

发酵米糠的制备及其降血脂功能的研究

王稳航, 赵 可, 刘 婷, 滕安国
(天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457)

摘 要: 利用红曲霉(*Monascus anka*)、黑木耳(*Auricularia auricular*)、紫芝(*Ganoderma japonicrn*) 3 种真菌对新鲜米糠进行固态发酵, 并对发酵产物的降血脂功能进行研究. 结果表明: 黑木耳和红曲霉在米糠上长势良好, 且由两者发酵过的米糠脂肪含量显著降低, 碳水化合物显著增高. 高脂小鼠饲喂实验表明: 与新鲜米糠相比, 黑木耳发酵米糠和红曲霉发酵米糠均能够显著降低高脂小鼠的体质量和肝脏指数; 饲喂黑木耳发酵米糠的高脂小鼠血清中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的含量分别降低了28.84%、37.33%和56.19%, 差异显著($P < 0.01$), 高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量变化无显著差异. 小鼠肝组织 HE 染色结果表明, 黑木耳发酵米糠能有效减轻高脂小鼠肝组织损伤程度.

关键词: 米糠; 发酵; 降血脂

中图分类号: TS209

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2013)05-0014-05

Preparation of Fermented Rice Bran and its Effect on Reducing Blood Lipid

WANG Wenhong, ZHAO Ke, LIU Ting, TENG Anguo

(College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: Solid state fresh rice bran was fermented with *Monascus anka*, *Auricularia auricular* and *Ganoderma japonicrn* respectively, and the effect of the fermentation products on reducing blood lipid was researched into. The results showed that *Monascus anka* and *Auricularia auricular* grew well on rice bran, and the oil content in the rice bran fermented by these two funguses decreased obviously, while carbohydrate content increased significantly. The blood lipid lowering properties of rice bran fermented with *Monascus anka* and *Auricularia auricular* were studied in high-fat-fed mice experiments. The results showed that thus fermented rice bran reduced weight and liver index. The level of serum TC, TG and LDL-C in high-fat-fed mice reduced 28.84%, 37.33% and 56.19% respectively, while changes of the HDL-C level were not significant. HE staining of liver also showed that *Auricularia auricular* fermented rice bran meliorated the histomorphological changes of liver in high-fat-fed mice.

Key words: rice bran; fermentation; reducing blood lipid

稻米是世界主要粮食作物之一, 我国稻米年产量高达 2 亿吨, 处于世界首位. 稻米脱壳后依附在糙米上的表皮层称之为米糠, 是稻米加工过程中的主要副产物, 由外果皮、中果皮、交联层、种皮及糊粉层组成, 约占整个稻米的 5.5%~10%. 我国米糠年产量在 1 000 万吨以上, 约占世界总产量的 1/3^[1-3].

我国作为米糠生产大国, 对米糠的利用却一直停

留在饲料、米糠油这些初级产品阶段. 近几年, 国家已经将米糠资源的开发利用列入到食品工业发展规划中, 把提高米糠的综合利用水平, 积极开发米糠营养油、米糠蛋白、米糠多糖、 γ -谷维醇及膳食纤维等功能食品作为米糠加工的重点发展方向^[4-5].

发酵食品作为传统食品领域的重要部分, 由于其特有的营养、功能和口感, 一直为很多人所喜爱. 安

收稿日期: 2013-03-19; 修回日期: 2013-05-08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31000755); 教育部科学技术研究重点项目(211008)

作者简介: 王稳航(1977—), 男, 河北武强人, 副研究员, wangwenhang@tust.edu.cn.

全、良好的微生物是发酵食品的基础,红曲霉、黑木耳等一些真菌为人们所食用了几千年,其保健功能也得到了公认^[6]。利用这些真菌的功能特性结合米糠的营养,通过生物发酵技术,开发新型功能性食品,以实现米糠作为食品的新突破,可能成为另一条米糠利用的新途径^[7]。

本文以红曲霉、黑木耳和紫芝为菌种对米糠进行固态发酵,研究米糠发酵前后各组分的变化及其降血脂功效,为发酵米糠产品的开发和米糠食品新资源的突破奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原料与试剂

新鲜米糠购于天津市金芦米业有限公司,取回后立即放于 $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱冻存。

琼脂、葡萄糖、无水乙醇、二甲苯、 Na_2HPO_4 、 NaH_2PO_4 、无水氯化钙、甲醛、盐酸、苏木精、伊红、硫酸铝钾、碘酸钠、冰醋酸等,分析纯,天津江天化工有限公司;基础饲料(玉米、小麦、麸子、豆粕、花生粕、高粱、大麦、面粉、微量元素以及复合维生素复配)、基础高脂饲料(1%胆固醇、10%猪油、10%蛋黄粉、0.2%胆盐、78.8%基础饲料),天津市奥易实验动物养殖有限公司;总胆固醇(TC)测试盒、甘油三酯(TG)测试盒、血清高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)测试盒和血清低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)测试盒,南京建成生物科技股份有限公司。

1.1.2 菌种与培养基

红曲霉(*Monascus anka*)、黑木耳(*Auricularia auricular*)、紫芝(*Ganoderma japonicrn*)购于天津市天寿食用菌科技有限公司,取回后放于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

土豆斜面培养基和米糠种子培养基:参考文献[7]进行配制。

米糠固态发酵培养基:纯米糠 50 g 装于 250 mL 三角瓶中,分别加水 10、15、25 mL,即料水比为 10 : 2、10 : 3、10 : 5。用玻璃棒搅拌均匀,封口, $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高压灭菌 15 min。

1.1.3 实验动物

清洁级昆明小鼠 40 只,6~8 周,雄性,体质量 18~20 g,购于天津市山川红实验动物科技有限公司,许可证号[SCXK(津)2009-0001]。

1.2 米糠成分分析

米糠中水分、灰分、油脂和粗蛋白含量分别按照 GB/T 5009.3—2010《食品安全国家标准·食品中水分的测定》^[8]、GB/T 5009.4—2010《食品安全国家标准·食品中灰分的测定》^[9]、GB/T 5009.6—2003《食品中脂肪的测定》^[10]、GB/T 5009.5—2010《食品安全国家标准·食品中蛋白质的测定》^[11]的方法进行测定。

1.3 米糠发酵条件的确定与发酵米糠的制备

试管斜面培养和种子摇瓶培养参考文献[7]进行培养。

米糠固态发酵培养:以 20%的接种量分别接红曲霉、黑木耳、紫芝种子培养液于不同料水比(10 : 2、10 : 3、10 : 5)的米糠固态发酵培养基中,在温度 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 85%的恒温培养箱中静置培养 15 d^[12-14],观察不同菌种的生长状况。

干燥:将固态发酵培养后的培养基在 $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ 干燥 8 h,即得到发酵米糠成品。

1.4 发酵米糠的降血脂功能实验

1.4.1 实验动物分组及给药

小鼠先在实验室内饲养 1 周以适应饲养室环境,饲养室条件:温度 $(24 \pm 2)\text{ }^{\circ}\text{C}$,相对湿度 40%~60%,笼具用 3%过氧乙酸消毒。小鼠适应 1 周后,按体质量随机分为 5 组,每组 8 只,实验方案见表 1。

表 1 实验方案

Tab. 1 Experimental design for feeding mice

实验分组	喂食方法
正常组	基础饲料
高脂模型组	基础高脂饲料 + 5%基础饲料
米糠组	基础高脂饲料 + 5%新鲜米糠
红曲霉组	基础高脂饲料 + 5%红曲霉发酵米糠
黑木耳组	基础高脂饲料 + 5%黑木耳发酵米糠

红曲霉组、黑木耳组分别将各自发酵米糠烘干,粉碎成细粉,按比例加入基础高脂饲料中充分混合均匀,加水混合,手工成型,烘干。实验期间按每天每只小鼠 8 g 喂给饲料,并随时调整给料量,但始终保持每组给料量相同,各实验组自由饮水、自然光照。每隔 3 d 称小鼠体质量并记录、绘制生长曲线,实验进行 30 d^[15]。

1.4.2 血脂代谢指标的测定

小鼠末次给药后,禁食 16 h,取眼球血,4 000 r/min 离心 15 min,取血清进行总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)含量的测定。

1.4.3 小鼠肝脏指数的测定

将 1.4.2 中眼球取血后的小鼠脱颈处死,取其肝脏,然后按照文献[16]测定肝脏指数.

1.4.4 小鼠肝脏组织形态学观察

肝组织取材后固定于固定液^[17]中,常规方法脱水、透明、浸蜡并包埋. 切片机切片(4~5 μm),经展片、捞片和烘片后,用 HE 染色法染色,显微镜下观察组织和细胞形态.

1.5 数据处理

实验数据采用 SPSS 11.5 统计软件进行处理,以平均值±标准差表示,组间采用成对 *t* 检验分析,*P*<0.05 认为有显著性.

2 结果与分析

2.1 米糠发酵条件的确定

恒温培养 2 d 后,接种处开始出现菌丝体,菌丝体继续生长渗透到米糠固态发酵培养基中. 随着发酵时间的增加,菌丝体不断增加,第 15 天时,其生长趋势不再明显,菌丝体状态基本不变. 在固态发酵过程中,固态发酵培养基不同料水比对菌种生长趋势的影响见表 2.

由表 2 可以看出,料水比为 10:3 的固态发酵培养基最适宜真菌生长. 同时,红曲霉、黑木耳的生长

趋势都好于紫芝,因此,在接下来的实验过程中,以红曲霉和黑木耳固态发酵的米糠作为原料,进行成分分析和功能研究.

表 2 固态发酵培养基不同料水比对真菌生长趋势的影响

Tab. 2 Effect of different ratio of rice bran to water in solid culture medium on fungus growth

料水比	菌种	菌种生长状况
10:2	红曲霉	菌丝体渗透性、长势均不佳
	黑木耳	菌种只在接种处附近生长,培养基水分少,呈干散状态
	紫芝	
10:3	红曲霉	红色菌丝体遍布大部分固体培养基
	黑木耳	白色菌丝体渗透部分固体培养基
	紫芝	白色菌丝体只分布在接种处附近,没有达到渗透的状态
10:5	红曲霉	3 种菌种基本不生长,整个培养基呈黏稠状
	黑木耳	
	紫芝	

2.2 发酵米糠成分分析

由表 3 数据看出,本实验所用米糠富含蛋白质、脂肪等,但其含量与日常米糠成分报道数据有一些差异^[18-19],可能与米糠来源的稻谷品种、生长条件和碾米加工处理工艺有关. 与新鲜米糠相比,发酵米糠的水分含量略有增大,粗蛋白及灰分含量略有波动,而碳水化合物的含量明显增加,粗脂肪含量明显下降.

表 3 米糠营养成分含量(*n* = 3)

Tab. 3 Contents of rice bran nutrition constituents (*n* = 3)

样品	粗蛋白/%	粗脂肪/%	水分/%	灰分/%	碳水化合物/%
新鲜米糠	11.94 ± 0.42	20.61 ± 1.59	8.32 ± 0.20	1.62 ± 0.05	57.51 ± 2.09
红曲霉发酵米糠	10.99 ± 0.46	9.27 ± 0.73	10.58 ± 0.05	1.59 ± 0.05	67.67 ± 1.16
黑木耳发酵米糠	11.53 ± 0.52	9.79 ± 0.46	11.06 ± 0.54	1.69 ± 0.03	65.73 ± 0.42

2.3 发酵米糠降血脂功能实验

2.3.1 小鼠体质量变化

小鼠体质量变化如图 1 所示. 实验开始时,各组小鼠体质量均无显著性差异(*P*>0.05),并稳定增长. 高脂模型组的小鼠体质量增长趋势最为明显,黑木耳组和正常组的体质量增长趋势相对平缓. 21 d 后,模型组、米糠组和红曲霉组小鼠的体质量明显高于正常组(*P*<0.05),米糠组和 2 种发酵米糠组小鼠的体质量明显低于模型组(*P*<0.05),差异具有统计学意义. 2 种发酵米糠组小鼠的体质量明显低于米糠组(*P*<0.05),且黑木耳发酵米糠组小鼠的体质量低于红曲霉发酵米糠组小鼠的体质量.

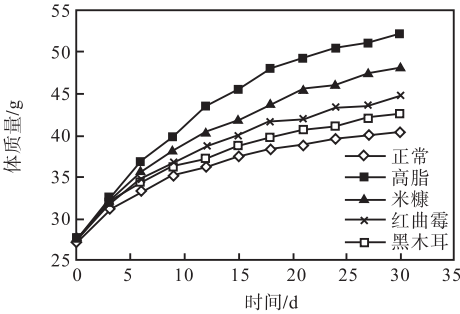


图 1 各实验组小鼠体质量变化

Fig. 1 Changes of mice body weight in different groups

实验结果表明,米糠和 2 种发酵米糠在一定程度上都能够调节小鼠的体质量,具有显著地减轻体质量

的作用. 其中, 黑木耳发酵米糠作用最明显, 红曲霉发酵米糠次之.

2.3.2 发酵米糠对高脂小鼠血脂水平的影响

由表 4 可知, 与正常组相比, 高脂模型组小鼠血清的 TC、TG 和 LDL-C 均显著升高 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$), HDL-C 显著降低 ($P<0.05$), 表明小鼠高血脂模型成功. 分析小鼠血脂数据可知: 3 个实验组的 TC 指标同样相对与正常组和模型组都有显著差异 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$); 对 TG 分析可知, 米糠组相对模型组有显著差异 ($P<0.05$), 2 个发酵米糠组相对正常组和模型组都有极显著差异 ($P<0.01$); 但只有黑木耳组的 LDL-C 相对于模型组有极显著差异, 其他组

别之间无差异性, 可能是雄性小鼠体内低密度脂蛋白胆固醇含量低, 而且受高脂饲料影响不大, 所以组别之间没有差异性; 对于 HDL-C, 米糠组和红曲霉组对于正常组有极显著差异 ($P<0.01$), 黑木耳组相对模型组有显著性差异 ($P<0.05$). 综合分析得出, 黑木耳发酵米糠的降血脂作用最明显, 其次是红曲霉发酵米糠, 再次是新鲜米糠.

实验结果表明, 发酵米糠特别是黑木耳发酵米糠能够降低高脂小鼠血清中总胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇的含量, 保持高密度脂蛋白的含量, 据此可推测黑木耳发酵米糠可能有效调节血脂代谢, 降低动脉粥样硬化.

表 4 小鼠血清中 TC、TG、HDL-C 和 LDL-C 的变化 ($n=8$)
Tab. 4 Changes of TC, TG, HDL-C and LDL-C in the blood serum of mice ($n=8$)

组别	TC/(mmol·L ⁻¹)	TG/(mmol·L ⁻¹)	HDL-C/(mmol·L ⁻¹)	LDL-C/(mmol·L ⁻¹)
正常组	2.82 ± 0.19	1.67 ± 0.17	1.86 ± 0.19	0.17 ± 0.05
高脂模型组	5.32 ± 0.17 ^{###}	1.88 ± 0.15 ^{##}	1.09 ± 0.22 ^{##}	0.28 ± 0.04 [#]
米糠组	4.96 ± 0.17 ^{***}	1.47 ± 0.22 [*]	1.19 ± 0.20 ^{##}	0.23 ± 0.14
红曲霉组	4.72 ± 0.21 ^{***}	1.34 ± 0.13 ^{***}	1.34 ± 0.16 ^{##}	0.19 ± 0.09
黑木耳组	4.03 ± 0.17 ^{***}	1.35 ± 0.16 ^{***}	1.60 ± 0.19 [*]	0.15 ± 0.05 ^{**}

注: [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$ 与正常组相比; ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$ 与高脂模型组相比.

2.3.3 发酵米糠对小鼠肝脏指数的影响

肝脏指数是衡量肝脏功能的初步观察指标. 由表 5 可知: 与正常组比较, 高脂模型组、米糠组和 2 种发酵米糠组的肝脏指数都显著增大; 同时, 米糠组和 2 种发酵米糠组小鼠的肝脏指数较高脂模型组有显著降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$). 肝脏指数增大, 说明高脂小鼠的肝脏可能已经产生了病变, 而米糠组和 2 种发酵米糠组的这种病变明显改善. 由此可以推测, 米糠和发酵米糠可以改善高血脂对肝脏的损伤, 具有缓解小鼠肝脏脂肪病变的功能. 其中, 黑木耳发酵米糠的这种作用最明显, 红曲霉发酵米糠次之.

表 5 各组小鼠肝质量及肝脏指数测定结果 ($n=8$)
Tab. 5 Index and weigh of liver of different mice groups ($n=8$)

组别	肝质量/g	肝脏指数/%
正常组	1.75 ± 0.12	4.67 ± 0.21
高脂模型组	2.28 ± 0.14	5.40 ± 0.18 ^{##}
米糠组	2.06 ± 0.21	5.09 ± 0.14 ^{**}
红曲霉组	1.96 ± 0.21	5.02 ± 0.18 ^{**}
黑木耳组	1.90 ± 0.14	4.88 ± 0.12 ^{**}

注: [#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$ 与正常组相比; ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$ 与高脂模型组相比.

2.3.4 小鼠肝组织 HE 染色结果

肝组织 HE 染色结果如图 2 所示.

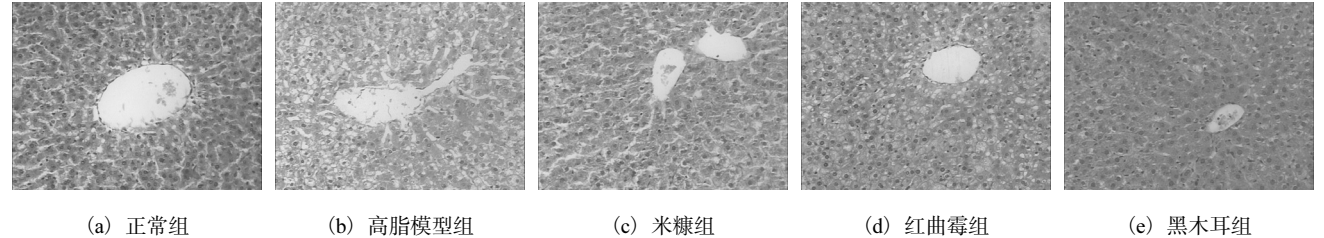


图 2 高脂小鼠肝脏 HE 染色结果
Fig. 2 HE staining of liver of mice with hyperlipemia

从染色切片可以看出: 正常组肝小叶结构清晰, 肝索呈放射状排列, 肝窦正常, 肝细胞以中央静脉为

中心向四周呈放射状整齐排列, 细胞轮廓清晰, 核圆而位于细胞中央, 胞质丰富, 肝细胞内未见脂滴. 高

脂模型组肝组织正常结构消失,肝索排列紊乱,肝细胞广泛性的空泡变形,表现为细胞体积增大,胞浆疏松、浅染;肝细胞内充满脂滴而将细胞核挤向边缘,并有肝细胞坏死崩解,细胞界限不清.其他3个实验组与高脂模型组相似,但严重程度较模型组明显减轻,并且未见肝细胞坏死崩解,细胞界限较清晰.其中,黑木耳组肝小叶结构基本正常,局部细胞有肿大,胞质疏松,但无明显坏死区域.说明高脂小鼠的肝组织结构可能由于脂质代谢异常,具有一定的损伤,而黑木耳发酵米糠能有效减轻高脂小鼠肝组织的这种损伤程度.

3 结 论

利用红曲霉、黑木耳、紫芝3种功能性真菌对米糠进行固态发酵培养,当培养基料水比为10:3时菌种长势较好,其中最好的是红曲霉,其次是黑木耳,紫芝不佳.米糠发酵过程中,脂肪含量均有所下降,碳水化合物含量明显上升.

高脂小鼠饲喂实验表明,发酵米糠特别是黑木耳发酵米糠能够显著降低高脂小鼠的体质量和肝脏指数,降低高脂小鼠血清中TC、TG和LDL-C含量,维持HDL-C含量,缓解肝脏脂肪病变程度.

发酵米糠的降血脂功效可能源于米糠发酵后活性成分(如多糖)的增高,也可能源于真菌发酵生产的次级代谢产物,其具体机制仍需进一步深入研究.

参考文献:

- [1] 曹国锋,龚任,王舒平,等.米糠资源开发利用的研究[J].粮食与饲料工业,2000(7):42-44.
- [2] 顾华孝.米糠的组成及其开发应用[J].中国稻米,2001(5):36-37.
- [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.
- [4] 李长河.米糠多糖的研究现状与发展前景[J].现代化农业,2005(1):39-41.
- [5] Huang S C, Shiao C Y, Liu T E, et al. Effect of rice bran on sensory and physico-chemical properties of emulsified pork meatballs[J]. Meat Science, 2005, 70: 613-619.
- [6] Chanputa W, Theerakulkaita C, Nakaib S. Antioxidative properties of partially purified barley hordein, rice bran protein fractions and their hydrolysates[J]. Journal of Cereal Science, 2009, 49(3): 422-428.
- [7] 王稳航,袁雪娇,刘安军.米糠发酵过程中脂肪酸组分及含量变化的研究[J].食品科技,2011,36(5):152-159.
- [8] 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009.3—2010 食品安全国家标准·食品中水分的测定[S].北京:中国标准出版社,2010.
- [9] 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009.4—2010 食品安全国家标准·食品中灰分的测定[S].北京:中国标准出版社,2010.
- [10] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. GB/T 5009.6—2003 食品中脂肪的测定[S].北京:中国标准出版社,2003.
- [11] 中华人民共和国卫生部. GB/T 5009.5—2010 食品安全国家标准·食品中蛋白质的测定[S].北京:中国标准出版社,2010.
- [12] 李玉梅,姜云天,陈艳秋.黑木耳液体培养条件的研究及栽培试验[J].湖北农业科学,2007,46(5):768-770.
- [13] 李霞姣,夏永军,王铁军,等.红曲多糖液态发酵工艺条件的优化[J].生物加工过程,2009,7(2):13-17.
- [14] 范维燕,林家永,邢邯.稻谷脂肪酸值测定条件优化与比较的研究[J].粮食储藏,2008,37(6):35-38.
- [15] Xiao J Z, Kondo S, Takahashi N, et al. Effects of milk products fermented by *Bifidobacterium longum* on blood lipids in rats and healthy adult male volunteers[J]. Journal of Dairy Science, 2003, 86(7): 2452-2461.
- [16] Richmond W. Preparation and properties of a cholesterol oxidase from *Nocardia* sp. and its application to the enzymatic assay of total cholesterol in serum[J]. Clinical Chemistry, 1973, 19(12): 1350-1356.
- [17] 朱彩平,张民,张声华.枸杞多糖的组成及结构分析[J].中草药,2006,37(6):872-874.
- [18] 赵鑫,张子腾,朱丽丹,等.不同品种米糠营养成分含量的相关性分析及米糠与稻米成分的聚类分析[J].食品工业科技,2012(1):52-55.
- [19] 王秦晋,王永军,范国英,等.细米糠的营养价值分析[J].粮食与饲料工业,2004(4):33-34.

责任编辑:郎婧