

稻米中脂肪氧化酶分布及其在贮藏期间的变化

The study on the distribution and the change regularity of lipoxidase in rice

王丽群

孟庆虹

张志宏

严松

卢淑雯

WANG Li-qun MENG Qing-hong ZHANG Zhi-hong YAN Song LU Shu-wen

(黑龙江省农业科学院食品加工研究所, 黑龙江 哈尔滨 150086)

(Food Processing Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural
Science, Harbin, Heilongjiang 150086, China)

摘要:以稻谷为试验对象,测定脂肪氧化酶在稻谷颗粒中的分布情况,并对不同加工条件下稻米产品的加工精度及脂肪氧化酶活力残留情况进行分析,通过 28 d 不同贮藏温度下的贮藏试验,对稻米中脂肪氧化酶在贮藏期间的变化规律进行探讨。结果表明:稻米中的脂肪氧化酶在各生理结构层中分布不均匀,且以米胚中的活力最高;同时,稻米中脂肪氧化酶活力随加工精度的增强呈下降趋势;贮藏期间,米糠中的脂肪氧化酶活力随贮藏时间的延长变化差异不显著,但其在高于 30 ℃ 条件下贮藏时则表现出不稳定的特性。通过对脂肪氧化酶在稻米中的生理分布及贮藏变化分析,为开发不同加工精度获得的稻米制品及其相应产品贮藏方法提供理论依据。

关键词:稻米;加工精度;脂肪氧化酶;贮藏

Abstract: Some rice products processed roughly always have plentiful nutrition, and their storage property could be affected by lipoxidase greatly. In this study, rice was used to analyze the distribution of lipoxidase in relevant products, as well as the factors of different processing precision influencing on the residual activity of lipoxidase. Moreover, the change regularity of lipoxidase under different temperatures was investigated in the 28-day-stored rice. Our results showed that lipoxidase was distributed pocketily in different structural parts of rice, and the activity of lipoxidase was highest in the embryo layer and was correlated to the processing precision negatively. The activity of lipoxidase in rice bran was not changed obviously during the duration of storage at 28 ℃, but it appeared unstable

when the storage temperature was over 30 ℃. This study provided the theoretical basis to the development of new rice products and the related storage technique of the products processed with different precision.

Keywords: rice; processing precision; lipoxidase; storage

脂类物质在稻米中的含量虽然很低,仅占稻谷的 0.6%~3.9%,但其在贮藏过程中的劣变速度却最快,对稻米的风味和质地影响最大^[1-2]。脂类物质通常以完整的球体形式稳定存在于稻米细胞中,但当脂肪球膜经受磷脂酶作用、物理损伤和高温破坏以后,脂类就会开始水解,随着游离脂肪酸含量的增加,脂肪氧化酶直接作用于脂肪酸,产生多种氧化产物及陈米臭,进而影响稻米品质^[3]。此外,脂肪氧化酶对三酰甘油也具有较强的活性,还能催化含 1,4-戊二烯结构的多不饱和脂肪酸(如亚油酸和亚麻酸)的过氧化反应,使之变成结合态的过氧化脂肪酸,而脂肪氧化酶是严重影响稻米制品贮藏质量安全的一种脂类代谢相关酶类^[3-4]。

随着人们对膳食营养均衡要求的普遍化,市场上的稻米产品逐渐由普通精白米向留胚米或发芽糙米等营养丰富的米制品发展^[5]。研究^{[6]1-5}表明,各类活性物质在稻谷不同生理结构层中的分布不同,与精白米相比,留胚米和发芽糙米的货架期相应要短,可能是后者的多不饱和脂肪酸含量较多。此外,经不同加工精度获得的米制品中脂类代谢相关酶的残留也是影响后者贮藏特性的重要原因^{[6]6-7}。

近年来,关于稻米中脂肪氧化酶的研究较多,但以脂肪氧化酶活力的测定^[7-8]、脂肪氧化酶基因缺失^[9]、稻米品种的筛选及其对精白米贮藏特性的影响为主^[10],对稻米储藏期间酶系变化规律的研究,目前^[11-12]多集中在稻谷中过氧化氢酶、过氧化物酶和多酚氧化酶的活性在储藏期间的变化规律,及其稻谷储藏期间稻米品质劣变程度分析及保护方面,而关于加工精度对稻米中脂肪氧化酶残留活力的影响及残留脂肪氧化酶在贮藏期间活力变化规律的研究尚未见相

基金项目:农业部公益性行业(农业)专项(编号:201403063);黑龙江省农业科学院引进博士人员科研启动金(编号:201507-47);现代农业产业技术体系建设专项资金资助项目(编号:CARs-01-34)

作者简介:王丽群,女,黑龙江省农业科学院食品加工研究所工程师,博士。

通讯作者:卢淑雯(1968—),女,黑龙江省农业科学院食品加工研究所研究员,博士。E-mail:shuwenl@sina.com

收稿日期:2015-11-08

关报道。本研究拟以稻米中催化脂肪氧化劣变的脂肪氧化酶为研究对象,对不同加工精度下稻米结构层的破坏程度、残留脂肪氧化酶在稻米结构外层的分布情况进行测定和分析,为开发不同加工精度要求的稻米制品提供理论支持,并为不同加工精度获得的稻米制品的生产和贮藏方法提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

稻米:以黑龙江省农业科学院水稻研究所培育的主栽品种 X 作为试验样品;

脂肪氧化酶:≥5 万 U/mg,美国 Sigma 公司;

亚油酸:化学纯,天津市精细化工研究所。

1.1.2 主要仪器设备

砻谷机:FC-2K 型,日本山本公司;

实验用碾米机:TM-05 型,日本佐竹公司;

紫外分光光度计:CARY100 型,美国瓦里安技术中国有限公司;

锤式旋风磨:JXFM110 型,上海嘉定粮油仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 稻米碾磨工艺 稻谷经砻谷机除去稻壳后,收集糙米,根据文献[13]的碾磨方法,修改如下:碾米机使用前需预热 5~10 min,准确称量样品 200 g,砂辊目数为 24 目,转速 832 r/min,在不同的时间点收集样品,用于后续测定分析。

1.2.2 稻米加工精度的测定 以糙米为原料,采用实验用碾米机,按 1.2.1 的方法碾磨制备稻米样品,分别收集碾磨时间为 2,4,8,12 min 获得的加工米,对其留胚率和碾白率进行测定。

(1) 留胚率的测定:取 300 粒样品,按胚芽大小将加工米分类,其中糙米碾白后保留全胚或平胚的为 1 型、保留半胚或部分残胚的为 0.5 型、无胚的为 0 型。按式(1)进行留胚率的计算,重复 3 次试验。

$$c = \frac{1 \times m_1 + 0.5 \times m_2}{m} \times 100\%, \tag{1}$$

式中:

c ——留胚率,%;

m ——样品总粒数,个;

m_1 ——1 型粒数,个;

m_2 ——0.5 型粒数,个。

(2) 碾白率测定:重量法。取整粒糙米 1 000 粒,称重,记为 W_0 ,取碾磨成不同加工精度的加工米 1 000 粒,称重,记为 W_1 ,按式(2)计算碾白率 Y_2 ,重复 3 次试验。碾白率一般控制在(92±0.5)%范围内。

$$Y_2 = W_1/W_0 \times 100, \tag{2}$$

式中:

Y_2 ——黏白率,%;

W_1 ——加工米 1 000 粒重,g;

W_2 ——整粒糙米 1 000 粒重,g。

1.2.3 稻米脂肪氧化酶活力的测定

(1) 底物配制:取 0.4 mL 亚油酸(化学纯)滴加 10% NaOH 0.5 mL,使全部溶解,定容到 100 mL,溶液透明无色。取此溶液 20 mL,加 0.1 mL 吐温 60,加 0.2 mol/L pH 9.0 硼酸缓冲液定容到 100 mL,备用。使用前,再将此溶液稀释 40 倍,使亚油酸的含量为 2.88 mmol/L。

(2) 酶粗提液:取稻米样品 1 g,加 25 mL 磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L,pH 7.5),4 ℃ 震荡提取 30 min,8 000 r/min 离心 10 min,取上清,存于冰箱中备用。

(3) 测定方法:取上述底物 2.8 mL,酶液 0.2 mL,测定时混合均匀,空白为底物加灭活的酶提取液,在 234 nm 处观察 OD 值的变化,记录 1 min 内 OD 值变化数据,重复 3 次试验。

(4) 脂肪氧化酶活力计算:在 25 ℃,pH 9.0,反应时间 1 min 的条件下,以亚油酸为底物的 3 mL 反应体系于 234 nm 处的吸光值增加 0.001 计为一个活力单位,计算公式:

$$EA_{LOX} = (OD_{60'} - OD_{0'})/0.001, \tag{3}$$

式中:

EA_{LOX} ——脂肪氧化酶活力,Units;

$OD_{60'}$ ——60 s 时生成过氧化物的吸光值;

$OD_{0'}$ ——0 s 时生成过氧化物的吸光值。

1.2.4 稻米中脂肪氧化酶的分布 取 2 kg 稻谷,砻谷机去除稻壳后,按 1.2.1 的方法碾磨 5 min,先制备留胚米,收集米糠层,备用;留胚米一部分用来收集米胚备用,一部分放入碾米机中继续碾磨至精白米,分别收集留胚米层和精白米;用锤式旋风磨将精白米磨成米粉,备用。按 1.2.3 的方法分别对制备的米糠层、留胚米层、米胚和精白米粉中的脂肪氧化酶活力进行测定,重复试验 3 次。

1.2.5 加工精度对脂肪氧化酶活力的影响 以糙米为原料,采用实验用碾米机,按 1.2.1 的方法逐层碾磨,收集碾磨时间为 2,4,8,12 min 时获得的米糠,按 1.2.3 的方法分别对其脂肪氧化酶活力进行测定,重复试验 3 次。

1.2.6 贮藏试验 混合不同碾磨时间获得的米糠,贮藏温度为-20,4,16,30 ℃,贮藏时间为 1,3,7,14,28 d,按 1.2.3 的方法分别对米糠中的脂肪氧化酶活力进行测定,重复试验 3 次。

2 结果与讨论

2.1 稻米加工精度的测定

采用人工计算方法对不同加工精度稻米的碾白率和留胚率进行测定,见表 1。由表 1 可知,碾磨 12 min 以内,碾白率均较高,都在 90%以上;碾磨 8 min 以内,留胚率均高于 80%(留胚米碾制基本标准^[14]),而碾磨 12 min 后,留胚率降至 80%以下。从试验结果可以看出,随着碾磨时间的延长稻米样品的碾白率和留胚率不断下降,胚芽保有率越高,碾白率越高。

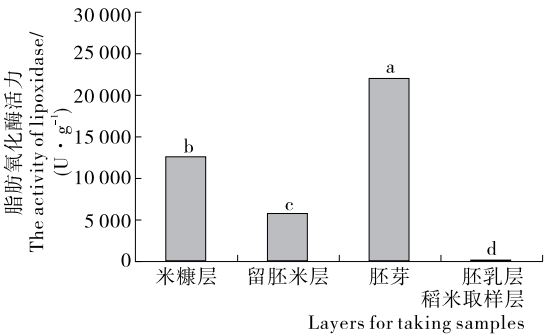
2.2 稻米中脂肪氧化酶的分布

对稻米进行分级碾磨,获得其米糠层、留胚米层、胚芽及

胚乳层,由脂肪氧化酶的测定结果(见图 1)可知,除胚芽外,稻米中脂肪氧化酶的活力由外到内差异显著($P<0.05$),并由此得出脂肪氧化酶在稻米的生理结构层中分布并不均一,而是由外至内逐层递减,以米胚中活力最高,米胚中脂肪氧化酶含量较高是导致保留米胚的留胚米制品及保留所有种皮在内的发芽糙米制品迅速酸败而难于贮藏的主要原因。

表 1 不同碾磨时间下稻米碾白率和留胚率的测定(1 000 粒)
Table 1 The determination of the whitening rate and the embryo rate of rice under different milling time (1 000 granule)

碾磨时间/min	碾白率/%	留胚率/%
2	99.25	89.92
4	96.14	86.75
8	95.01	86.25
12	94.11	79.00



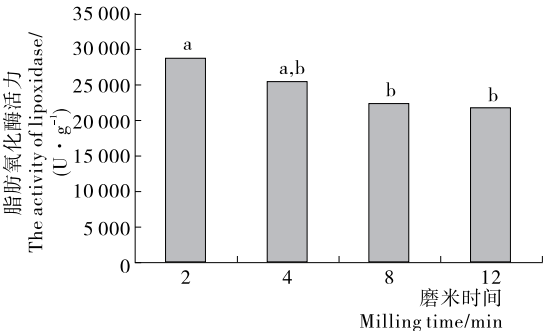
不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

图 1 稻米中脂肪氧化酶的分布情况

Figure 1 The distribution of the lipoxidase in rice

2.3 加工精度对脂肪氧化酶活力的影响

由图 2 可知,随着稻米外皮层的逐渐脱落,稻米中 LOX 活力由外至内逐层递减,随碾米时间的延长,米糠中 LOX 活力差异趋于不显著($P>0.05$)。经过 12 min 碾磨,在稻米的种皮和糊粉层被完全去除,留胚率降至 80% 以下时,脂肪氧化酶活力也降至最低。但是由于稻米外层及米胚含有丰富



不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

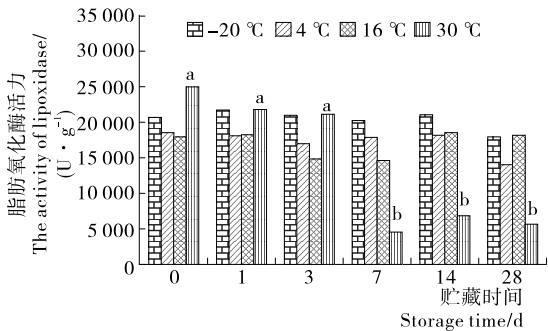
图 2 加工精度对脂肪氧化酶活力的影响

Figure 2 The effect of different precision to the activity of lipoxidase

的营养物质,如蛋白质、脂肪酸、B 族维生素及矿物质,通过去除稻米外层来延长贮藏期的方法同样会造成营养成分的流失,因此,对于留胚米及发芽糙米等一类活性物质含量丰富的稻米制品来说,在保留稻米生理结构的前提下,为了延长其贮藏期,开发并应用新的灭酶方法至关重要。

2.4 贮藏期间脂肪氧化酶活力的变化

由图 3 可知,在-20,4,16 ℃贮藏条件下,米糠中 LOX 活力变化差异不显著($P>0.05$);当贮藏温度为 30 ℃时,米糠中脂肪氧化酶活力前 3 d 均高于其他温度条件下的酶活力,但贮藏 1 周后显著下降($P<0.05$)。这表明高温贮藏一方面可以钝化酶的活力,另一方面也能够加速酶反应进程,关于脂肪氧化酶代谢产物随贮藏温度变化的研究仍在进行中。



不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

图 3 不同贮藏条件下稻米中脂肪氧化酶活力的变化情况
Figure 3 The change of the activity of lipoxidase under different storage condition for rice

3 结论

随着稻米制品加工精度的增加,米制品的碾白率和留胚率下降,稻米中脂肪氧化酶活力也呈下降趋势。稻米中脂肪氧化酶在其各生理结构层中分布不均匀,从外到内(从种皮到胚乳)其活力逐渐下降,且以米胚中活力最高,这可解释稻米制品中脂肪氧化酶活力与稻米加工精度之间的负相关性。此外,米糠中脂肪氧化酶随贮藏时间的延长其活力变化差异不显著,但其在高于 30 ℃条件下贮藏时则表现出不稳定的特性。由此得出,常规贮藏温度对稻米脂肪氧化酶活力几乎没有影响,因此,在贮藏过程中,稻米制品(特别是保留米胚的稻米制品)的品质会在脂肪氧化酶的作用下发生劣变,考虑到较高的灭酶温度会对稻米的理化品质造成影响,本课题组采用微波灭酶、过热蒸汽灭酶等多种灭酶方式进行研究,尚未得到理想的灭酶方案。在此研究基础上,本课题组将针对脂类代谢相关酶类定位灭活的方法做进一步研究。

参考文献

[1] AHMAD M, IKRAM H, MUSADDIQ A, et al. Effect of various processing techniques and different levels of antioxidant on stability of rice bran during storage[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2005(85): 847-852.

(下转第 170 页)

3 结论

- (1) 超临界 CO₂萃取紫苏籽油中棕榈酸、硬脂酸含量与萃取压力和萃取时间负相关,因萃取温度与 CO₂流量的变化趋势是先降后升;油酸、亚油酸含量随萃取压力、萃取温度的变化不大,因 CO₂流量的变化趋势是先降后升,油酸随萃取时间的增加略有下降,亚油酸随萃取时间的增加略有先降后升;亚麻酸含量与萃取压力和时间正相关,因萃取温度与 CO₂流量的变化趋势是先升后降。
- (2) 超临界 CO₂萃取紫苏籽油的最佳工艺条件为:萃取压力 25 MPa、萃取温度 40 ℃、萃取时间 1.5 h、CO₂流量 20 L/h,在该工艺条件下亚麻酸萃取率为 88.09%。
- (3) 超临界 CO₂萃取的紫苏籽油无需精炼,符合中国食用植物油标准。
- (4) 本试验尚未对超临界 CO₂萃取参数对紫苏籽油中脂肪酸组成的联动关系进行分析,后续将研究其变化规律,为紫苏籽资源的高效利用提供理论基础。

参考文献

[1] 中华人民共和国药典编写委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京: 人民卫生出版社, 1990: 39.

[2] 张洪, 黄建韶, 赵东海. 紫苏营养成分的研究[J]. 食品与机械, 2006, 22(3): 41-43.

[3] 潘兆平, 付复华, 谢秋涛, 等. 响应面法优化紫苏籽油超临界萃取工艺[J]. 中国食品学报, 2015, 15(5): 113-119.

[4] 王卫东, 谢巍. 紫苏油的保健功能[J]. 中国食物与营养, 2004 (5): 50-51.

[5] UMEZAWA M, OHTA A, TOJO H, et al. Dietary α -linole-
nate/ linoleate balance influences learning and memory in the se-
nescence-accelerated mouse (SAM) [J]. Brain Research, 1995,
669: 225-233.

[6] 周丹, 韩大庆, 王永奇. 紫苏子油对小鼠学习记忆能力的影响
[J]. 中草药, 1994, 25(5): 251-252.

[7] 韩大庆, 周丹, 王永奇. 紫苏油抗衰老作用[J]. 中国老年学杂
志, 1995, 15(1): 47.

(上接第 105 页)

[2] 吴伟, 李彤, 蔡勇建, 等. 三种稻米在贮藏过程中蒸煮特性变化的比较[J]. 食品与机械, 2014, 30(3): 122-126.

[3] ZHOU Zhong-kai, CHRIS B, STUART H, et al. Fatty acid
composition of three rice varieties following storage[J]. Journal
of Cereal Science, 2003(37): 327-335.

[4] ZHONG Ye-jun, TU Zong-cai, LIU Cheng-mei, et al. Effect of
microwave irradiation on composition, structure and properties
of rice (*Oryza sativa* L.) with different milling degrees [J].
Journal of Cereal Science, 2013(58): 228-233.

[5] 孙术国, 杨涛, 林亲录, 等. 加工方式对稻米抗氧化性的影响
[J]. 食品与机械, 2014, 30(6): 132-134, 254.

[6] 陈玮. 大米气调储藏过程中脂质的变化研究[D]. 天津: 天津科
技大学, 2007.

[7] 高山, 张瑛, 宋美, 等. 水稻脂肪氧化酶研究进展[J]. 安徽农业
科学, 2005, 33(1): 126-127, 141.

[8] 谢宏. 稻米储藏陈化作用机理及调控的研究[D]. 沈阳: 沈阳农
业大学, 2007: 5-6.

[8] LONGVAH T, DEOSTHALE Y G, KUMAR P U. Nutritional
and short term toxicological evaluation of Perilla seed oil[J].
Food Chemistry, 2000, 70(1): 13-16.

[9] TSUJI E. The effects of rice bran oil and perilla oil on serum and
liver lipid levels[C]// Atherosclerosis. Paris: 11th International
Symposium on Atherosclerosis, 1997: 335.

[10] 李林静, 章宝, 李高阳. 响应面优化超临界 CO₂萃取花生油工艺
研究[J]. 北京工商大学学报: 自然科学版, 2012, 30(5): 26-31.

[11] 马玉花, 赵忠, 李科友, 等. 超临界 CO₂流体萃取杏仁油工艺
研究[J]. 农业工程学报, 2007, 23(4): 272-275.

[12] KIM H K, CHOI S, CHOI H. Suppression of hepatic fatty acid
synthase by feeding α -linolenic acid rich perilla oil lowers
plasma triacylglycerol level in rats[J]. Journal of Nutritional Bi-
ochemistry, 2004, 15(8): 485-492.

[13] KIM H K, CHOI H. Stimulation of acyl-CoA oxidase by α -lin-
olenic acid-rich perilla oil lowers plasma triacylglycerol level in
rats[J]. Life Sciences, 2005, 77(12): 1 293-1 306.

[14] 韩舜愈, 宋雪梅, 祝霞, 等. 超临界 CO₂萃取燕麦麸油及其脂
肪酸分析[J]. 食品科学, 2010, 31(16): 253-257.

[15] 程霜, 崔庆新, 冯泽静, 等. 玉米胚芽油的超临界 CO₂萃取[J].
中国粮油学报, 2000, 15(6): 29-33.

[16] 赖锡湖, 黄卓, 李坚, 等. 超临界 CO₂萃取茶叶籽油及其成分
分析[J]. 食品与机械, 2011, 27(2): 38-40.

[17] 商学兵, 李超, 刘军军. 超临界 CO₂萃取白豆蔻挥发油的工艺
优化及其动力学研究[J]. 食品科学, 2012, 33(14): 60-63.

[18] 李莉, 陈爱政, 王士斌, 等. 超临界二氧化碳流体萃取油茶籽油
及其 GC/MS 分析[J]. 广州化工, 2011, 39(11): 49-52.

[19] 国家粮食局. GB/T 17376—2008 动植物油脂 脂肪酸甲酯制备
[S]. 北京: 中国标准出版社, 2009.

[20] MANNINEN P, PAKARINEN J, KALLIO H. Large-scale super-
critical carbon dioxide extraction and supercritical carbon dioxide
countercurrent extraction of cloudberry seed oil[J]. Journal of Agri-
cultural and Food Chemistry, 1997, 55(1): 191-205.

[21] 刘光敏, 徐响, 高彦祥. 超临界 CO₂萃取草莓籽油工艺研究及
其对脂肪酸组成的影响[J]. 中国粮油学报, 2009, 24(3):
84-88.

[9] 张瑛, 吴跃进, 卢义宣, 等. 脂肪氧化酶同工酶缺失对水稻耐储
藏特性的影响[J]. 安徽农业科学, 2003, 31(6): 911-913.

[10] WU Jian-yong, CHEN Jun, LIU Wei, et al. Selective
peroxidase inactivation of lightly milled rice by superheated
steam[J]. Journal of Cereal Science, 2014, 60(3): 623-630.

[11] YIN Guang-kun, XIN Xia, SONG Chao, et al. Activity levels
and expression of antioxidant enzymes in the ascorbate-gluta-
thione cycle in artificially aged rice seed[J]. Plant Physiology
and Biochemistry, 2014, 80: 1-9.

[12] YIN Li-na, WANG Shi-wen, ELTAYEB A E, et al. Overex-
pression of dehydroascorbate reductase, but not monode-
hydroascorbate reductase, confers tolerance to aluminum
stress in transgenic tobacco [J]. Planta, 2010, 231(3):
609-621.

[13] 孟庆虹, 王松, 王少元, 等. 留胚米加工专用品种筛选研究[J].
中国稻米, 2014, 20(3): 50-53.

[14] 振环. 留胚米的碾制及质量要求[J]. 粮食与饲料工业, 2008
(7): 1-2.