玉米胚芽多肽浓度的试验值与实际值有较好的一致性, 调整决定系数  $R^2_{Adj}$  是指玉米胚芽多肽浓度总变异中约 95.24% 是由独立变量决定的。变异系数 (CV) 为 5.05%, 说明模型重现性好, 可用于玉米胚芽多肽提取工艺的优化。

显著性试验表明, 对酶解液中玉米胚芽多肽浓

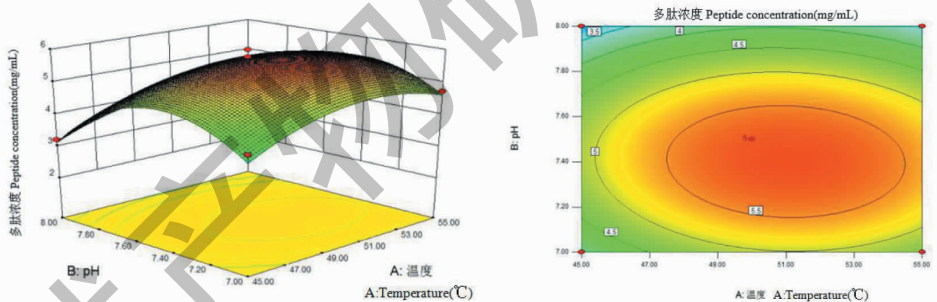


图 7 温度和 pH 对酶解液中多肽浓度影响的响应面图及等高线图

Fig. 7 Response surface diagram and contour map of temperature and pH on the concentration of peptide in enzymatic hydrolysate

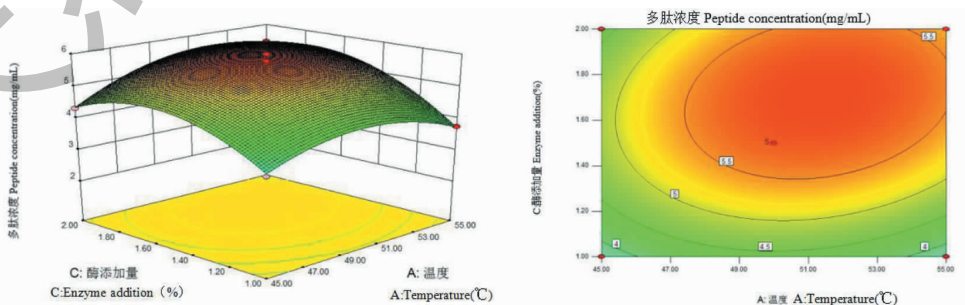


图 8 温度和酶添加量对酶解液中多肽浓度影响的响应面图及等高线图

Fig. 8 Response surface diagram and contour plot of the effect of temperature and enzyme addition on the concentration of peptide in enzymatic hydrolysate

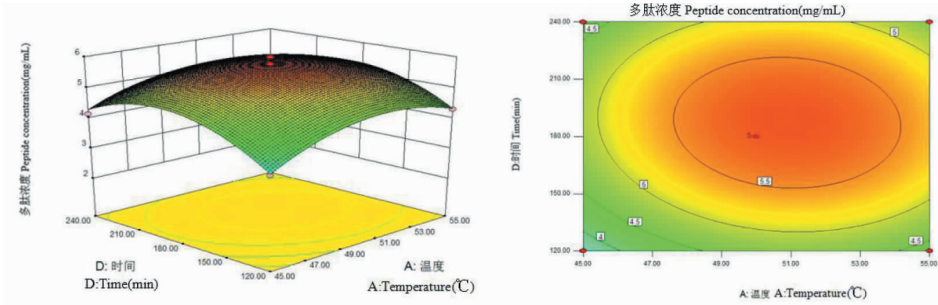


图9 温度和提取时间对酶解液中多肽浓度影响的响应面图及等高线图

Fig. 9 Response surface and contour plots of temperature and extraction time on the concentration of peptide in enzymatic hydrolysate

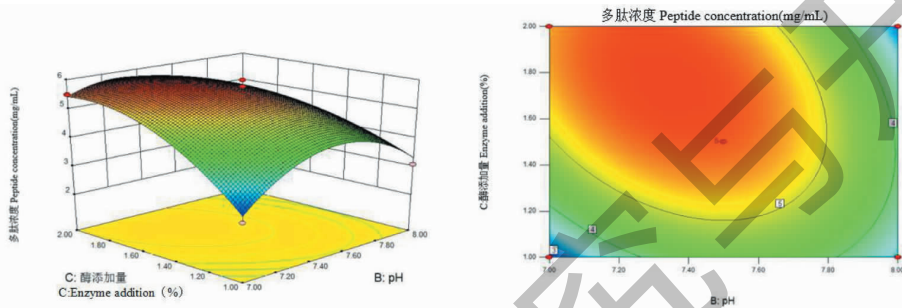


图10 pH和酶添加量对酶解液中多肽浓度影响的响应面图及等高线图

Fig. 10 Response surface diagram and contour plot of the effect of pH and enzyme addition on the concentration of peptide in enzymatic hydrolysate

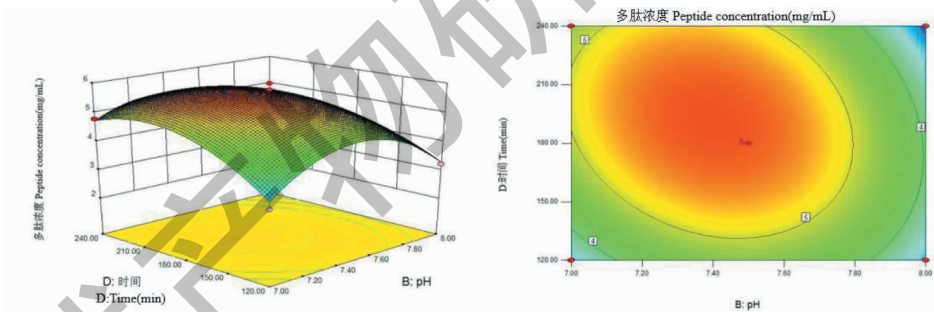


图11 pH和提取时间对酶解液中多肽浓度影响的响应面图及等高线图

Fig. 11 Response surface and contour plots of pH and extraction time on the concentration of peptide in enzymatic hydrolysate

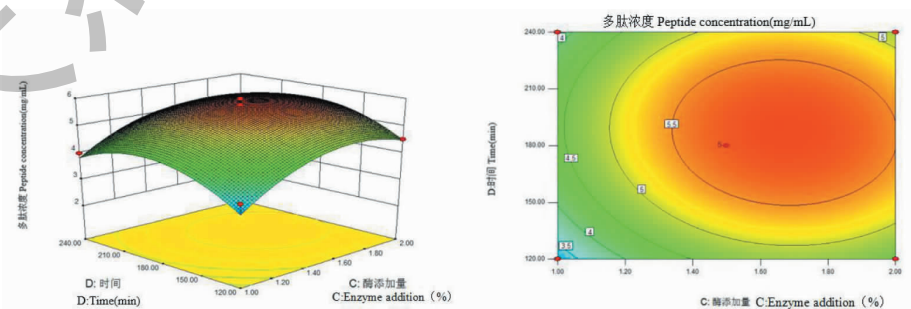


图12 酶添加量和提取时间对酶解液中多肽浓度影响的响应面图及等高线图

Fig. 12 Response surface diagram and contour plot of the effect of enzyme addition and extraction time on the concentration of peptide in enzymatic hydrolysate



度的影响;B、C、BC 的交互项和 A、B、C、D 的二次项达到了极显著水平( $P < 0.001$ );A、D、BD 的交互项达到了高度显著水平( $P < 0.01$ );AC 的交互项达到了显著水平( $P < 0.05$ );其他条件为不显著影响因素( $P > 0.05$ )。

图 7~12 是两个因素交互作用对酶解液中多肽浓度的影响,图中可以直观的反映出交互作用的强度,当等高线变化密集,或呈椭圆形或马鞍形时,其交互作用显著;而当等高线变化稀疏,或呈圆形是说明两因素间的交互作用不显著<sup>[18]</sup>。由图所示可以观察到,pH 和酶提取量对玉米胚芽多肽提取的影响

显著。通过 Design-Expert 软件分析得出,最佳提取条件为:温度为 55.15 °C, pH 为 7.31,酶添加量为 1.78%,提取时间为 191.22 min,预计理想玉米胚芽多肽浓度为 6.059 mg/mL。

### 2.2.7 提取工艺条件的确定及验证试验

由 Design-Expert 软件分析出最佳的提取条件,经实践调整后确定最佳的玉米胚芽多肽提取工艺:温度 55 °C, pH7.3,酶添加量 1.80%,时间 190 min。采用此最佳提取工艺进行验证回归模型的有效性,计算酶解液中玉米胚芽多肽浓度,以及水解度。

表 4 最佳提取工艺下验证试验结果

Table 4 Verification test results under the optimal extraction process

试验序号 No.	1	2	3	平均值 Average
多肽浓度 Peptide concentration (mg/mL)	6.030	5.970	5.517	5.839
水解度 DH (%)	27.11	26.64	23.10	25.62

验证试验看出在最佳玉米胚芽多肽提取工艺条件下,测得多肽浓度平均值为 5.839 mg/mL,与 Design-Expert 软件理论预测值相差 3.63%,因此,该模型的拟合程度较高,此回归方程预测的玉米胚芽多肽的提取参数准确可靠,具备一定的指导意义。

### 3 结论

确定 Savinase<sup>®</sup> 16 L 和风味蛋白酶结合提取玉米胚芽多肽的最佳酶解工艺条件:Savinase<sup>®</sup> 16 L:风味蛋白酶 = 1:1,温度 55 °C, pH7.3,酶添加量 1.80%,时间 190 min,此条件下实际测得酶解液中玉米胚芽多肽浓度为 5.839 mg/mL,水解度 25.62%。

将在最佳工艺条件下酶解得到的酶解液先抽滤,收集滤液,通过纳滤膜装置,由不同分子量大小(5、3、1 kDa)的膜包进行粗分离,以期得到不同分子量大小的多肽溶液,为进一步的探究其生理生化活性奠定基础。

### 参考文献

- 1 Sezin IK, Tri TP, David AS. Surfactant-Based oil extraction of corn germ[J]. J Am Oil Chem Soc, 2011, 88: 863-869.
- 2 Dang YN, Wang LJ, Xue Y. Advances in studies on extraction and application of corn germ protein[J]. Food Ind(食品工业), 2015, 36(3): 255-258.
- 3 Wei HW, Wang CZ, Ren ZF. Research progress of corn germ peptides[J]. China Condiment(中国调味品), 2019, 44

- (5): 184-188.
- 4 Mila P, Hojilla E. Extraction and functional properties of non-Zein proteins in corn germ from Wet-Milling[J]. J Am Oil Chem Soc, 2012, 89: 167-174.
- 5 Balashev K, Callisen TH, Svendsen A, et al. Savinase action on bovine serum albumin (BSA) monolayers demonstrated with measurements at the air-water interface and liquid Atomic Force Microscopy (AFM) imaging[J]. Colloid Surface B, 2011, 88: 582-586.
- 6 Enzymes and Coenzymes; Findings from Agricultural University Provides New Data about Enzymes and Coenzymes (Reduction of immunoreactivity of wheat and rye prolamins by Flavourzyme proteolysis)[C]. Food Weekly News, 2018.
- 7 Yu XM, Zhong SF, Li QZ. Study on the shrinkproof technology of wool fabric with protease[J]. Wool Tex J(毛纺科技), 2015, 43(3): 40-44.
- 8 Bautista ES, Peñas E, Silván JM, et al. pH-controlled fermentation in mild alkaline conditions enhances bioactive compounds and functional features of lentil to ameliorate metabolic disturbances[J]. Food Chem 2018, 248: 262-271.
- 9 Wang K, Ma HL, Li J, et al. Study on effects of ultrasonic pretreatment on enzymolysis preparation of ACE-inhibitory peptides from corn germ protein[J]. Food Ind Tech(食品工业科技), 2018, 39(9): 11-15.
- 10 Lu W, Ren GP, Song JM. Determination of content of peptides in protein hydrolysates[J]. Food Sci(食品科学), 2005(7): 169-171.