

贮藏过程中酸败引起的米糠谷蛋白功能性质变化

Changes of rice bran glutelin functional properties caused by rancidity during storage

吴伟^{1,2} 叶建芬^{1,2} 蔡勇建^{1,2} 林亲录^{1,2}

WU Wei^{1,2} YE Jian-fen^{1,2} CAI Yong-jian^{1,2} LIN Qin-lu^{1,2}

(1. 中南林业科技大学食品科学与工程学院, 湖南长沙 410004;

2. 稻谷及副产物深加工国家工程实验室, 湖南长沙 410004)

(1. College of Food Science and Engineering, Center South University of Forestry and Technology, Changsha, Hunan 410004, China; 2. National Engineering Laboratory for Rice and By-product Deep Processing, Changsha, Hunan 410004, China)

摘要:将新鲜米糠在 25 ℃、相对湿度 85% 的条件下贮藏不同时间得到不同酸败程度米糠, 随后脱脂制备米糠谷蛋白, 研究米糠酸败对米糠谷蛋白功能性质的影响。结果表明: 米糠谷蛋白羰基含量随贮藏时间延长而增加, 表明米糠谷蛋白在贮藏过程中发生了氧化; 随着贮藏时间的延长, 米糠谷蛋白溶解性下降了 40%; 米糠谷蛋白持水性、持油性、起泡能力、泡沫稳定性、乳化性和乳化稳定性则随着贮藏时间延长均先上升后下降, 其中持水性和持油性分别在贮藏 3 d 和 1 d 后达到最大值, 分别为 212.61% 和 657.25%; 起泡能力和乳化性均在贮藏 1 d 后达到最大值, 分别为 75.06% 和 76.27 m²/g, 泡沫稳定性和乳化稳定性则在贮藏 3 d 后达到最大值, 分别为 69.30% 和 20.60 min。表明米糠短期贮藏可提高谷蛋白功能性质, 而长期贮藏则会降低。

关键词:米糠谷蛋白; 功能性质; 酸败; 贮藏; 蛋白质氧化

Abstract: Fresh rice bran which stored in a condition of 25 ℃ and 85% of relative humidity for different period were used to prepare different rancid extent of rice bran. Rice bran glutelin were prepared after defatting of rice bran, and effects of rice bran rancidity on the functional properties of rice bran glutelin were investigated. The results indicated that rice bran glutelin carbonyl content increased as storage time increased, which indicated that storage of rice bran lead to oxidation of rice bran glutelin. Solubility of rice bran glutelin decreased by 40% as storage time increased. As storage time in-

creased, water holding capacity, oil holding capacity, foaming capacity, foaming stability, emulsion activity, and emulsion stability of rice bran glutelin firstly increased, and then decreased. Water holding capacity and oil holding capacity reached maximum value of 212.61% and 657.25% after storage of 3 days and 1 day, respectively. Foaming capacity and emulsion activity reached maximum value of 75.06% and 76.27 m²/g after storage of 1 day, respectively. Foaming stability and emulsion stability reached maximum value of 69.30% and 20.60 min after storage of 3 days, respectively. The results indicated that short-term storage of rice bran had a positive effect on the functional properties, and long-term storage of rice bran had a negative effect on the functional properties of rice bran glutelin.

Keywords: rice bran glutelin; functional properties; rancidity; storage; protein oxidation

中国米糠资源丰富, 近年米糠年产量在 1 400 万 t 以上^[1]。米糠蛋白约占米糠重量的 12%~16%^[1], 因其具有低过敏性、高营养价值和合理的氨基酸组成等优点而备受瞩目^[2,3]。米糠蛋白中约含 22% 的谷蛋白, 米糠谷蛋白主要由多肽链彼此通过二硫键连接而成, 是米糠蛋白中主要的难溶性贮藏蛋白^[2,4,5]。蛋白质溶解性是影响蛋白质功能性质的关键因素^[6], 现有研究多从酶法改性^[4]、糖基化改性^[5]等角度来改善谷蛋白功能性质, 忽略了其在加工贮藏过程中可能发生的不良变化。

稻谷碾米后米糠中脂质与脂肪水解酶和氧化酶的接触面积迅速扩大而产生大量游离脂肪酸, 导致米糠酸败^[7]。虽然中国稻谷加工厂数量多, 但整体加工规模小、分散不均匀, 而且米糠稳定化设备多、投资大、生产成本低^[8], 仅少部分企业探寻“一分散, 两集中”的生产模式集中处理米糠及其制品^[7]。因而米糠在集中稳定化之前需进行贮藏, 贮藏过程中米糠酸败产生的游离脂肪酸极易氧化^[8,9], 氧化形成的脂质

基金项目:国家自然科学基金(编号:31201319);公益性行业(农业)科研专项(编号:201303071);湖南省教育厅项目(编号:14C1181);中南林业科技大学研究生科技创新基金(编号:CX2015B07)

作者简介:吴伟(1981—),男,中南林业科技大学副教授,博士。
E-mail:foodwuwei@126.com

通讯作者:蔡勇建

收稿日期:2015-05-27

自由基和脂质活性氧化产物可修饰蛋白质的主链和侧链基团,导致蛋白质氧化^[10,11],进而引起蛋白质功能性质改变^[10,12],目前尚未见米糠酸败导致米糠蛋白氧化的报道。本研究拟将新鲜米糠置于25℃、相对湿度85%条件下贮藏不同天数,采用不同酸败程度的米糠为原料脱脂制备米糠谷蛋白,研究米糠谷蛋白功能性质在酸败期间的变化规律,为充分利用米糠蛋白资源和提高米糠综合利用价值提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

新鲜米糠、大豆油:湖南粮食集团有限责任公司;

磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、氢氧化钠、盐酸、2,4-二硝基苯胂、十二烷基硫酸钠(SDS):分析纯,国药集团上海化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器与设备

高速落地离心机: Sorvall LYNX 6000 型,美国 Thermo Fisher 公司;

冷冻干燥机: FD5-4 型,美国 GOLD-SIM 公司;

冷冻水浴恒温振荡器: SHA-2A 型,北京中兴伟业仪器有限公司;

高速分散均质机: FA25 型,上海弗鲁克流体机械制造有限公司;

可见分光光度计: 722 型,上海精密科学仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 米糠预处理 将新鲜米糠过40目筛除杂质,随后置于25℃、相对湿度85%的恒温培养箱中,分别于贮藏0,1,3,5,10 d时取出得到不同酸败程度的米糠,根据文献^[13]制备脱脂米糠。

1.3.2 米糠谷蛋白的制备 根据文献^[4],修改如下:采用 Osborne 分级方法,将脱脂米糠以料液比1:8(*m*:*V*)与去离子水混合,在40℃条件下搅拌4 h后将悬浮液于4℃8 000 r/min 离心20 min;将沉淀继续以料液比1:8(*m*:*V*)与去离子水混合,在40℃条件下用2 mol/L NaOH 调pH值至9.5,搅拌4 h后将悬浮液于4℃8 000 r/min 离心20 min,取上清液用2 mol/L HCl 调pH至4.6,静置20 min后于4℃8 000 r/min 离心15 min,水洗沉淀3次,取蛋白沉淀分散于去离子水中,并用2 mol/L NaOH 调pH至7.0。最后于4℃8 000 r/min 离心30 min 除去少量杂质,冷冻干燥得到米糠谷蛋白。

1.3.3 米糠谷蛋白羰基含量的测定 参照文献^[10]。

1.3.4 米糠谷蛋白溶解性、持水性、持油性的测定 参照文献^[14]。

1.3.5 米糠谷蛋白起泡能力和泡沫稳定性的测定 根据文献^[12],修改如下:准确称量0.2 g 米糠谷蛋白样品置于已加入0.05 mol/L pH 7.0 磷酸盐缓冲液20 mL 的50 mL 烧杯中。使用高速分散均质机以10 000 r/min 均质30 s,连续3次约2 min,测量均质后的液面体积(记为 V_0),静置30 min 后再次读取液面体积(记为 V_{30})。按式(1)和(2)分别计算米

糠谷蛋白起泡能力和泡沫稳定性:

$$FC = \frac{V_0 - 20}{20} \times 100\% \quad (1)$$

$$FS = \frac{V_{30} - 20}{V_0 - 20} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

FC——米糠谷蛋白起泡能力,%;

FS——米糠谷蛋白泡沫稳定性,%;

V_0 ——均质后液面体积,mL;

V_{30} ——静置30 min 后液面体积,mL。

1.3.6 米糠谷蛋白乳化性和乳化稳定性的测定 根据文献^[12],修改如下:将米糠谷蛋白样品溶解于去离子水中,调整蛋白浓度为1 mg/mL。取1 mg/mL 蛋白溶液15 mL 与5 mL 大豆油混合于100 mL 烧杯中,于10 000 r/min 均质2 min 后立即取样。取20 μ L 米糠谷蛋白—大豆油乳状液与5 mL 0.1% SDS 均匀混合,以0.1% SDS 为空白,在500 nm 处测定吸光值(记为 A_0)。乳状液静置30 min 后采用相同的方法测定乳状液吸光值(记为 A_{30})。按式(3)和(4)分别计算米糠谷蛋白乳化性和乳化稳定性:

$$EAI = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times N}{C \times \varphi \times 10\,000} \quad (3)$$

$$ESI = \frac{A_0}{A_0 - A_{30}} \times 30 \quad (4)$$

式中:

EAI——米糠谷蛋白乳化性, m^2/g ;

ESI——米糠谷蛋白乳化稳定性,min;

A_0 ——空白吸光值;

A_{30} ——30 min 后乳状液吸光值;

N——稀释倍数,250;

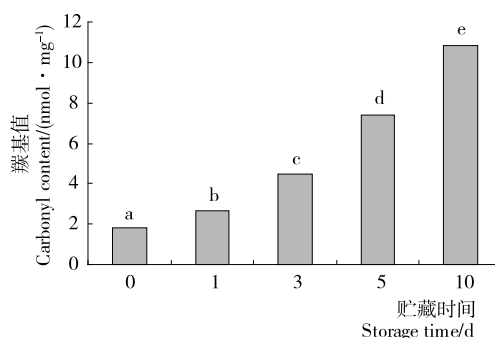
C——样品溶解液中蛋白质浓度,0.001 g/mL;

φ ——油相所占的分数,0.25。

2 结果与分析

2.1 贮藏过程中米糠谷蛋白羰基含量的变化

蛋白质羰基含量是现阶段评价蛋白质氧化程度最常用的指标^[15]。由图1可知,随着米糠贮藏时间的延长,米糠谷蛋白羰基含量明显上升,表明米糠谷蛋白在贮藏过程中发生



不同字母表示差异显著, $P < 0.05$

图1 贮藏过程中米糠谷蛋白羰基含量的变化
Figure 1 Changes of carbonyl content of rice bran glutelin during storage

了氧化。吴大伟等^[15]发现脱脂豆粕在常温贮藏过程中会发生脂质氧化反应,其反应产物会诱使蛋白氧化,使得蛋白羰基含量增加。米糠贮藏期间米糠谷蛋白羰基含量变化的原因可能是贮藏期间米糠发生不同程度的酸败^[9],酸败后的米糠极有可能发生类似于脱脂豆粕的脂质氧化反应,这些脂质氧化产物可诱使米糠中谷蛋白结构发生氧化性修饰^[10,11],使得米糠谷蛋白羰基化,进而导致蛋白羰基含量增加。

2.2 贮藏过程中米糠谷蛋白溶解性的变化

由图 2 可知,随着米糠贮藏时间的延长,米糠谷蛋白溶解性显著下降,降幅接近 40%,表明米糠谷蛋白在贮藏过程中形成了不可溶性聚集体。Khan 等^[16]发现米糠蛋白溶解性主要与蛋白质二、三级结构的破坏、聚集体的形成及交联程度有关;李彤等^[14]发现米谷蛋白在贮藏过程中溶解性下降的原因是巯基氧化形成二硫键,高分子量聚集体增加。米糠贮藏期间米糠谷蛋白溶解性的下降也可能与聚集体的形成有关,因为米糠酸败产生的脂质氧化产物可诱使蛋白质氧化^[10,12],使得米糠谷蛋白聚集,引起溶解性下降。米糠谷蛋白的低溶解性限制了蛋白分子在气-液界面和油-水界面的性质,进而制约了米糠谷蛋白在食品加工领域的应用^[6]。

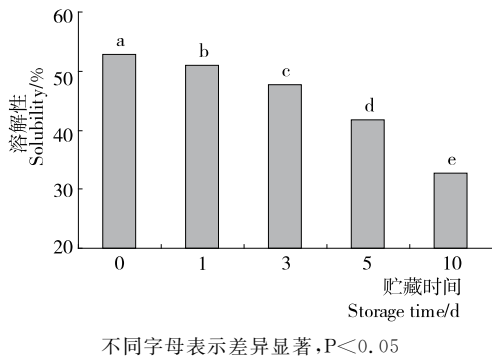
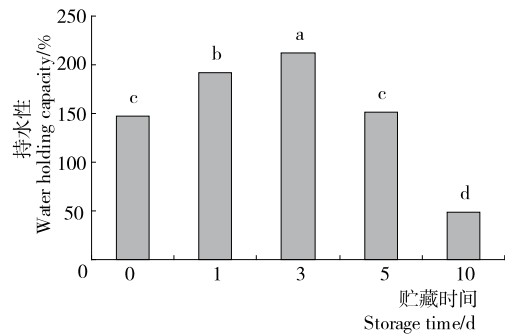


图 2 贮藏过程中米糠谷蛋白溶解性的变化

Figure 2 Changes of solubility of rice bran glutelin during storage

2.3 贮藏过程中米糠谷蛋白持水性的变化

由图 3 可知,随着米糠贮藏时间的延长,米糠谷蛋白持水性先上升后下降,贮藏 3 d 后达到最大值,为 212.61%。Khan 等^[16]发现米糠蛋白持水性的变化与蛋白结构以及疏水/亲水基团分布情况有关;李彤等^[14]发现米谷蛋白疏水基团的暴露以及聚集体的形成会制约蛋白质的水合能力,进而改变疏水/亲水基团的分布情况。米糠在贮藏过程中极易酸败,酸败过程中产生的游离脂肪酸氧化形成脂质自由基和活性次生脂质氧化产物,诱使米糠谷蛋白氧化^[10,11];贮藏初期谷蛋白氧化程度较低,蛋白结构局部展开并逐渐改变蛋白内部疏水/亲水基团分布,使得较多水分进入蛋白内部,进而增加了持水性;随着米糠贮藏时间的延长,米糠谷蛋白内部大量暴露的疏水基团以疏水相互作用形成不可溶性聚集体,再次改变蛋白内部的疏水/亲水基团分布情况,进而导致米糠谷蛋白持水性下降。



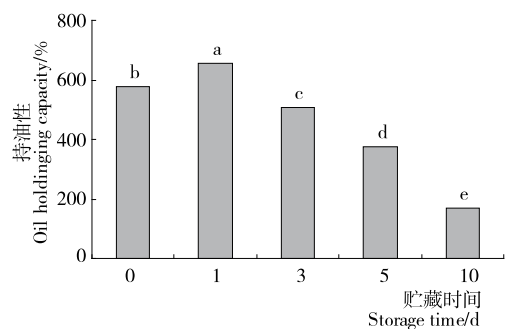
不同字母表示差异显著, $P < 0.05$

图 3 贮藏过程中米糠谷蛋白持水性的变化

Figure 3 Changes of water holding capacity of rice bran glutelin during storage

2.4 贮藏过程中米糠谷蛋白持油性的变化

由图 4 可知,随着米糠贮藏时间的延长,米糠谷蛋白持油性先上升后下降,贮藏 1 d 后达到最大值,为 657.25%。Zhang Hui-juan 等^[17]发现疏水性高低会影响米糠蛋白与脂质的结合能力,且疏水性较低的蛋白分子对脂质吸附的能力较差;吴伟等^[12]发现脂质过氧化产物诱使大豆蛋白氧化产生的不可溶性聚集体是导致蛋白质与脂质结合能力下降的主要原因。米糠贮藏初期谷蛋白持油性上升可能与谷蛋白表面疏水基团的暴露有关,暴露的疏水基团增加了谷蛋白对脂质的吸附能力,使得米糠谷蛋白持油性上升;随着贮藏时间的延长,米糠酸败加剧了米糠谷蛋白氧化,致使大量暴露的疏水基团形成不可溶性聚集体,降低了米糠谷蛋白与脂质的结合能力,导致米糠谷蛋白持油性降低。



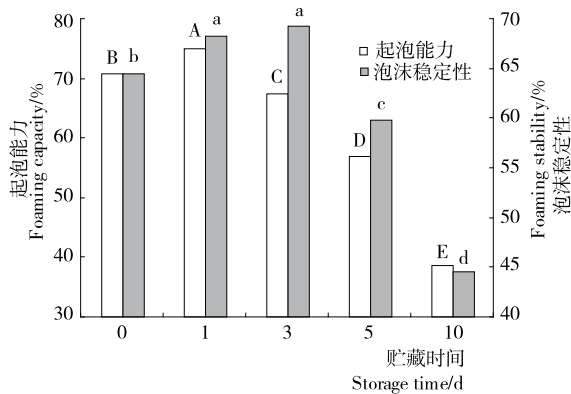
不同字母表示差异显著, $P < 0.05$

图 4 贮藏过程中米糠谷蛋白持油性的变化

Figure 4 Changes of oil holding capacity of rice bran glutelin during storage

2.5 贮藏过程中米糠谷蛋白起泡能力和泡沫稳定性的变化

具有良好溶解性和结构稳定性的蛋白质可降低蛋白质表面张力,使之迅速在气-液界面充分展开而形成兼具粘弹性和空气阻隔性的连续蛋白膜,从而展现出良好的起泡特性^[6,16],而蛋白质氧化则会导致蛋白溶解性和结构稳定性下降^[12]。由图 5 可知,随着米糠贮藏时间的延长,米糠谷蛋白起泡能力和泡沫稳定性先上升后下降,分别在贮藏 1 d 和 3 d 后达到最大值,为 75.06% 和 69.30%。米糠贮藏过程中酸败产生的游离脂肪酸极易氧化,形成的活性脂质氧化产物可导致米糠谷蛋白氧化^[10,11],进而影响米糠谷蛋白起泡性质。贮藏初期谷蛋白氧化程度较低,蛋白分子结构部分展开,易



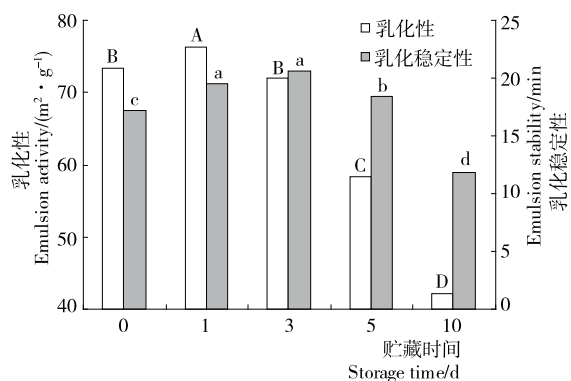
不同字母表示差异显著, P<0.05

图5 贮藏过程中米糠谷蛋白起泡能力和泡沫稳定性的变化
Figure 5 Changes of foaming capacity and foaming stability of rice bran glutelin during storage

使蛋白分子吸附至气-液界面而形成粘弹性和阻隔性良好的连续蛋白膜,使得起泡性质增加;随着米糠谷蛋白氧化程度的加深,不断暴露的疏水基团形成不可溶聚集体,既改变了蛋白分子的表面张力,也降低了气-液界面的稳定性,导致起泡能力和泡沫稳定性显著下降。

2.6 贮藏过程中米糠谷蛋白乳化性和乳化稳定性的变化

由图6可知,随着米糠贮藏时间的延长,米糠谷蛋白乳化性和乳化稳定性先上升后下降,分别在贮藏1d和3d后达到最大值,为76.27 m²/g和20.60 min。Zhang Hui-juan等^[17]发现疏水性较低的米糠蛋白吸附脂质的能力有限,乳化性质较差;尤梦圆等^[6]发现亲水亲油基团的暴露有利于脂质的吸附,进而形成稳定的油-水界面;吴伟等^[12]发现蛋白氧化后蛋白分子与脂质的结合能力降低,且油-水界面的稳定性逐渐丧失。贮藏期间米糠谷蛋白乳化性质的变化可能与持油性和疏水基团有关,贮藏初期蛋白内部的疏水基团逐渐暴露,增加了蛋白分子对脂质的吸附能力,使得更多亲油基团吸附至油-水界面而增强了米糠谷蛋白的乳化性质;随着贮藏时间的延长,之前大量暴露的疏水基团逐渐聚集成不可溶性聚集体,降低了米糠谷蛋白对脂质的吸附能力,油-水界面的稳定性也随之下降,因而米糠谷蛋白乳化性和乳化稳定性降低。



不同字母表示差异显著, P<0.05

图6 贮藏过程中米糠谷蛋白乳化性和乳化稳定性的变化
Figure 6 Changes of emulsion activity and emulsion stability of rice bran glutelin during storage

3 结论

将新鲜米糠贮藏不同天数后脱脂制备米糠谷蛋白,研究贮藏过程中酸败引起的米糠谷蛋白功能性质的变化。结果表明:米糠谷蛋白在贮藏过程中发生了氧化,且贮藏时间越长谷蛋白氧化程度越深;米糠谷蛋白溶解性随贮藏时间延长而下降,表明米糠谷蛋白在贮藏期间形成了不可溶性聚集体;米糠谷蛋白持水性、持油性、起泡性和乳化性在贮藏期间的变化趋势均先上升后下降,其中持油性、起泡能力和乳化性在贮藏1d后升至最大,米糠谷蛋白持水性、泡沫稳定性和乳化稳定性在贮藏3d后升至最大。由此可见,米糠在贮藏过程中酸败产生的游离脂肪酸会氧化形成活性脂质氧化产物,导致米糠谷蛋白氧化,进而影响米糠谷蛋白功能性质。贮藏过程中米糠酸败所引起的米糠谷蛋白结构变化有待进一步研究。

参考文献

- 吕飞,许宙,程云辉. 米糠蛋白提取及其应用研究进展[J]. 食品与机械,2014,30(3): 234~238.
- 康艳玲,王章存. 米糠蛋白研究现状[J]. 粮食与油脂,2006(3): 22~24.
- 孙术国,杨涛,林亲录,等. 加工方式对稻米抗氧化的影响[J]. 食品与机械,2014,30(6): 132~134,254.
- 王长远,郝天舒,程皓. 利用碱性蛋白酶酶解米糠谷蛋白及功能性的研究[J]. 粮食与饲料工业,2014(11): 32~36.
- 那治国,马永强,韩春然,等. 米糠谷蛋白干法糖基化改性的研究[J]. 食品科学,2013,34(2): 52~57.
- 尤梦圆,何东平,邹翀,等. 热稳定米糠粕和米糠低温浸出粕制备米糠蛋白的对比研究[J]. 中国油脂,2014,39(6): 45~48.
- 胡健华,双杨. 米糠稳定化技术研究[J]. 武汉工业学院学报,2013,32(1): 1~3.
- 胡健华,何东平,双杨,等. 隧道微波法米糠连续稳定化技术研究[J]. 粮食科技与经济,2014,39(4): 64~66.
- 周剑敏,危战强,汤晓智. 米糠的稳定化及功能性成分研究进展[J]. 农产品加工(学刊),2012(12): 89~93,137.
- Wu Wei, Hou Lu, Zhang Cai-meng, et al. Structural modification of soy protein by 13-hydroperoxyoctadecadienoic acid [J]. European Food Research and Technology, 2009, 229(5): 771~778.
- Stadtman E R, Levine R L. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins [J]. Amino Acids, 2003, 25(3~4): 207~218.
- 吴伟,蔡勇建,梁盈,等. 不同预处理对低温脱脂豆粕中大豆β-伴球蛋白功能性质的影响[J]. 现代食品科技,2014,30(8): 25~30.
- 许凤,王长远. 响应面法优化物理辅助碱法提取米糠蛋白工艺[J]. 食品科学,2014,35(20): 11~16.
- 李彤,吴晓娟,吴伟,等. 陈化对糯米米谷蛋白功能特性影响[J]. 粮食与油脂,2013,26(7): 22~24
- 吴大伟,陈星,洪琴,等. 常温储存和干热处理对豆粕蛋白质氧化的影响[J]. 中国粮油学报,2014,29(5): 90~94.
- Khan S H, Butt M S, Sharif M K, et al. Functional properties of protein isolates extracted from stabilized rice bran by microwave, dry heat, and parboiling[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011,59(6): 2 416~2 420.
- Zhang Hui-juan, Zhang Hui, Wang Li, et al. Preparation and functional properties of rice bran proteins from heat-stabilized defatted rice bran[J]. Food Research International, 2012,47(2): 359~363.