Agricultural Sci. J. 38 : 5 (Suppl.) : 177-180 (2007) ว. วิทย. กษ. 38 : 5 (พิเศษ) : 177-180 (2550)

สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากรำข้าวหอมมะลิและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

Process optimization of jasmine rice bran protein hydrolysates and its radical scavenging property

หทัยกาญจน์ กกแก้ว[1] และ ศุภวรรณ ถาวรชินสมบัติ[1]
Hathaigan Kokkeaw[1] and Supawan Thawornchinsombut[1]

Abstract

Optimal conditions for rice bran (Jasmine 105) protein hydrolysates production using a commercial enzyme, Protex 6L, were determined to obtain maximal radical scavenging activity (RSA) and yield using Response Surface Methodology (RSM). Two-step processes were performed as follows: (1) selection of important parameters with respect to RSA of protein hydrolysates using Fractional Factorial Design (FFD). Four parameters including water to rice bran protein ratio (W/R) (2-6 w/w), enzyme-substrate ratio (E/S) (1-5 w% of rice bran protein), time (t) (2-6 h), and temperature (T) (50-60°C) of hydrolysis conditions were studied while pH was fixed at 8.0. It was found that W/R was more significant than other factors ($p \leq 0.05$). And (2) RSM was used to optimize protein hydrolysis process with two parameters of pH (x_1; 7.5-8.5) and W/R (x_2; 3-5 w/w). Other parameters were set as follows: E/S=3%, t=4 h and T=55°C. Central composite design (CCD) was chosen and three responses; RSA (Y_1), yield (Y_2) and degree of hydrolysis (Y_3) were investigated. Multiple regression analysis showed that relationships between responses and independent variables could be represented by models: $Y_1 = 26.98 - 5.44x_1^2 - 3.22x_2^2$ ($R^2 = 0.8155$); $Y_2 = 30.48 - 2.14x_1^2 - 0.80x_2^2$ ($R^2 = 0.8952$); and $Y_3 = 17.35 - 0.42x_2 - 0.83x_1^2 - 0.94x_2^2$ ($R^2 = 0.8970$). The Optimum condition for rice bran protein hydrolysis in order to maximize the RSA is at pH = 7.94 and W/R = 3.93. At this condition, RSA of 27.08%, yield of 30.45% and DH of 17.36% were obtained. Four hydrolysis conditions were performed to validate the model. It was found that true values and predicted values were not significantly different ($p>0.05$).

Keywords: Jasmine rice bran protein hydrolysates, response surface methodology, radical scavenging activity

บทคัดย่อ

หาสภาวะเหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากโปรตีนรำข้าวหอมมะลิ 105 ที่ถูกไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ทางการค้า Protex 6L เพื่อให้ค่าตอบสนองคือ กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (Radical scavenging activity, RSA) และปริมาณผลผลิตสูงสุดโดยวิธีการประเมินพื้นผิวตอบสนอง มี 2 ขั้นตอน คือ (1) คัดเลือกตัวแปรของสภาวะการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีผลสำคัญต่อค่า RSA โดยใช้แผนการทดลอง Fractional Factorial Design (FFD) ศึกษา 4 ตัวแปร ได้แก่ น้ำต่อโปรตีน รำข้าว (W/R) (2-6 โดยน้ำหนัก) เอนไซม์ต่อสับสเตรท (E/S) (1–5% โดยน้ำหนักโปรตีน) เวลา (t) (2-6 ชม.) และอุณหภูมิ (T) (50-60°ซ) กำหนดให้ pH คงที่ที่ 8.0 พบว่า W/R เป็นตัวแปรที่มีความสำคัญต่อค่า RSA ($p \leq 0.05$) ขั้นตอนที่ 2 หาสภาวะเหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทโดยวิธีการประเมินพื้นผิวตอบสนอง โดยศึกษา 2 ตัวแปร ได้แก่ pH (x_1) (7.5-8.5) และ W/R (x_2) (3-5 โดยน้ำหนัก) กำหนดให้ตัวแปรอื่นคงที่ (E/S=3%, t=4 ชม และ T=55°ซ) ใช้แผนการทดลอง Central composite design (CCD) ที่ให้ค่าตอบสนองคือ RSA (Y_1) ปริมาณผลผลิต (Y_2) และระดับการย่อยสลาย (Y_3) จากการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยการถดถอยเชิงพหุ พบว่าสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าตอบสนองและตัวแปรคือ $Y_1 = 26.98 - 5.44\ x_1^2 - 3.22\ x_2^2$ ($R^2 = 0.8155$); $Y_2 = 30.48 - 2.14\ x_1^2 - 0.80\ x_2^2$ ($R^2 = 0.8952$) และ $Y_3 = 17.35 - 0.42\ x_2 - 0.83\ x_1^2 - 0.94\ x_2^2$ ($R^2 = 0.8970$) สภาวะเหมาะสมที่ให้ค่า RSA สูงสุด คือ pH = 7.94 และ W/R = 3.93 ให้ค่า RSA 27.08% ปริมาณผลผลิต 30.45% และระดับการย่อยสลาย 17.36% เมื่อทดสอบความถูกต้องของแบบจำลองโดยทดลองผลิตที่ 4 สภาวะไฮโดรไลซิส พบว่าค่าที่ได้จากการทดลองและจากการทำนายไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

คำสำคัญ: โปรตีนไฮโดรไลเสทจากรำข้าวหอมมะลิ วิธีการประเมินพื้นผิวตอบสนอง กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002
[1] Department of Food Technology , Faculty of Technology , Khon Kean University, Khonkean, 40002

คำนำ

รำข้าวเป็นผลพลอยได้จากการขัดสีข้าวเปลือก โดยข้าวเปลือกเมื่อผ่านการสีจะให้รำข้าวประมาณร้อยละ 10 (วันชัย, 2541 อ้างใน อรอนงค์, 2547) มีองค์ประกอบของโปรตีนสูงถึง 11.3-14.9% (อรอนงค์ 2547) ในปีการผลิต 2547/48 มีรำข้าวจากการสีข้าวสูงถึง 2 แสนตัน ซึ่งมีโปรตีนเป็นองค์ประกอบมากถึง 2.3-2.9 หมื่นตัน

โปรตีนไฮโดรไลเสทที่ได้จากการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์โปรติเอสเป็นแหล่งของเปปไทด์ที่มีกิจกรรมทางชีวภาพด้วย การเป็นสารต้านความดันโลหิตสูง และสารต้านออกซิเดชัน เป็นต้น โดยคุณสมบัติต้านออกซิเดชันของไบโอแอคทีฟเปปไทด์ด้วยการทำหน้าที่จับโลหะและอนุมูลไฮดรอกซิล กำจัดแอคทีฟออกซิเจน ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับโครงสร้างของเปปไทด์และชนิดของกรดอะมิโน ได้แก่ ทริปโตเฟน เมทไธโอนีน ฮีสทีดีน ไลซีน และไทโรซีน เมื่อกรดอะมิโนรวมตัวกันเป็นเปปไทด์จะมีคุณสมบัติต้านออกซิเดชันสูงขึ้น ดังนั้นจึงนำเปปไทด์ดังกล่าวมาใช้ในการถนอมอาหารเพื่อยับยั้งการเปลี่ยนแปลงสีและการเสื่อมสภาพ เพิ่มอายุการเก็บ และใช้ทดแทนสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ เช่น butylated hydroxyanisole (BHA) และ butylated hydroxytoluene (BHT) เป็นต้น รวมทั้งช่วยป้องกันการรวมตัวของสารอนุมูลหรือจับกับอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคและการเสื่อมสภาพของร่างกาย ปัจจัยหลายชนิดมีผลต่อการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทที่มีคุณสมบัติการต้านออกซิเดชัน ได้แก่ ปริมาณหรือชนิดของเอนไซม์ เอนไซม์ต่อสับเสตรท เวลาในการย่อย pH และอัตราส่วนน้ำต่อโปรตีน โดยสามารถหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทด้วยวิธีการประเมินพื้นผิวตอบสนอง

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากโปรตีนรำข้าวหอมมะลิ 105 ที่ถูกไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ทางการค้า Protex 6L โดยใช้วิธีการประเมินพื้นผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology; RSM) เพื่อให้ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าของโปรตีนจากรำข้าว โดยอาจนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อประโยชน์ด้านการป้องกันสุขภาพหรือรักษาโรคซึ่งจะส่งผลให้เกิดมูลค่าในเชิงพาณิชย์และประโยชน์ด้านสาธารณสุขต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

รำข้าวละเอียดจากการสีข้าวหอมมะลิ 105 จากบริษัท เค.ซี.รุ่งเรืองการเกษตร จำกัด จังหวัดขอนแก่น นำมาสกัดไขมันด้วยสารละลายเฮกเซน (Wang et al.,1999) ใช้อัตราส่วนรำข้าวต่อเฮกเซน 1:3 นาน 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องด้วยเครื่อง Solid extraction ผึ่งให้แห้งในตู้ดูดควันนาน 24 ชั่วโมง บดด้วยเครื่องบดอาหาร บรรจุแบบสุญญากาศและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°ซ สกัดโปรตีนจากรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันที่สภาวะด่างและตกตะกอนที่จุดไอโซอิเลกตริก (Gnanasambandam and Hettiarachchy,1995) ใช้อัตราส่วนรำข้าวต่อน้ำ 1:5 pH 11.0 นาน 45 นาที (Jiamyangyuen et al., 2005) เหวี่ยงแยกส่วนสารละลายที่ 11,000xg นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ตกตะกอนส่วนสารละลายที่จุดไอโซอิเลกตริก (Isoelectric pH, pI=4.5) เหวี่ยงแยกตะกอนโปรตีนที่ 11,000xg นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -30°ซ ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทโดยผ่านกระบวนการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า Protex 6L หยุดปฏิกิริยาการไฮโดรไลซิสโดยนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°ซ นาน 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น เหวี่ยงแยกส่วนสารละลายใสที่ 12,000xg นาน 30 นาที ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสท ได้แก่ ปริมาณโปรตีน (Lowry et al.,1951) ระดับการย่อยสลาย โดยพิจารณาจากปริมาณไนโตรเจนที่ละลายได้ในกรดไตรคลอโรอะซีติก 10% (Kim et al.,1996) และคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยหา Radical scavenging activity (RSA) เป็นการวัดความสามารถของตัวอย่างในการจับกับอนุมูลของ DPPH (Hou et al., 2001)

หาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทด้วยวิธีการประเมินพื้นผิวการตอบสนอง มี 2 ขั้นตอนคือ ขั้นตอนที่ 1 ใช้ Fractional Factorial design (FFD) เพื่อคัดเลือกตัวแปรที่สำคัญในการไฮโดรไลซิส โดยศึกษา 4 ตัวแปร ได้แก่ อัตราส่วนน้ำต่อโปรตีนรำข้าว (W/R) (2-6 โดยน้ำหนัก) อัตราส่วนเอนไซม์ต่อสับสเตรท (E/S) (1-5% โดยน้ำหนักโปรตีน) เวลา (t) (2-6 ชม.) และอุณหภูมิ (T) (50-60°ซ) กำหนดสภาวะของการเกิดปฏิกิริยาการไฮโดรไลซิสให้คงที่ที่ pH 8.0 วัดค่าตอบสนองคือ กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (RSA) ขั้นตอนที่ 2 ใช้ Central composite design (CCD) ในการวางแผนการทดลองและประเมินความเหมาะสมของสภาวะการทดลองด้วยวิธีการประเมินพื้นผิวตอบสนอง และใช้แบบจำลองจากการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยการถดถอยเชิงพหุทำนายค่าตอบสนอง

ผล

จากการคัดเลือกตัวแปรที่สำคัญของสภาวะไฮโดรไลซิสที่มีผลสำคัญต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้ FFD ศึกษา 4 ตัวแปร ได้แก่ อัตราส่วนน้ำต่อรำข้าว (X_1) อัตราส่วนเอนไซม์ต่อสับเสตรท (X_2) เวลา (X_3) และ อุณหภูมิ (X_4) กำหนดให้

แต่ละตัวแปรมี 3 ระดับ คือ -1 0 และ +1 (ตารางที่ 1) มีทั้งหมด 11 การทดลอง และการทดลองที่จุดตรงกลาง 3 ซ้ำ พบว่ามีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระตั้งแต่ 8.81 ถึง 36.25% (ตารางที่ 2) และ W/R เป็นตัวแปรที่มีความสำคัญต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าตัวแปรอื่น ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ 3)

Table 1 Factors and levels of FFD applied in rice protein hydrolysis

Factor	Level		
	-1	0	+1
W/R (w/w) : X_1	2	4	6
E/S (w/w) : X_2	1	3	5
Hydrolysis time (h.) : X_3	2	4	6
Temperature (°C) : X_4	50	55	60

Table 2 Experimental designs for the optimization

Experiment	W/R	E/S	Time	Temp.	RSA (%)
	X_1	X_2	X_3	X_4	
1	-1	-1	-1	-1	22.91
2	1	-1	-1	1	8.81
3	-1	-1	1	1	36.25
4	1	-1	1	-1	9.35
5	-1	1	-1	1	24.39
6	1	1	-1	1	11.23
7	-1	1	1	-1	35.99
8	1	1	1	-1	24.23
9	0	0	0	0	26.91
10	0	0	0	0	28.93
11	0	0	0	0	30.59

Table 3 Parameters estimates from regression analysis

Variable	DF	Parameter estimates	Standard error	T for H0: parameter =0	*P*-values
Intercept	1	24.44585	1.936794	12.62181	0.000
W/RH	1	-9.4043	2.294791	-4.09811	0.006
E/S	1	1.150704	2.294791	0.501442	0.634
Hydrolysis time	1	4.657185	2.519551	1.848419	0.114
Temperature	1	2.939296	2.294791	1.280856	0.248

จากการวางแผนการทดลองแบบ CCD เพื่อหาสภาวะเหมาะสมด้วยวิธีการประเมินพื้นผิวตอบสนอง โดยศึกษา 2 ตัวแปร ได้แก่ pH (X1) และ W/R (X2) กำหนดให้แต่ละตัวแปรใน CCD มี 5 ระดับ (ตารางที่ 4) คือ $-\alpha$ -1 0 1 และ $+\alpha$ มีทั้งหมด 13 การทดลอง และการทดลองที่จุดตรงกลาง 5 ซ้ำ พบว่า ให้ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระตั้งแต่ 14.14 ถึง 31.92% ปริมาณผลผลิตตั้งแต่ 22.78 ถึง 37.73% และระดับการย่อยสลายตั้งแต่ 14.43 ถึง 17.94% (ตารางที่ 5)

Table 4 Factor and Level of central composite design applied to rice dregs hydrolysis

Factor	Level				
	-1.41421(-α)	-1	0	1	+1.41421 (+α)
pH : X_1	7.3	7.5	8	8.5	8.7
W/R (w/w) : X_2	2.6	3	4	5	5.4

Table 5 Experimental design for the optimization experiment and experimental data

Experiment	pH	W/R	RSA (%)	Yield (%)	DH (%)
	X_1	X_2	Y_1	Y_2	Y_3
1	-1.0000	-1.0000	16.66	22.78	16.38
2	1.0000	-1.0000	16.58	25.64	16.26
3	-1.0000	1.0000	18.08	37.73	16.23
4	1.0000	1.0000	16.48	34.66	14.43
5	-1.4142	0.0000	20.77	24.88	15.77
6	1.4142	0.0000	14.14	27.24	15.10
7	0.0000	-1.4142	23.71	29.84	17.69
8	0.0000	1.4142	20.05	36.95	14.75
9	0.0000	0.0000	31.92	33.31	17.94
10	0.0000	0.0000	24.50	31.24	17.74
11	0.0000	0.0000	25.57	33.85	17.07
12	0.0000	0.0000	26.27	29.75	16.99
13	0.0000	0.0000	26.62	31.07	17.02

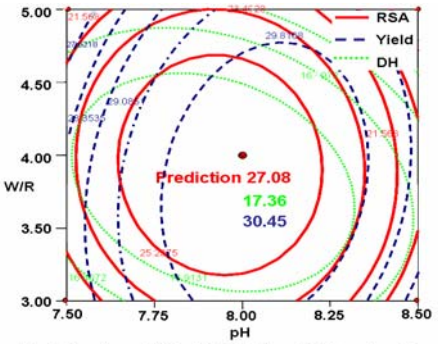

Fig. 1 Contour plot for RSA Yield and DH as a function of pH and W/R by keeping the other factors constant

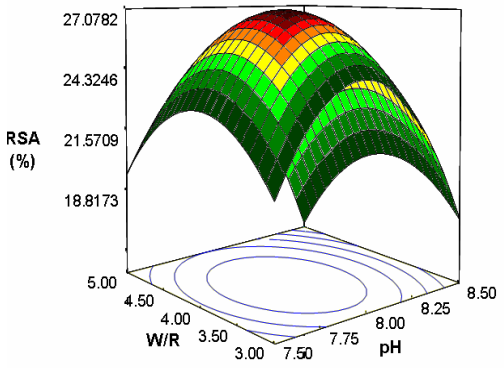

Fig. 2 Three-dimension plot for Radical scavenging activity (RSA) as A function of pH and W/R by keeping the other factor constant

วิจารณ์ผล

จากการคัดเลือกตัวแปรสำคัญของสภาวะไฮโดรไลซิสที่มีผลสำคัญต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้ FFD และวิเคราะห์การถดถอยของข้อมูล พบว่า W/R เท่านั้นที่มีความสำคัญต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ($p\leq0.05$) (ตารางที่ 3) จึงได้คัดเลือก pH เป็นอีกหนึ่งตัวแปรในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมโดยใช้ CCD (pH (x_1) และ W/R (x_2)) (จากการทดลองเบื้องต้น พบว่า ระดับ pH ที่ต่างกัน (7 8 และ 9) มีผลต่อค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)) เมื่อนำข้อมูลไปวิเคราะห์การถดถอยเชิงพหุ พบว่า สมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าตอบสนอง (กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (Y_1) ปริมาณผลผลิต (Y_2) และระดับการย่อยสลาย (Y_3)) และตัวแปร (pH (x_1) และ W/R (x_2)) คือ

$Y_1 = 26.98 - 5.44x_1^2 - 3.22x_2^2$ ($R^2=0.8155$)

$Y_2 = 30.48 - 2.14x_1^2 - 0.80x_2^2$ ($R^2=0.8952$)

$Y_3 = 17.35 - 0.42x_2 - 0.83x_1^2 - 0.94x_2^2$ ($R^2=0.8970$)

จาก Contour plot (รูปที่ 1) และ 3 Dimension plot (รูปที่ 2) พบว่า สภาวะเหมาะสมที่ให้ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด คือ pH=7.94 W/R=3.93 E/S = 3% t=4 ชม. และ T=55°ซ ให้ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ 27.08% ปริมาณผลผลิต 30.45% และระดับการย่อยสลาย 17.36% เมื่อทดสอบความถูกต้องของแบบจำลองดังกล่าวจากการทดลองผลิต 4 สภาวะ พบว่า ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณผลผลิต และระดับการย่อยสลายที่ได้จากการทดลองผลิตและจากการทำนายแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยระดับการย่อยสลายที่สูงขึ้นจะให้ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้นด้วย เนื่องจากระดับการย่อยสลายที่สูงจะทำให้เกิดเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Aluko and Monu (2003) ที่พบว่าเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะมีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าเปปไทด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง

สรุป

สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทจากรำข้าวหอมมะลิที่ให้ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด คือ pH=7.94 W/R=3.93 E/S = 3% t = 4 ชม. และ T = 55°ซ ให้ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ 27.08% ปริมาณผลผลิต 30.45% และระดับการย่อยสลาย 17.36% เมื่อทดสอบความถูกต้องของแบบจำลองดังกล่าว พบว่า ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณผลผลิต และระดับการย่อยสลายที่ได้จากการทดลองผลิตและจากการทำนายไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังนั้นแบบจำลองที่ได้จึงสามารถนำไปใช้เพื่อหาสภาวะเหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสทเพื่อให้มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดได้

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณผู้ให้ทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์จากศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยขอนแก่น และบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

วันชัย ตันติวิทยาพิทักษ์. 2541. ข้าวไทย: รสชาติ เมล็ดพันธุ์ และการเดินทาง, อ้างใน อรอนงค์ นัยวิกุล. 2547. ข้าว: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. น. 24.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J, Farr, A.L. and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Bio. Chem. 193: 265-275.

Gnanasambandam R, Hettiarachchy N.S. 1995. Protein concentrates from unstabilized and stabilized rice bran: properties. J. Food Sci.. 54(1): 142-145.

Wang M, Hettiarachchy N.S, Qi M, Burks W, Siebenmorgen T. 1999. Preparation and functional properties of rice bran protein isolate. Journal of Agriculture and Food Cemistry. 47(2): 411-416.

Aluko, R.E. and Monu, E. 2003. Functional and bioactive properties of quinoa seed protein hydrolysates. J. Food Sci. 68: 1254-1258.

Guo-qing, H., Guo-dong, X., Hui, R., Qi-He, C. and Ying, X. 2005. Optimization of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibition by rice dregs hydrolysates using response surface methodology. J. Zhejang Univ SCI. 6B(6) : 508-513.

Jiamyangyuen S, Srijesdarak V, Harper W.J. 2005. Extraction of rice bran protein concentrate and its application in bread. Songklanakarin Journal Science Technology. 27(1): 55-64.