

稻米陈化中谷蛋白变化光谱解析及其对功能性质的影响

宁俊帆, 郭玉宝*, 宋睿, 朱世民, 董鹏

安徽工程大学生物与食品工程学院, 安徽 芜湖 241000

摘要 稻米储藏陈化导致食用品质下降, 蛋白质变化是重要诱因。谷蛋白是稻米中主要蛋白, 采用拉曼和红外光谱表征陈化中谷蛋白的变化, 并对其功能性质差异进行比较, 利于阐明稻米的陈化机理。拉曼光谱表明, 陈米谷蛋白 1 665 和 1 218 cm^{-1} 处的拉曼归一化强度分别为 1.01 和 0.25, 明显低于新米谷蛋白, 表明陈化后谷蛋白的 α -螺旋减少; 陈米谷蛋白中二硫键(516 和 527 cm^{-1} 处峰强度分别为 0.45 和 0.42)、亚砷(1 035 cm^{-1} 处峰强度为 0.48)和砷(1 124, 1 152, 1 159, 1 316 和 1 334 cm^{-1} 处峰强度分别为 0.47, 0.22, 0.26, 0.50 和 0.63)的强度明显高于新米谷蛋白, 表明含硫氨基酸残基发生明显氧化; 陈米谷蛋白的酪氨酸 Fermi 共振 857/830 cm^{-1} 的强度比值 1.68 明显高于新米谷蛋白, 酪氨酸残基更加暴露; 陈米谷蛋白 751 cm^{-1} 附近色氨酸的拉曼强度为 0.20, 比新米谷蛋白的强度 0.14 显著提高, 陈化后谷蛋白色氨酸残基更加埋藏; 陈米谷蛋白 3 423 cm^{-1} 处的 O—H 伸缩强度为 0.05, 比新米谷蛋白对应强度 0.02 显著增大, 表明分子间结合程度升高, 谷蛋白与淀粉分子结合更加紧密。除了酪氨酸的 Fermi 共振、1 333 和 1 152 cm^{-1} 处砷的吸收峰不高外, 陈化谷蛋白的其余拉曼强度均高于陈米谷蛋白, 说明陈化谷蛋白的氧化程度更高。红外光谱表明, 陈米谷蛋白和陈化谷蛋白中 1 153, 1 078 和 1 026 cm^{-1} 处的硫氧化物吸收峰增大, 进一步支持谷蛋白发生了氧化。与新米谷蛋白相比, 陈米谷蛋白的溶解性、持水性、乳化性和乳化稳定性均显著降低, 而持油性升高, 支持陈米中谷蛋白发生了明显氧化。陈化谷蛋白的溶解性(除 pH 9)、持水性和乳化性比陈米谷蛋白更低, 持油性更高, 表明新米谷蛋白被提取出来后单独陈化时氧化程度更深。陈化后谷蛋白功能性质的变化支持红外和拉曼光谱显示的氧化变化, 这为阐明蛋白质在陈米品质劣变中的作用提供了光谱依据, 为控制稻米陈化劣变以减少产后损失奠定基础。

关键词 稻米; 陈化劣变; 谷蛋白; 红外; 拉曼; 功能性质

中图分类号: TS201.2 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2021)11-3431-07

引言

稻谷收获后即开始陈化, 胚乳发生一系列理化和生化变化, 导致颜色、气味、糊化特性及微观结构的改变^[1], 使食用品质劣变。在颜色上, 陈米的胚乳表面整体光泽度下降, 呈灰粉状且有白色沟纹, 部分米粒边缘发黄甚至有咖啡色; 在气味上, 陈米会出现霉味和酸味等异味; 在质构方面, 陈米组织硬化, 韧性低, 质感脆, 结构松散, 按压易碎。陈米由于结构变得紧密, 糊化中水分难以渗入, 造成糊化时间延长且米饭黏性下降^[2]。即使颜色和气味不变, 糊化特性也会发生劣变。越来越多的研究表明, 蛋白质的变化与糊化特性变化密切相关, 但是蛋白质的氧化变化光谱表征较少。

研究表明, 大米陈化后巯基氧化成二硫键, 谷蛋白平均分子量增加^[3]。陈化后清蛋白中 α -螺旋减少, 脂肪族氨基酸侧链被包埋; 球蛋白与淀粉相互作用加强, 谷蛋白与淀粉的结合减弱; 醇溶蛋白反平行- β 折叠结构增加, 二硫键构型改变, 酪氨酸残基更加暴露^[4]。吴伟等^[5]研究发现, 米糠中游离脂肪酸氧化形成活性脂氧化物, 导致谷蛋白氧化和功能性质改变。现有文献对大米陈化后谷蛋白结构变化的研究多集中在电泳表征分子量^[6], 巯基变化表征二硫键氧化^[7], 荧光光谱表征芳香族氨基酸残基微环境的变化^[8]及红外光谱和圆二色光谱表征二级结构^[9], 对谷蛋白巯基氧化产物的表征研究较少。分子量的表征主要是通过电泳法, 蛋白质常被加热变性, 因此不能确定蛋白质的变性是在陈化期间发生, 还是在电泳实验变性处理时发生的。已有报道缺乏对谷蛋白单独

收稿日期: 2021-01-20, 修订日期: 2021-04-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(31671784)资助

作者简介: 宁俊帆, 1993 年生, 安徽工程大学生物与食品工程学院硕士研究生 e-mail: 2322234791@qq.com

* 通讯作者 e-mail: gyb346@ahpu.edu.cn

陈化产生的结构变化及其对功能性质的影响研究,特别是对与空气接触的富含蛋白的米粒外层中谷蛋白的结构变化研究未见报道。

米粒中蛋白分布不均,米粒外层蛋白含量高于胚乳内部,且大米陈化中米粒外层暴露于空气中,未见米粒外层中谷蛋白的拉曼和红外光谱研究。本实验选用富含蛋白的米粒外层米粉作为原料,采用 Osborne 法^[10]顺序提取获得谷蛋白,表征谷蛋白在陈化前后的结构变化和功能性变化^[11],为阐明蛋白质在稻米陈化中的作用,控制陈化以减少粮食产后损失奠定基础。

1 实验部分

1.1 材料和试剂

大米,购于苏果超市,初始含水量 $14.08\% \pm 0.07\%$ 。

花生油,益海嘉里粮油股份有限公司;牛血清白蛋白(BR)、磷酸氢二钠、氢氧化钠、盐酸、十二烷基硫酸钠(SDS):分析纯,国药集团上海化学试剂有限公司;溴化钾:光谱纯,Merck KGaA Millipore Corporation。

1.2 仪器

稻谷精米检测机(JGMJ8090),上海嘉定粮油仪器有限公司;高速万能粉碎机(FW-100),天津泰斯特仪器有限公司;红外光谱分析仪(FT-IR200),美国 Nicolet 公司;激光共聚焦显微拉曼光谱仪(HR-800 型),法国 Jobin-Yvon 公司;紫外分光光度计(UV-5800C),上海元析仪器有限公司;离心机(L-550),湖南湘仪实验室仪器开发有限公司。

1.3 方法

1.3.1 大米储藏陈化及谷蛋白提取和陈化

大米储藏陈化:将新鲜大米分成两份,分别装入广口瓶中密封,一份在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 下贮存保鲜,作为对照;另一份放置在 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温培养箱中储藏 12 个月,获得陈米^[12]。利用稻谷精米机对大米进行剥蚀碾磨,收集米粒外层 15% 米粉,过 40 目筛,装入自封口袋中在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 下贮存备用。

谷蛋白提取^[10]:称取 40 g 米粉,加 160 mL 正己烷在 $25\text{ }^\circ\text{C}$ 脱脂 1 h,抽滤,沉淀在室温挥发 24 h,得脱脂米粉。取 40 g 脱脂米粉,先用蒸馏水和 5% NaCl 脱除清蛋白和球蛋白后,再用 160 mL $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaOH 提取谷蛋白 1 h, $4\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液重复提取 1 次。合并两次上清液静置 6 h, $4\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min,上清液先用 $1.0\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 HCl 调 pH 至 6.0,再用 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HCl 调 pH 至 4.8,等电沉淀谷蛋白。静置沉淀 6 h 后, $4\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min;沉淀用两倍蒸馏水洗涤,离心。洗涤后的沉淀用 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaOH 调 pH 至 7.0,离心,沉淀用 2 倍蒸馏水洗涤两次。所得沉淀冻干,得谷蛋白。分别以新米和陈米作为原料,通过上述方法获得新米谷蛋白和陈米谷蛋白。

新米谷蛋白的陈化:将上述新米谷蛋白分成两份,一份在 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 下储藏 12 个月(模拟大米储藏陈化条件),获得经陈化的新米谷蛋白(陈化谷蛋白);另一份在 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 下保存备用。

1.3.2 谷蛋白拉曼光谱分析

谷蛋白的拉曼光谱分析参照 Guo^[4]的方法,测定条件:激光波长 514.5 nm ,功率 20 mW ,到达样品的光斑直径约 $1\text{ }\mu\text{m}$ 。测前,激光波长在 520.7 nm 处以单晶硅校正。扫描时间 60 s ,扫描波数范围 $200\sim 4\text{ }000\text{ cm}^{-1}$,分辨率 2 cm^{-1} ,样品扫描速度 $120\text{ cm}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$,每 1 cm^{-1} 记录数据。 $50\times$ 长焦镜头(LMP),在背散射方向收集拉曼信号,至少 3 个不同的样品点被测试并记录。所获得数据采用 Omnic 8.0 软件进行基线校正、平滑(nine-point Golay-Savitzky procedure)。因实际获得的拉曼光谱强度不仅与物质含量有关,还受到激光器强度、拉曼探头与样品相对距离、光纤传输效率、检测器量子效率等其他因素的影响。即使利用高性能拉曼光谱仪,并严格控制测试条件,也不能保证同一样品的拉曼强度在平行测定中不产生差异。因此以苯丙氨酸峰为基准进行归一化处理进行强度校正^[4, 13]。

1.3.3 谷蛋白红外光谱分析

红外光谱分析采用溴化钾压片法^[4]:将蛋白粉末与干燥的溴化钾按 $1:100$ 混合后研磨至足够细,在压片机上以 $10\text{ T}\cdot\text{cm}^{-2}$ 压片,直至得到的压片均匀无裂痕呈半透明状。在红外光谱仪上扫描,波数 $400\sim 4\text{ }000\text{ cm}^{-1}$,分辨率 2 cm^{-1} ,扫描 512 次获得叠加谱,试验重复 3 次,谱图用 Omnic 8.0 分析。

1.3.4 谷蛋白功能性质的测定

(1)溶解性的测定

根据文献^[14]:取 4 支试管,各称取 0.010 g 谷蛋白样品,分别加入 pH 值 3, 5, 7 和 9 的 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS 缓冲液 1 mL ,涡旋振荡 3 次,每次 3 s ,得到不同 pH 值下的 1% 蛋白悬液。将蛋白悬液于 $5\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 下离心 10 min,取上清液用考马斯亮蓝法测定蛋白质含量,用牛血清白蛋白作标准曲线。

(2)持水性和持油性的测定

参照文献^[15],采用重量法测定:称取 0.100 g 谷蛋白样品于预先恒重的离心管 m_1 中,加入 5 mL 蒸馏水(花生油),涡旋振荡 3 次,每次 3 s ,在 $40\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温水浴中保温 30 min 。将混合物在 $4\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 下离心 10 min,倾去上清液,称取离心管质量 m_2 。通过公式:持水性(持油性)($\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}$) = $(m_2 - m_1 - 0.100)/0.100$,计算样品的持水性和持油性。

(3)乳化性和乳化稳定性的测定

参照文献^[5]用浊度法:称取 0.015 g 样品,分散于 15 mL pH 7.4 的 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 PBS 缓冲液中,得到 $1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 谷蛋白悬液,加入 5 mL 花生油,用高速分散均质机以 $10\text{ }000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度均质 2 min 。立刻取出 $20\text{ }\mu\text{L}$ 谷蛋白-花生油乳状液与 5 mL 0.1% SDS 溶液混合均匀,以 0.1% SDS 为空白,在 500 nm 处测定吸光度(记为 A_0)。剩下的谷蛋白-花生油乳状液静置 30 min 后,以同样的方法测定吸光度(记为 A_{30})。则:乳化性($\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$) = $(2\times 2.303A_0N)/(c\times\phi\times 10\text{ }000)$,乳化稳定性(min) = $A_0/(A_0 - A_{30})\times 30$,其中 N 为稀释倍数取 250($20\text{ }\mu\text{L}$ 蛋白-花生油乳状液与 5 mL 0.1% SDS 混匀), c 为蛋白质质量浓度($1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), ϕ 为油相所占的体积分数(0.25)。

(4)起泡性和泡沫稳定性的测定

参照文献[5]:取 5 个 50 mL 烧杯,各称取 0.100 g 谷蛋白;向烧杯中分别加入 pH 值为 3, 5, 7, 9 和 11 的 0.05 mol·L⁻¹ PBS 缓冲液各 10 mL,得到不同 pH 值下 1% 蛋白分散液,用高速分散均质机以 10 000 r·min⁻¹ 的速度均质 30 s,连续 4 次共 2 min,均质后的泡沫体积记为 V₀;静置 30 min 后再次记录泡沫体积 V₃₀。则:起泡性=(V₀-10)/10×100%,泡沫稳定性=(V₃₀-10)/(V₀-10)×100%。

1.3.5 数据处理

数据采用 SAS 8.01 进行单因素方差分析及邓肯多重比

较^[16](Duncan's Multiple Range Test), $p < 0.05$ 。

2 结果与讨论

2.1 谷蛋白陈化变化的拉曼光谱分析

拉曼光谱适合研究同原子间形成的非极性键,能表现出氨基酸侧链所处微环境的变化,从而为蛋白质高级结构的变化提供信息。新米谷蛋白、陈米谷蛋白和陈化谷蛋白的拉曼光谱见图 1,拉曼频率、官能团指认和归一化强度见表 1。

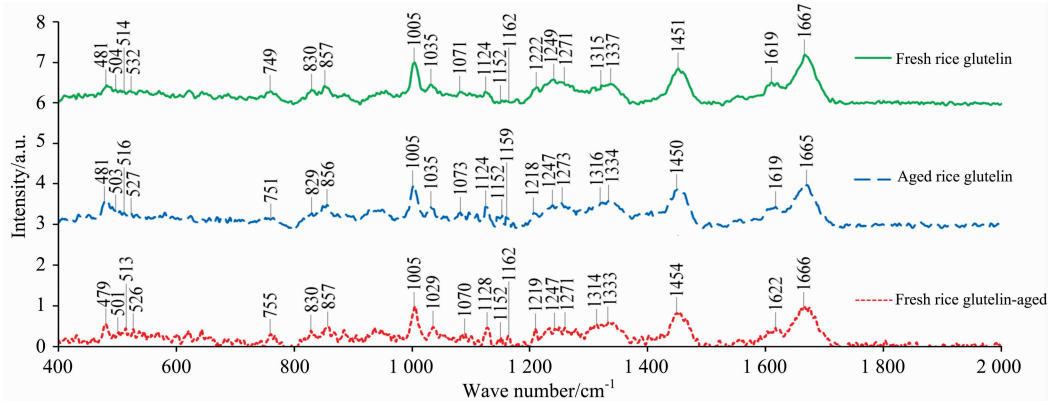


图 1 陈化后谷蛋白拉曼光谱变化

Fig. 1 Changes in Raman spectra of glutelin after aging

表 1 谷蛋白拉曼光谱特征峰指认

Table 1 Raman frequencies and tentative assignments of glutelin

波数/cm ⁻¹			振动指认	归一化强度(I/I ₁₀₀₅)		
新米谷蛋白	陈米谷蛋白	陈化谷蛋白		新米谷蛋白	陈米谷蛋白	陈化谷蛋白
481	481	479	C—H	0.55A	0.59A	0.57A
504	503	501	S—S	0.32A	0.36A	0.36A
514	516	513	S—S	0.23B	0.45A	0.46A
532	527	526	S—S	0.21B	0.42A	0.43A
749	751	755	Trp	0.14B	0.20A	0.22A
830	829	830	Tyr	0.33A	0.31A	0.31A
857	856	857	Tyr	0.37B	0.52A	0.50A
857/830	856/829	857/830	Tyr	1.12B	1.68A	1.61A
1 035	1 035	1 029	S=O	0.25B	0.48A	0.49A
1 071	1 073	1 070	S=O	0.20A	0.19A	0.23A
1 124	1 124	1 128	O=S=O	0.28B	0.47A	0.48A
1 152	1 152	1 152	O=S=O	0.06B	0.22A	0.22A
1 162	1 159	1 162	O=S=O	0.05B	0.26A	0.27A
1 222	1 218	1 219	Amide III	0.41A	0.25B	0.24B
1 249	1 247	1 247	Amide III	0.52A	0.51A	0.37B
1 271	1 273	1 271	Amide III	0.38A	0.37A	0.38A
1 315	1 316	1 314	O=S=O	0.34B	0.50A	0.51A
1 337	1 334	1 333	O=S=O	0.48B	0.63A	0.62A
1 451	1 450	1 454	C—H	0.85A	0.86A	0.86A
1 619	1 619	1 622	β-sheet	0.49A	0.42A	0.43A
1 667	1 665	1 666	Amide I	1.19A	1.01B	0.98B
2 936	2 935	2 936	C—H	3.99A	4.02A	4.01A
3 423	3 424	3 424	O—H	0.02B	0.05A	0.06A

注:同一行的不同字母(A, B)表示样品间有显著差异($p < 0.05$)

Note: Different letters (A, B) in the same row indicate significant differences ($p < 0.05$)

由表 1 可以看出,陈米谷蛋白和陈化谷蛋白在 1 665/1 666 cm⁻¹与 1 218/1 219 cm⁻¹处的拉曼光谱强度明显低于新米谷蛋白,此两峰分别归属于酰胺 I 和酰胺 III 带,说明陈米谷蛋白和陈化谷蛋白中 α-螺旋明显减少^[17]。在 516, 527, 1 035, 1 124, 1 152, 1 159, 1 316 和 1 334 cm⁻¹处,陈米谷蛋白和陈化谷蛋白的峰强度明显高于新米谷蛋白,这归属于含硫氨基酸残基的氧化产物——二硫键、亚砷和砷,表明陈化后谷蛋白中巯基发生氧化^[17-18]。481, 1 451 和 2 936 cm⁻¹峰均归属 C—H 键,陈化前后谷蛋白峰的拉曼强度变化不明显。857/830 cm⁻¹为酪氨酸的 Fermi 共振,陈化后谷蛋白峰的强度比明显增大,说明谷蛋白中酪氨酸残基更加暴露^[17, 19]。749/751/755 cm⁻¹为色氨酸吡啶环的拉曼峰位,陈化后强度提高说明谷蛋白色氨酸残基被埋藏^[17-18]。O—H 伸缩峰 3 423 cm⁻¹在陈化后显著增强,说明分子间键合程度升高,谷蛋白与淀粉分子结合更紧密^[19]。实验结果,不管是陈米中的谷蛋白,还是新米谷蛋白被提取出来后再陈化,α-螺旋结构均明显减少,含硫氨基酸氧化,酪氨酸残基更深度暴露,色氨酸残基更深度埋藏,谷蛋白与淀粉分子之间结合更为紧密。这些拉曼光谱特征,有力地说明了陈化后谷蛋白含硫氨基酸氧化形成二硫键、亚砷和砷的存在,以及陈化谷蛋白比陈米谷蛋白氧化程度更高,为稻米陈化劣变中谷蛋白的氧化提供了光谱学依据。

2.2 谷蛋白陈化变化的红外光谱分析

红外光谱反映分子振动-转动能级,与振动过程中分子偶极矩的变化相关,反映分子内部的微观结构,可进一步说明蛋白质结构的变化。从图 2 和表 2 可以看出,陈米谷蛋白

在 1 153, 1 078 和 1 026 cm^{-1} 处的吸收峰明显增强。1 153 cm^{-1} 为砜的特征吸收, 1 078 和 1 027 cm^{-1} 为亚砜的特征吸收^[20]。三处均表征含硫的氧化产物, 说明陈化引起了含硫氨基酸残基的氧化, 包括巯基氧化成二硫键、亚砜和砜等。谷

蛋白在 931 cm^{-1} 附近出现了较弱的吸收, 此为糖环骨架的特征吸收峰^[20], 陈米谷蛋白的此吸收峰强度比新米谷蛋白大, 表明陈化后谷蛋白存在糖基化趋势, 与淀粉分子的结合更加紧密, 可能影响了陈米的糊化特性^[21]。

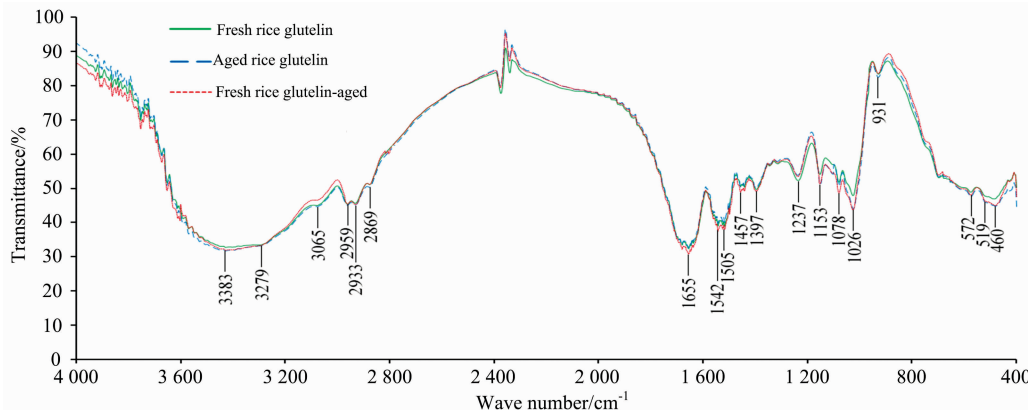


图 2 陈化后谷蛋白红外光谱变化

Fig. 2 Changes in infrared spectra of glutelin after aging

表 2 谷蛋白红外特征频率及归属

Table 2 Infrared frequencies and tentative assignments of glutelin

波数/ cm^{-1}			振动归属
新米谷蛋白	陈米谷蛋白	陈化谷蛋白	
460	462	460	吡咯咪唑
931	931	931	C—C
1 026	1 027	1 027	S=O
1 078	1 076	1 076	O—S—OH
1 153	1 155	1 153	S=O, C—O
1 237	1 236	1 238	S=O
1 397	1 398	1 396	C=O
1 457	1 459	1 457	脂肪烃, 苯环
1 542	1 544	1 542	Amide II
2 869	2 867	2 867	脂肪烃 CH
2 933	2 931	2 933	脂肪烃 CH
2 959	2 960	2 958	脂肪烃 CH_3
3 279	3 280	3 280	NH 伸缩

2.3 陈化对谷蛋白功能性质的影响

2.3.1 陈化对谷蛋白溶解性的影响

由图 3 可知, 不同 pH 值下, 陈米谷蛋白的溶解性均明显低于新米谷蛋白, 且在 pH 3 时差异最大。陈化谷蛋白的溶解性仅在 pH 3 时低于陈米谷蛋白, 而在其他 pH 值下高于陈米谷蛋白, 且在 pH 9 时比新米谷蛋白更高。这些结果说明, 陈化使得谷蛋白的溶解性降低, 在酸性条件下尤为明显, 这可能与光谱分析中所示谷蛋白氧化有关。陈化使更多的疏水基团暴露, 降低了蛋白质溶解性。

2.3.2 陈化对谷蛋白持水性和持油性的影响

由图 4(a) 可知, 新米谷蛋白的持水性最高, 其次是陈米谷蛋白, 陈化谷蛋白的持水性最低。而持油性变化趋势与持水性正相反[图 4(b)], 新米谷蛋白的持油性最低, 陈米谷蛋

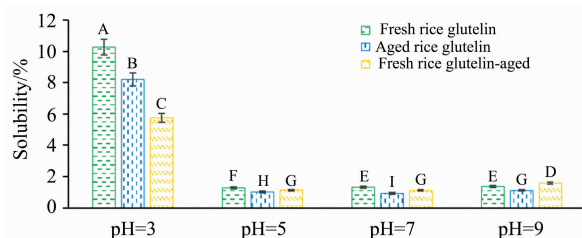


图 3 陈化对谷蛋白溶解性的影响

Fig. 3 Effects of aging on solubility of glutelin

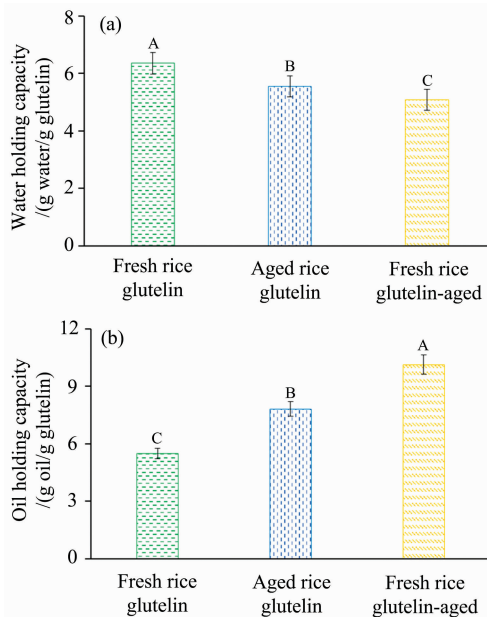


图 4 陈化对谷蛋白持水性(a)和持油性(b)的影响

Fig. 4 Effects of aging on (a) water holding capacity and (b) oil holding capacity of glutelin

白其次,陈化谷蛋白的持油性最高。实验结果表明谷蛋白的陈化降低了持水性,提高了持油性,这一变化支持光谱解析中谷蛋白陈化后疏水基暴露的结果。新米谷蛋白被提取出来后单独陈化的变化更明显,表明淀粉对谷蛋白陈化有一定缓解作用。

2.3.3 陈化对谷蛋白乳化性和乳化稳定性影响

由图 5(a)可见,新米谷蛋白、陈米谷蛋白和陈化谷蛋白乳化性依次显著降低;新米谷蛋白的乳化稳定性最高,陈米谷蛋白和陈化谷蛋白乳化稳定性明显降低,但二者间差异不明显[图 5(b)]。乳化性降低与蛋白质溶解性降低密切相关,陈化使蛋白质氧化程度加深,疏水基更加暴露,溶解性下降。

2.3.4 陈化对谷蛋白起泡性和泡沫稳定性影响

由图 6 可见,在 pH 3 和 pH 11 时,新米谷蛋白、陈米谷蛋白和陈化谷蛋白起泡性依次显著降低;在其他 pH 下也呈下降趋势,但变化不显著。起泡性是蛋白质分散于界面成薄的能力,起泡性降低,说明其分散能力下降,显示了陈化导致的蛋白质氧化引起的溶解性降低。由图 7 可知,在各 pH

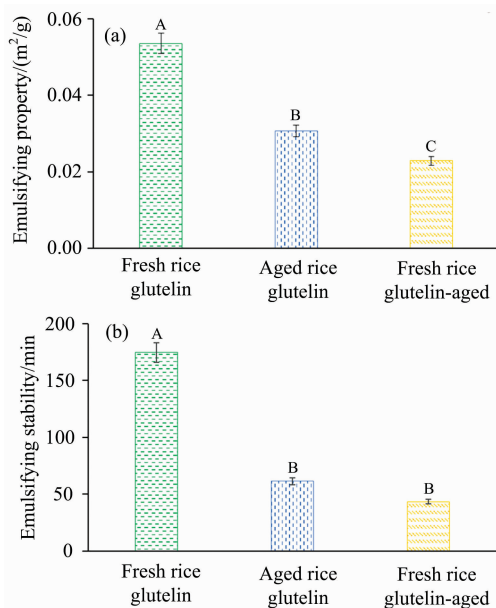


图 5 陈化对谷蛋白乳化性(a)和乳化稳定性(b)的影响

Fig. 5 Effects of aging on emulsifying property (a) and emulsifying stability (b) of glutelin

值下,泡沫稳定性变化不明显,说明谷蛋白的陈化变化对泡沫稳定性影响不显著。

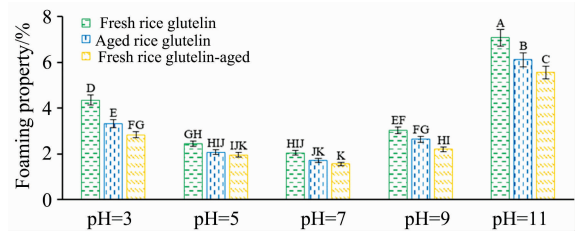


图 6 陈化对谷蛋白起泡性的影响

Fig. 6 Effects of aging on foaming property of glutelin

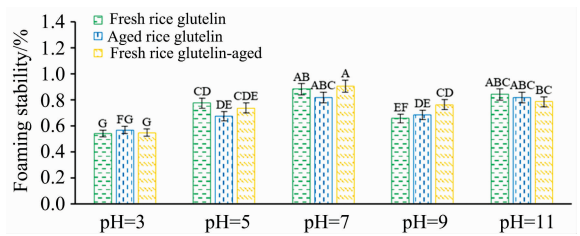


图 7 陈化对谷蛋白泡沫稳定性的影响

Fig. 7 Effects of aging on foaming stability of glutelin

3 结论

比较了新米谷蛋白、陈米谷蛋白和陈化谷蛋白的拉曼和红外光谱及三种谷蛋白功能性质变化,发现陈米谷蛋白和陈化谷蛋白比新米谷蛋白的 α -螺旋减少,含硫氨基酸残基氧化产物增多,酪氨酸残基更加暴露,色氨酸残基更加埋藏,分子间结合程度更高,说明陈化中谷蛋白发生了氧化,并体现在蛋白功能性质变化上。陈米谷蛋白溶解性、持水性、乳化性和乳化稳定性均比新米谷蛋白低,而持油性比新米谷蛋白高,支持谷蛋白在陈化中发生的氧化变化。陈化谷蛋白溶解性(除 pH 9)、持水性和乳化性比陈米谷蛋白更低,持油性更高,说明提取出来的新米谷蛋白单独陈化氧化程度更深。可见,通过拉曼和红外光谱能很好地表征大米陈化过程中米粒外层中谷蛋白的氧化,与蛋白功能性质的变化相一致,说明了稻米陈化劣变的内在原因,这为控制稻米陈化劣变、减少产后损失提供了依据。

References

- [1] GE Zhi-wen, GAO Yu-long, FANG Yong, et al(葛志文,高瑀珑,方勇,等). *Cereals & Oils(粮食与油脂)*, 2019, 32(2): 7.
- [2] ZHOU Xian-qing, ZHU Fang-qing, ZHANG Yu-rong, et al(周显青,祝方清,张玉荣,等). *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association(中国粮油学报)*, 2020, 35(12): 108.
- [3] WU Wei, WU Xiao-juan(吴伟,吴晓娟). *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association(中国粮油学报)*, 2018, 33(10): 104.
- [4] Guo Yubao, Cai Weirong, Tu Kang, et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013, 61(1): 185.
- [5] WU Wei, YE Jian-fen, CAI Yong-jian, et al(吴伟,叶建芬,蔡勇建,等). *Food and Machinery(食品与机械)*, 2015, 31(5): 165.
- [6] Villareal R M, Resurreccion A P, Suzuki L B, et al. *Starch-Starke*, 2010, 26(3): 88.
- [7] WU Wei, WU Xiao-juan, CAI Yong-jian, et al(吴伟,吴晓娟,蔡勇建,等). *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association(中国粮油学报)*, 2017, 32(7): 98.
- [8] Xue Lianjing, Chen Yang, Li Pingzhang. *Journal of Food Science*, 2016, 81(10-12): 2337.

- [9] SHI Jia-yi, ZHANG Tai, LIANG Fu-qiang, et al(石嘉恠, 张太, 梁富强, 等). Science and Technology of Food Industry(食品工业科技), 2021, 42(6): 29.
- [10] Khang N Tran, Torsten Witt, Michael J Gidley, et al. Food Chemistry, 2018, 253(1): 221.
- [11] ZHAO Ying, LI Ming, WANG Xiao-long, et al(赵迎, 李明, 王小龙, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2019, 39(5): 1468.
- [12] Zhou Z, Robards K, Helliwell S, et al. Food Research International, 2010, 43(3): 709.
- [13] GAO Ying, DAI Lian-kui, ZHU Hua-dong, et al(高颖, 戴连奎, 朱华东, 等). Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学), 2019, 47(1): 67.
- [14] CHEN Jia-yi, ZHONG Jun-zhen, LIU Cheng-mei(陈嘉懿, 钟俊桢, 刘成梅). Modern Food Science and Technology(现代食品科技), 2015, 31(10): 241.
- [15] LIU Shan-shan, CHEN Ji-wang, CHEN Lu, et al(刘珊珊, 陈季旺, 陈露, 等). Journal of the Chinese Cereals and Oils Association(中国粮油学报), 2015, 30(4): 33.
- [16] DU Xiao-lin, WANG Yu-min(杜晓林, 王玉民). Multivariate Statistical Analysis and SAS(多元统计分析与 SAS). Beijing: China Agriculture Press(北京: 中国农业出版社), 2014, 185.
- [17] Ellepola S W, Choi S M, Phillips D L, et al. Journal of Cereal Science, 2005, 43(1): 85.
- [18] Li-Chan E C Y. Trends in Food Science & Technology, 1996, 71(7): 361.
- [19] Shao J H, Zou Y F, Xu X L, et al. Food Research International, 2011, 44(9): 2955.
- [20] ZHANG You-jie(张友杰). Spectrum Analysis of Organic Compounds and Drugs(有机化合物及药物波谱分析). Wuhan: Central China Normal University Press(武汉: 华中师范大学出版社), 2008. 113.
- [21] Guo Y, Diao M, Tu K, et al. International Journal of Food Properties, 2018, 20(Supl. 3), S2969.

Spectral Analysis of Glutelin Changes During Rice Aging and Its Effects on Glutelin Functional Properties

NING Jun-fan, GUO Yu-bao*, SONG Rui, ZHU Shi-min, DONG Peng

School of Biological and Food Engineering, Anhui Polytechnic University, Wuhu 241000, China

Abstract Rice aging during storage leads to a decline in eating quality, and protein changes are the underlying reasons. Glutelin is the main protein in rice. Raman and infrared spectroscopy were used to characterize the changes in glutelin during aging, and the differences in functional properties were compared, which was helpful to clarify the mechanism of rice aging. Raman spectroscopy showed that the normalized Raman intensities of aged rice glutelin at 1 665 and 1 218 cm^{-1} were 1.01 and 0.25, significantly lower than fresh rice glutelin, indicating a decreased α -helix in glutelin after rice aging. The disulfide bonds (the peak intensities at 516 and 527 cm^{-1} were 0.45 and 0.42 respectively), sulfoxides (the peak intensity at 1 035 cm^{-1} was 0.48) and sulfones (the peak intensities at 1 124, 1 152, 1 159, 1 316 and 1 334 cm^{-1} were 0.47, 0.22, 0.26, 0.50 and 0.63, respectively) of the aged rice glutelin were significantly higher than those of the fresh rice glutelin, indicating the obvious oxidation of sulfur-containing amino acid residues. The intensity ratio of Fermi resonance at 857/830 cm^{-1} of tyrosine in aged rice glutelin was 1.68, which was larger than fresh rice glutelin, indicating more exposed tyrosine residues in glutelin after aging. The Raman intensity of the tryptophan indole ring near 751 cm^{-1} of aged rice glutelin was 0.20, which was significantly higher than the intensity of 0.14 for the tryptophan indole ring of fresh rice glutelin, indicating more buried tryptophan residues after aging. The O—H stretching strength of the aged rice glutelin at 3 423 cm^{-1} was 0.05, which was significantly higher than that of the fresh rice glutelin of 0.02, indicating that the degree of intermolecular bonding was increased association between glutelin and starch strengthened. Except for the peak intensities of tyrosine Fermi resonance and sulfone at 1 333 and 1 152 cm^{-1} were not higher, the Raman intensities of fresh rice glutelin-aged at other peaks were higher than those of aged rice glutelin, which indicates that the oxidation degree of fresh rice glutelin-aged is high. Infrared spectroscopy showed that the absorption peaks of sulfur oxides at 1 153, 1 078 and 1 026 cm^{-1} in aged rice glutelin and fresh rice glutelin-aged increased, further supporting the oxidation of glutelin after aging. Compared with the functional properties of fresh rice glutelin, the solubility, water holding capacity, emulsifying properties and emulsifying stability of aged rice glutelin were significantly reduced, while oil holding capacity increased, which supported the obvious oxidation of aged rice glutelin. The solubility (except for pH 9), water holding capacity and emulsifying properties of fresh rice glutelin-aged were lower than those of aged rice glutelin, and its oil holding capacity was higher, which indicated that glutelin had a higher degree of oxidation when it was extracted from fresh rice

and aged alone. The changes in the functional properties of glutelin after aging supported the oxidative changes shown by Raman and infrared spectroscopies, which provides new evidence for clarifying the roles of protein in aging deterioration of rice quality, and provides a basis for controlling the deterioration of rice aging and reducing post-harvest losses.

Keywords Rice; Aging deterioration; Glutelin; Infrared; Raman; Functional properties

(Received Jan. 20, 2021; accepted Apr. 28, 2021)

* Corresponding author

《光谱学与光谱分析》期刊社决定采用 ScholarOne Manuscripts 在线投稿审稿系统

《光谱学与光谱分析》期刊社与汤森路透集团签约,自 2010 年 12 月 1 日起《光谱学与光谱分析》决定采用 Thomson Reuters 旗下的 ScholarOne Manuscripts 在线投稿审稿系统。

- ScholarOne Manuscripts, 该系统不仅能轻松处理稿件,而且能提速科技交流。
- 全球已有 360 多家学会和出版社的 3 800 多种期刊选用了 ScholarOne Manuscripts 系统作为在线投稿、审稿平台,全球拥有超过 1 350 万的注册用户,代表着全球学术期刊在线投审稿的一流水平。
- ScholarOne Manuscripts 与 EndNote, Web of Science 无缝链接和整合;使科研探索、论文评阅和信息传播效率大为提高。
- ScholarOne Manuscripts 是汤森路透科技集团的一个业务部门,拥有丰富的学术期刊业务经验,为学术期刊提供综合管理 workflow 系统,使期刊更有效管理投稿、同行评审、加工和发表过程,提高作者心中的专业形象,缩短论文发表时间,削减管理成本,帮助期刊提高科研绩效和实现学术创新。

《光谱学与光谱分析》采用“全球学术期刊首选的在线投稿审稿系统—ScholarOne Manuscripts”,势必对 2010 年 11 月 30 日以前向本刊投稿的作者在查阅稿件信息时,会带来某些不便,在此深表歉意!为了推进本刊的网络化、数字化、国际化进程,以实现与国际先进出版系统对接;为了不断提高期刊质量,加快网络化、数字化建设,加快与国际接轨的进程,希望能得到广大作者、读者们的支持与理解,对您的理解和配合深表感激。这是一件新事物,肯定有不周全、不完善的地方,让我们共同努力,不断改进和完善起来。

《光谱学与光谱分析》期刊社

2010 年 12 月 1 日