

# 乳酸菌发酵对脱脂米糠中糖和酚类物质含量的影响

文伟<sup>1,2</sup>, 张名位<sup>2</sup>, 刘磊<sup>2</sup>, 张瑞芬<sup>2</sup>, 魏振承<sup>2</sup>, 张雁<sup>2</sup>, 马永轩<sup>2</sup>, 张晖<sup>1</sup>

(1. 江南大学食品学院, 江苏无锡 214036) (2. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所农业部功能食品重点实验室/广东省农产品加工重点实验室, 广东广州 510610)

**摘要:** 本文比较不同乳酸菌发酵对脱脂米糠中糖和酚类物质的影响。采用半干法酶解工艺提高脱脂米糠中可发酵糖的含量, 向灭菌的半干法酶解后的脱脂米糠中分别接入 5 种乳酸菌(保加利亚乳杆菌、乳酸链球菌、植物乳杆菌、干酪乳杆菌和肠膜明串珠菌), 比较发酵过程中乳酸菌活菌数、总糖、还原糖、可溶和不溶性酚类物质含量的变化。结果表明, 采用半干法酶解工艺, 脱脂米糠中还原糖提高到 155.08 mg/g, 相比于原料中提高了 6 倍左右。5 种乳酸菌均能在脱脂米糠中生长, 但进入对数生长期后生长速率存在显著差异。5 种乳酸菌中嗜酸乳杆菌降糖能力最强, 其发酵 72 h 后脱脂米糠中总糖和还原糖分别下降了 31.33% 和 60.76%。嗜酸乳杆菌发酵脱脂米糠 24h 时可溶性酚类物质含量最高, 提高了 33.00%, 发酵 72 h 后不溶性酚类物质下降了 20.32%, 均显著优于其它四种菌。

**关键词:** 乳酸菌发酵; 脱脂米糠; 可溶性酚; 不溶性酚

文章编号: 1673-9078(2016)2-137-141

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.2.021

## Effects of Lactic Acid Bacteria Fermentation on the Content of Sugars and Polyphenols of Defatted Rice Bran

WEN Wei<sup>1,2</sup>, ZHANG Ming-wei<sup>2</sup>, LIU Lei<sup>2</sup>, ZHANG Rui-fen<sup>2</sup>, WEI Zhen-cheng<sup>2</sup>, ZHANG Yan<sup>2</sup>, MA Yong-xuan<sup>2</sup>, ZHANG Hui<sup>1</sup>

(1. College of Food Jiangnan University, Wu Xi 214036, China) (2. Sericultural & Agri-Food Research Institute Guangdong Academy of Agricultural Sciences/ Key Laboratory of Functional Foods, Ministry of Agriculture/ Guangdong Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Guangzhou 510610, China)

**Abstract:** This study investigated the influence of fermentation by different lactic acid bacteria on the sugar and polyphenol content of defatted rice bran. Semi-dry enzymatic hydrolysis was used to increase the fermentable sugar content in defatted rice bran. After being treated with semi-dry enzymatic hydrolysis and sterilization, the defatted rice brans were inoculated with *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus lactis*, *L. plantarum*, *L. casei*, and *Leuconostoc mesenteroides*, respectively. Changes in the viable count of lactic acid bacteria, and the content of total sugar, reducing sugar, soluble polyphenols, and insoluble polyphenols during the fermentation were studied. The results showed that semi-dry enzymatic hydrolysis increased the content of reducing sugar in defatted rice bran to 155.08 mg/g, almost six times higher than that of the untreated defatted rice bran. All five lactobacilli grew in the defatted rice bran, but significant differences were found among their growth rates after entering the logarithmic phase. Among the five lactobacilli, *L. acidophilus* exhibited the strongest sugar transformation capacity; after 72-hour fermentation by *L. acidophilus*, the content of total sugar and reduced sugar decreased by 31.33% and 60.76%, respectively. The highest content of soluble polyphenols (33% increase) was observed after 24-hour fermentation by *L. acidophilus*; after 72-hour fermentation, the insoluble polyphenol content decreased by 20.32%, significantly better than those of other four stains.

**Key words:** lactic acid bacteria fermentation; defatted rice bran; soluble polyphenols; insoluble polyphenols

米糠是糙米精白过程的副产物, 约占整粒稻谷的

收稿日期: 2015-03-10

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(201303071, 201403063); “948”计划项目(2011-G8-5); 国家“十二五”科技支撑计划项目(2012BAD37B08); 广州市对外合作项目(2013J4500023); 广东省主题机构创新能力建设专项(2011)

作者简介: 文伟(1989-), 男, 硕士研究生, 研究方向为粮油加工

通信作者: 张晖(1966-), 女, 博士, 教授, 研究方向为谷物与健康食品

8%, 但却集中了稻米中64%的营养素和90%的人体必需元素<sup>[1]</sup>, 以及多种的功能活性物质<sup>[2]</sup>, 如维生素、 $\gamma$ -谷维素、角鲨烯、甾醇以及谷物多酚等, 是稻米功效成分最密集的部位。目前国内除仅有几条米糠油生产线, 绝大部分米糠被作为廉价的饲料以及垫料等用途消耗<sup>[3-4]</sup>。脱脂后的米糠中不仅保留了原米糠中的蛋白、多糖、膳食纤维和矿物质等营养成分, 而且还富含具有高生理活性的酚类物质。米糠中的酚类物质具

有较强的抗氧化活性<sup>[5-6]</sup>,主要以游离、可溶共价结合和不溶共价结合态三种形式存在<sup>[7]</sup>。其中,游离态和可溶共价结合态酚酸可以直接溶于水中,不溶共价结合态酚酸以酯键、糖苷键、醚苷键等与细胞壁上的大分子(蛋白质、多糖、纤维素)相结合。陈彩薇等<sup>[7]</sup>研究表明米糠中有约54%的酚类物质为不溶共价结合态酚酸。释放不溶共价结合态酚酸、提高米糠中可溶性酚酸含量是实现米糠高值转化利用的一个重要方向,成为当前研究的热点。

微生物发酵在提升农产品及其加工副产物附加值中有着广泛的应用。Schmidt等<sup>[8]</sup>利用米根霉固态发酵米糠,研究表明发酵后的米糠中游离酚类物质含量较发酵前提高了两倍以上。Dordevic等<sup>[9]</sup>将燕麦、荞麦和黑麦粉充分浸泡打浆后,利用鼠李糖乳杆菌进行液态发酵,研究发现发酵后溶液中酚类物质含量较发酵前有明显提高。由于米糠中存在大量纤维素,溶解性差,可发酵性糖含量低,目前国内外关于采用乳酸菌发酵米糠释放其酚类物质的研究还鲜有报道。

天然米糠中糖类基本以淀粉和纤维素两种不可发酵性糖的形式存在,几乎不能被乳酸菌利用。本文以脱脂米糠为原料,利用半干法酶解工艺提高脱脂米糠中可发酵性糖类含量,再接种入不同乳酸菌进行固态发酵,比较发酵过程中活菌数、总糖、还原糖、水溶性酚类物质和不溶性酚类物质的变化,以期为乳酸菌发酵脱脂米糠、提高米糠中可溶性酚类物质,开发米糠的功能食品配料提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

#### 1.1.1 菌种与材料

脱脂米糠:实验室自制,新鲜米糠粉碎后过60目筛,经CO<sub>2</sub>超临界萃取脱脂处理后

备用;保加利亚乳杆菌、乳酸链球菌、植物乳杆菌、干酪乳杆菌和肠膜明串珠菌均购自广东省微生物菌种保藏中心。

高温 $\alpha$ -淀粉酶(20000 U/mL),购于尤特尔生物技术有限公司,食品级;福林酚试剂,国药集团化学试剂有限公司;3,5-二硝基水杨酸(DNS),上海润捷化学试剂有限公司;MRS培养基和肉汤,广东环凯微生物科技有限公司;其余试剂均为分析纯。

#### 1.1.2 实验仪器

高压杀菌锅,上海博讯实业有限公司医疗设备厂;生化培养箱,上海博讯实业有限公司医疗设备厂;无菌操作台,苏净集团苏州安康空气技术有限公司;台

式高速冷冻离心机, Thermo Fisher Scientific 公司;Eyelan-1100旋转蒸发仪,东京理化器械株式会社;Tecan Infinite M200多功能酶标仪,瑞士Tecan科技有限公司;紫外-可见分光光度计,日本岛津公司;电热恒温水浴锅,上海一恒科学仪器有限公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 半干法酶解脱脂米糠工艺

25 g 新鲜脱脂米糠与高温 $\alpha$ -淀粉酶悬浮液1:1.5(m/V)比例混匀,分装于三角瓶中,密封,沸水浴30 min后,121℃灭菌15 min,冷却备用。

#### 1.2.2 发酵菌种制备

5株乳酸菌保藏物分别置于MRS肉汤中进行复壮培养24 h(30℃,静止发酵)。

#### 1.2.3 发酵脱脂米糠的制备

将复壮后的5种乳酸菌分别接种入制备好的脱脂米糠中(接种量6.25 Lg CFU/g左右),置于30℃恒温培养箱中发酵,每隔12 h取样1次,并测定相应的理化 and 微生物指标。

#### 1.2.4 各种理化和微生物指标的测定

乳酸菌菌落总数的测定:样品经梯度稀释后,采用MRS培养基培养并计数<sup>[10]</sup>。

还原糖的测定:取5 g发酵后的脱脂米糠,加一定量去离子水,常温振荡30 min后,4000 r/min离心10 min,取上清液定容至50 mL,还原糖采用DNS法测定;测定总糖时,样品先经稀盐酸水解、中和并定容后,也采用DNS法测定,结果以葡萄糖含量计算。

酚类物质含量的测定:采用福林酚法测定<sup>[11]</sup>,结果以没食子酸当量表示(mg GAE/100 g DW)。

#### 1.2.5 发酵脱脂米糠可溶性酚类物质的提取

参考Xu<sup>[12]</sup>等人的方法,略有改动。准确称取5 g发酵脱脂米糠,加入50 mL去离子水,10000 r/min均质5 min,4000 r/min离心收集上清液。向水相中加入4 mol/L NaOH溶液50 mL,充满氮气密封,室温下震荡4 h。所得碱化液用6 mol/L HCl溶液调节pH至2后,分别用100 mL乙酸乙酯萃取5次,合并乙酸乙酯萃取相,在45℃下旋蒸至干,残余物用甲醇定容至10 mL,得发酵脱脂米糠可溶性酚类物质提取液,贮存于-20℃冰箱备用。称样和提取均重复3次。

#### 1.2.6 发酵脱脂米糠不溶性酚类物质的提取

参照Adom等<sup>[13]</sup>人方法,稍加改进。向经2.2.5提取后的残渣中加入2 mol/L NaOH溶液40 mL,充满氮气密封,室温下震荡1 h。所得碱化液用6 mol/L HCl溶液调节pH至2后,分别用100 mL乙酸乙酯萃取5次,合并乙酸乙酯萃取相,在45℃下旋蒸至干,残余物用

甲醇定容至10 mL, 得发酵脱脂米糠不溶性酚类物质的提取液, 贮存于-20 °C冰箱备用。称样和提取均重复3次。

### 1.2.7 数据统计与分析

采用 SPSS 19 软件检验分析比较试验各组间均值差异显著性 ( $p < 0.05$ )。

## 2 结果与讨论

### 2.1 脱脂米糠基本组分分析

表1为实验室自制脱脂米糠基本成分组成分析。从表中可以看出, 本研究所用脱脂米糠淀粉含量较高, 可以为乳酸菌生长发酵的提供碳源。这可能是由于本文原料在工厂加工时混入了部分碎米, 经过粉碎处理后与米糠混合在一起, 这也使得脱脂米糠中蛋白和纤维素的相对含量有所下降。

表 1 100 g 脱脂米糠中基本组成分析

Table 1 Main composition of 100 g defatted rice bran

项目	水分 /g	淀粉水 分/g	蛋白水 分/g	膳食纤维 维/g	灰分水 分/g
脱脂米糠 <sup>a</sup>	9.56	41.11	14.28	24.65	9.13
脱脂米糠 <sup>b</sup>	7~14	20~40	12~17	26~42	8~12

注: 脱脂米糠<sup>a</sup>为实验室测定值, 脱脂米糠<sup>b</sup>为文献参考值。

### 2.2 不同高温 α-淀粉酶添加量对脱脂米糠中还原糖含量的影响

糙米在精白过程中, 由于机械磨损, 部分碎米与米糠层混合在一起。新鲜米糠中富含淀粉, 约占干基重的41.11%。乳酸菌产淀粉酶能力弱, 几乎不能利用淀粉, 本文采用半干法酶解工艺, 利用高温α-淀粉酶将米糠中的淀粉转化为单糖和二糖等乳酸菌可发酵性糖类。

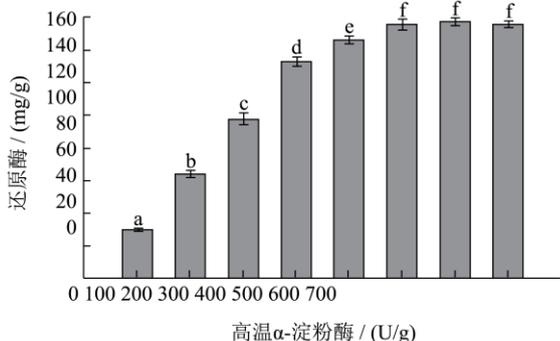


图 1 高温 α-淀粉酶添加量对脱脂米糠中还原糖含量的影响  
Fig.1 Effect of the amount of added thermostable amylase on reducing sugar content of defatted rice bran

注: 不同字母表示组内显著性差异, 显著水平 $p < 0.05$ 。

半干法酶解脱脂米糠实验结果如图1所示, 随着高温α-淀粉酶添加量的增加, 脱脂米糠中的还原糖含量呈先上升后逐渐趋于不变的趋势。当高温α-淀粉酶添加量达到500 U/g后, 脱脂米糠中的还原糖含量不再有显著性变化 ( $p < 0.05$ )。与原脱脂米糠中相比, 脱脂米糠经高温α-淀粉酶处理后, 还原糖含量最高达155.08 mg/g, 提高了6倍左右。由此表明半干法酶解工艺可以显著提高脱脂米糠中还原糖的含量, 可以为乳酸菌的生长发酵提供碳源。

### 2.3 不同乳酸菌发酵脱脂米糠过程中活菌数的变化

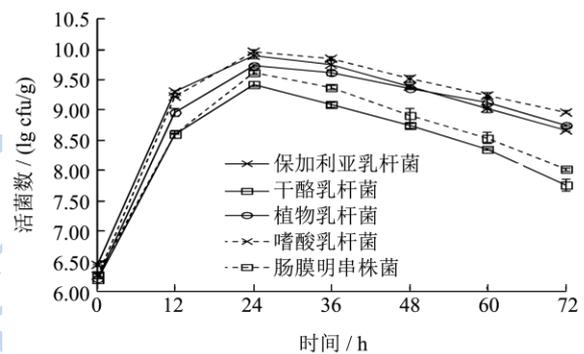


图 2 五种乳酸菌发酵脱脂米糠过程中活菌数的变化

Fig.2 Changes in the viable counts of the five lactic acid bacteria during fermentation of defatted rice bran

图2为不同乳酸菌发酵脱脂米糠过程中活菌数的变化, 乳酸菌经过复壮后接种入脱脂米糠中后, 菌种很快进入对数生长期。发酵的前24 h, 脱脂米糠中的营养丰富, 乳酸菌活菌数呈指数增长。其中嗜酸乳杆菌、保加利亚乳杆菌和植物乳杆菌生长较快, 肠膜明串株菌和干酪乳杆菌生长速率稍慢。发酵24 h左右, 脱脂米糠中的活菌数最高达到10.0 Lg CFU/g左右。这表明经过半干法酶解的脱脂米糠营养丰富, 适合乳酸菌的生长。但随着发酵时间的延长, 脱脂米糠中的碳源和氮源被快速消耗, 特别是氮源的消耗, 使得体系不再适合乳酸菌的生长, 各种乳酸菌又很快进入衰亡期。由于不同乳酸菌利用米糠中糖和蛋白的能力不同, 这可能导致不同乳酸菌进入对数生长期后生长速率呈现出显著差异性。

### 2.4 不同乳酸菌发酵脱脂米糠过程中总糖和还原糖的变化

图 3 为不同乳酸菌发酵脱脂米糠过程中总糖和还

原糖含量的变化,从图中可以看出,半干法酶解后的脱脂米糠中总糖和还原糖含量较高,分别为 205.22 mg/g 和 157.08 mg/g,还原糖约占总糖含量的 76.54%。发酵前 36 h,乳酸菌迅速生长,脱脂米糠中的总糖和还原糖迅速下降。发酵后期,由于营养物质的消耗,有害物质的积累,乳酸菌进入衰亡期,脱脂米糠中的总糖和还原糖呈缓慢下降的趋势,当发酵时间达到 60 h 后,脱脂米糠中总糖和还原糖的含量基本不再变化。其中,嗜酸乳杆菌和保加利亚乳杆菌发酵利用糖的速率明显高于其余三种菌,嗜酸乳杆菌在发酵脱脂米糠 72 h 后残留的总糖和还原糖分别为 140.92 mg/g 和 61.62 mg/g,分别下降了 31.33% 和 60.76%。

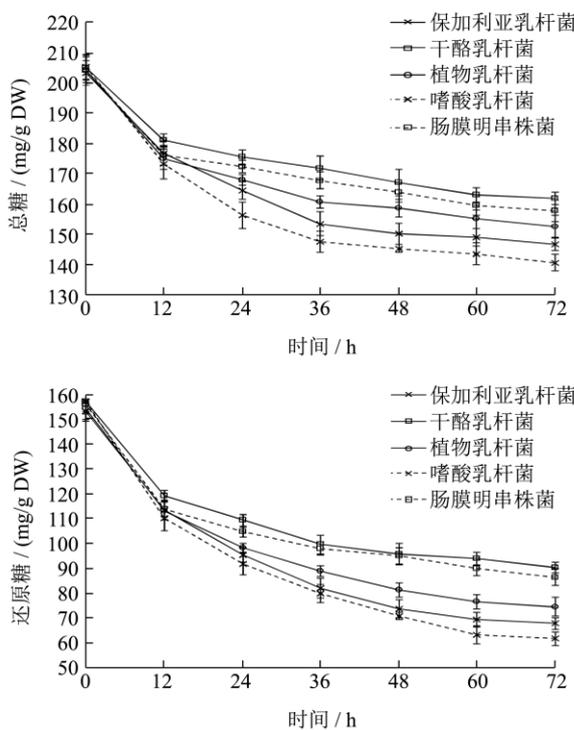


图3 不同乳酸菌发酵脱脂米糠过程中总糖和还原糖含量的变化

Fig.3 Changes in the content of total sugar and reduced sugar in defatted rice bran during fermentation by different lactic acid bacteria

### 2.5 不同乳酸菌发酵脱脂米糠过程中可溶性酚类物质和不溶性酚类物质的变化

图4为不同乳酸菌发酵脱脂米糠过程中可溶性酚类物质和不溶性酚类物质含量的变化。从图中可以看出,发酵过程中可溶性酚类物质含量呈先上升后下降,最后趋于不变的趋势;在发酵 24 h 左右,脱脂米糠中的水溶性酚类物质达到最高,其中,嗜酸乳杆菌发酵后的含量明显高于其它四种菌,为 105.80 mg GAE/100

g DW,相比初始脱脂米糠中可溶性酚类物质含量提高了 33.00%。乳酸菌利用糖和蛋白的过程中,一些与糖和蛋白相结合的酚类物质被释放出来,因此脱脂米糠中的可溶性酚类物质在发酵前期呈上升趋势。然而,脱脂米糠在发酵后期可溶性酚类物质含量呈下降趋势,这可能是由于乳酸菌在发酵过程中可将一些酚酸如阿魏酸和香豆酸降解并形成挥发性酚类物质所导致<sup>[14]</sup>。

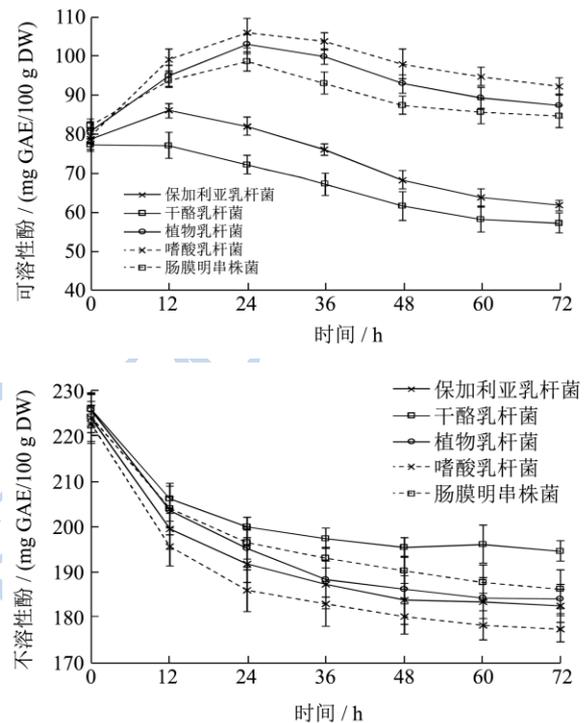


图4 不同乳酸菌发酵脱脂米糠过程中可溶和不溶性酚含量的变化

Fig.4 Changes in the content of soluble and insoluble polyphenols in defatted rice bran during fermentation by different lactic acid bacteria

脱脂米糠中不溶性酚呈先下降后逐渐趋于不变的趋势。不溶性酚在发酵前 24 h 下降速率最快,发酵 36 h 后残渣中的不溶性酚基本趋于不变。嗜酸乳杆菌发酵脱脂米糠 72 h 后,不溶性酚类物质下降程度明显高于其它四种菌,为 177.36 mg GAE/100 g DW,相比初始值下降了 20.32%。由于不同乳酸菌利用脱脂米糠中糖和蛋白的能力不同,这导致被释放的不溶性酚含量不同,因此可溶性酚类物质和不溶性酚类物质的变化趋势呈现出显著性差异。

### 3 结论

传统的酶解工艺多在液态条件下进行,本研究采用半干法酶解工艺迅速提高了脱脂米糠中可发酵性糖的含量,经过半干法酶解工艺处理后,脱脂米糠中还

原糖含量达到 155.08 mg/g, 相对于原脱脂米糠中提高了 6 倍左右。5 种乳酸菌均能在脱脂米糠中生长, 但进入对数生长期后生长速率存在显著差异。5 种乳酸菌发酵对脱脂米糠中的糖和酚类物质影响亦存在显著差异。其中, 嗜酸乳杆菌降糖能力最强, 发酵 72 h 时, 米糠中总糖和还原糖分别下降了 31.33% 和 60.76%, 不溶性酚类物质下降了 20.32%; 嗜酸乳杆菌发酵脱脂米糠 24 h 时, 可溶性酚类物质含量最高提高了 33.00%, 均显著优于其它四种菌。综合考虑嗜酸乳杆菌为发酵脱脂米糠的最适菌种。

### 参考文献

- [1] Saunders R M. The properties of rice bran as a foodstuff [J]. *Cereal Foods World*, 1990, 35(7): 634-636
- [2] 王永斌. 米糠中功能性成分的研究现状与发展趋势[J]. *中国食物与营养*, 2006, 5: 17-20  
WANG Yong-bin. The comprehensive utilization and foreground of rice bran [J]. *Food and Nutrition in China*, 2006, 5: 17-20
- [3] 吕莹果, 季慧, 张晖, 等. 米糠资源的综合利用[J]. *粮食与饲料工业*, 2009, 4: 19-22  
LV Ying-guo, JI Hui, ZHANG Hui, et al. The comprehensive utilization of rice bran [J]. *Cereal & Feed Industry*, 2009, 4: 19-22
- [4] 周显青, 杨继红, 张玉荣. 国内外米糠资源利用现状与发展[J]. *粮食加工*, 2014, 5: 14  
ZHOU Xian-qing, YANG Ji-hong, ZHANG Yu-rong. Status and prospect of utilization of rice bran resource at home and abroad [J]. *Grain Processing*, 2014, 5: 14
- [5] Chotimarkom C, Benjakul S, Silalai N. Antioxidant components and properties of five long-grained rice bran extracts from commercial available cultivars in Thailand [J]. *Food Chemistry*, 2008, 111(3): 636-641
- [6] Aguilar-Garcia C, Gavino G, Baragano-Mosqueda M, et al. polyphenols content in rice bran with different antioxidant capacity assays [J]. *Food Chemistry*, 2007, 102(4): 1228-1232
- [7] 陈彩薇, 吴晖, 赖富饶, 等. 米糠中不同存在形态酚类物质及其抗氧化活性研究[J]. *现代食品科技*, 2015, 31(2): 42-46  
CHEN Cai-wei, WU Hui, LAI Fu-rao, et al. Study on different form phenolics' antioxidant activity in rice bran [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2015, 31(2): 42-46
- [8] Schmidt C G, Gonçalves L M, Prieto L, et al. Antioxidant activity and enzyme inhibition of phenolic acids from fermented rice bran with fungus *Rizhopus oryzae* [J]. *Food Chemistry*, 2014, 146: 371-377
- [9] Đorđević T M, Šiler-Marinković S S, Dimitrijević-Branković S I. Effect of fermentation on antioxidant properties of some cereals and pseudo cereals [J]. *Food Chemistry*, 2010, 119(3): 957-963
- [10] 杨洁彬, 郭兴华, 李芳, 等. 乳酸菌: 生物学基础及应用[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1996  
YANG Jie-bin, GUO Xing-hua, LI Fang, et al. *Lactic bacteria: biological foundation and its application* [M]. Beijing: China Light Industry Press, 1996
- [11] Ritta J T. Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1985, 33(2): 213-217
- [12] Xu L, Diosady L L. Rapid method for total phenolic acid determination in rapeseed/canola meals [J]. *Food Research International*, 1997, 30(8): 571-574
- [13] Adom K K, Sorrells M E, Liu R H. Phytochemical profiles and antioxidant activity of wheat varieties [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(26): 7825-7834
- [14] Garc á-Ruiz A, Bartolomé B, Martínez-Rodríguez A J, et al. Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine [J]. *Food Control*, 2008, 19(9): 835-841