

米糠贮藏时间对 米糠球蛋白功能性质的影响

蔡勇建¹, 吴伟^{1,*}, 吴晓娟², 张琪¹, 叶建芬¹, 袁淑珺¹, 杨伟霞¹

(1.中南林业科技大学食品科学与工程学院, 稻谷及副产物深加工国家工程实验室, 湖南长沙 410004;

2.湖南粮食集团有限责任公司, 湖南长沙 410201)

摘要:以新鲜米糠为原料经不同时间贮藏后脱脂制备米糠球蛋白, 研究米糠贮藏时间对米糠球蛋白功能性质的影响。结果表明:随着米糠贮藏时间延长, 米糠球蛋白羰基含量增加, 表明米糠球蛋白在贮藏过程中发生了氧化; 新鲜米糠在 10 d 贮藏过程中, 米糠球蛋白溶解性从 66.30% 降低至 54.86%, 其他功能性质均先上升后下降, 其中起泡能力在贮藏 1 d 后达到最大值为 55.64%; 持水性、持油性、泡沫稳定性和乳化性均在贮藏 3 d 后达到最大值, 分别为 325.10%、533.55%、70.46% 和 74.92 m²/g, 乳化稳定性则在贮藏 5 d 后达到最大值, 为 21.27 min; 表明新鲜米糠短时间贮藏可改善米糠球蛋白持水性、持油性、起泡性和乳化性, 但长时间贮藏对这些功能性质产生负面影响。

关键词:米糠, 贮藏, 米糠球蛋白, 蛋白质氧化, 功能性质

Effect of storage time on the functional properties of rice bran globulin

CAI Yong-jian¹, WU Wei^{1,*}, WU Xiao-juan², ZHANG Qi¹, YE Jian-fen¹, ZHONG Shu-jun¹, YANG Wei-xia¹

(1.School of Food Science and Engineering, Central South University of Forestry and Technology,
National Engineering Laboratory for Rice and By-product Deep Processing, Changsha 410004, China;

2.Hunan Grain Group, Changsha 410201, China)

Abstract: Fresh rice bran which stored in a condition for different period were used as material to prepare rice bran globulin after defatting, and the effect of storage time on the functional properties of rice bran globulin were investigated. The results indicated that rice bran globulin carbonyl content were increased as storage time increased, which indicated that storage of rice bran lead to oxidation of rice bran globulin. As storage time of fresh rice bran from 0 d to 10 d, solubility of rice bran globulin were decreased from 66.30% to 54.86%, and other functional properties were first increased, and then decreased, which foaming activity of rice bran globulin after 1 d reached maximum value 55.64%, and water holding capacity, oil-absorbing capacity, foaming stability, and emulsifying activity after 3 d reached maximum value 325.10%, 533.55%, 70.46% and 74.92 m²/g, and emulsifying stability after 5 d reached maximum value 21.27 min. The results indicated that short time storage of fresh rice bran could improve the water holding capacity, oil-absorbing capacity, foaming and emulsification of rice bran globulin, but long time storage had a negative influence on these functional properties.

Key words: rice bran; storage; rice bran globulin; protein oxidation; functional properties

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)19-0054-04

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2015.19.002

我国每年生产稻谷 2 亿 t 以上, 若以 8% 出糖率计算米糠产量, 我国米糠年产量在 1000 万 t 以上。米糠中含有丰富的脂肪和蛋白质, 因而米糠油和米糠蛋白是米糠在食品加工领域的主要产品^[1]。米糠蛋白氨基酸组成合理, 起泡性和乳化性与大豆蛋白相当, 是一种来源丰富、营养价值高、功能性质良好的

食品加工配料^[2]。米糠蛋白是一种混合蛋白, 根据溶解性差异, 以 Osborne 分级法依次提取的清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白和谷蛋白质量比分别为 37:36:5:22, 其中超过米糠蛋白总含量三分之一的球蛋白主要是由单链组成的低分子量代谢蛋白, 具有诸多生理活性, 尤其对稻谷发芽早期生理作用的启动至关重要^[3]。

收稿日期: 2015-01-15

作者简介: 蔡勇建 (1989-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 粮油加工, E-mail: cai2097@163.com。

* 通讯作者: 吴伟 (1981-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 粮油加工, E-mail: foodwuwei@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金 (31201319); 湖南省教育厅项目 (14C1181); 湖南省科技计划专项 (2014GK4003); 长沙市科技计划重大专项 (K1404006-21); 中南林业科技大学研究生科技创新基金 (CX2015B07); 中南林业科技大学大学生创新研究项目。

米糠中含活性较强的脂肪水解酶和脂肪氧化酶,可导致米糠迅速酸败变质,因此米糠综合利用之前需要稳定化处理^[1]。目前我国大米生产企业分布广、规模小、产量低,而米糠稳定化设备投资高,很多中小型企业无力配备,因此普遍采用集中稳定化模式处理米糠,由于米糠分布较为分散,集中稳定化之前米糠已经发生了不同程度的酸败^[4]。米糠酸败过程中产生的大量脂质自由基和脂质活性氧化产物具有反应活性,可氧化修饰蛋白质结构^[5-6],进而影响蛋白质功能性质。目前没有米糠酸败导致米糠蛋白氧化的报道,本研究以不同贮藏时间米糠为原料脱脂制备米糠球蛋白,研究米糠贮藏时间对制备米糠球蛋白功能性质的影响,为开发米糠球蛋白和提高米糠综合利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

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、2,4-二硝基苯胍、十二烷基硫酸钠(SDS) 国药集团上海化学试剂有限公司;所用试剂均为分析纯。

Sorvall LYNX 6000 高速落地离心机 美国 Thermo Fisher 公司;FD5-4 冷冻干燥机 美国 GOLD-SIM 公司;SHA-2A 冷冻水浴恒温振荡器 北京中兴伟业仪器有限公司;FA25 高速分散均质机 上海弗鲁克流体机械制造有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 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% 恒温培养箱中,分别贮藏 0、1、3、5 和 10 d,取出得到不同酸败程度的米糠。将不同酸败程度米糠在室温条件下按 1:4(w/v) 的料液比与正己烷混合脱脂,振荡 30 min 后抽滤得到滤饼,滤液旋转蒸发回收正己烷,如此重复三次脱脂,将滤饼在通风橱中室温风干,制得的脱脂米糠置于 4℃ 保存备用。

1.2.2 米糠球蛋白的制备 参考王长远等^[3]方法制备米糠球蛋白。将脱脂米糠以 1:8(w/v) 料液比与去离子水混合,在 40℃ 条件下搅拌 2 h 后,将悬浮液在 4℃ 条件下 8000 r/min 离心 20 min,弃上清取沉淀;将沉淀与 2% NaCl 溶液混合,在 40℃ 条件下继续搅拌 2 h 后,将悬浮液在 4℃ 条件下 8 000 r/min 离心 20 min,上清液用 2 mol/L 盐酸调 pH 至 4.3,静置 20 min 后在 4℃ 条件下 8000 r/min 离心 15 min,水洗沉淀三次,取蛋白沉淀分散于去离子水中并用 2 mol/L NaOH 调 pH 至 7.0。最后在 4℃ 条件下 8000 r/min 离心 30 min 除去少量杂质,冷冻干燥得到米糠球蛋白。

1.2.3 米糠球蛋白羰基含量的测定 采用 2,4-二硝基苯胍比色法^[5],以 22000 (mol/L)⁻¹cm⁻¹ 消光系数计算每毫克蛋白质羰基衍生物的摩尔数。

1.2.4 米糠球蛋白溶解性的测定 将米糠球蛋白分散于去离子水中,磁力搅拌 2 h 后,室温条件 10000 r/min 离心 20 min,收集上清液。随后采用微量凯氏定氮法测定上清液中可溶解氮含量,蛋白质

溶解性表示为可溶解氮与样品中总氮的百分比。

1.2.5 米糠球蛋白持水性的测定 参考张海晖等^[7]方法。预先称取离心管的质量 m_1 ,再准确称取 0.2 g 左右米糠球蛋白样品(m_2)置于预先称重过的离心管中。逐步向离心管中加去离子水(共计 6~8 mL),每加一次水就用玻璃棒将样品搅匀,并在管壁上擦干玻璃棒,于 3000 r/min 离心 20 min,倒去上清液,称重质量 m_3 。若无上清液,则应再加水搅拌离心,至离心后有少量上清液为止。

$$\text{米糠球蛋白持水率}(\%) = \frac{m_3 - m_2 - m_1}{m_2} \times 100$$

1.2.6 米糠球蛋白持油性的测定 参考张海晖等^[7]方法。预先称取离心管的质量 M_1 ,再准确称取 0.2 g 左右米糠球蛋白样品(M_2)置于预先称重过的离心管中。逐步向离心管中加大豆油 4 mL,用玻棒轻轻搅拌,分散至无明显颗粒,再用吸管取 2 mL 大豆油冲洗玻棒和管壁,3000 r/min 离心 20 min,吸去上层未吸附油,称重质量 M_3 。

$$\text{米糠球蛋白持油率}(\%) = \frac{M_3 - M_2 - M_1}{M_2} \times 100$$

1.2.7 米糠球蛋白起泡能力和泡沫稳定性的测定 参考 Zhang 等^[8]方法。准确称量 0.2 g 左右的米糠球蛋白样品置于已加入 20 mL 磷酸盐缓冲液(0.05 mol/L, pH7.0)的 50 mL 烧杯中。使用高速分散均质机以 10000 r/min 的速度均质 30 s,连续 3 次共计 2 min,记录均质后的泡沫体积,记为 V_0 ,静置 30 min 后再次记录泡沫体积,记为 V_{30} 。

$$\text{米糠球蛋白起泡能力}(\%) = \frac{V_0 - 20}{20} \times 100$$

$$\text{米糠球蛋白泡沫稳定性}(\%) = \frac{V_{30} - 20}{V_0 - 20} \times 100$$

1.2.8 米糠球蛋白乳化性和乳化稳定性的测定 参考 Zhang 等^[8]方法。将米糠球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 大豆油混合放入 100 mL 烧杯中,于 10000 r/min 均质 2 min 后立即开始取样。取 20 μ L 米糠蛋白-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})。

$$\text{米糠球蛋白乳化性}(\text{m}^2/\text{g}) = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times N}{C \times \varphi \times 10000}$$

$$\text{米糠球蛋白乳化稳定性}(\text{min}) = \frac{A_0}{A_0 - A_{30}} \times 30$$

式中: N :稀释倍数(250); C :样品溶解液中蛋白浓度(0.001 g/mL); φ :油相所占的分数(0.25)。

1.3 数据统计分析

实验结果用“平均值 + 标准偏差”表示,重复三次。显著性采用 SPSS20.0 软件统计分析, $p < 0.05$ 为显著差异。

2 结果与分析

2.1 贮藏时间对米糠球蛋白羰基含量的影响

目前评价蛋白质氧化程度最常见的指标是蛋白质羰基含量。米糠贮藏时间对米糠球蛋白羰基含量

的影响如图1所示,新鲜米糠制备米糠球蛋白羰基值为1.28 nmol/mg,随着米糠贮藏时间延长,米糠球蛋白羰基含量不断增加,贮藏10 d后达到最大值为5.04 nmol/mg。米糠中含有活性较强的脂肪水解酶和脂肪氧化酶,这些酶在米糠贮藏期间可迅速分解脂质产生游离脂肪酸、发生脂质过氧化反应,造成米糠酸败。米糠酸败过程中产生的脂质自由基和脂质活性氧化产物具有生物活性,可诱使蛋白质结构发生氧化性修饰,引起蛋白质氧化^[1,5-6]。田其英^[9]发现低变性脱脂豆粕在常温和低温储存过程中发生脂质氧化反应,其脂质氧化产物可诱使大豆蛋白氧化,使蛋白羰基含量增加。米糠酸败期间同样存在类似脱脂豆粕的脂质氧化体系,因而贮藏期间米糠球蛋白羰基含量的变化极有可能是米糠酸败产生的脂质氧化产物诱使米糠球蛋白氧化,使蛋白质羰基化,从而造成米糠球蛋白羰基含量增加。

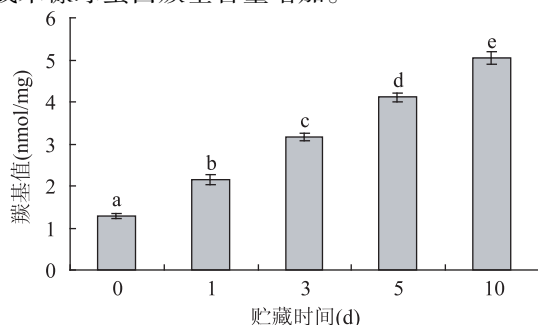


图1 贮藏时间对米糠球蛋白羰基含量的影响

Fig.1 Effect of storage time on the

protein carbonyl content of rice bran globulin

注:不同小写字母或大写字母表示显著差异,
 $p < 0.05$;图2~图6同。

2.2 贮藏时间对米糠球蛋白溶解性的影响

良好的溶解性是蛋白质功能性质在食品加工领域应用的前提和基础^[10]。米糠贮藏时间对米糠球蛋白溶解性的影响如图2所示,新鲜米糠制备米糠球蛋白溶解性为66.30%,随着米糠贮藏时间的延长,米糠球蛋白溶解性显著降低,贮藏10 d后降至最低值为54.86%。米糠球蛋白溶解性下降可能是由于米糠酸败产生的脂质自由基和脂质活性氧化产物诱使米糠球蛋白氧化,使米糠球蛋白共价交联形成不可溶性聚集体,导致米糠球蛋白溶解性降低。

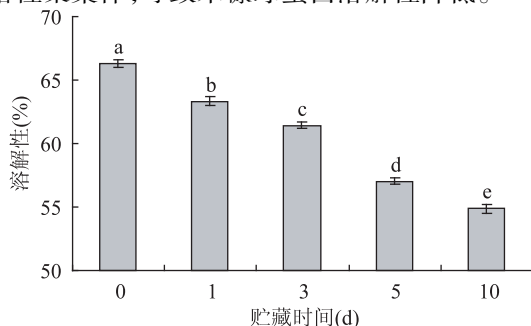


图2 贮藏时间对米糠球蛋白溶解性的影响

Fig.2 Effect of storage time on solubility of rice bran globulin

2.3 贮藏时间对米糠球蛋白持水性的影响

米糠贮藏时间对米糠球蛋白持水性的影响如图3所示,新鲜米糠制备米糠球蛋白持水性为281.03%,随着米糠贮藏时间的延长,米糠球蛋白持水性呈现先增加后下降的变化趋势,并且在贮藏3 d后达到最大值为325.10%。Cao等^[10]发现不同谷物蛋白的持水能力随着蛋白质结构稳定性变化而改变,尤其与蛋白质疏水/亲水基团的分布有密切关系。米糠球蛋白在贮藏过程中的变化可能是短期贮藏时米糠球蛋白氧化程度较低,米糠球蛋白结构缓慢展开,逐渐改变米糠球蛋白内部的疏水/亲水基团分布情况,使得较多水分进入米糠球蛋白内部,从而提高了米糠球蛋白的持水能力;随着贮藏时间不断延长,蛋白氧化程度明显加深并生成羰基衍生物等大分子物质,使得米糠球蛋白结构稳定性下降,进而导致米糠球蛋白持水性下降。

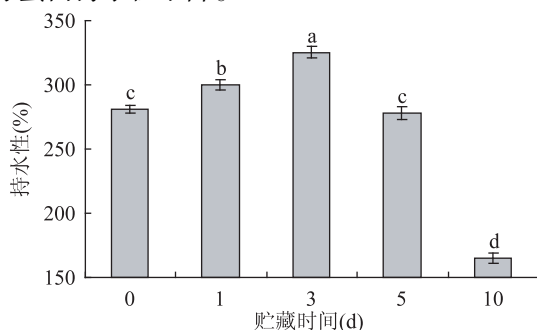


图3 贮藏时间对米糠球蛋白持水性的影响

Fig.3 Effect of storage time on

water holding capacity of rice bran globulin

2.4 贮藏时间对米糠球蛋白持油性的影响

米糠贮藏时间对米糠球蛋白持油性的影响如图4所示,米糠球蛋白持油性随着贮藏时间的延长先上升后下降,且在贮藏3 d后达到最大值为533.55%。Zhang等^[8]发现稳定化处理脱脂米糠所制备的米糠蛋白持油性主要与其结构变化和内部疏水基团暴露有关。米糠贮藏过程中米糠持油性的变化可能是米糠贮藏初期米糠球蛋白氧化程度较低,不断暴露的疏水基团增加了米糠球蛋白与脂质的吸附能力;随着贮藏时间的延长,米糠蛋白氧化程度加深使得暴露的疏水基团通过疏水相互作用交联形成聚集体,导致米糠球蛋白结构稳定性降低,并限制了米糠球蛋白对脂质的吸附能力,使得米糠球蛋白持油性显著下降。

2.5 贮藏时间对米糠球蛋白起泡能力和泡沫稳定性的影响

蛋白质的起泡性质与其溶解性相关,一般而言,溶解性较好的蛋白质,其结构易于展开而能在溶液形成稳定的气-液界面,从而展现出良好的起泡性质^[2]。米糠贮藏时间对米糠球蛋白起泡能力和泡沫稳定性的影响如图5所示,随着贮藏时间的延长,米糠球蛋白起泡能力和泡沫稳定性均呈现先增加后降低的趋势,不同的是米糠球蛋白起泡能力在贮藏1 d后达到最大值为55.64%;而泡沫稳定性则在贮藏3 d后达到最大值为70.46%。米糠贮藏过程中米糠起泡性的变化可能是米糠贮藏初期米糠球蛋白氧化

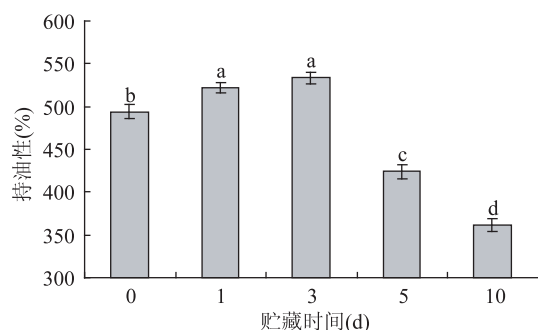


图4 贮藏时间对米糠球蛋白持油性的影响

Fig.4 Effect of storage time on

oil-absorbing capacity of rice bran globulin

程度较低,此时米糠球蛋白结构局部展开,较多蛋白分子快速吸附至气-液界面而形成粘弹性和空气阻隔性良好的连续蛋白膜,提升了米糠球蛋白的起泡性质;随着贮藏时间不断延长,米糠球蛋白氧化程度显著加深,不断暴露的疏水基团聚集形成不可溶性聚集体,使米糠球蛋白的结构稳定性和溶解性下降,导致米糠球蛋白表面张力下降而无法形成粘弹性良好的连续蛋白膜,进而降低了米糠球蛋白的起泡能力和泡沫稳定性。

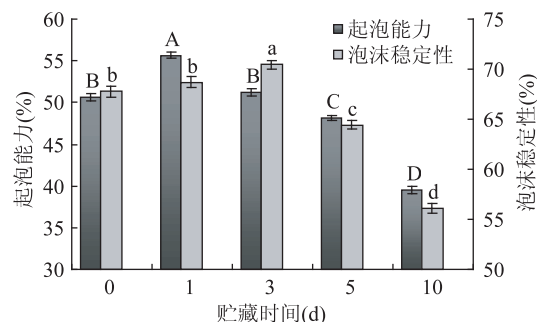


图5 贮藏时间对米糠球蛋白起泡能力和泡沫稳定性的影响

Fig.5 Effect of storage time on foaming capacity

and foam stability of rice bran globulin

2.6 贮藏时间对米糠球蛋白乳化性和乳化稳定性的影响

米糠贮藏时间对米糠球蛋白乳化性和乳化稳定性的影响如图6所示。米糠球蛋白乳化性和乳化稳定性均呈现先增加后下降的趋势,不同的是米糠球蛋白乳化性在贮藏3 d后达到最大值为74.92 m²/g;而乳化稳定性则在贮藏5 d后达到最大值为21.27 min。Khan等^[11]在研究不同稳定化处理对米糠蛋白功能性质的影响时发现,米糠蛋白疏水基团的暴露和蛋白表面静电斥力的分布是引起米糠蛋白乳化特性改变的重要因素;Zhang等^[8]也发现溶解性越好的米糠蛋白越易吸附脂质,进而形成稳定的油-水界面。米糠球蛋白在贮藏初期的变化可能主要由于蛋白氧化引起分子内部疏水基团暴露,使分子中亲油基团吸附至油-水界面而增加了米糠球蛋白与脂质的结合能力,提高了米糠球蛋白的乳化特性;随着贮藏时间的延长,米糠球蛋白氧化程度加深,一方面使大量暴露的疏水基团通过疏水相互作用聚集形成不可溶性聚集体,降低了米糠球蛋白的溶解性,另一方面改变

了蛋白表面静电斥力,使得油-水界面稳定性下降,从而导致米糠球蛋白乳化性和乳化稳定性降低。

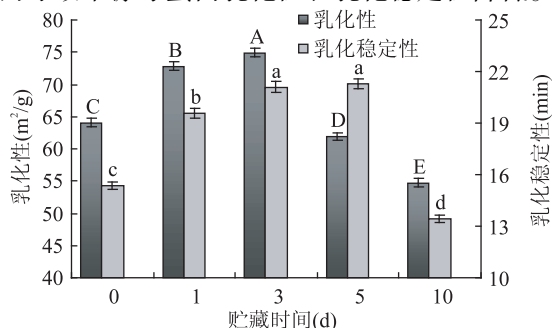


图6 贮藏时间对米糠球蛋白乳化性和乳化稳定性的影响

Fig.6 Effect of storage time on emulsification

and emulsion stability of rice bran globulin

3 结论

将新鲜米糠贮藏不同时间后脱脂制备米糠球蛋白,研究米糠贮藏时间对米糠球蛋白功能性质的影响。结果发现:随着米糠贮藏时间延长,米糠球蛋白巯基含量不断增加,随之米糠球蛋白溶解性下降;同时,米糠球蛋白持水性、持油性、起泡能力、泡沫稳定性、乳化性和乳化稳定性均呈现先上升后下降的趋势。表明米糠短期贮藏可部分提高米糠球蛋白功能性质,而长时间贮藏则会降低米糠球蛋白的功能性质,进而影响米糠球蛋白在食品加工领域的应用。

参考文献

- [1] 史乐伟,王珂,邓红,等.射频加热灭酶处理对米糠稳定性和品质的影响[J].食品工业科技,2014,35(12):113-117.
- [2] Chandi G K, Sogi D S. Functional properties of rice bran protein concentrates[J]. Journal of Food Engineering, 2007, 79: 592-597.
- [3] 王长远,许凤,程皓.响应面优化碱性蛋白酶酶解米糠球蛋白工艺的研究[J].农产品加工(学刊),2014,8:18-21,24.
- [4] 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.
- [5] Wu W, Hou L, Zhang C M, et al. Structural modification of soy protein by 13-hydroperoxyoctadecadienoic acid[J]. European Food Research and Technology, 2009, 229(5): 771-778.
- [6] 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.
- [7] 张海晖,武妍,段玉清,等.亚临界水萃取米糠蛋白工艺与功能特性研究[J].农业机械学报,2011,42(11):139-143.
- [8] Zhang H J, Zhang H, Wang L, et al. Preparation and functional properties of rice bran proteins from heat-stabilized defatted rice bran[J]. Food Research International, 2012, 47: 359-363.
- [9] 田其英.脱脂豆粕氧化及其对分离蛋白凝胶性的影响[D].无锡:江南大学,2008.
- [10] Cao X H, Wen H B, Li C J, et al. Differences in functional properties and biochemical characteristics of congenetic rice proteins[J]. Journal of Cereal Science, 2009, 50: 184-189.
- [11] 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: 2416-2420.