

化学精炼对稻米油谷维素和总酚含量 及清除自由基能力的影响

张志艳, 金俊, 刘睿杰, 常明, 金青哲, 王兴国

(江南大学食品学院, 食品科学与技术国家重点实验室, 食品安全与营养协同创新中心, 江苏无锡 214122)

摘要: 稻米油因具有高营养价值、良好的稳定性而备受关注。精炼过程直接影响稻米油性质及伴随物, 选取毛油及脱胶、脱蜡、脱酸、中和、脱色、脱臭和脱脂 7 个精炼工序的稻米油, 研究精炼工序对稻米油酸值、过氧化值、谷维素和总酚含量的影响。采用 4 种方法评估精炼过程中稻米油清除自由基能力, 并采用 Pearson 相关性分析研究酸值、过氧化值、谷维素、总酚与清除自由基能力之间的关系。结果表明: 化学精炼使稻米油的谷维素和总酚含量分别损失了 82% 和 94%; 与毛油相比, 在精炼过程中 ABTS、FRAP、ORAC 和 DPPH 4 种方法测定脱脂稻米油清除自由基能力分别损失了 91%、47%、92% 和 58%, 且这 4 种方法对稻米油清除自由基能力评估的结果均与谷维素及总酚含量呈显著相关 ($P < 0.05$), ABTS 法、ORAC 法和 DPPH 法的评估结果均与酸值呈显著相关 ($P < 0.05$)。

关键词: 稻米油; 精炼; 谷维素; 总酚; 清除自由基能力; 相关性

中图分类号: TS224.6; TS225.1 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2018)10-0008-04

Effects of chemical refining on contents of oryzanol, phenolics and free radical scavenging capacity of rice bran oil

ZHANG Zhiyan, JIN Jun, LIU Ruijie, CHANG Ming,
JIN Qingzhe, WANG Xingguo

(Collaborative Innovation Center of Food Safety and Nutrition, State Key Laboratory of Food Science and Technology, School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, Jiangsu, China)

Abstract: Due to its high nutritional value and good stability, rice bran oil attracts much attention. The properties and accompanying micronutrients of rice bran oil are directly affected by the refining process. Eight stages of rice bran oils including crude oil, degumming oil, dewaxing oil, physical deacidification oil, neutralization (alkali refining) oil, decolorization oil, deodorization oil and winterization oil were selected to systematically study the effects of chemical refining on the acid value, peroxide value and contents of oryzanol and phenolics. Four methods were used to determine the free radical scavenging capacity of rice bran oil. And the correlations between acid value, peroxide value, oryzanol, phenolics and the free radical scavenging capacity were studied. The results showed that the loss rates of oryzanol and phenolics after refining were 82% and 94%, respectively, and the free radical scavenging capacity of rice bran oil determined by ABTS, FRAP, ORAC and DPPH methods reduced by 91%, 47%, 92% and 58% respectively compared with crude oil. The results of free radical scavenging capacity determined by

four methods significantly correlated with contents of oryzanol and phenolics ($P < 0.05$). The results of ABTS, ORAC and DPPH methods were significantly correlated with the acid value ($P < 0.05$).

Key words: rice bran oil; refining; oryzanol; phenolics; free radical scavenging capacity; correlation

收稿日期: 2018-01-22; 修回日期: 2018-06-28

基金项目: 江南大学食品科学与技术国家重点实验室自由探索资助课题 (SKLF-ZZA-201705); 金龙鱼营养与安全研究基金

作者简介: 张志艳 (1990), 女, 在读硕士, 研究方向为脂质加工与营养 (E-mail) zhiyanzhang88@163.com。

通信作者: 刘睿杰, 副教授 (E-mail) liuruijie163@163.com。

稻米油营养价值高,脂肪酸组成合理,不饱和脂肪酸含量占80%以上,脂肪伴随物比其他植物油高70%~250%,主要包括谷维素、植物甾醇、角鲨烯、生育酚和多酚等。谷维素是稻米油特有有益伴随物,具有较强抗氧化及清除自由基能力^[1]。稻米毛油色泽深、酸值高、杂质多、成分复杂,因此精炼工艺比较复杂^[2]。稻米油精炼一般有物理精炼、化学精炼、生物精炼等^[3],目前化学精炼在稻米油精炼中应用较多。

清除自由基能力是评估食用油抗氧化能力的重要手段。在食用油抗氧化评估中应用较多的有2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)法、铁离子还原(FRAP)法,抗氧化能力指数测定(ORAC)法和1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)法。Szydłowska-Czeriak等^[4-5]研究了精炼过程菜籽油和棕榈油清除自由基能力,刘慧敏^[6]对橄榄油、稻米油和大豆油等13种常见食用油清除自由基能力进行了研究分析。

鉴于此,本文采集了大型精炼工厂稻米油,以毛油及脱胶、脱蜡、物理脱酸、中和(碱炼)、脱色、脱臭和脱脂等工序的稻米油为研究对象,研究精炼工序对稻米油酸值、过氧化值、谷维素和总酚含量的影响,并采用ABTS、FRAP、ORAC和DPPH4种清除自由基方法评估精炼对稻米油清除自由基能力的影响,最后采用Pearson相关性分析研究酸值、过氧化值、谷维素、总酚与清除自由基能力之间的关系,以期对稻米油的精准适度加工提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

稻米油样(毛油、脱胶油、脱蜡油、脱酸油、中和油、脱色油、脱臭油、脱脂油)来自国内大型精炼工厂。ABTS、TPTZ、FL、AAPH、DPPH、Trolox和谷维素等均购于Sigma公司;福林酚试剂、没食子酸、甲醇、乙醇、过硫酸钾、乙酸、乙酸钠等均为分析纯。

二乙醇基固相萃取小柱(Diol SPE 6 mL/500 mg),美国赛芬公司;1525高效液相色谱仪,Waters公司;SpectraMax M5多功能酶标仪,Molecular Devices(MD)公司。

1.2 实验方法

1.2.1 稻米油相关指标测定

1.2.1.1 酸值与过氧化值的测定

酸值的测定参照GB 5009.229—2016《食品安全国家标准 食品中酸价的测定》,以碱性蓝作为指示剂^[7]。过氧化值的测定参照GB 5009.227—2016《食品安全国家标准 食品中过氧化值的测定》。

1.2.1.2 谷维素含量的测定

谷维素含量测定参考陈燕飞等^[8]使用的高效液相色谱法。用异丙醇溶解定容油样,以乙醇为流动相,Lichrospher NH₂色谱柱(250 mm×4.6 mm×5 μm);柱温40℃;检测波长324 nm;体积流量0.8 mL/min;采集时间20 min;进样量10 μL。

1.2.1.3 总酚含量的测定

取适量植物油样品按文献[9-10]报道的方法进行固相微萃取处理,提取多酚,含量测定使用福林酚法进行。结果以每百克油中当量的没食子酸毫克数(mg GAE/100 g)表示。

1.2.2 自由基清除能力测定

1.2.2.1 醇提物的制备

植物油中微量伴随物的提取参照Szydłowska-Czeriak等^[11]方法。取4.0 g植物油样品于20 mL棕色样品瓶,加入5 mL甲醇,在暗处振荡混匀30 min,3 000 r/min离心15 min,待完全分层后,取上层清液,按上述方法连续萃取4次,合并萃取液于-20℃冰箱贮存,备用。

1.2.2.2 ABTS法

参照Szydłowska-Czeriak等^[4]方法。取2 mL ABTS自由基工作液与30 μL油样甲醇提取液于8 mL棕色样品瓶中,剧烈混合均匀,室温暗处反应20 min,酶标仪734 nm波长读数,甲醇溶液空白调零。自由基清除能力以达到同样自由基清除率所需Trolox量表示。

1.2.2.3 FRAP法

参照Szydłowska-Czeriak等^[4]方法。取0.25 mL油样甲醇提取液、2 mL FRAP溶液和5.75 mL水于10 mL比色管内,用去离子水定容。在室温下静置10 min后,10 000 r/min离心10 min除去固体,并过0.22 μm膜。在593 nm下测定吸光度,甲醇溶液空白调零。自由基清除能力以达到同样吸光度所需Trolox量表示。

1.2.2.4 ORAC法

参照Szydłowska-Czeriak等^[11]方法。取30 μL油样甲醇提取液或空白甲醇或Trolox标准液加于96孔黑色酶标板中,加入180 μL FL溶液,快速振荡2 min,37℃下暗处孵育10 min,取出96孔黑色酶标板加入30 μL AAPH溶液迅速启动反应。在激发波长485 nm、发射波长538 nm的条件下,进行连续的荧光强度测定。每5 min测定1次,在荧光强度衰减呈基线后停止测定。每个样品设置3个复孔。每块板包括对照组:甲醇+FL荧光+AAPH自由基;空白组:甲醇+FL荧光+不添加AAPH自由

基。自由基清除能力以达到同样净荧光衰减面积所需 Trolox 量表示。

1.2.2.5 DPPH 法

参考 Szydłowska - Czerniak 等^[4]方法。取 100 μL 油样甲醇提取液与 3 mL DPPH 甲醇溶液以及 1.9 mL 甲醇混合,于室温暗处反应 2 h,517 nm 检

测,甲醇溶液调零。自由基清除能力以达到同样自由基清除率所需 Trolox 量表示。

2 结果与讨论

2.1 化学精炼对稻米油酸值、过氧化值、谷维素和总酚含量的影响(见表 1)

表 1 精炼过程中稻米油的酸值、过氧化值、谷维素和总酚含量

| 样品 | 酸值(KOH)/(mg/g) | 过氧化值/(mmol/kg) | 谷维素含量/(mg/100 g) | 总酚含量/(mg GAE/100 g) |
|-----|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|-------------------------------|
| 毛油 | 13.41 \pm 0.12 ^b | 1.68 \pm 0.10 ^{cd} | 1 485.26 \pm 29.71 ^b | 24.30 \pm 0.67 ^b |
| 脱胶油 | 15.76 \pm 0.14 ^a | 2.00 \pm 0.07 ^{cd} | 1 463.74 \pm 73.19 ^b | 16.84 \pm 0.25 ^d |
| 脱蜡油 | 15.72 \pm 0.13 ^a | 2.81 \pm 0.09 ^b | 1 611.30 \pm 48.34 ^{ab} | 28.04 \pm 1.30 ^a |
| 脱酸油 | 0.58 \pm 0.03 ^c | 1.80 \pm 0.07 ^{cd} | 1 818.04 \pm 145.44 ^a | 21.07 \pm 1.32 ^c |
| 中和油 | 0.22 \pm 0.05 ^d | 3.11 \pm 0.12 ^a | 207.97 \pm 12.48 ^e | 1.94 \pm 0.17 ^e |
| 脱色油 | 0.15 \pm 0.04 ^d | 0.41 \pm 0.27 ^e | 252.75 \pm 12.64 ^e | 0.83 \pm 0.22 ^e |
| 脱臭油 | 0.13 \pm 0.01 ^d | 0.47 \pm 0.13 ^e | 313.35 \pm 15.67 ^e | 1.65 \pm 0.44 ^e |
| 脱脂油 | 0.10 \pm 0.03 ^d | 0.81 \pm 0.04 ^e | 274.76 \pm 13.74 ^e | 1.51 \pm 0.37 ^e |

注:数据用“平均值 \pm 标准差”表示;同列中不同的字母代表有显著性差异($P < 0.05, n = 3$)。

由表 1 可知,稻米油的酸值(KOH)在脱酸工序显著下降($P < 0.05$),最终脱脂油的酸值(KOH)为(0.10 \pm 0.03)mg/g,满足国标一级油规定(≤ 0.2 mg/g);过氧化值在精炼过程中波动较大,脱脂油过氧化值为(0.81 \pm 0.04)mmol/kg,也满足国家浸出一级米糠油限量标准(≤ 5.0 mmol/kg)^[12]。

谷维素含量从毛油(1 485.26 \pm 29.71)mg/100 g 下降到脱脂油的(274.76 \pm 13.74)mg/100 g,损失了 82% ($P < 0.05$);总酚含量在精炼过程中从毛油的

(24.30 \pm 0.67)mg GAE/100 g 下降到脱脂油的(1.51 \pm 0.37)mg GAE/100 g,损失了 94% ($P < 0.05$)。

2.2 化学精炼对稻米油清除自由基能力的影响

通过 ABTS、FRAP、ORAC 和 DPPH 4 种方法研究精炼各工序对稻米油清除自由基能力的影响,结果如图 1 所示,每个柱形图上方数据标签为此工序稻米油清除自由基能力相对于毛油的百分比。

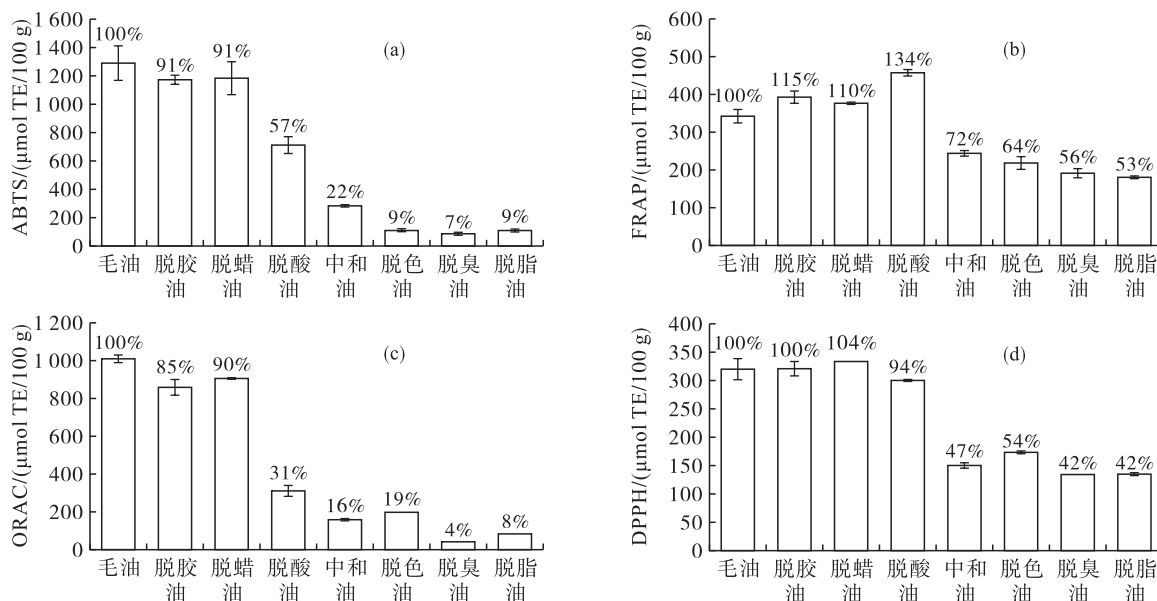


图 1 精炼过程中稻米油清除自由基的能力

由图 1(a)可知,稻米油精炼过程中,ABTS 法清除自由基能力从毛油的(1 292 \pm 120) $\mu\text{mol TE}/100$ g 下降到脱脂油(120 \pm 10) $\mu\text{mol TE}/100$ g,损失了 91%。其

中脱酸和中和工序对 ABTS 法影响最大,两工序的稻米油清除自由基能力分别损失了 43% 和 78%。

由图 1(b)可知,稻米油精炼过程中,FRAP 法

清除自由基能力在中和工序显著降低($P < 0.05$),其中从毛油(342 ± 16) $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ 下降到脱脂油(181 ± 2) $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$,损失了47%。另外,与脱酸油相比,毛油、脱胶油和脱蜡油FRAP值偏小,可能由于FRAP法本身比较容易受到外界环境的干扰,如毛油中游离脂肪酸、磷脂或其他的杂质可能使得 $[\text{Fe III}(\text{TPTZ})_2]^{3+}$ 还原过程被抑制^[13],从而表现为毛油的FRAP值低于脱酸油的FRAP值。

由图1(c)可知,稻米油精炼过程中,ORAC法清除自由基能力在脱酸工序骤减($P < 0.05$),从毛油(1011 ± 21) $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ 下降到脱脂油(83 ± 1) $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$,损失了92%。脱酸工序对稻米油清除自由基能力的影响最大,这一步骤就导致清除自由基能力损失了69%。

由图1(d)可知,稻米油精炼过程中,DPPH法清除自由基能力在中和工序骤减($P < 0.05$),从毛油(320 ± 19) $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ 下降到脱脂油(135 ± 3) $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$,损失了58%。

与毛油相比,ABTS、FRAP、ORAC和DPPH 4种方法测定脱脂油清除自由基能力在精炼过程中分别损失了91%、47%、92%和58%。

2.3 相关性分析(见表2)

表2 化学精炼过程稻米油清除自由基能力与酸值、过氧化值、谷维素及总酚含量的相关性系数

| 项目 | ABTS法 | FRAP法 | ORAC法 | DPPH法 |
|-------|---------|---------|---------|---------|
| 酸值 | 0.918** | 0.577 | 0.964** | 0.829* |
| 过氧化值 | 0.544 | 0.528 | 0.468 | 0.475 |
| 谷维素含量 | 0.890** | 0.956** | 0.775* | 0.964** |
| 总酚含量 | 0.931** | 0.865** | 0.860** | 0.959** |

注:*表示 $P < 0.05$,**表示 $P < 0.01$ 。

由表2可知,ABTS、FRAP和DPPH 3种方法的评估结果与谷维素和总酚含量极显著相关($P < 0.01$),而ORAC法与总酚含量极显著相关($P < 0.01$),而与谷维素含量显著相关($P < 0.05$)。总体上,化学精炼过程中稻米油4种清除自由基结果均与谷维素和总酚含量显著相关($P < 0.05$);酸值与ABTS、ORAC和DPPH 3种方法的结果亦显著相关($P < 0.05$)。但过氧化值与4种方法清除自由基能力均无显著相关性($P > 0.05$)。酸值对稻米油清除自由基能力的影响,可能是由于精炼过程中随酸值的降低,谷维素和总酚等微量伴随物同时有不同程度的损失,进而影响了稻米油清除自由基能力。

3 结论

研究表明,中和是化学精炼过程中稻米油谷维素和总酚含量损失的关键步骤,也是体外清除自由

基能力损失的关键步骤,谷维素和总酚含量在精炼过程中分别损失了82%和94%。精炼过程中稻米油ABTS法、FRAP法、ORAC法和DPPH法清除自由基能力分别损失了91%、47%、92%和58%。并且这4种方法对稻米油清除自由基能力评估的结果均与谷维素和总酚含量显著相关($P < 0.05$)。此外,ABTS、ORAC和DPPH 3种方法的评估结果均与酸值呈显著相关($P < 0.05$)。

参考文献:

- [1] LERMAGARCÍA M J, HERREROMARTÍNEZ J M, SIMÓLFONSO E F, et al. Composition, industrial processing and applications of rice bran γ -oryzanol [J]. Food Chem, 2009, 115(2): 389-404.
- [2] MAHUA G. Review on recent trends in rice bran oil processing [J]. J Am Oil Chem Soc, 2007, 84(4): 315-324.
- [3] 李云明,梁少华,吴忠英,等.米糠油精炼及糠蜡的制取技术[J].中国油脂,2006,31(7):33-35.
- [4] SZYDŁOWSKA - CZERNIAK A, LASZEWSKA A. Effect of refining process on antioxidant capacity, total phenolics and prooxidants contents in rapeseed oils [J]. LWT - Food Sci Technol, 2015, 64(2): 853-859.
- [5] SZYDŁOWSKA - CZERNIAK A, TROKOWSKI K, KARLOVITS G, et al. Effect of refining processes on antioxidant capacity, total contents of phenolics and carotenoids in palm oils [J]. Food Chem, 2011, 129(3): 1187-1192.
- [6] 刘慧敏.不同植物油微量成分与抗氧化能力的相关性研究[D].江苏无锡:江南大学,2015.
- [7] 金俊,金青哲,马晓军.一种碱性蓝指示剂法测定米糠油酸值的新方法[C]//中国粮油学会油脂分会第二十二届学术年会会议论文集.上海:中国粮油学会油脂分会,2013:183-185.
- [8] 陈燕飞,金俊,郑苏卫,等.高效液相色谱法测定米糠油中谷维素含量[J].粮食与食品工业,2013,20(6):112-115.
- [9] SINGLETON V L, ORTHOFER R, LAMUELA - RAVENTÓS R M M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin - Ciocalteu reagent [J]. Method Enzymol, 1999, 299(1): 152-178.
- [10] GÓMEZ CARAVACA A M, CARRASCO P A, CAÑABATE D B, et al. Electrophoretic identification and quantitation of compounds in the polyphenolic fraction of extra-virgin olive oil [J]. Electrophoresis, 2005, 26(18): 3538-3551.
- [11] SZYDŁOWSKA - CZERNIAK A, KARLOVITS G, DIANOCZKI C, et al. Comparison of two analytical methods for assessing antioxidant capacity of rapeseed and olive oils [J]. J Am Oil Chem Soc, 2008, 85(2): 141-149.
- [12] 中国国家标准化管理委员会.米糠油:GB/T 19112—2003[S].北京:中国标准出版社,2003.
- [13] KARADAG A, OZCELIK B, SANER S. Review of methods to determine antioxidant capacities [J]. Food Anal Method, 2009, 2(1): 41-60.