

# 米糠贮藏时间对米糠蛋白结构的影响

吴伟, 蔡勇建, 吴晓娟, 蒙强, 叶建芬

(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)

**摘要:** 米糠贮藏不同时间脱脂制备米糠蛋白, 研究米糠贮藏时间对米糠蛋白结构的影响。结果表明: 随着米糠贮藏时间的延长, 米糠脂质逐渐水解和氧化, 米糠蛋白羰基和二硫键含量分别从 1.76 和 5.69 nmol/mg 增加到 9.16 和 8.25 nmol/mg, 游离巯基含量从 7.58 下降到 1.22 nmol/mg, 表明米糠贮藏期间米糠蛋白发生了氧化。当米糠贮藏时间由 0 d 增加到 10 d, 米糠蛋白内源荧光强度下降, 最大荧光峰位蓝移, 表面疏水性下降, 米糠蛋白分子量分布图中蛋白质聚集体比例和粒径增加, 表明米糠贮藏期间米糠蛋白逐渐形成氧化聚集体; 傅里叶红外分析表明蛋白质氧化导致米糠蛋白  $\alpha$ -螺旋和  $\beta$ -折叠含量下降,  $\beta$ -转角和无规卷曲含量上升。电泳分析表明, 蛋白质氧化导致米糠蛋白形成了氧化聚集体, 二硫键和非二硫共价键参与了氧化聚集体的形成。表明米糠酸败可诱导米糠蛋白氧化, 导致米糠蛋白结构改变和形成氧化聚集体。

**关键词:** 米糠蛋白; 贮藏; 蛋白质氧化; 聚集

文章编号: 1673-9078(2017)1-173-178

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.1.027

## Effect of Rice Bran Storage Time on the Structure of Rice Bran Protein

WU Wei, CAI Yong-jian, WU Xiao-juan, MENG Qiang, YE Jian-fen

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

**Abstract:** Rice bran stored for different periods before defatting and preparing rice bran protein were used to analyze the effect of storage time on the structure of rice bran proteins. The results showed that, as storage time increased, rice bran lipids were gradually hydrolyzed and oxidized. The protein carbonyl and disulfide content of rice bran protein increased from 1.76 and 5.69 nmol/mg and 9.16 and 8.25 nmol/mg, respectively, while free sulfhydryl content decreased from 7.58 to 1.22 nmol/mg, which indicated that storage of rice bran caused oxidation of the rice bran proteins. As storage time of rice bran increased from zero to ten days, a decrease in the intrinsic fluorescence intensity of rice bran protein was accompanied by a blue shift of the wavelength of maximum emission. A gradual decrease in surface hydrophobicity and an increase in the ratio of protein aggregates in molecular weight distribution profiles of rice bran proteins were also observed, which indicated that storage of rice bran led to the aggregation of rice bran proteins. Fourier transform infrared spectroscopic analysis indicated that the  $\alpha$ -helix and  $\beta$ -sheet content decreased, while the  $\beta$ -turn and random-coil content increased during storage. The results of electrophoresis also indicated that protein oxidation led to the formation of oxidative aggregates of rice bran proteins, and that disulfide as well as non-disulfide covalent bonds participated in the formation of these aggregates. The results of this study indicated that the rancidity-induced oxidation of rice bran proteins changed their structure and caused the formation of oxidative aggregates.

**Key words:** rice bran protein; storage; protein oxidation; aggregation

米糠是糙米碾白过程中分离出来的一种副产物, 包括糙米的果皮层、种皮层、外胚乳层和糊粉层及部分胚乳细胞以及大部分胚芽和少量碎米等<sup>[1]</sup>。我国米糠资源丰富, 年产量 1000 万吨以上, 榨油后的脱脂米糠含 15%~20% 蛋白质, 可用来进一步开发米糠蛋白产品。米糠蛋白是一种低过敏性蛋白, 其氨基酸组成合

收稿日期: 2015-12-01

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(201303071); 湖南省教育厅项目(14C1181)

作者简介: 吴伟(1981-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 粮食、油脂与植物蛋白工程

理, 非常接近 FAO/WHO 的推荐模式, 赖氨酸含量比大米胚乳、小麦面粉以及其他谷物中的都要高, 生物效价与酪蛋白相近, 消化率达 90% 以上, 特别适合开发婴幼儿配方食品, 是一种极具开发潜力的新型植物蛋白, 目前越来越多的学者开始重视米糠蛋白的开发和应用<sup>[2-4]</sup>。

稻谷米糠层中存在活性较强的脂肪水解酶和脂肪氧化酶, 经过碾米后, 米糠中的脂肪水解酶和油脂相互接触, 脂肪水解酶使油脂迅速分解形成游离脂肪酸, 使得米糠酸败<sup>[5]</sup>。米糠酸败产生的游离脂肪酸容易氧化, 产生大量脂质自由基和脂质活性氧化产物。

脂质自由基和脂质活性氧化产物导致蛋白质氧化的研究已在大豆蛋白、花生蛋白等植物蛋白中报道<sup>[6,7]</sup>,并且发现脂质氧化产物诱导的蛋白质氧化还可改变大豆蛋白和花生蛋白的功能性质<sup>[8,9]</sup>。目前已有研究表明米糠酸败过程中产生的脂质氧化产物可显著改变米糠蛋白的功能性质<sup>[10]</sup>。蛋白质功能性质与其结构密切相关,功能性质的改变势必是由结构特征的变化引起的<sup>[5]</sup>,目前还没有蛋白质氧化影响米糠蛋白结构的报道。本研究以不同贮藏时间米糠为原料脱脂制备米糠蛋白,采用荧光光谱法和傅里叶红外等方法分析米糠蛋白结构,结合分子量分布和电泳等方法分析米糠蛋白聚集状态,以探索米糠酸败诱使米糠蛋白氧化对米糠蛋白结构和聚集状态的影响,为进一步开发米糠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 材料与试剂

新鲜米糠:湖南粮食集团有限责任公司;5,5'-二硫代二硝基苯甲酸(DNTB)、1-苯氨基萘-8-磺酸:美国Sigma-Aldrich公司;其他试剂为分析纯,购于国药集团化学试剂有限公司。

### 1.2 仪器与设备

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;F-7000 荧光光谱仪:日本日立公司;Nano ZS 纳米粒度分析仪:英国Malvern公司;IRTracer-100 傅里叶红外光谱仪:日本岛津公司;高效液相色谱仪:日本岛津公司;Healthcare SE260 电泳仪:美国GE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%恒温培养箱中,分别贮藏0、1、3、5和10d取出得到不同酸败程度的米糠,将不同酸败程度的米糠在室温条件下按1:4(m/V)的料液比与正己烷混合脱脂,振荡30min后抽滤得到滤饼,滤液旋转蒸发回收正己烷,收集米糠毛油,如此重复五次脱脂,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。米糠毛油酸值测定参考GB/T 5530-2005,米糠毛油过氧化值测定参考GB/T 5538-2005。

#### 1.3.2 米糠蛋白的制备

参考Xia等<sup>[3]</sup>方法。将脱脂米糠以1:10(m/V)料

液比与去离子水混合,在40℃条件下用2mol/L NaOH调pH值至9.0,搅拌4h后将悬浮液在4℃条件下8000r/min离心20min,取上清液用2mol/L盐酸调pH至4.0,静置20min后在4℃条件下8000r/min离心15min,水洗沉淀三次,取蛋白沉淀分散于去离子水中并用2mol/L NaOH调pH至7.0。最后在4℃条件下8000r/min离心30min除去少量杂质,冷冻干燥得到米糠蛋白。

#### 1.3.3 米糠蛋白羰基含量测定

根据Huang等<sup>[11]</sup>方法采用2,4-二硝基苯肼比色法测定米糠蛋白羰基含量,以22000mol/(L·cm)消光系数计算每克蛋白质羰基衍生物的摩尔数。

#### 1.3.4 米糠蛋白游离巯基及二硫键含量测定

参考Huang等<sup>[11]</sup>方法。将0.08g米糠蛋白溶解于20mL、0.1mol/L含有1mmol/L乙二胺四乙酸和1%十二烷基硫酸钠的pH8.0磷酸盐缓冲液,室温下磁力搅拌2h后15000r/min离心20min。取上清液测定游离巯基和总巯基。

#### 1.3.5 米糠蛋白内源荧光测定

将0.03g米糠蛋白分散于20mL、0.01mol/L pH7.0的磷酸盐缓冲液中,磁力搅拌2h后在4℃、10000r/min离心30min,采用考马斯亮蓝法测定上清液中蛋白浓度,通过稀释使得上清液中蛋白质浓度达到0.1mg/mL。采用F-7000型荧光分光光度计在激发波长280nm条件下得到300~500nm之间的发射光谱(狭缝宽度2.5;灵敏度1),以pH7.0、0.01mol/L的磷酸盐缓冲液为空白。

#### 1.3.6 米糠蛋白表面疏水性测定

将米糠蛋白溶解于0.01mol/L、pH7.0磷酸盐缓冲液中,磁力搅拌2h后室温条件10000r/min离心20min收集上清液。以考马斯亮蓝法测定上清液中蛋白浓度,用0.01mol/L、pH7.0磷酸盐缓冲液稀释蛋白浓度在0.005~0.5mg/mL之间。取不同浓度稀释样品4mL,加入50μL、0.008mol/L 1-苯氨基萘-8-磺酸,在390nm激发波长和470nm发射波长下测定荧光强度(灵敏度设定为6)。以荧光强度对蛋白质浓度作图,外推至蛋白质浓度为0,曲线初始阶段的斜率即为蛋白质分子表面疏水性指数。

#### 1.3.7 米糠蛋白粒径的测定

将米糠蛋白溶解于0.01mol/L、pH7.0磷酸盐缓冲液中,磁力搅拌2h后室温条件10000r/min离心20min收集上清液,以上清液制备1mg/mL蛋白液,采用纳米粒度分析仪测定米糠蛋白粒径。

#### 1.3.8 米糠蛋白二级结构的测定

取1~2mg米糠蛋白样品和200mgKBr混合,研

磨均匀后制作透明薄片室温环境进行傅里叶红外扫描,扫描条件:分辨率  $4\text{ cm}^{-1}$ ,扫描范围  $400\sim 4000\text{ cm}^{-1}$ ,每个样品扫描 32 次。利用软件自带傅里叶红外解卷积技术提高分辨率,以 Peakfit 4.12 软件对谱图进行分峰处理。

### 1.3.9 米糠蛋白相对分子质量分布的测定

将米糠蛋白分散于去离子水中配制成蛋白浓度为  $10\text{ mg/mL}$  的溶液,室温下磁力搅拌 2 h 后  $10000\text{ r/min}$  离心 30 min,取上清液通过孔径  $0.45\text{ }\mu\text{m}$  的醋酸纤维素膜,收集滤液进样分析。采用 Water 2690 型液相色谱系统,色谱柱:TSKgel SW G4000 SWXL,检测器:Waters 996 光电二极管阵列检测器,流动相:含  $0.05\text{ mol/L NaCl}$  的  $0.05\text{ mol/L}$  磷酸盐缓冲液 (pH 7.2),紫外检测波长:280 nm,流速:  $1\text{ mL/min}$ ,柱温:  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

### 1.3.10 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳

采用 Huang 等<sup>[11]</sup>的不连续电泳方法。分离胶浓度 12.5%,浓缩胶浓度 4%,电极缓冲液含  $0.05\text{ mol/L}$  三羟甲基氨基甲烷,  $0.384\text{ mol/L}$  甘氨酸,  $0.1\%$  十二烷基

硫酸钠 (pH 8.3),分别用还原和非还原样品溶解液 (内含  $2\%$  十二烷基硫酸钠,  $5\%$   $\beta$ -巯基乙醇,  $10\%$  甘油,  $0.02\%$  溴酚蓝,  $0.01\text{ mol/L}$ 、pH 8.0 三羟甲基氨基甲烷-盐酸缓冲液;其中还原样品溶解液加入  $\beta$ -巯基乙醇,非还原样品溶解液不加  $\beta$ -巯基乙醇) 配制浓度为  $1.5\text{ mg/mL}$  的电泳样品。电泳采用  $0.75\text{ mm}$  凝胶板;上样量为  $10\text{ }\mu\text{L}$ ;开始电泳时电流为  $10\text{ mA}$ ,待样品进入分离胶后改为  $25\text{ mA}$ ;考马斯亮蓝染色。

## 1.4 数据处理

采用 Excel 进行绘图,利用 SPSS 19.0 软件对数据做统计分析,用 Levene 做方差齐性检验,ANOVA 做方差分析,置信水平为 95%。

## 2 结果与讨论

### 2.1 米糠贮藏时间对米糠蛋白氧化程度的影响

表 1 米糠贮藏不同时间制备米糠毛油酸值、过氧化值和米糠蛋白羰基、游离巯基、二硫键含量

Table 1 Acid values and peroxide values of rice bran oil and protein carbonyl, free sulfhydryl, and disulfide content of rice bran proteins

prepared from rice bran after storage for different times

贮藏时间/d	酸值/(mg KOH/g)	过氧化值/(mmol/kg)	羰基/(nmol/mg)	游离巯基/(nmol/mg)	二硫键/(nmol/mg)
0	$4.03\pm 0.04^a$	$1.22\pm 0.06^a$	$1.76\pm 0.12^a$	$7.58\pm 0.09^a$	$5.69\pm 0.09^a$
1	$14.65\pm 0.03^b$	$1.43\pm 0.05^b$	$2.74\pm 0.11^b$	$6.44\pm 0.10^b$	$6.19\pm 0.11^b$
3	$22.54\pm 0.03^c$	$1.84\pm 0.08^c$	$4.13\pm 0.12^c$	$5.24\pm 0.13^c$	$6.60\pm 0.12^c$
5	$25.72\pm 0.03^d$	$2.52\pm 0.07^d$	$5.85\pm 0.17^d$	$3.08\pm 0.10^d$	$7.43\pm 0.09^d$
10	$30.38\pm 0.04^e$	$6.65\pm 0.10^e$	$9.16\pm 0.27^e$	$1.22\pm 0.10^e$	$8.25\pm 0.12^e$

注:表中同一列相同字母表示在  $p\geq 0.05$  水平上没有显著差异。

蛋白质羰基含量是衡量蛋白质氧化程度最重要的指标。如表 1 所示,随着米糠贮藏时间的延长,米糠毛油酸价和过氧化值逐渐增加,表明贮藏过程中米糠毛油逐渐水解和氧化。米糠蛋白羰基含量也随着米糠贮藏时间的增加而显著增加,表明贮藏过程中蛋白质发生了氧化。黄友如等<sup>[12]</sup>发现低温脱脂豆粕中的残留脂质在贮藏过程中会发生氧化,产生的脂质自由基和活性氧化产物会与大豆蛋白反应;吴伟等<sup>[13]</sup>发现经干热处理后脱脂豆粕中的脂质仍会在脂肪氧合酶催化下发生氧化,产生的脂质氧化产物可诱使米糠蛋白氧化,蛋白羰基含量增加。米糠中含有活性较强的脂肪水解酶和脂肪氧化酶,可迅速分解脂质产生游离脂肪酸而使米糠酸败变质,产生的自由基和活性氧化产物攻击蛋白质主肽链及侧链基团,使蛋白质羰基化,导致米糠蛋白羰基含量增加。

蛋白质巯基是对氧化最敏感的基团,蛋白质羰基

含量不能表征巯基的氧化程度,游离巯基和二硫键可表征米糠蛋白巯基的氧化程度,结果如表 1 所示,随着米糠贮藏时间的延长,米糠蛋白游离巯基含量减少,二硫键含量增加。游离巯基降低表明蛋白质发生了氧化,可能是米糠酸败变质产生大量活性自由基和活性次生氧化产物攻击氨基酸残基,使巯基不断暴露而氧化形成二硫键。

### 2.2 米糠贮藏时间对米糠蛋白内源荧光的影响

响

米糠贮藏不同时间制备米糠蛋白内源荧光图谱如图 1 所示,新鲜米糠制备米糠蛋白的最大荧光峰位在  $349\text{ nm}$  处,随着米糠贮藏时间的延长,米糠蛋白最大荧光峰位逐渐蓝移并且荧光强度持续下降,米糠贮藏 10 d 后制备米糠蛋白最大荧光强度降低了 13.57%,最

大荧光峰位从 349 nm 蓝移到 347 nm。Chen 等<sup>[8]</sup>研究蛋白质氧化对大豆分离蛋白内源荧光的影响时发现,随着蛋白质氧化程度的增加,大豆蛋白内源荧光最大荧光峰位蓝移,并认为是蛋白质氧化后通过疏水相互作用形成氧化聚集体,迫使色氨酸残基转向内部的疏水环境;Ye 等<sup>[9]</sup>在研究蛋白质氧化对花生蛋白结构的影响时发现,随着蛋白质氧化程度的增加,花生蛋白最大荧光峰位蓝移且荧光强度下降,并认为是蛋白质氧化形成的聚集体迫使色氨酸转移到内部的非极性环境中。因此,米糠贮藏过程中米糠蛋白最大荧光峰位蓝移和荧光强度的下降可能是米糠蛋白发生氧化形成聚集体,使得米糠蛋白中的色氨酸被迫转移到内部的非极性环境。

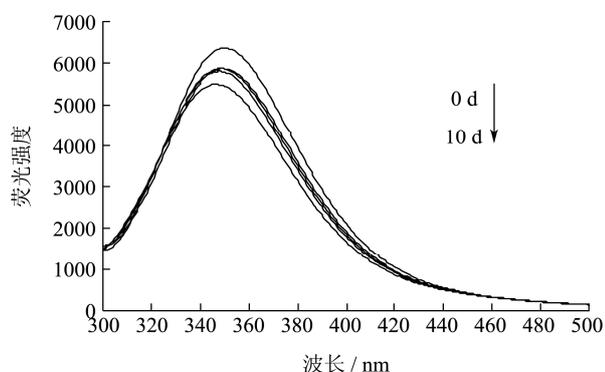


图1 米糠贮藏不同时间制备米糠蛋白内源荧光光谱

Fig.1 Intrinsic fluorescence of rice bran protein prepared from rice bran after storage for different times

### 2.3 米糠贮藏时间对米糠蛋白表面疏水性的影响

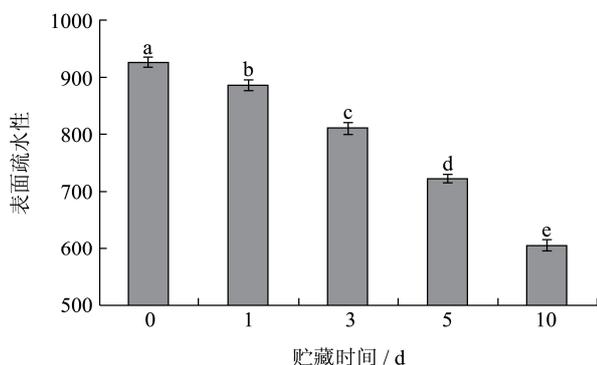


图2 贮藏时间对米糠蛋白表面疏水性的影响

Fig.2 Effect of storage time of rice bran on surface hydrophobicity of rice bran proteins

注:柱状图中相同字母表示在  $p \geq 0.05$  水平上没有显著差异。

米糠贮藏时间对米糠蛋白表面疏水性的影响如图2所示,随着贮藏时间的延长,米糠蛋白表面疏水

性降低。吴伟等<sup>[13]</sup>发现经干热处理后脱脂豆粕中的脂质发生氧化,产生的脂质氧化产物与大豆蛋白疏水基团反应,降低大豆蛋白表面疏水性。米糠蛋白酸败产生的游离脂肪酸氧化生成脂质氧化产物,这些脂质氧化产物与米糠蛋白疏水基团反应,或者进一步通过疏水相互作用形成氧化聚集体<sup>[3]</sup>,进而降低米糠蛋白表面疏水性。

### 2.4 米糠贮藏时间对米糠蛋白粒径的影响

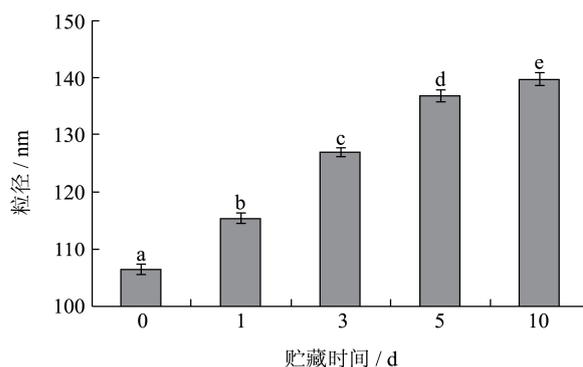


图3 米糠贮藏时间对米糠蛋白粒径的影响

Fig.3 Effect of storage time of rice bran on the size of rice bran proteins

注:柱状图中相同字母表示在  $p \geq 0.05$  水平上没有显著差异。

米糠贮藏时间对米糠蛋白粒径的影响如图3所示,随着贮藏时间的延长,米糠蛋白粒径增加,表明在米糠贮藏过程中米糠蛋白氧化逐渐形成可溶性聚集体。黄友如等<sup>[12]</sup>发现热处理脱脂豆粕使得大豆蛋白共价交联,形成氧化聚集体;吴伟等<sup>[13]</sup>发现干热处理低变性脱脂豆粕使得制备的大豆 $\beta$ -伴球蛋白形成氧化聚集体,粒径增加。因此,米糠蛋白粒径增加可能是米糠酸败形成脂质氧化产物诱使米糠蛋白形成氧化聚集体。

### 2.5 米糠贮藏时间对米糠蛋白二级结构的影响

参考王长远等<sup>[4]</sup>研究方法对不同贮藏时间米糠制备米糠蛋白的酰胺I带谱峰(图4)进行鉴定: $\alpha$ -螺旋结构,1646、1651~1653  $\text{cm}^{-1}$ ;  $\beta$ -折叠结构,1617~1618、1626~1627、1637~1638、1695~1696  $\text{cm}^{-1}$ ;  $\beta$ -转角结构,1670~1672、1681~1683  $\text{cm}^{-1}$ ; 无规卷曲结构,1660~1661  $\text{cm}^{-1}$ ,得出如图6所示的新鲜米糠贮藏不同时间制备米糠蛋白二级结构组成。从图5可见,随着贮藏时间的延长, $\alpha$ -螺旋和 $\beta$ -折叠含量降低,无规卷曲和 $\beta$ -转角含量增加,说明米糠蛋白氧化改变

了米糠蛋白的二级结构,使得有序的 $\alpha$ -螺旋和 $\beta$ -折叠逐渐向无序的无规卷曲和 $\beta$ -转角结构转变。

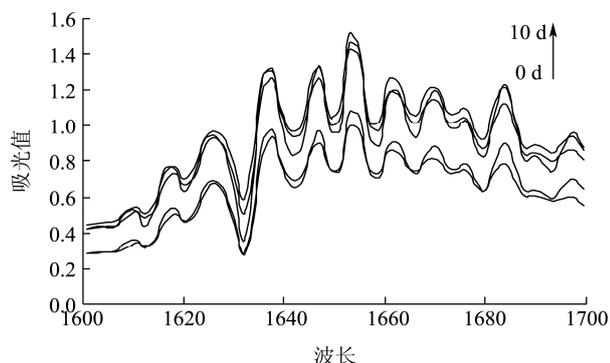


图4 米糠贮藏不同时间制备米糠蛋白傅里叶红外光谱

Fig.4 Fourier transform infrared spectroscopy of rice bran proteins prepared from rice bran after storage for different times

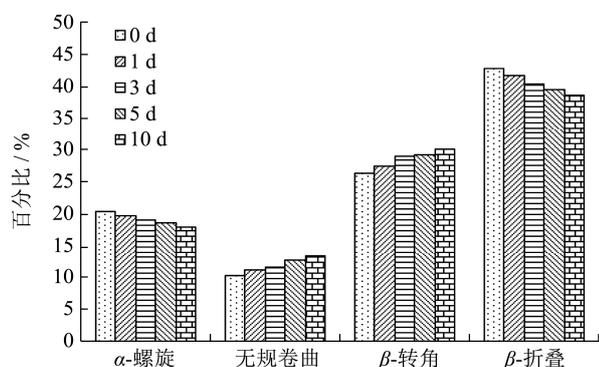


图5 米糠贮藏不同时间制备米糠蛋白二级结构组成

Fig.5 Secondary structure composition of rice bran proteins prepared from rice bran after storage for different times

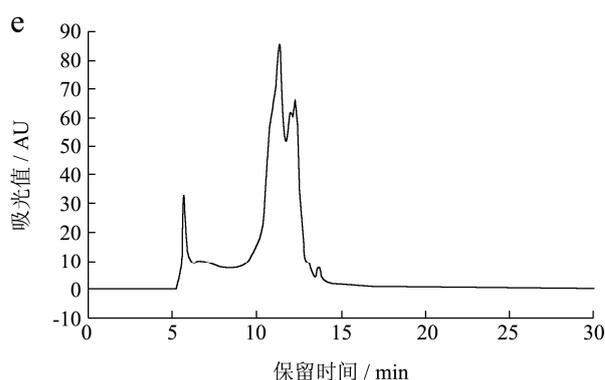
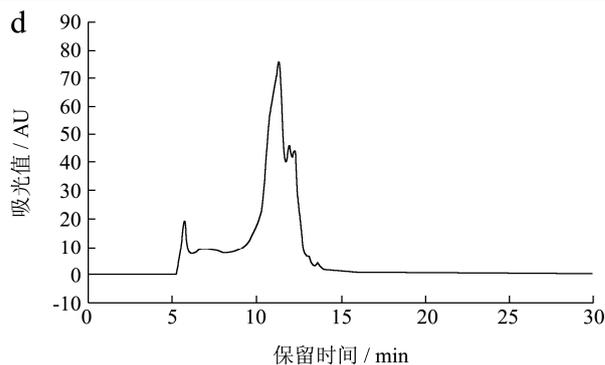
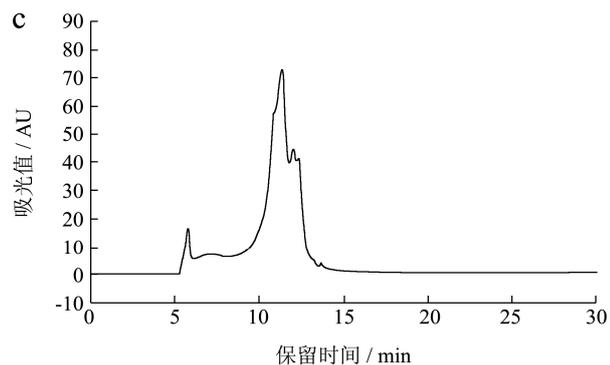
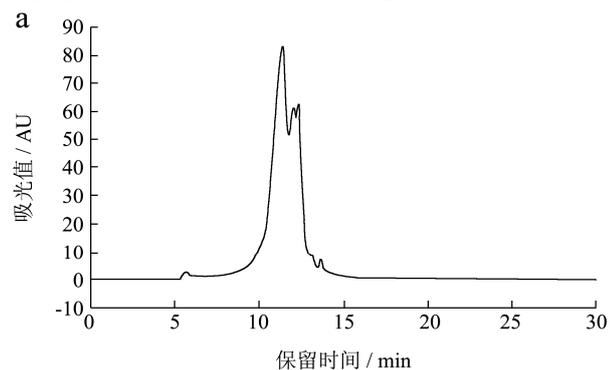


图6 米糠贮藏不同时间制备米糠蛋白分子量分布

Fig.6 Molecular weight distribution profiles of rice bran protein prepared from rice bran after storage for different times

注: a-e 分别代表米糠贮藏0、1、3、5和10 d。

## 2.6 米糠贮藏时间对米糠蛋白聚集状态的影响

米糠贮藏不同时间制备米糠蛋白分子量分布如图6所示,所有米糠蛋白分子量分布图中都出现四个峰,保留时间依次为5.70、11.35、12.30和13.65 min,其中保留时间5.70 min峰对应蛋白质聚集体,保留时间11.35 min和12.30 min峰对应米糠蛋白和亚基,保留时间13.65 min峰对应米糠蛋白中天然存在的小肽。米糠贮藏不同时间制备米糠蛋白分子量分布图中峰面积百分比如图7所示,随着米糠贮藏时间的延长,保留时间5.70 min峰面积比例持续增加,表明米糠蛋白氧化形成聚集体。

米糠蛋白电泳图如图7所示,在还原电泳图(图8a)中,随着米糠贮藏时间的延长,米糠蛋白聚集体区域和亚基条带颜色逐渐变淡,尤其是米糠贮藏5 d和10 d制备米糠蛋白聚集体区域和亚基条带颜色显著变淡,说明米糠较长时间贮藏导致米糠蛋白形成氧化聚集体,这些氧化聚集体由于分子量较高无法进入电泳胶,并且非二硫共价键参与了氧化聚集体的形成。Huang等<sup>[11]</sup>发现脂肪氧合酶催化亚油酸产生的过氧化

反应产物可诱使大豆蛋白氧化,形成氧化聚集体;Wu等<sup>[6]</sup>发现脂质氧化产物可诱使大豆蛋白氧化形成聚集体,非二硫共价键参与氧化聚集体的形成。在非还原电泳图(图8b)中,随着米糠贮藏时间的延长,米糠蛋白聚集体区域和高分子量亚基条带颜色逐渐变深,表明二硫键参与米糠蛋白氧化聚集体的形成。由此表明,米糠贮藏过程中米糠蛋白氧化形成聚集体,二硫键和非二硫共价键共同参与氧化聚集体的形成。

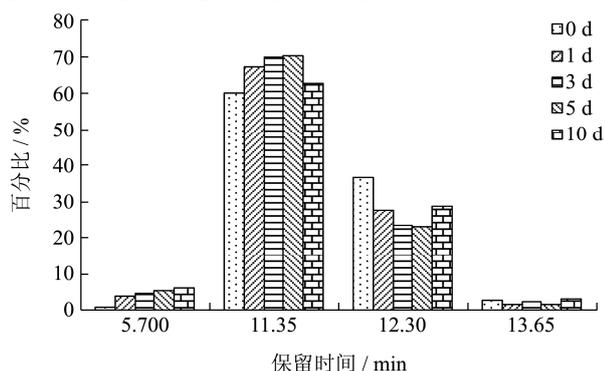


图7 米糠贮藏不同时间制备米糠蛋白分子量分布图中峰面积百分比

Fig.7 Peak area percentage of molecular weight distribution profiles of rice bran protein prepared from rice bran after storage for different times

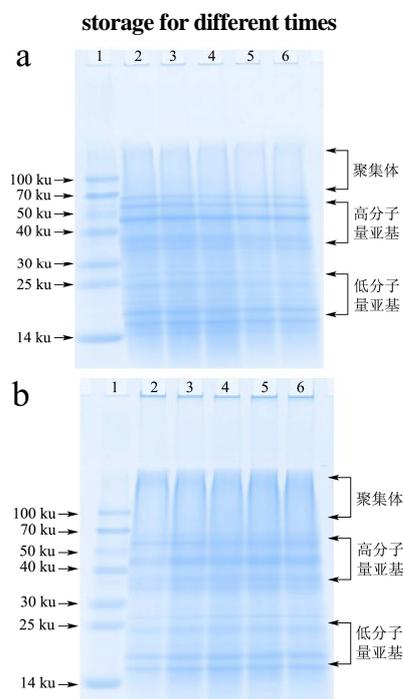


图8 米糠蛋白电泳图

Fig.8 Electrophoresis of rice bran proteins prepared from rice bran after storage for different times

注: a 还原电泳,泳道1~6分别对应标准蛋白、米糠贮藏0、1、3、5和10 d制备米糠蛋白; b 非还原电泳图,泳道1~6分别对应标准蛋白、米糠贮藏0、1、3、5和10 d制备米糠蛋白。

### 3 结论

将新鲜米糠在 25 °C、相对湿度 85%条件下贮藏 0、1、3、5 和 10 d 得到不同酸败程度米糠,以不同酸败程度米糠为原料脱脂制备米糠蛋白,研究米糠贮藏时间对米糠蛋白结构的影响,结果发现:随着米糠贮藏时间的延长,米糠毛油酸值和过氧化值以及米糠蛋白羰基含量、二硫键含量明显上升,而游离巯基含量下降,表明米糠贮藏过程中米糠脂质发生了水解和氧化,米糠蛋白发生了氧化;随着米糠蛋白氧化程度的增加,米糠蛋白内源荧光最大荧光峰位蓝移,内源荧光强度、表面疏水性及二级结构中的  $\alpha$ -螺旋和  $\beta$ -折叠结构下降,粒径、 $\beta$ -转角和无规卷曲结构上升,表明米糠贮藏期间米糠蛋白氧化改变了米糠蛋白的结构;分子量分布和电泳分析表明,蛋白质氧化导致米糠蛋白形成了氧化聚集体,二硫键和非二硫共价键参与了米糠蛋白氧化聚集体的形成。

### 参考文献

- [1] 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  
LV Fei, XU Zhou, CHENG Yun-hui. Progress on extraction and application of rice bran protein [J]. Food and Machinery, 2014, 30(3): 234-238
- [2] Han S W, Chee K M, Cho S J. Nutritional quality of rice bran protein in comparison to animal and vegetable protein [J]. Food Chemistry, 2015, 172(3): 766-769
- [3] Xia N, Wang J M, Yang X Q, et al. Preparation and characterization of protein from heat-stabilized rice bran using hydrothermal cooking combined with amylase pretreatment [J]. Journal of Food Engineering, 2012, 110(1): 95-101
- [4] 王长远,郝天舒,张敏.干热处理对米糠蛋白结构与功能性质的影响[J].食品科学,2015,36(7):13-18  
WANG Chang-yuan, HAO Tian-shu, ZHANG Min. Effect of dry heat treatment on structural and functional properties of rice bran protein [J]. Food Science, 2015, 36(7): 13-18

(下转第 205 页)