

# 富硒糙米不同碾磨级分米糠蛋白的硒含量及其功能特性

周雷<sup>1,2</sup>, 隋勇<sup>2</sup>, 梅新<sup>2\*</sup>, 李书艺<sup>1</sup>, 许锐<sup>1,2</sup>, 施建斌<sup>2</sup>, 蔡沙<sup>2</sup>, 熊添<sup>2</sup>, 蔡芳<sup>2</sup>, 祝振洲<sup>1\*</sup>

(1. 武汉轻工大学硒科学与工程现代产业学院, 国家富硒农产品加工技术研发专业中心, 湖北省绿色富硒农产品精深加工工程技术研究中心, 湖北武汉 430048)

(2. 湖北省农学科学院农产品加工与核农技术研究所, 湖北武汉 430064)

**摘要:** 该研究通过分步碾磨将富硒糙米中的米糠分成五个级分, 得到最外层 (BF1) 到最内层 (BF5) 的米糠和精米 (MR6) 原料, 每一组分约占整个籽粒的 2.2% (*m/m*)。对以上不同级分米糠及其蛋白中的硒元素分布、抗氧化活性和  $\alpha$ -淀粉酶的抑制能力进行研究。结果表明, 南粳 9108、野香优航 1573 和巨 2 优 60 三种稻米富硒处理后糙米中硒含量分别为 356.78、842.83 和 1 065.67  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 提高了 7.89–23.54 倍。糙米中的硒元素分布并不均匀, 在 BF3 组分含量最高, 此后随碾减率的增加逐步降低, 精米中的含量最低。相同碾减率下, 富硒米糠蛋白和富硒精米蛋白的 DPPH·清除率、ABTS<sup>+</sup>清除能力、·OH 清除能力和铁离子还原能力均显著高于未富硒处理的普通对照组。同一品种中, 在 BF1~BF4 级分米糠蛋白的抗氧化能力和  $\alpha$ -淀粉酶的抑制能力最强, 相较于精米蛋白, 米糠蛋白均表现出更强的抗氧化活性 ( $P<0.05$ )。富硒处理后, BF1、BF2、BF3 和 BF4 组分米糠蛋白的  $\alpha$ -淀粉酶的抑制能力显著高于普通米糠蛋白 ( $P<0.05$ )。研究为富硒糙米适度加工及米糠的综合利用提供依据。

**关键词:** 富硒糙米; 蛋白; 碾减率; 米糠

文章编号: 1673-9078(2023)12-20-28

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.12.0071

## Selenium Content and Functional Properties of Rice Bran Protein in Different Milling Fractions

ZHOU Lei<sup>1,2</sup>, SUI Yong<sup>2</sup>, MEI Xin<sup>2\*</sup>, LI Shuyi<sup>1</sup>, XU Rui<sup>1,2</sup>, SHI Jianbing<sup>2</sup>, CAI Sha<sup>2</sup>, XIONG Tian<sup>2</sup>, CAI Fang<sup>2</sup>, ZHU Zhenzhou<sup>1\*</sup>

(1. School of Modern Industry for Selenium Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University/National R&D Center for Se-Rich Agricultural Products Processing, Hubei Engineering Research Center for Deep Processing of Green Se-rich Agricultural Products, Wuhan 430048, China) (2. Hubei Academy of Agricultural Science, Institute for Farm Products Processing and Nuclear-Agricultural Technology, Wuhan 430064, China)

**Abstract:** In this study, rice bran in Se-rich brown rice was divided into five stages by stepwise grinding. Rice bran and white rice (MR6) were obtained from the outermost layer (BF1) to the innermost layer (BF5). Each component accounted for approximately 2.2% (*m/m*) of the whole grain. Selenium distribution, antioxidant activity, and  $\alpha$ -amylase inhibition in rice bran and different contents of its protein were studied. The selenium content in brown rice of 'Nanjing 9108', 'Yexiang Youhang 1573', and 'Ju 2 You 60' were 356.78, 842.83, and 1 065.67  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,

引文格式:

周雷, 隋勇, 梅新, 等. 富硒糙米不同碾磨级分米糠蛋白的硒含量及其功能特性[J]. 现代食品科技, 2023, 39(12): 20-28

ZHOU Lei, SUI Yong, MEI Xin, et al. Selenium content and functional properties of rice bran protein in different milling fractions [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(12): 20-28

收稿日期: 2023-05-12

基金项目: 湖北省揭榜制粮食科技项目 (2021KJCX-06); 武汉市知识创新专项 (2022020801020344)

作者简介: 周雷 (2000-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 粮食加工, E-mail: zhouleidj@163.com; 共同第一作者: 隋勇 (1987-), 男, 博士, 助理研究员, 研究方向: 粮食加工, E-mail: suiyong0429@foxmail.com

通讯作者: 梅新 (1978-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 粮食加工, E-mail: meixin0898@163.com; 共同通讯作者: 祝振洲 (1983-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 农副产品精深加工, E-mail: zhuzhenzhou@163.com

respectively, which increased 7.89~23.54-fold. The distribution of selenium in brown rice was not uniform; the content of the BF3 component was the highest, and then gradually decreased with an increase in grinding rate. The content of selenium in milled rice was the lowest. At the same grinding rate, the DPPH· scavenging rate, ABTS<sup>+</sup>· scavenging capacity, ·OH scavenging capacity, and iron ion reducing capacity of selenium-enriched rice bran protein and selenium-enriched white rice protein were substantially higher than those of control group, which was not selenium-enriched. The antioxidant capacity and  $\alpha$ -amylase inhibitory capacity of BF1-BF4 rice bran proteins were the strongest in the same cultivar, and rice bran proteins showed stronger antioxidant activity than mastic rice proteins ( $P<0.05$ ). After selenium enrichment,  $\alpha$ -amylase inhibition of BF1, BF2, BF3, and BF4 components of rice bran protein was substantially higher than that of common rice bran protein ( $P<0.05$ ). This paper provides a basis for the moderate processing of selenium-rich brown rice and the comprehensive utilization of rice bran.

**Key words:** selenium-rich brown rice; protein; reduction rate; rice bran

水稻作为世界一半人口的主食, 为人类直接贡献了 20% 以上的卡路里<sup>[1]</sup>。通常, 人们通过剥离胚层和麸层将糙米碾磨成精米来进行消费。但与精米相比, 全糙米保留了米糠中的营养物质, 如必需脂肪酸、膳食纤维、维生素、矿物质、有益金属元素和植物活性物质<sup>[2-4]</sup>。流行病学研究表明, 经常食用全谷物和相关产品可以降低患心血管疾病、II 型糖尿病、肥胖症和癌症等慢性疾病的风险<sup>[5,6]</sup>。

硒是人体必需的微量元素, 参与体内多种重要的代谢途径, 包括甲状腺激素的合成、抗氧化防御系统(即作为谷胱甘肽近邻的活性中心)和免疫功能<sup>[7,8]</sup>。中国营养学会表示, 成年人每天的硒摄入量应为 50~250  $\mu\text{g}$ 。缺硒会导致许多健康疾病, 例如克山病、癌症、心脏病、甲状腺功能亢进症等<sup>[7]</sup>。硒可以影响蛋白质的活性中心并增强其抗氧化能力, 有机硒甚至可以参与清除自由基<sup>[9]</sup>。而富硒大米中含有 90% ( $m/m$ ) 以上的以硒蛋白形式存在的有机硒, 是作为日常膳食富硒的良好食物来源<sup>[10]</sup>。冯明菊等<sup>[11]</sup>发现, 富硒处理可以有效提高糙米蛋白的抗氧化活性。胡玲玲等<sup>[12]</sup>发现, 相对于发芽糙米蛋白, 富硒发芽糙米蛋白具有更强的抗氧化能力。

糙米糠层富含纤维, 因此蒸煮特性和适口性差。经适度碾磨后, 可以提高谷物的烹饪质量, 但同时也会导致营养物质的损失<sup>[2]</sup>。碾磨度(Degree of Milling, DOM)是影响大米感官质量和营养含量的关键参数。Zhang 等<sup>[13]</sup>系统地评价了总酚、总黄酮和总花青素在黑米不同米糠级分中的分布和生物活性, 发现 DOM 为 2% ( $m/m$ ) 的米糠级分中总酚、总黄酮和总花青素含量最高, 并且显示出更强的抗氧化性, 以及  $\alpha$ -葡萄糖苷酶和  $\alpha$ -淀粉酶的抑制活性。Wang 等<sup>[14]</sup>研究了不同 DOM 值的精制丝苗米的理化性质, 发现随着 DOM 的增加, 丝苗米中存在的蛋白质、脂肪、膳食纤维、烟酸和维生素 E 逐渐被去除。孙瑞等<sup>[4]</sup>则探究糙米在碾磨过程中硒的损失, 发现 DOM 越大, 硒的损失率越大。然而, 目前关于糙米不同级分米糠及其米糠蛋

白的硒含量分布和抗氧化活性的研究较少。

在这项研究中, 以富硒糙米为原料, 通过碾磨将米糠分为 5 个级分, 每个米糠级分约占整个糙米颗粒的 2.2% ( $m/m$ )。比较了不同米糠级分及其蛋白的硒元素含量和蛋白的抗氧化活性、 $\alpha$ -淀粉酶抑制能力。本研究可为制定合理的富硒糙米适度碾磨工艺参数和精米、米糠的综合利用提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料

供试富硒和常规晚粳稻“南粳 9108”(NR), 晚粳稻“巨 2 优 60”(JR)、“野香优航 1573”(YR), 由湖北省农业科学院农业经济技术研究所富硒稻米团队提供。所有水稻品种在 2021 年 5 月 30 日播种, 富硒稻是在灌浆初期通过叶面喷施硒肥, 10 月 6 日收割, 经干燥、砻谷得到对应品种和处理的糙米。

Agilent 混合内标溶液(5188-6525)美国 Agilent 公司; 2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)、阿卡波糖上海源叶生物科技有限公司;  $\alpha$ -淀粉酶、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH), 美国 Sigma 公司; 硝酸(优级纯)、水杨酸、过氧化氢、TPTZ、过硫酸钾、三氯化铁、硫酸亚铁、可溶性淀粉、L(+)-抗坏血酸, 国药集团化学试剂有限公司。

### 1.2 仪器与设备

7900 型电感耦合等离子体质谱仪, 美国 Agilent 公司; Multiwave PRO 型微波消解仪, 奥地利安东帕有限公司; Milli-Q Synthesis 超纯水系统, 美国 Millipore 公司; 722N 可见分光光度计, 上海仪电分析仪器公司; LGJ-25C 冷冻干燥机, 北京四环科学仪器厂有限公司; SB-5200D 超声波清洗机, 宁波新芝生物科技公司; K9840 自动凯氏定氮仪, 济南海能仪器有限公司; SXJMJ-858 型精米机, 浙江台州华晨粮油机械有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 样品前处理

根据 Zhang 等<sup>[13]</sup>的方法, 略作修改。使用 SXJMJ-858 型精米机对糙米相继碾磨获得 5 种不同的米糠级分。碾磨步骤如下: 使用碾米机将新鲜 WBR (Whole Brown Rice, 全糙米) (200 g) 碾磨 2 s, 得到糠层部分 1 (BF1) 和碾米 1。之后, 将碾米 1 碾磨 1 s 以获得 BF2 和碾米 2。然后依次将上一步中的碾米碾磨 2、3 和 10 s, 以获得 BF3、BF4 和 BF5, 每个米糠级分约占整个糙米颗粒的 2.2% ( $m/m$ )。所有麸皮馏分和碾磨后的精米 (MR6) 都被研磨成细粉, 过 80 目筛。然后将每个样品密封并储存在  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  直至分析。

#### 1.3.2 硒含量测定

硒含量的测定参照 GB 5009.93-2017《食品中硒的测定》中电感耦合等离子体质谱法, 稍作修改。准确称取 0.2 g 样品, 加入 8 mL  $\text{HNO}_3$ , 振荡混匀后放入微波消解仪中消解, 消解结束后放至冷却, 于电热板上  $180\text{ }^{\circ}\text{C}$  赶酸至消化液剩余体积为约 1 mL, 冷却后转移至 10 mL 容量瓶中, 用 2% ( $V/V$ )  $\text{HNO}_3$  定容、混匀, 待测。取 Agilent 标配内标溶液 (10 mg/L), 以 5% ( $V/V$ )  $\text{HNO}_3$  逐级稀释至 100  $\mu\text{g/L}$ , 取此内标稀释液以 5% ( $V/V$ )  $\text{HNO}_3$  分别配制相当于硒元素标准 0、3.0、5.0、10.0、20.0、50.0  $\mu\text{g/L}$  的内标液。选择 Se 为待测元素, Ge 为所需内标。依次将样品消化空白液、不同浓度内标液及样品制备液导入 ICP-MS (Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry, 电感耦合等离子体质谱) 进行测定, 由设定的仪器参数自动计算被测组分硒的浓度。样品测定的标准曲线方程为:  $Y=0.004\ 1X+1.633\ 3E-004$ , 线性相关系数为: 0.999 9。由公式 (1) 计算硒含量 ( $T_{\text{Se}}$ ):

$$T_{\text{Se}} = \frac{(C - C_0) \times V}{m \times 1000}$$

(1)

式中:

 $T_{\text{Se}}$ ——硒含量, mg/kg; $C$ ——由标准曲线测得的供试溶液中硒的浓度, ng/mL; $C_0$ ——由标准曲线测得的空白液中硒的浓度, ng/mL; $V$ ——试样消化液总体积, mL; $m$ ——待测样品的质量, g;

1 000——换算系数。

#### 1.3.3 米糠蛋白提取

参考王雪等<sup>[15]</sup>的方法, 略作修改。采用碱溶酸沉法进行制备, 称取上述制备好的不同级分米糠粉末, 加入正己烷 ( $m/V=1:4$ ) 后搅拌脱脂 4 h, 通风干燥过

夜。加入 0.1 mol/L NaOH 溶液 ( $m/V=1:6$ ) 于  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$  恒温水浴搅拌 2 h。结束后在 8 000 r/min 下离心 15 min, 得到上清液, 用盐酸调节 pH 值至 5.0, 再次在 8 000 r/min 条件下离心 15 min, 得到蛋白质沉淀, 调节 pH 为中性后水洗两次, 透析, 冷冻干燥, 得到米糠蛋白样品。依据 GB 5009.3-2016, 采用自动凯氏定氮法测定所提蛋白纯度。按式 (2) 计算米糠蛋白提取率 ( $E$ ):

$$E = \frac{M_1 \times P}{M_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

 $E$ ——米糠蛋白提取率, %; $M_1$ ——所提米糠蛋白的质量, g; $P$ ——所提米糠蛋白的纯度, g/100 g; $M_0$ ——米糠原料中蛋白质含量, g/100 g。

#### 1.3.4 抗氧化性测定

##### 1.3.4.1 DPPH·清除活性的测定

参考 Chen 等<sup>[16]</sup>的方法, 稍作修改。涡旋 2 mL 样品溶液 (0.6 mg/mL) 和 2 mL DPPH 溶液 (0.2 mmol/mL  $\varphi=95\%$ 乙醇) 的混合溶液。将混合溶液在黑暗中静置 30 min, 以  $\varphi=95\%$ 乙醇溶液为参比, 测量 517 nm 处吸光度值  $A_2$ 。2 mL 的去离子水与 2 mL DPPH 溶液为对照组, 空白组为 2 mL 样品溶液与 2 mL  $\varphi=95\%$ 乙醇溶液, 以抗坏血酸为对照并绘制标准曲线 ( $y=45.797x-0.0872$ ,  $R^2=0.9924$ )。按式 (3) 计算 DPPH 自由基清除率 ( $SR_{\text{DPPH}}$ ):

$$SR_{\text{DPPH}} = \left( 1 - \frac{A_2 - A_1}{A_0} \right) \times 100\% \quad (3)$$

式中:

 $SR_{\text{DPPH}}$ ——DPPH 自由基清除率, %; $A_2$ ——试样与 DPPH 溶液反应后的吸光度值; $A_1$ ——试样吸光度值; $A_0$ ——DPPH 溶液吸光度值。

##### 1.3.4.2 ABTS<sup>+</sup>清除能力测定

参考 Huang 等<sup>[17]</sup>的方法, 稍作修改。通过将 ABTS 溶液 (7 mmol/L) 与等体积的过硫酸钾溶液 (2.45 mmol/L) 混合并在黑暗中反应 12~16 h 获得 ABTS 储备溶液。使用前将该溶液用 PBS (pH 值 7.4) 稀释至 0.7 (734 nm) 的吸光度值。将 0.5 mL 样品溶液 (0.6 mg/mL) 加入 3 mL 稀释的 ABTS 溶液中。室温避光 30 min 后, 在 734 nm 处测定吸光度。以抗坏血酸为对照并绘制标准曲线 ( $y=0.000\ 4x+0.000\ 9$ ,  $R^2=0.999\ 3$ )。ABTS<sup>+</sup>自由基清除率 ( $SR_{\text{ABTS}}$ ) 用公式 (4) 计算:

$$SR_{\text{ABTS}} = \frac{A_4 - A_5}{A_3} \times 100\% \quad (4)$$

式中:

$SR_{ABTS}$ —ABTS<sup>+</sup>自由基清除率, %;

$A_5$ —空白(不含 ABTS)体系中样品的吸光度值;

$A_4$ —试样吸光度值;

$A_3$ —PBS 溶液代替试样测量的吸光度值。

#### 1.3.4.3 ·OH 清除能力的测定

参考冯明菊等<sup>[11]</sup>的方法, 稍作修改。在试管中依次加入 1 mL 9 mmol/L 的硫酸亚铁、1 mL 9 mmol/L 的水杨酸-乙醇溶液, 摇晃均匀, 再加入 1 mL 0.6 mg/mL 的样品溶液, 添加 1 mL 8.8 mmol/L 的过氧化氢溶液启动反应, 用超纯水定容至 10 mL, 涡旋后在 37 °C 水浴 15 min, 超纯水为参比物, 测定 510 nm 处的吸光度。以抗坏血酸为对照并绘制标准曲线 ( $y=0.005x-0.006$ ,  $R^2=0.9982$ ), 计算清除率。按式 (5) 计算羟基自由基清除率 ( $SR_{OH}$ ):

$$SR_{OH} = \left(1 - \frac{A_8 - A_7}{A_6}\right) \times 100\% \quad (5)$$

式中:

$SR_{OH}$ —羟基自由基清除率, %;

$A_8$ —加入试样后的吸光度值;

$A_7$ —以超纯水替代过氧化氢溶液后的吸光度值;

$A_6$ —未加入试样溶液的吸光度值。

#### 1.3.4.4 铁离子还原能力的测定

参照 Quinteros 等<sup>[18]</sup>的方法, 稍作修改。FRAP 试剂通过混合 25 mL 300 mmol/L 醋酸钠缓冲溶液 (pH 值 3.6)、2.5 mL 10 mmol/L TPTZ (稀释在 40 mmol/L HCl)、2.5 mL 20 mmol/L 六水合氯化铁制备, 37 °C 预热后使用。将 0.1 mL 样品与 2 mL FRAP 试剂混匀, 室温下避光 30 min, 测定在 515 nm 处吸光度。超纯水作为空白对照, 以抗坏血酸为对照并绘制标准曲线 ( $y=0.0292x-0.0014$ ,  $R^2=0.9964$ ), 结果以每 100 g 样品对应的抗坏血酸当量表示。

#### 1.3.5 $\alpha$ -淀粉酶抑制活性的测定

参照刘晓飞等<sup>[19]</sup>的方法, 稍作修改。将  $\alpha$ -淀粉酶 (2 U/mL) 溶液与 0.2 mL 样品溶液 (1.2 mg/mL) 混合, 于 37 °C 水浴 10 min, 加入 5% (m/V) 的淀粉溶液 0.3 mL, 37 °C 水浴 15 min。加入 DNS 试剂 2 mL, 沸水浴 15 min, 于 540 nm 测定吸光值。按式 (6) 计算  $\alpha$ -淀粉酶抑制活性 (IR):

$$IR = \left(1 - \frac{B_2 - B_1}{B_0 - B_1}\right) \times 100\% \quad (6)$$

式中:

IR— $\alpha$ -淀粉酶抑制活性;

$B_0$ —不加试样后  $\alpha$ -淀粉酶溶液的吸光度值;

$B$ —不加试样和  $\alpha$ -淀粉酶的吸光度值;

$B_2$ —加入试样和  $\alpha$ -淀粉酶的吸光度值;

$B_1$ —未加入  $\alpha$ -淀粉酶的试样溶液的吸光度值。

## 1.4 数据分析

采用 SPSS 19.0 进行统计分析, 结果以平均值±标准差表示, 组间存在显著性差异 ( $P<0.05$ ), 则采用 Duncan 检验进行组间多重比较, 利用 Pearson 进行相关性分析。采用 Origin 2020 绘图软件绘图。

## 2 结果与讨论

### 2.1 三种糙米及其不同级分米糠蛋白硒含量

#### 2.1.1 富硒糙米中硒含量

表 1 富硒糙米中总硒含量和蛋白质含量

Table 1 Total selenium and protein contents in selenium-rich

brown rice		
组别	总硒含量/( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	蛋白质含量/(g/100 g)
NR	45.24±0.73 <sup>d</sup>	6.77±0.01 <sup>c</sup>
YR	35.80±1.10 <sup>d</sup>	6.04±0.01 <sup>c</sup>
JR	68.44±1.35 <sup>d</sup>	6.65±0.10 <sup>d</sup>
NSR	356.78±5.74 <sup>c</sup>	7.48±0.01 <sup>a</sup>
YSR	842.83±10.64 <sup>b</sup>	6.87±0.09 <sup>c</sup>
JSR	1 065.67±5.61 <sup>a</sup>	7.12±0.06 <sup>b</sup>

注: 同列右肩不同的小写字母表示具有显著差异 ( $P<0.05$ );

NR 为南粳 9108, YR 为野香优航 1573, JR 为巨 2 优 60, NSR 为富硒南粳 9108, YSR 为富硒野香优航 1573, JSR 为富硒巨 2 优 60。

对富硒处理前后的稻米硒含量进行测定, 结果如表 1 所示, 其中, 富硒处理前稻米硒含量在 35.80~68.44  $\mu\text{g}/\text{kg}$  之间, 处理后, 硒含量显著增加到 356.78~1 065.67  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 可以发现不同稻米品种间的硒载量和硒储藏能力有较大差异 ( $P<0.05$ ), 这可能是控制水稻 Se 运输能力的茎节位 NRT1.1B 基因表达水平的差异所导致的<sup>[20]</sup>。此外, 南粳 9108 (NR)、巨 2 优 60 (JR)、野香优航 1573 (YR) 的蛋白含量分别提升了 6.48%、13.74%和 6.12%, 说明富硒处理提高了稻米的蛋白含量。导致蛋白质含量显著性差异的原因可能是硒元素与半胱氨酸、蛋氨酸结合, 形成的硒代氨基酸化合物以硒蛋白的形式转运储存于蛋白质中造成的<sup>[21]</sup>。

#### 2.1.2 不同富硒糙米米糠级分硒含量和蛋白含量

由图 1a、1b 图可以看出, 不同品种富硒和普通糙米中的硒元素主要集中于 BF1~BF4 的米糠部分中, 随着碾减率的增加, 硒含量会先增加, 在 BF3 (DOM 6.12%~7.82%) 处达到最高, 随后显著降低, 于精米中达到最低值。有研究发现, 富硒糙米中蛋白质含量

与硒含量显著相关<sup>[22]</sup>。不同级分富硒糙米米糠蛋白含量的变化如图 2 所示,蛋白质主要分布在 BF1~BF5 级分中,在 BF2 级分达到最高,此后逐渐向内减少。Ma 等<sup>[23]</sup>将不同品种糙米由外向内研磨得到 4 层米糠粉末(L1~L4),通过分析蛋白质含量发现,蛋白质主要分布在 L1~L3 中,尤其在 L2 含量最高。结合图 1、2 推断,糙米中硒元素富集不均匀,可能是不同级分米糠中蛋白质含量差异所导致的。

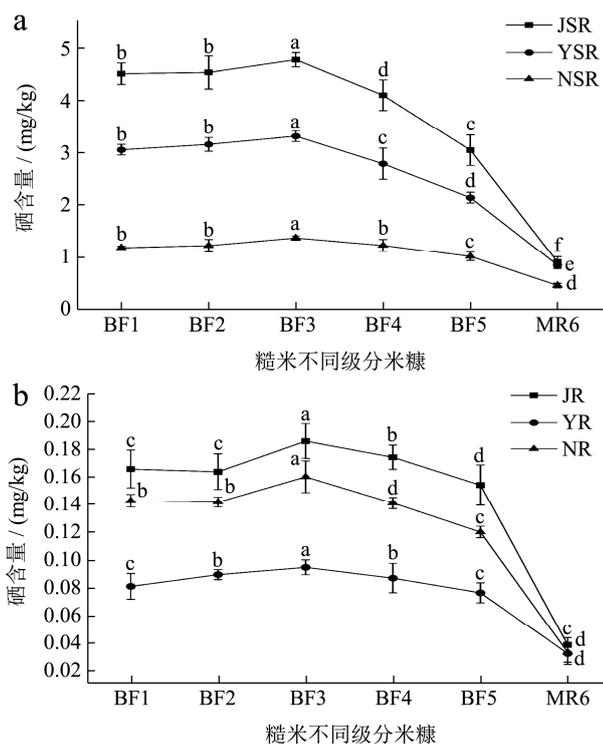


图 1 不同富硒糙米米糠级分硒含量

Fig.1 Selenium content in rice bran of different selenium-rich brown rice

注:小写字母表示具有显著差异 ( $P<0.05$ ); a 为不同级分富硒米糠中硒含量变化, b 为不同级分普通米糠中硒含量变化。

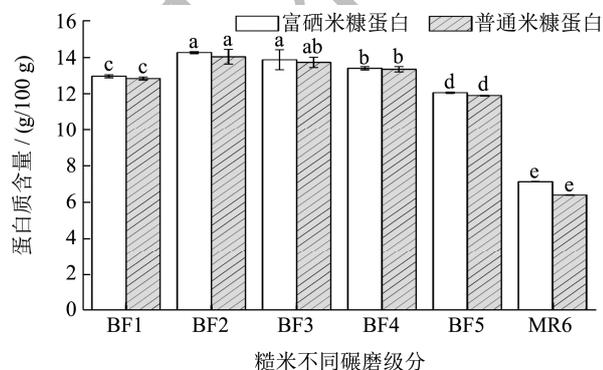


图 2 富硒糙米不同级分米糠蛋白含量

Fig.2 The rice bran protein content of selenium-rich brown rice was divided into different classes

注:小写字母表示具有显著差异 ( $P<0.05$ )。

### 2.1.3 米糠蛋白提取及纯度

以富硒粳稻“南粳 9108”(NSR)及其普通对照组为原料,提取其不同级分米糠蛋白的纯度和硒含量如表 2 所示。提取的富硒蛋白组与普通蛋白组蛋白质纯度介于 78.96%~82.69%,两组无显著性差异,从 MR6 部分提取的精米蛋白纯度则要显著高于从米糠中提取的蛋白纯度。富硒蛋白组的硒含量介于 1.14%~4.40%,要远高于硒含量介于 0.10%~0.47%的普通蛋白组 ( $P<0.05$ ),此外,两组中由 BF1~BF5 级分米糠所提蛋白的硒含量最高,此后逐渐向内降低。由于糙米中的硒元素主要以硒蛋白的形式存在<sup>[10]</sup>,因此不同级分米糠蛋白的硒含量变化和糙米米糠中硒含量(图 1)变化较为一致。

表 2 不同级分米糠提取蛋白纯度及硒含量

Table 2 Protein purity and selenium content of selenium-rich brown rice

组别	蛋白质纯度/%	总硒含量/(mg/kg)
富硒蛋白组		
BFSP1	78.96±0.48 <sup>bc</sup>	4.34±0.21 <sup>a</sup>
BFSP2	79.31±0.93 <sup>bc</sup>	4.40±0.06 <sup>a</sup>
BFSP3	78.37±0.11 <sup>c</sup>	4.32±0.08 <sup>a</sup>
BFSP4	81.17±1.22 <sup>ab</sup>	4.20±0.28 <sup>a</sup>
BFSP5	81.16±0.76 <sup>ab</sup>	3.62±0.09 <sup>b</sup>
MRSP6	82.42±1.98 <sup>a</sup>	1.14±0.17 <sup>c</sup>
普通蛋白组		
BFP1	79.48±1.09 <sup>bc</sup>	0.45±0.02 <sup>d</sup>
BFP2	79.24±1.58 <sup>bc</sup>	0.40±0.02 <sup>d</sup>
BFP3	79.02±0.75 <sup>bc</sup>	0.47±0.03 <sup>d</sup>
BFP4	79.67±1.16 <sup>bc</sup>	0.40±0.01 <sup>d</sup>
BFP5	80.65±0.38 <sup>abc</sup>	0.30±0.02 <sup>de</sup>
MRP6	82.69±1.03 <sup>a</sup>	0.10±0.01 <sup>e</sup>

注:同列右肩不同小写字母表示具有显著差异 ( $P<0.05$ ); BFP1~5 分别为普通 BF1~5 米糠所提蛋白; BFSP1~5 分别为富硒 BF1~5 米糠所提蛋白; MRP6 为普通精米蛋白, MRSP6 为富硒精米蛋白。

## 2.2 不同米糠级分蛋白抗氧化能力

### 2.2.1 DPPH·清除活性的测定

不同级分富硒和普通米糠蛋白清除 DPPH·的能力如图 3 所示,结果以 Vc 当量表示。结果表明,普通米糠蛋白 DPPH·清除率介于 4.84~7.90 mg Vc/g,富硒米糠蛋白 DPPH·清除率介于 8.41~16.46 mg Vc/g。整体来看,富硒处理显著提高了不同级分米糠蛋白的 DPPH·清除能力,在 BF1、BF2、BF3 和 BF4 (DOM 为 0%~7.05%) 级分的富硒米糠蛋白 DPPH·清除率最高,且差异不明显 ( $P<0.05$ ),此后,随着碾减率的进一步增加, DPPH·清除率逐渐降低,在 MR6 (DOM 在 11.54%后的精米部分) 达到最低。不同级分普通米

糠蛋白 DPPH·清除率也有着相似变化。硒蛋白参与构成的谷胱甘肽过氧化物酶、硫氧还蛋白还原酶具有很强的自由基清除能力<sup>[24]</sup>，这些变化可能是蛋白中硒含量的差异导致的。Zeng 等<sup>[25]</sup>研究了富硒大米硒蛋白的 DPPH·清除活性，发现硒协同增强了大米蛋白清除 DPPH·的能力，硒含量的高低和清除能力成正比。冯明菊等<sup>[11]</sup>测定了多种富硒糙米蛋白的抗氧化活性，发现，富硒处理后的糙米蛋白具有更强的 DPPH·清除能力。

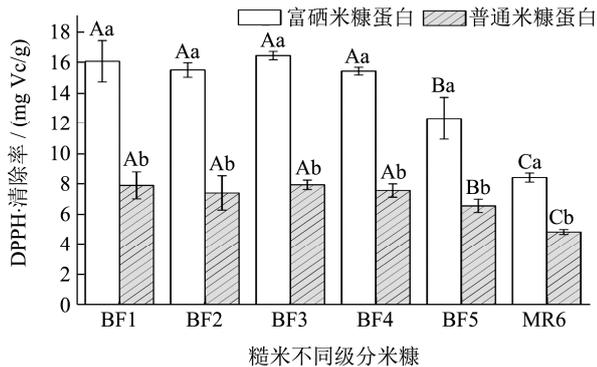


图3 不同级分米糠蛋白的 DPPH·清除能力

Fig.3 DPPH· scavenging ability of different levels of rice bran protein

注：大写字母表示富硒或普通米糠蛋白之间差异显著， $P < 0.05$ ；小写字母表示同一级分富硒米糠蛋白和普通米糠蛋白差异显著， $P < 0.05$ ；下同。

### 2.2.2 ABTS<sup>+</sup>·清除能力测定

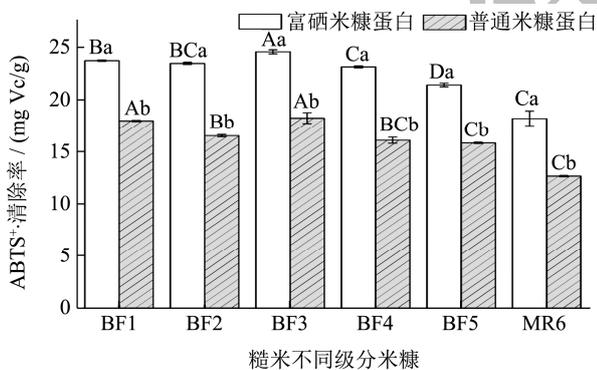


图4 不同级分米糠蛋白的 ABTS<sup>+</sup>·清除能力

Fig.4 ABTS<sup>+</sup>· scavenging ability of rice bran proteins at different levels

如图4所示，在 0.6 mg/mL 的样品质量浓度下，不同级分富硒和普通米糠蛋白均具有一定的清除 ABTS<sup>+</sup>·能力，其 ABTS<sup>+</sup>·清除率介于 12.66~24.56 mg Vc/g。结果表明，富硒处理能显著提高米糠蛋白的清除 ABTS<sup>+</sup>·能力 ( $P < 0.05$ )。正如 Islam 等<sup>[26]</sup>所观察到的，硒含量与 ABTS 自由基清除活动之间存在正相关。在 BF3 级分米糠蛋白 ABTS<sup>+</sup>·清除率最大，达到 24.56 mg Vc/g，BF1、BF2、BF4 和 BF5 级分米糠蛋白次之，MR6 精米蛋白抗氧化能力最差，这可能

是受到精米蛋白硒载量低的影响。普通米糠蛋白也表现出相同趋势。Liu 等<sup>[27]</sup>测定富硒发芽糙米和发芽糙米蛋白质对 ABTS<sup>+</sup>·的清除能力，同样发现在所有处理条件下，富硒发芽糙米蛋白的抗氧化活性均高于发芽糙米蛋白。不同级分富硒和普通米糠蛋白对 ABTS<sup>+</sup>·清除能力和 DPPH 清除能力的测定结果一致。

### 2.2.3 ·OH 清除能力的测定

不同级分富硒和普通米糠蛋白的羟自由基清除能力如图5所示，结果以 Vc 当量表示。结果表明，普通米糠蛋白·OH 清除能力介于 22.65~33.66 mg Vc/g，富硒米糠蛋白·OH 清除能力介于 82.10~197.13 mg Vc/g，造成这种差异的原因可能是硒蛋白和含硒的酶类物质拥有较强的·OH 清除能力<sup>[12]</sup>。在 0.6 mg/mL 的样品浓度下，不同级分富硒米糠间的·OH 清除能力无显著性差异，但远高于 MR6（精米）蛋白 ( $P < 0.05$ )，这是因为米糠蛋白硒含量显著高于精米蛋白。普通米糠蛋白组的不同级分米糠蛋白和精米蛋白都不存在显著性差异。Zeng 等<sup>[28]</sup>对富硒大米中提取的硒蛋白的抗氧化活性和清除自由基活性进行了研究，发现水溶性硒蛋白具有清除·OH 的能力，且蛋白硒含量越高，清除能力越强。本研究与上述文献结果基本一致。

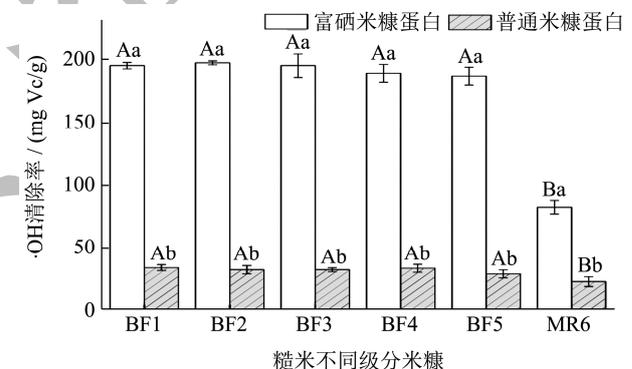


图5 不同级分米糠蛋白的·OH清除能力

Fig.5 ·OH scavenging ability of rice bran proteins at different levels

### 2.2.4 铁离子还原能力的测定

结果如图6所示，不同级分米糠蛋白的铁离子还原能力以 Vc 当量表示。结果表明，普通米糠蛋白铁离子还原能力介于 1.98~3.36 mg Vc/g，富硒米糠蛋白铁离子还原能力介于 2.48~4.33 mg Vc/g，富硒处理提高了米糠蛋白的铁离子还原能力，这是因为蛋白质中的硒取代了氨基酸中的硫，主要以硒半胱氨酸的形式存在于蛋白质中，对起催化作用的金属离子具有络合作用<sup>[26]</sup>。此外，富硒和普通 MR6（精米）蛋白间的铁离子还原能力则没有显著差异 ( $P < 0.05$ )。在 BF1、BF2、BF3 和 BF4 级分米糠蛋白的铁离子还原能力最强，随着碾减率的增加，还

原能力显著降低并趋于平缓, 两组都表现出相同的趋势。Chen 等<sup>[16]</sup>研究了富硒花生分离蛋白的抗氧化能力, 发现所有样品都表现出良好的还原能力, 且还原能力变化趋势与 Se 含量分布趋势相似, 说明 Se 含量与抗氧化活性有关。

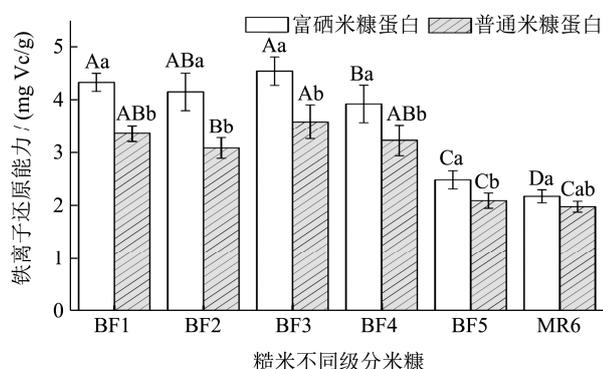


图6 不同级分米糠蛋白的铁离子还原能力

Fig.6 Iron reduction capacity of rice bran proteins at different levels

### 2.3 $\alpha$ -淀粉酶抑制活性的测定

如图7所示, 在 1.2 mg/mL 的样品质量浓度下, 不同级分富硒和普通米糠蛋白均具有一定的 $\alpha$ -淀粉酶抑制能力, 其抑制率介于 17.16%~21.22%。0.6 mg/mL 阿卡波糖的抑制率则达到了 37.84%, 要远高于米糠蛋白。有研究表明,  $\alpha$ -淀粉酶抑制剂主要通过特异性地与 $\alpha$ -淀粉酶形成抑制复合物来阻断淀粉的分解和吸收<sup>[29]</sup>。糙米蛋白对 $\alpha$ -淀粉酶抑制作用尚未明确, 还有待研究。整体来说, 富硒处理提高了 BF1、BF2、BF3 和 BF4 级分米糠蛋白的 $\alpha$ -淀粉酶抑制能力, 这可能是富硒处理改变了米糠蛋白的化学结构, 使其生物活性提高所致<sup>[30]</sup>。但对 BF5 级分米糠蛋白以及 MR6 精米蛋白没有影响。此外, 米糠蛋白的 $\alpha$ -淀粉酶抑制能力

要强于精米蛋白。

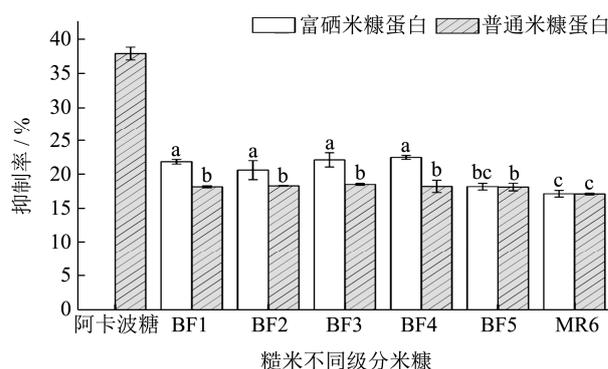


图7 不同级分米糠蛋白的 $\alpha$ -淀粉酶抑制能力

Fig.7  $\alpha$ -Amylase inhibition of rice bran proteins at different levels

注: 小写字母表示具有显著差异 ( $P < 0.05$ )。

### 2.4 相关性分析

不同级分米糠及其蛋白硒含量和蛋白质纯度与功能特性指标的相关性见表3。其米糠硒含量和蛋白质硒含量与 DPPH·清除能力、ABTS<sup>+</sup>·清除能力和·OH清除能力均呈极显著正相关 ( $P < 0.01$ ), 与铁离子还原能力和 $\alpha$ -淀粉酶抑制能力呈显著正相关 ( $P < 0.05$ )。这种差异性可能与硒蛋白的作用成分以及作用机制的不同所导致<sup>[31]</sup>。从不同级分米糠中提取的蛋白质纯度则与 DPPH·清除能力、ABTS<sup>+</sup>·清除能力、·OH清除能力、铁离子还原能力和 $\alpha$ -淀粉酶抑制能力均呈负相关但不显著 ( $P > 0.05$ )。这说明本研究中不同级分米糠蛋白质的纯度差异, 并不会对实验结果造成影响。结果表明, 蛋白中硒含量的高低直接反应了其抗氧化能力和 $\alpha$ -淀粉酶抑制能力, 硒蛋白是糙米不同级分米糠中重要的抗氧化物质。

表3 不同级分米糠及其蛋白硒含量和蛋白纯度与功能特性指标的相关性

Table 3 Correlation between selenium content and protein purity of rice bran at different levels and functional property indexes

功能特性指标	米糠硒含量		蛋白硒含量		蛋白质纯度	
	相关系数 $r$	显著水平 $P$	相关系数 $r$	显著水平 $P$	相关系数 $r$	显著水平 $P$
DPPH·清除率	0.980	0.000**	0.980	0.000**	-0.401	0.196
ABTS <sup>+</sup> ·清除率	0.950	0.000**	0.943	0.000**	-0.454	0.138
·OH清除能力	0.992	0.000**	0.995	0.000**	-0.193	0.548
铁离子还原能力	0.666	0.018*	0.670	0.017*	-0.782	0.603
$\alpha$ -淀粉酶抑制能力	0.676	0.016*	0.665	0.018*	-0.109	0.735

注: \*表示相关性显著,  $P < 0.05$ ; \*\*表示相关性极显著,  $P < 0.01$ 。

### 3 结论

本研究对富硒粳稻“南粳 9108” (NR), 富硒籼稻“巨 2 优 60” (JR)、“野香优航 1573” (YR) 及其普通

对照组的米糠级分及蛋白的硒元素分布和相关抗氧化性指标、 $\alpha$ -淀粉酶抑制能力进行了研究。结果表明, 硒元素在糙米中的分布并不均匀, 在 BF3 (DOM 为 6.68%~7.05%) 处含量最丰富, 此后随着碾减率的

增加而逐步下降, 精米的硒含量最低。富硒处理后, 糙米的粗蛋白含量有所增加, 不同级分米糠蛋白尤其是BF1、BF2、BF3和BF4级分富硒米糠蛋白显示出更强的抗氧化性和 $\alpha$ -淀粉酶抑制能力, 此外, 不同级分米糠蛋白的抗氧化性和 $\alpha$ -淀粉酶抑制能力均要优于精米蛋白。相关性分析显示, 糙米蛋白中硒含量的高低直接反应了其抗氧化能力和 $\alpha$ -淀粉酶抑制能力, 糙米外层的米糠是硒元素的良好来源, 具有有效的生物活性, 硒蛋白是糙米不同级分米糠中重要的抗氧化物质。本研究为富硒糙米的适度加工及其米糠的综合利用提供了理论参考。

### 参考文献

- [1] Ni S, Li Z, Ying J, et al. Decreased spikelets 4 encoding a novel tetratricopeptide repeat domain-containing protein is involved in DNA repair and spikelet number determination in rice [J]. *Genes*, 2019, 10(3): 214.
- [2] Kalpanadevi C, Singh V, Subramanian R. Influence of milling on the nutritional composition of bran from different rice varieties [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2018, 55(6): 2259-2269.
- [3] Zhang M, Xu Y, Xiang J, et al. Comparative evaluation on phenolic profiles, antioxidant properties and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory effects of different milling fractions of foxtail millet [J]. *Journal of Cereal Science*, 2021, 99: 103217.
- [4] 孙瑞, 钟耕, 张阳, 等. 重庆市江津区含硒稻谷碾减率与硒损失关系探究[J]. *食品与机械*, 2021, 37(4): 26-31, 41.
- [5] Okarter N, Liu R H. Health benefits of whole grain phytochemicals [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2010, 50(3): 193-208.
- [6] 周雷, 隋勇, 祝振洲, 等. 谷物茶品质及其功能特性研究进展 [J]. *食品工业科技*, 2023, 44(12): 490-499.
- [7] Yin H, Qi Z, Li M, et al. Selenium forms and methods of application differentially modulate plant growth, photosynthesis, stress tolerance, selenium content and speciation in *Oryza sativa* L. [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 169: 911-917.
- [8] Khanam A, Platel K. Bioaccessibility of selenium, selenomethionine and selenocysteine from foods and influence of heat processing on the same [J]. *Food Chemistry*, 2016, 194: 1293-1299.
- [9] Zhang S, Zheng H, Zhang R, et al. Extraction optimization and antioxidant activity evaluation of Se-enriched walnut proteins [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2022, 46(7): e16719.
- [10] Ma Q, Zhang Q, Li X, et al. The compound-independent calibration of five selenium species in rice using ion-pairing reversed phase chromatography coupled to inductively coupled plasma tandem mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography A*, 2022, 1674: 463134.
- [11] 冯明菊, 熊华, 王晓雅, 等. 富硒糙米蛋白理化特性及抗氧化活性的研究[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(15): 34-42.
- [12] 胡玲玲, 李春阳, 曾晓雄, 等. 富硒发芽糙米蛋白的抗氧化活性[J]. *食品科学*, 2016, 37(1): 99-103.
- [13] Zhang S, Ma Q, Dong L, et al. Phenolic profiles and bioactivities of different milling fractions of rice bran from black rice [J]. *Food Chemistry*, 2022, 378: 132035.
- [14] Wang Z, Zhang M, Liu G, et al. Effect of the degree of milling on the physicochemical properties, pasting properties and *in vitro* digestibility of Simiao rice [J]. *Grain & Oil Science and Technology*, 2021, 4(2): 45-53.
- [15] 王雪, 侯占群, 苑鹏, 等. 发芽糙米蛋白-葡聚糖共价接枝复合物的开发及其物理化学性能、乳液稳定性的评价[J]. *食品科学*, 2019, 40(12): 46-54.
- [16] Chen Q, Chen X, Li S, et al. Preparation, characterization, and *in vitro* antioxidant activities of natural selenium-enriched peanut protein fractions [J]. *Food Bioscience*, 2022, 49: 101923.
- [17] Huang L, Jia S, Wu R, et al. The structure, antioxidant and antibacterial properties of thiol-modified soy protein isolate induced by allicin [J]. *Food Chemistry*, 2022, 396: 133713.
- [18] Quinteros M F, Martínez J, Barrionuevo A, et al. Functional, antioxidant, and anti-inflammatory properties of cricket protein concentrate (*Gryllus assimilis*) [J]. *Biology*, 2022, 11(5): 776.
- [19] 刘晓飞, 侯艳, 马京求, 等. 发芽糙米糖蛋白抗炎、降血糖性能分析[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(9): 48-56.
- [20] Yi Q, Sun X, Tang S, et al. Comparison of Se accumulation and distribution of two rice (*Oryza sativa* L.) cultivars with high-and low-Se efficiency as affected by exogenous application of selenite [J]. *Journal of Cereal Science*, 2022, 105: 103475.
- [21] Reich H J, Hondal R J. Why nature chose selenium [J]. *ACS Chemical Biology*, 2016, 11(4): 821-841.
- [22] 张挽挽. 富硒糙米加工过程中硒含量的变化[D]. 武汉: 武汉轻工大学, 2020.
- [23] Ma Z, Wang Y, Cheng H, et al. Biochemical composition distribution in different grain layers is associated with the edible quality of rice cultivars [J]. *Food Chemistry*, 2020, 311: 125896.

- [24] 方热军,杨凯丽. 硒的抗氧化和免疫作用及其代谢调控途径 [J]. 饲料工业, 2018, 39(23): 1-7.
- [25] Zeng R, Farooq M U, Zhang G, et al. Dissecting the potential of selenoproteins extracted from selenium-enriched rice on physiological, biochemical and anti-ageing effects *in vivo* [J]. Biological Trace Element Research, 2020, 196(1): 119-130.
- [26] Islam M Z, Park B J, Kang H M, et al. Influence of selenium biofortification on the bioactive compounds and antioxidant activity of wheat microgreen extract [J]. Food Chemistry, 2020, 309: 125763.
- [27] Liu K, Ning M. Antioxidant activity stability and digestibility of protein from Se-enriched germinated brown rice [J]. LWT, 2021, 142: 111032.
- [28] Zeng R, Farooq M U, Zhang G, et al. Dissecting the potential of selenoproteins extracted from selenium-enriched rice on physiological, biochemical and anti-ageing effects *in vivo* [J]. Biological Trace Element Research, 2020, 196(1): 119-130.
- [29] 李梦洋, 常远, 冯国军, 等.  $\alpha$ -淀粉酶抑制剂构效关系及应用研究进展 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(12): 475-485.
- [30] 张浩, 李东山, 谭开祥, 等. 富硒青钱柳多糖对  $\alpha$ -葡萄糖苷酶及 HepG2 细胞葡萄糖消耗的影响 [J]. 食品工业科技, 2018, 39(2): 40-43, 50.
- [31] 李丽辉, 林亲录, 陈海军. 硒的生理学功能及富硒强化食品的研究进展 [J]. 现代食品科技, 2005, 21(3): 198-200.