

发酵产物对发酵米粉流变性的影响

彭荷花¹, 鲁战会¹, 李永玉¹, 李里特¹, 辰巳英三²

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083;

2. 日本农林水产省国际农林水产业研究中心, 305-8686 日本)

摘 要: 本文为了研究发酵产生的酸和酶对米粉流变性的影响, 采用发酵中的主要酸(乳酸、醋酸)和酶(α -淀粉酶、 β -淀粉酶、淀粉葡萄糖苷酶、脂肪酶、蛋白酶)以及一些常见的酸(盐酸、甲酸、柠檬酸)处理米粉的原料, 用流变仪测定米粉的流变性。结果表明: 这些处理方式中对米粉流变性影响较显著的是: pH4.0、pH5.0的乳酸-乳酸钠缓冲液, α -淀粉酶, 蛋白酶, 脂肪酶。它们都在不同程度上增加了米粉的最大破断应力和最大破断应变, 改善了米粉的流变性。本文还从大米中蛋白质和二硫键的含量会影响大米的蒸煮品质出发, 研究了大米粉中蛋白质含量和二硫键含量对米粉流变性的影响, 较低蛋白质、二硫键含量有利于淀粉成胶。

关键词: 发酵; 米粉; 流变性

Effect of Fermentation Metabolites on the Rheological Characteristics of Fermented Rice Noodles

PENG He-hua¹, LU Zhan-hui¹, LI Yong-yu¹, LI Li-te¹, EIZO Tatsumi²

(1. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

2. Japan International Research Center for Agricultural Sciences, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, 1-2 Ohwashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8686, Japan)

Abstract: Polished rice grains were treated with various acid (lactic acid, acetic acid) and enzyme (α -amylase, β -amylase, amyloglucosidase, lipase, proteinase) solutions, which are typical fermentation metabolites during the processing of fermented rice noodles, to investigate their effects on the rheological characteristics of rice noodles. The rheological characteristics were measured by a rheometer. The maximum stress and maximum strain of rice noodles treated with pH4.0, pH5.0 lactic acid sodium lactate buffer, α -amylase, proteinase, lipase were improved significantly. Because protein and disulfide bond can affect the cooking properties of rice, the effects of contents of protein and disulfide bond on rice noodle rheological characteristics were also studied. Lower protein, disulfide contents are benefit to gel forming.

Key words: fermentation; rice noodle; rheological characteristic

中图分类号: TS201.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)12-0094-04

发酵米粉的制作通常采用陈化的粳米, 利用陈化的粳米加工米粉可以提高陈次粮的利用率, 是解决我国南方早粳米积压的一个有效途径。大米在陈化过程中发生了一系列的物理、化学变化。大米陈化后, 谷蛋白巯基含量减少, 二硫键增加, 分子量增大, 蒸煮粘度下降, 硬度和吸水率增加^[1]; 蛋白质的碱提取率降低, 虽然谷蛋白谱带数目不变, 但部分低分子量谱带相对含量减少, 高分子量谱带相对含量增加^[2]。由此可以看出, 大米中的蛋白质含量虽然较少(10%左右), 对大米的品质却有很大的影响, 但是大米陈化后对米粉的加工品质影响以及发酵对陈化大米的改性作用尚属未知。

目前对影响米粉流变性因素的研究主要集中在直链

淀粉含量、支链淀粉含量、大米淀粉的分子结构等方面^[3~5], 没有人从米谷蛋白中巯基和二硫键之间的转变会影响大米的理化性质, 从而影响米粉的流变性这一角度进行研究。因此, 本文在研究了发酵米粉微生物的主要酶活性和生长特性的基础上, 用酸和酶对大米粉进行处理, 确定发酵代谢产物对米粉流变性的影响, 并从蛋白和巯基含量与流变性之间的关系, 探讨发酵改善米粉流变性的机理。

1 材料与方法

1.1 材料

大米: 试验中所用大米品种为协优-46, 2004年12

收稿日期: 2005-09-26

作者简介: 彭荷花(1980-), 女, 在读硕士, 研究方向为食品加工理论与应用。

月购于杭州水稻研究所。

酶 α -淀粉酶(EC3.2.1.1)、 β -淀粉酶(EC3.2.1.2)、淀粉葡萄糖苷酶(EC3.2.1.68)、脂肪酶(EC3.1.1.3)、蛋白酶(EC3.4.24.32), 均为Sigma产品。

试剂: 甲酸, 甲酸钠, 乙酸, 乙酸钠, 盐酸, 氯化钾, 乳酸, 乳酸钠, 柠檬酸, 柠檬酸钠, 2-巯基乙醇(2-ME),

Tris-甘氨酸缓冲液: 10.4g Tris、6.9g 甘氨酸、1.2g 乙二胺四乙酸(EDTA)溶于1L蒸馏水中。

盐酸胍 Tris-甘氨酸溶液: 5mol/L 盐酸胍溶于1L Tris-甘氨酸缓冲液。

半胱氨酸标品。

Ellman试剂: 400mg 5,5'-二硫-二硝基苯甲酸溶于100ml Tris-甘氨酸缓冲液, 当天配制使用。

仪器设备: 磨浆机, 胶体磨, 冷冻离心机, pH计, 真空冷冻干燥机, 流变仪, 紫外分光光度计。

软件: Origin7.5, SAS V9。

1.2 方法

1.2.1 大米粉和米粉制备方法

大米粉的制备: 原料米过20目筛→称量100g(湿基)米于烧杯中加水200ml, 浸泡3h(大量样品处理按此比例)→筛网沥去水→加蒸馏水200ml→磨浆机湿磨一次, 胶体磨磨三次(间隙0.10~0.15mm)→离心脱水(25℃)→酸、酶处理→离心脱水(25℃)→真空冷冻干燥→研磨密封待用。

米粉样的制备: 20g(干基)大米粉→加蒸馏水32.6ml→拌匀调成米浆→高速剪切机, 10000r/min, 30s→脱气10min, 600mmHg→30g米浆于不锈钢饭盒中摊平→汽蒸5min, 风冷5min, 4℃静置1h。

1.2.2 不同pH乳酸缓冲液处理方案

分别配制pH值为3.0、4.0、5.0、6.0、7.0的乳酸-乳酸钠缓冲溶液, 与脱水后的大米粉按1:1(W/W)的比例混合均匀, 用保鲜膜封口, 在4℃下处理72h。

1.2.3 不同种类酸处理方案

分别配制pH值为4.0的盐酸-氯化钾、乳酸-乳酸钠、柠檬酸-柠檬酸钠、乙酸-乙酸钠、甲酸-甲酸钠的缓冲溶液, 与脱水后的大米粉按1:1(W/W)的比例混合均匀, 用保鲜膜封口, 在4℃下处理72h。

1.2.4 酶处理方案^[6~10]

脱水后的500g大米粉与下表所示的酶液以1:1(W/W)混合均匀, 在相应的温度下处理相应的时间。然后多次洗涤, 去除酶液。

1.2.5 米粉的流变性试验^[11]

分别将经过酸、酶处理的大米粉按1.2.1中的方法制得米粉片, 用如图1所示的取样器取米粉样品, 进行流变学拉伸试验, 流变仪的参数设定为: 载物台速度300mm/min, 载荷范围200g, 流变仪配套软件的参数设

表1 酶处理方案

Table 1 Design of enzymes treatment

酶	酶活(U/mg)	用酶量	处理时间(min)	作用温度(℃)
α -淀粉酶	50	60mg	30	20
β -淀粉酶	830	3mg	30	20
淀粉葡萄糖苷酶	59,000	0.02mg	30	20
脂肪酶	1,140	0.2g	30	37
蛋白酶	1.1	0.5g	30	37

定为: 放大倍数2, 读数时间间隔100ms。测试过程中环境温度保持在25℃。每个样品做15个重复, 结果取平均值。流变仪所记录的数据用软件Origin7.5进行分析处理, 具体计算按以下公式进行:

$$\sigma = \frac{F \times 9.81}{S}$$

式中 σ : 最大破断应力, kPa, 是淀粉凝胶在断裂前所承受的最大应力, 表示凝胶对塑性变形和断裂的抗力, 即凝胶强度;

F: 最大破断力, g;

S: 样品的截面积, 本试验中 $S = 1\text{mm} \times 10\text{mm}$;

$$\varepsilon = \frac{\Delta L}{L_0} \times 100\% = \frac{t \times V_t}{L_0} \times 100\% = \frac{300\text{mm/min} \times t}{70\text{mm}} \%$$

式中 ε : 最大破断应变, %, 表示拉伸断裂前的瞬间凝胶单位长度的形变, 反映凝胶抵抗变形的能力;

ΔL : 样品破断前的拉长量, mm;

L_0 : 样品的初始长度, mm;

t: 样品开始受力到样品拉断所用的时间, min;

V_t : 载物台设定速度, mm/min。

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon}$$

式中E: 表观弹性率, 又称杨氏模量, kPa, 代表凝胶的刚度, 表明凝胶对弹性形变的抗力, 即表观弹性率越大, 在相同的应力作用下, 凝胶的弹性变形越小。

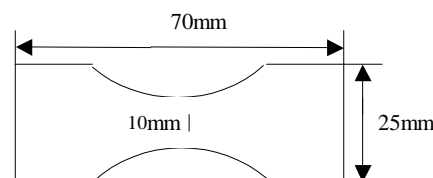


图1 取样器的形状和尺寸

Fig.1 The shape and size of samples

1.2.6 大米粉中蛋白质含量的测定^[12]

凯氏定氮法, GB/T14771-93。

1.2.7 大米粉中巯基含量的测定^[13]

1.2.7.1 将1.0g大米粉均匀分散于5.0ml 盐酸胍Tris—甘氨酸溶液中,于振荡器上振荡10min,然后以 $16000 \times g$ 离心5min。

1.2.7.2 吸取1ml透明上清液于10ml试管中,加入1.5ml 盐酸胍Tris—甘氨酸溶液,再加0.5ml Ellman试剂,于振荡器上混合均匀。每个样品四个重复。

1.2.7.3 用半胱氨酸制作标准曲线。

1.2.7.4 以空白管作为对照,于412nm处读取吸光度值。根据标准曲线得出巯基含量。

1.2.8 巯基对米粉流变性的影响

2-ME是一种还原剂,可以将二硫键还原成巯基,破坏大米中原有的二硫键。为了验证大米中二硫键的断裂、巯基的增加对米粉流变性的影响,在大米粉中添加2-ME进行试验。取未经酸、酶处理的大米粉样品分别添加0、0.5、1.0、1.5ml的2-ME,按1.2.1中所示方法制作米粉片样品,然后用流变仪进行流变学拉伸试验。

2 结果与讨论

2.1 发酵所产的酸和酶对米粉流变性的影响

表2 发酵所产酸和酶对米粉流变性的影响

Table 2 The effect of acids and enzymes produced in fermentation on the rheological characteristics of fermented rice noodles

处理方式	最大破断应力 σ (kPa)	最大破断应变 ϵ (%)	表观弹性率 E (kPa)
对照	50.27 ^a	33.00 ^d	1.52 ^d
不同pH乳酸处理			
pH3.0	50.73 ^{ih}	33.00 ^d	1.54 ^d
pH4.0	82.83 ^a	34.71 ^c	2.39 ^b
pH5.0	80.95 ^b	34.42 ^c	2.35 ^b
pH6.0	51.09 ⁱ	33.00 ^d	1.55 ^d
pH7.0	82.78 ^a	30.86 ^e	2.68 ^a
不同酸处理			
甲酸	70.02 ^e	33.00 ^d	2.12 ^c
乙酸	73.26 ^d	31.29 ^e	2.34 ^b
盐酸	70.32 ^e	30.43 ^e	2.31 ^b
乳酸	83.18 ^a	34.71 ^c	2.40 ^b
柠檬酸	48.25	28.71	1.68 ^d
不同酶处理			
α -淀粉酶	76.95 ^c	37.29 ^b	2.06 ^c
β -淀粉酶	51.69 ^h	33.00 ^d	1.57 ^d
蛋白酶	58.06 ^g	39.00 ^a	1.49
淀粉葡萄糖苷酶	66.85 ⁱ	33.86 ^{cd}	1.97 ^c
脂肪酶	77.72 ^c	36.86 ^b	2.11 ^c

注:同一列中相同的字母表示没有显著性差异($p > 0.05$)。

酸和酶对米粉流变性的影响如表2所示,从表中可以看出,用乳酸缓冲液处理大米粉后,以pH4.0和pH5.0的效果最佳,最大破断应力、最大破断应变、表观弹性率都高于对照,与其它的pH值处理的效果存在显著差

异($p < 0.05$)。pH7.0处理后,虽然最大破断应力、表观弹性率增大了,但最大破断应变降低了,也就是说凝胶的强度增大、凝胶的刚度增强了,但是凝胶抵抗形变的能力降低了。在酸性条件下淀粉凝沉性增强,分子间易于聚合,有利于形成更好的凝胶网络,但是如果pH值过低(≤ 2.5),淀粉水解强烈,反而破坏了淀粉形成凝胶的能力^[14]。因此在合适的酸性条件下,淀粉形成凝胶的能力增强,形成的凝胶抵抗形变的能力增大了,使米粉的流变性得到了改善。

酸对米粉流变性的影响以乳酸最为明显,乳酸处理后,米粉的最大破断应力、最大破断应变、表观弹性率都增大了,也就是说经乳酸处理后,米粉的凝胶强度、凝胶的刚度、抵抗形变的能力都增强了,这进一步验证了发酵米粉为乳酸发酵,乳酸使淀粉凝集的效果要胜过无机酸盐酸以及其它有机酸甲酸、乙酸、柠檬酸等。

酶处理以 α -淀粉酶、脂肪酶和蛋白酶的效果最佳。 α -淀粉酶和脂肪酶处理后米粉的凝胶强度、凝胶刚度、抵抗形变的能力都增强了;蛋白酶处理后米粉的最大破断应变增大了,与对照之间存在显著性差异($p < 0.05$)。 α -淀粉酶可以促进短链的淀粉小分子链分解后溶出,使粉体的小分子链比例减小,大分子链的相对含量增加,链之间的相互作用更加紧密,因而凝胶的性能得到改善。而脂肪酶处理后会使得游离脂肪酸溶出,淀粉链之间作为类似润滑剂的部分去除,米粉的成胶能力增强。蛋白酶处理对最大破断应变有明显的改善作用,是因为在米粉的加工过程中,蛋白质与淀粉的相互作用会限制淀粉的糊化膨润,不利于淀粉成胶^[15],蛋白酶处理后,去除了蛋白质对淀粉的作用,使最大破断应变增强。

2.2 酸、酶处理对大米粉中的蛋白质与巯基含量的影响

表3列出了不同方式处理后大米粉中的蛋白质与巯基含量变化,除蛋白酶处理外,其它的处理方式对蛋白质的含量影响并不明显,但是不同的处理方式对巯基含量的影响有较大差别,除pH3.0、pH6.0的乳酸处理外,其它处理方式均使巯基含量有不同程度的提高。前文中对流变性影响显著的处理方式如乳酸pH4.0、pH5.0处理, α -淀粉酶,脂肪酶处理都使巯基含量增加了。可能是这些处理条件有利于二硫键的断裂,从而使巯基含量增加。有研究表明,二硫键含量会使米谷蛋白的分子量增加,蛋白的水合能力降低^[16],二硫键会增加蛋白质肽链的交联度,使蛋白质强度增大,在淀粉粒周围形成结实的网状结构,抑制淀粉粒的膨润,导致陈米的米饭变硬,粘度下降^[1]。因此,当大米中的二硫键减少后,淀粉与蛋白质相互作用就会减弱,更利

表3 不同处理方式对蛋白和巯基含量的作用效果
Table 3 Effect of different treatments on protein and 2-ME contents

处理方式	巯基含量($\mu\text{mol/g}$)	蛋白含量(%)
对照	28.30	10.35
不同酸处理		
甲酸	31.20	9.96
乙酸	36.60	8.74
盐酸	44.30	10.29
乳酸	39.80	10.33
柠檬酸	25.70	9.84
不同酶处理		
α -淀粉酶	29.16	9.93
β -淀粉酶	39.07	9.48
淀粉葡萄糖苷	37.86	10.82
蛋白酶	28.63	6.98
脂肪酶	40.53	10.35
不同 pH 乳酸处理		
pH3.0	14.20	9.85
pH4.0	73.10	10.42
pH5.0	29.73	10.38
pH6.0	16.50	10.67
pH7.0	33.93	9.34

于淀粉形成坚实的凝胶,改善米粉的流变性。

2.3 大米粉中二硫键含量对米粉流变性的影响

图2中的(1)(2)(3)分别表明了添加2-ME对米粉的最大破断应力、最大破断应变、表观弹性率的影响。2-ME添加量分别为0.5、1.0、1.5ml,从(1)(2)可以看出,添加0.5ml的2-ME使米粉的最大破断应力和最大破断应变增强了,与对照之间存在显著差异($p < 0.05$),但是添加量分别为0.5、1.0、1.5ml时对最大破断应力和最大破断应变的影响没有显著性差异($p > 0.05$);从图(3)可以看出,添加2-ME对米粉的表观弹性率影响很小,与对照之间不存在显著性差异。添加0.5ml 2-ME后使米粉的最大破断应力和最大破断应变都有所增大,因为2-ME可以使大米粉中的二硫键断裂,米谷蛋白的分子量降低,米谷蛋白与淀粉颗粒之间的作用力减弱,有利于淀粉的成胶。但是过量添加并不能进一步改善米粉的流变性,因为陈米中的二硫键数量很少,只有40~100 $\mu\text{mol/g}$,20g大米粉(干基)中添加0.5ml 2-ME后,足以使所有的二硫键都断裂成巯基了。此结果也说明流变性的改善并非2-ME本身的作用,而是其添加引起二硫键断开的作用。当大米中所有的二硫键断开后,2-ME的添加就不再起作用了。总之,这一研究结果表明二硫键的断裂有利于米粉物性的改善。

3 结论

综合以上酸、酶、乳酸处理对米粉最大破断应力、最大破断应变、表观弹性率的作用可以得出以下结论:乳酸在pH4.0和pH5.0的条件下改善米粉的流变

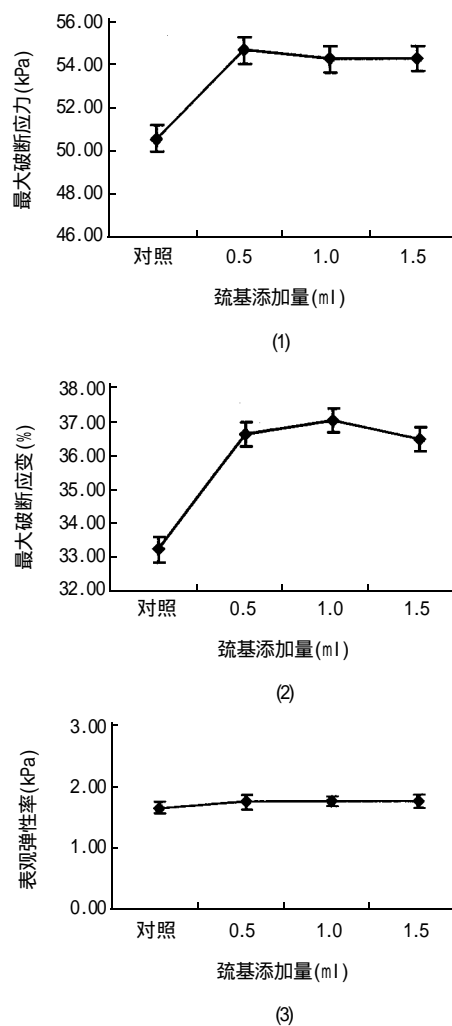


图2 巯基添加量对米粉流变性的影响
Fig.2 The effect of added 2-ME on rice noodle rheology

性,使米粉的最大破断应力和最大破断应变都有所增加,与对照之间存在显著性差异。此外 α -淀粉酶和脂肪酶也对米粉流变性有一定的改善作用。

从蛋白质和巯基含量的角度分析,较低蛋白质含量、较高巯基含量有利于淀粉成胶。但并不是巯基自身有利于米粉流变性的改善,而是这些处理方式有助于陈米中蛋白的变性、二硫键断裂。二硫键断裂能改善米粉的流变性在添加2-ME对米粉流变性影响的试验中得到了初步验证,添加2-ME可断开二硫键,从而改善米粉的拉伸性。当大米中的二硫键都断开之后,添加2-ME则不再起作用,说明其对米粉流变性的改善作用确实是二硫键断开的作用,而非2-ME本身的作用。

参考文献:

- [1] 唐为民,等. 稻米陈化对品质的影响及陈化机理[J]. 中国食物与营养, 2004, (4): 7-10.

乌饭树树叶中黄酮类色素清除活性氧自由基的研究

王立¹, 唐小舟², 姚惠源¹, 沈萍¹, 陶冠军³, 秦芳³

(1.江南大学食品学院, 江苏 无锡 214036; 2.江南大学设计学院, 江苏 无锡 214000;
3.江南大学测试中心, 江苏 无锡 214036)

摘 要: 本文对乌饭树树叶中提取出的色素进行了分离纯化, 分离出了四种黄酮类物质。并且对这四种物质清除活性氧自由基的能力进行了研究, 发现乌饭树提取物都具有很强的清除自由基能力, 清除能力最强的槲皮素和6#提取物的 IC_{50} 达到了 $5.9\mu\text{g/ml}$ 左右。

关键词: 乌饭树; 黄酮; 分离纯化; 自由基; 清除

Scavenging $O_2^{\cdot-}$ and $\cdot OH$ of Extracts from the Leaves of *Vaccinium Bracteatum* Thunb

WANG Li¹, TANG Xiao-zhou², YAO Hui-yuan¹, SHEN Ping¹, TAO Guan-jun³, QIN Fang³

(1.School of Food Science and Technology, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China
2.School of Design, Southern Yangtze University, Wuxi 214000, China
3.Test Center, Southern Yangtze University, Wuxi 214036, China)

Abstract: In this article we identified and purified four flavones from the leaves of *Vaccinium Bracteatum* Thunb. We also studied the functions scavenging $O_2^{\cdot-}$ and $\cdot OH$ of the flavones. We found that all the extracts have low IC_{50} . Quercetin while the 6th extract has had the lowest IC_{50} . It was around $5.9\mu\text{g/ml}$.

收稿日期: 2004-11-26

作者简介: 王立(1978-), 男, 博士, 研究方向为功能性色素。

-
- | | |
|---|---|
| [2] 任顺成, 等. 大米陈化过程中谷蛋白与大米质构特性的变化[J]. 中国粮油学报, 2002, (17): 42-46. | [9] 朱乐敏, 等. 香蕉葡萄糖浆的制备[J]. 食品科技, 2005, (1): 19-20. |
| [3] Consuelo M perez, et al. Amylopectin-staling of cooked noneaxmilled rice and starch gels[J]. Cereal Chem, 1993, 70 (5): 567-571. | [10] 林家永, 等. 葡萄糖氧化酶和脂肪酶改善面粉质量的作用[J]. 粮油食品科技, 1999, (7): 3-5. |
| [4] Mua JP, et al. Relationships between functional attributes and molecular structures of amylase and amylopectin fractions from corn starch[J]. Agric Food Chem, 1997, (45): 3848-3854. | [11] 李里特. 食品物性学[M]. 中国农业出版社, 1998. |
| [5] 鲁战会. 生物发酵米粉的淀粉改性及凝胶机理的研究[D]. 中国农业大学博士学位论文, 2002. | [12] 中华人民共和国国家标准, 食品中蛋白质的测定方法[S]. GB/T14771-93, 1993. |
| [6] 李桂琴, 等. 蛋白酶水解牛乳蛋白的研究[J]. 中国乳品工业, 2003, 31: 11-13. | [13] Hardeep Singh Gujral, et al. Functionality of rice flour modified with a microbial transglutaminase[J]. European Food Research and Technology, 2002, 215: 419-424. |
| [7] 汪钊, 等. 淀粉酶在大米粉浆液化过程的作用研究[J]. 中国粮油学报, 1998, 13: 25-27. | [14] TKomiya, et al. Changes in crystallinity and gelatinization phenomena of potato starch by acid treatment[J]. Starch, 1986, 38(1): 9-13. |
| [8] 丁文平, 等. 普鲁兰酶和 β -淀粉酶对大米支链淀粉回生影响的研究[J]. 中国粮油学报, 2003, 18: 13-16. | [15] 赵学华, 等. 蛋白质与淀粉的相互作用对陈化大米质构特性的影响[J]. 郑州粮食学院学报, 1998, 19(3): 23-29. |
| | [16] 邱发明, 等. 米谷蛋白与淀粉组分在大米陈化过程中的变化[J]. 中国粮油学报, 1998, 13(10): 12-15. |