

# 超微粉碎对黑米糠多酚的组成及活性的影响

胡婷<sup>1</sup>, 王鑫<sup>1</sup>, 耿可赞<sup>1</sup>, 马勤<sup>2\*</sup>

(1. 武汉工程大学环境生态与生物工程学院, 湖北武汉 430205) (2. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 农业农村部功能食品重点实验室, 广东省农产品加工重点实验室, 广东广州 510610)

**摘要:** 为探究超微粉碎对黑米糠多酚组成、体外抗氧化活性和 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性的影响, 该研究采用超微粉碎技术制备了黑米糠超微粉, 考察了黑米糠超微粉和粗粉两种粉体的多酚组成和花色苷含量, 总抗氧化能力、氧自由基吸收能力、清除过氧化自由基能力和 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制能力。结果表明, 超微粉碎可显著降低黑米糠的粒径; 与粗粉相比, 黑米糠超微粉的游离酚、总酚和花色苷的提取量分别提高 8.27%、10.72% 和 21.97%, 且阿魏酸、对香豆酸和香草酸等单体酚提取量均显著提高, 但其单体组成并没有发生变化; 黑米糠超微粉多酚的抗氧化能力和 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制能力显著优于其粗粉, 且游离酚为主要贡献物质。综上, 超微粉碎可以促进黑米糠活性成分多酚的释放, 增强黑米糠的抗氧化能力和 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制能力, 可作为黑米糠的精深加工的一种前处理加工方式。

**关键词:** 黑米糠; 超微粉碎; 多酚; 抗氧化;  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制

文章编号: 1673-9078(2024)12-209-217

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.12.0068

## Effects of Ultrafine Grinding on the Composition and Activity of Black Rice Bran Polyphenols

HU Ting<sup>1</sup>, WANG Xin<sup>1</sup>, GENG Kezan<sup>1</sup>, MA Qin<sup>2\*</sup>

(1. College of Environmental Ecology and Bioengineering, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430205, China)  
(2. Sericultural & Agri-Food Research Institute Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory Foods, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangdong Key Laboratory Processing, Guangzhou 510610, China)

**Abstract:** To investigate the effects of ultrafine grinding on the composition as well as the *in vitro* antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibition activities of black rice bran polyphenols, ultrafine grinding was performed to prepare ultrafine black rice bran powder. The compositions, anthocyanin contents, total antioxidant capacities, oxygen radical absorption capacities, peroxide radical scavenging abilities, and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory abilities of polyphenols of ultrafine and coarse black rice bran powder were determined. The results showed that the particle size of black rice bran was significantly reduced by ultrafine grinding. Compared with those of the coarse powder, the extraction yields of free polyphenols, total polyphenols, and anthocyanins of ultrafine black rice bran powder were increased by 8.27%, 10.72%, and 21.97%, respectively.

引文格式:

胡婷, 王鑫, 耿可赞, 等. 超微粉碎对黑米糠多酚的组成及活性的影响[J]. 现代食品科技, 2024, 40(12): 209-217.

HU Ting, WANG Xin, GENG Kezan, et al. Effects of ultrafine grinding on the composition and activity of black rice bran polyphenols [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(12): 209-217.

收稿日期: 2024-01-15

基金项目: 广东特支计划本土创新团队项目(2019BT02N112); 广东省农业科学院人才引进项目(R2019YJ-YB1003); 广州市科技计划项目(202206010071)

作者简介: 胡婷(1988-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 天然产物与食品营养, E-mail: huting1988@163.com; 共同第一作者: 王鑫(1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 功能食品, E-mail: 1497069124@qq.com

通讯作者: 马勤(1990-)女, 博士, 助理研究员, 研究方向: 食品营养与健康, E-mail: qinma\_gaas@163.com

Furthermore, the extraction yields of phenolic monomers, such as ferulic acid, p-coumaric acid, and vanillic acid, were significantly increased, with no changes in the phenolic monomer composition. Polyphenols of the ultrafine powder exhibited higher antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory abilities than those of the coarse powder. Particularly, free polyphenols were the main contributors to these activities. In conclusion, ultrafine grinding promotes the release of polyphenols and enhances the antioxidant capacity and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory abilities of black rice bran. This pretreatment method can be applied in the processing and utilization of black rice bran.

**Key words:** black rice bran; ultrafine grinding; polyphenols; anti-oxidation;  $\alpha$ -glucosidase inhibition

黑米 (*Oryza sativa* L.) 是一种重要的优异稻种资源, 具有“滋阴补肾、健脾暖肝、明目活血”等作用。现代药理学研究表明, 黑米具有抗炎、抗氧化、抗糖尿病、降低胆固醇和抗动脉粥样硬化等活性<sup>[1]</sup>, 且多将其归因于米糠层中丰富的膳食纤维、花色苷、酚酸等活性物质<sup>[2]</sup>。研究表明黑米糠中花色苷含量在 7.90~31.58 mg/g, 其中超过 80% 为矢车菊素-3-O-葡萄糖苷, 且以游离态形式存在<sup>[3]</sup>。然而, 由于黑米糠的口感粗糙且不易被消化, 黑米糠后续的开发利用受限。

超微粉碎技术可通过将物料粉碎至微米甚至纳米级从而改善其口感和加工品质, 并促进其有效成分的溶出, 是食品加工的一种重要方式<sup>[4]</sup>。目前, 超微粉碎技术已广泛应用于各种物料的加工, 并且可以很好的改善物料的生理功能特性。如 Tao 等<sup>[5]</sup>研究了普通粉碎和超微粉碎对柑橘渣的酚类成分和体外抗氧化能力的影响, 结果表明超微粉碎的柑橘渣呈现更高的酚提取量和抗氧化能力。蔡亭等<sup>[6]</sup>的研究表明随着苦荞微粉粒径的降低, 其多酚含量及抗氧化能力均呈现先减弱后增加的趋势。余青等<sup>[7]</sup>和黄晟等<sup>[8]</sup>的研究表明超微粉碎可以显著提高麦麸粉体的持水/油性、吸水溶胀力、阳离子交换能力、粉体热稳定性及其可溶性膳食纤维 (Soluble Dietary Fiber, SDF) 含量。Bender 等<sup>[9]</sup>的研究发现超微粉碎可能是通过破坏木质素和半纤维素间的相互作用促使不溶性膳食纤维 (Insoluble Dietary Fiber, DF) 向 SDF 转变。

黑米糠含有丰富的酚类成分, 具有较高的生理活性, 但目前超微粉碎技术对于黑米糠多酚及其功能活性的影响缺乏全面和深入的研究。因此, 本研究采用超微粉碎对黑米糠进行处理, 探究超微粉碎黑米糠前后基本成分、多酚含量组成、抗氧化活性和  $\alpha$ -糖苷酶抑制活性的变化, 为开展黑米糠精深加工提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

黑米 (品种为东北五常黑米), 购于山东鹤来香食品有限公司。福林酚试剂、荧光素钠、对硝基苯- $\alpha$ -D 葡萄糖苷 (4-Nitrophenyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside, PNPG)、2,2'-偶氮二(2-甲基丙基咪)二盐酸盐 (2,2'-azobis(2-methyl-propanimidamide) dihydrochloride, AAPH)、 $\alpha$ -葡萄糖苷酶、2,7-二氯荧光素二乙酸酯 (2,7-Dichlorodihydrofluorescein diacetate, DCFH-DA), 美国 Sigma 公司; 总抗氧化能力检测试剂盒 (FRAP 法), 上海碧云天生物技术有限公司; Beijing Boxbio 淀粉含量检测试剂盒, 北京盒子生工科技有限公司; 酚类物质标准品 (没食子酸、原儿茶酸、咖啡酸、香草酸、香兰素、对香豆酸、阿魏酸、阿魏酸甲酯、异阿魏酸和槲皮素)、花色苷标准品 (矢车菊素-3-O-葡萄糖苷), 阿拉丁试剂 (上海) 有限公司; 热稳定  $\alpha$  淀粉酶 (Termamyl, 120 KNU-S/mL)、蛋白酶 (Alcalase, 4.42 AU/mL)、葡萄糖淀粉酶 (AMG, 300 AGU/mL), 诺维信 (中国) 有限责任公司; 乙腈、冰醋酸 (色谱纯), 天津市富宇精细化工有限公司; 其它试剂均为分析纯。

### 1.2 仪器与设备

JLJG 2.5 型实验磨谷机, 浙江展诚公司; J1500-A 碾米机, 山东卡琪诺机械有限公司; XDW-6BL 振动式超微粉碎机, 济南达微公司; IKAT 25 高速均质机, 德国 IKA 公司; JIDI-21RH 高速冷冻离心机, 广州吉迪仪器有限公司; EYELAN-1100 旋转蒸发仪, 东京理化器械株式会社; Infinite M200pro 酶标仪, 奥地利 TECAN 公司; 岛津 LC2030 PLUS 高效液相色谱仪, 日本岛津公司。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 黑米糠的制备

将新鲜黑米经 J1500-A 碾米机 3 级碾磨后得到碾磨率为 10% 的黑米糠, 粉碎后过 60 目筛, 采用低温连续相变萃取设备对米糠采用正丁烷作萃取溶剂, 在 0.5 MPa, 45 °C 下萃取 60 min 得到脱脂米糠。将脱脂黑米糠在 4 °C 条件下粉碎 15 min 后得到黑米糠超微粉。

#### 1.3.2 黑米糠的粒径分布

参照 Xu 等<sup>[10]</sup>的方法稍作修改, 使用粒度分布仪测定黑米糠粗粉和超微粉的粒径分布。取少量样品配制成质量分数为 10% 左右的悬浮液, 设置分散剂的折射率为 1.330。

#### 1.3.3 黑米糠化学成分测定

黑米糠中水分含量测定: 参照 GB 5009.3-2016 食品安全国家标准 食品中水分的测定; 灰分: 参照 GB 5009.4-2016 食品安全国家标准 食品中灰分的测定; 淀粉: Beijing Boxbio 淀粉含量试剂盒; 粗蛋白: 凯氏定氮法, 参照 GB 5009.5-2016 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定, 蛋白系数取 5.95。根据赵广河<sup>[11]</sup>的方法测定黑米糠中的 IDF 和 SDF 的含量。

#### 1.3.4 黑米糠酚类物质的提取

参考 Zhang 等<sup>[12]</sup>的方法提取黑米糠中游离酚并稍作修改: 将 1 g 黑米糠与 50 mL 4 °C 预冷的酸化丙酮 (体积分数 80% 丙酮:12 mol/L HCl=99:1, V/V) 在 10 000 r/min 下均质 5 min, 8 000 r/min 离心 5 min 后取上清液, 将残渣重复提取两次, 合并上清液并在 45 °C 旋转蒸干, 加入 10 mL 预冷的酸化甲醇 (无水甲醇:1 mol/L HCl=85:15, V/V) 回收残留物, 并在 -20 °C 下储存备用。

结合酚根据 Liu 等<sup>[13]</sup>的方法进行提取。从游离酚提取物的残留物中提取结合酚, 在残余物中加入 40 mL 2 mol/L 的 NaOH 溶液, 充入氮气, 室温下震荡消化 2 h, 用 6 mol/L HCl 溶液将 pH 值调至 1.0, 用 5 倍体积的乙酸乙酯萃取 5 次, 合并乙酸乙酯相在 45 °C 下蒸发至干, 用 10 mL 预冷的酸化甲醇 (无水甲醇:1 mol/L HCl=85:15, V/V) 回收残留物, -20 °C 下储存备用。

#### 1.3.5 黑米糠总酚、花色苷含量的测定

参考 Zhang 等<sup>[12]</sup>的方法, 采用 Folin-Ciocalteu 法测定总酚含量, 以没食子酸为标准品建立标准曲线, 标准曲线为:  $y=2.0602x+0.676$ ,  $R^2=0.9996$ 。黑米糠的总酚含量以每 g 黑米糠干重中所含没食子

酸当量 (Gallic Acid Equivalent, GAE) 表示, 即 mg GAE/g DW。

参考 Lin 等<sup>[14]</sup>的方法, 采用 pH 值示差法测定花色苷含量, 取 100  $\mu$ L 稀释后的黑米糠酚类物质提取物, 分别用 pH 值 1.0 氯化钾缓冲液 (0.2 mol/L) 和 pH 值 4.5 的醋酸钠缓冲液 (0.2 mol/L) 稀释至 1 mL, 在 700 nm 和 515 nm 处测定吸光度。总花色苷含量以矢车菊素-3-O 葡萄糖苷 (Cyanidin-3-O-glucoside Chloride, Cy3G) 计, 计算公式如下:

$$c = \frac{\Delta A \times M_w \times D \times 1\ 000}{\varepsilon \times L} \quad (1)$$

式中:

$c$ ——花色苷含量, mg CGE/mL;

$\Delta A$ —— $(A_{515} - A_{700nm})_{pH\ 1.0} - (A_{515} - A_{700})_{pH\ 4.5}$ ;

$M_w$ ——矢车菊素-3-O 葡萄糖苷的分子量, 449.2 g/mol;

$D$ ——稀释倍数;

$\varepsilon$ ——矢车菊素-3-O 葡萄糖苷的摩尔消光系数, 26 900 L/(mol·cm);

$L$ ——光程。

#### 1.3.6 黑米糠单体酚类物质的组成

参考 Zhang 等<sup>[15]</sup>的方法, 通过高效液相色谱 (HPLC) 进行酚类化合物的分析。色谱条件: 色谱柱: ZORBAX SB-C18; 流动相: 体积分数为 0.4% 乙酸水溶液 (溶液 A) 和乙腈 (溶液 B), 洗脱程序: 0~40 min, 溶液 B 5%~25%; 40~45 min, 溶液 B 25%~35%; 45~55 min, 溶液 B 35%~50%; 流量: 1.0 mL/min; 柱温: 25 °C; 进样量: 10  $\mu$ L; 检测波长: 280 nm。

#### 1.3.7 黑米糠花色苷单体的测定

黑米糠花色苷单体含量的测定根据 Zhang<sup>[12]</sup>等的方法稍作修改。色谱柱: ZORBAX SB-C18; 流量: 0.8 mL/min; 柱温: 25 °C; 进样量: 20  $\mu$ L。流动相: 1.0% 甲酸水溶液 (溶液 A) 和乙腈 (溶液 B); 洗脱程序: 0~5 min, 溶液 B 5%~18%; 5~10 min, 溶液 B 18%~20%; 10~12 min, 溶液 B 20%~25%; 12~15 min, 溶液 B 25%~30%; 15~20 min, 溶液 B 30%~60%; 检测波长: 520 nm。

#### 1.3.8 黑米糠抗氧化能力测定

总抗氧化能力采用总抗氧化能力检测试剂盒 (FRAP 法) 测定。使用  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  建立标准曲线, 标准曲线为:  $y=0.2904x+0.1269$ ,  $R^2=0.9991$ , 样品的总抗氧化能力用  $FeSO_4$  标准溶液的浓度表示, 即  $\mu$ mol/g DW。

氧自由基吸收能力 (Oxygen Radical Absorbance Capacity, ORAC) 的测定方法参照 Zhang 等<sup>[16]</sup>的方法。具体如下, 将黑米糠提取液用 75 mmol/L pH 值 7.4 的 PBS 稀释备用, 先在黑色 96 孔板各孔中分别加入 20  $\mu$ L 黑米糠稀释液、Trolox 标准品 (0~50  $\mu$ mol/L) 和 PBS (空白对照), 再将每孔中加入 200  $\mu$ L 0.96  $\mu$ mol/L 的 DCFH-DA, 37  $^{\circ}$ C 孵育 20 min 后在空白对照组中加入 20  $\mu$ L PBS, 其余各组中各孔加入 20  $\mu$ L AAPH (119 mmol/L, 现配现用), 以 485 nm 激发波长和 538 nm 发射波长在 37  $^{\circ}$ C 条件下测定各孔荧光强度, 反应过程中每隔 4.5 min 重复测定一次, 连续测定 35 次。样品的 ORAC 值表示为 mmol TE/g DW。

清除过氧化自由基能力 (Peroxy Radical Scavenging Capacity, PSC) 测定参照杨锐等<sup>[17]</sup>的方法并稍作改动。具体如下, 将黑米糠提取液用 75 mmol/L pH 值 7.4 的 PBS 稀释备用, DCFH 溶液的配制: 将 900  $\mu$ L 1.0 mmol/L KOH 和 80  $\mu$ L 2.48 mmol/L DCFH-DA 混匀, 室温下水解 5 min, 以除去二乙酸酯 (DA) 部分, 再用 PBS 定容至 6 mL。在黑色 96 孔板各孔中分别加入 100  $\mu$ L 黑米糠稀释液、Trolox 标准品 (0~400  $\mu$ mol/L) 和 PBS (空白对照), 再将每孔中加入 100  $\mu$ L 2.48 mmol/L 的 DCFH, 于 37  $^{\circ}$ C 孵育震荡 20 s 后在每孔中加入 50  $\mu$ L AAPH (200 mmol/L, 现配现用), 继续于 37  $^{\circ}$ C 孵育, 以 485 nm 激发波长和 538 nm 发射波长连续测定各孔荧光强度, 反应过程中每隔 2 min 重复测定一次, 连续测定 20 次, 样品的 PSC 值表示为 mmol TE/g DW。

### 1.3.9 黑米糠 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制试验

参考 Liu 等<sup>[13]</sup>的方法对黑米糠的  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性进行测定。用 100 mmol/L PBS (pH 值 6.8) 将黑米糠酚类提取物释至合适的浓度, 依次将 40  $\mu$ L PBS、20  $\mu$ L 不同浓度的提取物和 20  $\mu$ L  $\alpha$ -葡萄糖苷酶 (0.5 U/mL) 加入 96 孔板中, 37  $^{\circ}$ C 孵育 15 min 后加入 20  $\mu$ L 5 mmol/L PNPG (100 mmol/L PBS, pH 值 6.8), 37  $^{\circ}$ C 继续孵育 10 min 后加入 100  $\mu$ L 的 0.2 mol/L  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  停止反应, 在 405 nm

处读取吸光度。 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制率 (%) 计算如下:

$$S = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_3 - A_4}\right) \times 100\% \quad (2)$$

式中:

$S$ — $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制率, %;

$A_1$ —提取物的吸光度值;

$A_2$ —样品空白组吸光度值;

$A_3$ —对照组吸光度值;

$A_4$ —空白组吸光度值。

50% 酶抑制值 ( $\text{IC}_{50}$ ) 计算为在测试条件下抑制 50%  $\alpha$ -葡萄糖苷酶活性的黑米糠质量浓度, 用多酚含量来表示  $\text{IC}_{50}$  的换算公式为:

$$\text{IC}_{50 \text{ polyphenol}} = \text{IC}_{50 \text{ bran}} \times C \quad (3)$$

式中:

$\text{IC}_{50 \text{ polyphenol}}$ —以黑米糠多酚浓度来表示的  $\text{IC}_{50}$  值,  $\mu\text{g GAE/mL}$ ;

$\text{IC}_{50 \text{ bran}}$ —以黑米糠浓度来表示的  $\text{IC}_{50}$  值,  $\text{mg/mL}$ ;

$C$ —黑米糠中的多酚含量,  $\text{mg GAE/g}$ 。

## 1.4 数据统计与分析

每个样品的每个指标均进行 3 次重复试验, 结果以均值 (Means)  $\pm$  标准差 (SD) 表示, 使用 Origin 2023 软件进行绘图。采用 IBM SPSS Statistics 27.0 软件独立样本  $t$  检验进行统计分析, 以  $P < 0.05$  表示差异显著。

## 2 结果与讨论

### 2.1 超微粉碎处理对黑米糠粒径分布的影响

黑米糠粗粉和超微粉的粒径分布结果如表 1 所示。从表中可以看出经过超微粉碎后的黑米糠颗粒粒径显著减小 ( $P < 0.01$ )、比表面积和跨度均显著增大 ( $P < 0.01$ ), 其中黑米糠粗粉和超微粉的中位粒径分别为 205.33 和 16.33  $\mu\text{m}$ , 比表面积分别为 141.17 和 225.27  $\text{m}^2/\text{kg}$ , 跨度分别为 2.44 和 3.12, 这表明超微粉碎的机械作用可破坏黑米糠的结构。

表 1 超微粉碎对黑米糠粒径分布的影响

Table 1 Effects of ultrafine grinding on particle size distribution of black rice bran

样品	$D_{10}/\mu\text{m}$	$D_{50}/\mu\text{m}$	$D_{90}/\mu\text{m}$	比表面积/ $(\text{m}^2/\text{kg})$	跨度
粗粉	5.18 $\pm$ 0.13	205.33 $\pm$ 1.51	509.83 $\pm$ 9.78	141.17 $\pm$ 2.66	2.44 $\pm$ 0.03
超微粉	4.75 $\pm$ 0.04	16.33 $\pm$ 0.26**	55.74 $\pm$ 0.87**	225.27 $\pm$ 5.81**	3.12 $\pm$ 0.04**

注: \*\* 表示与粗粉组相比有极显著差异 ( $P < 0.01$ )。

表 2 超微粉碎对黑米糠化学组成的影响

Table 2 Effects of ultrafine grinding on chemical composition of black rice bran

样品	水分 /%	灰分 /%	淀粉 /%	蛋白质 /%	IDF /%	SDF /%
粗粉	11.87 ± 0.32	6.64 ± 0.15	26.16 ± 2.97	14.12 ± 0.24	15.23 ± 0.12	2.57 ± 0.10
超微粉	11.33 ± 0.10	6.66 ± 0.03	27.94 ± 4.44	14.39 ± 0.34	12.58 ± 0.19**	2.81 ± 0.03*

注: \*表示与粗粉组相比有显著差异 ( $P < 0.05$ ); \*\*表示与粗粉组相比有极显著差异 ( $P < 0.01$ )。

## 2.2 超微粉碎处理对黑米糠化学成分组成的影响

黑米糠粗粉和超微粉的化学成分组成如表 2 所示。超微粉碎处理不会显著影响黑米糠的水分、灰分、淀粉和蛋白质含量,但超微粉碎后黑米糠的 IDF 含量显著降低 ( $P < 0.01$ )、SDF 含量显著升高 ( $P < 0.05$ ),超微粉的 SDF 含量为 2.81%,是粗粉含量的 1.09 倍。这可能是由于机械作用破坏了 IDF 和 SDF 的空间结构,较多亲水基团的暴露和比表面积的增加能够导致 IDF 向 SDF 转化,并促进包裹在 IDF 结构内部的 SDF 释放出来<sup>[18]</sup>,这说明超微粉碎是一种有效改善黑米糠 DF 组成的加工方式。

## 2.3 超微粉碎处理对黑米糠多酚及花色苷含量的影响

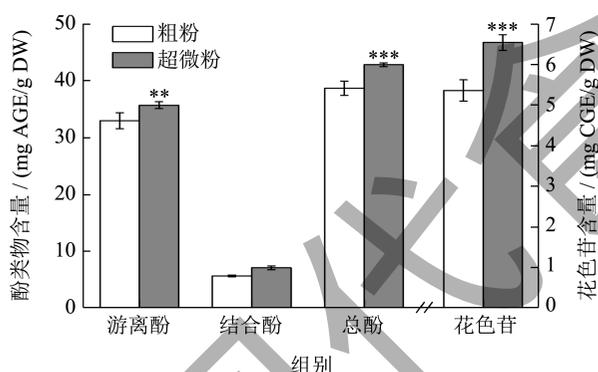


图 1 超微粉碎对黑米糠多酚和花色苷含量的影响

Fig.1 Effects of ultrafine grinding on the contents of polyphenols and anthocyanins in black rice bran

注: \*\*表示与粗粉组相比有极显著差异 ( $P < 0.01$ ); \*\*\*表示与粗粉相比有非常显著差异 ( $P < 0.001$ )。

多酚和花色苷是黑米中重要的活性成分,黑米糠超微粉碎前后的多酚和花色苷含量如图 1 所示。黑米糠超微粉碎后游离酚、结合酚、总酚和花色苷含量分别为 35.74、7.12、38.71 mg GAE/g DW 和 6.55 mg CGE/g DW,其中酚类物质主要以游离态形式存在,在粗粉和超微粉中的占比分别为 85.28% 和 83.39%。黑米糠超微粉游离酚、总酚和花色苷的含量均显著高于粗粉 ( $P < 0.01$ ),与粗粉相比,

超微粉的游离酚、总酚和花色苷含量分别提高了 8.27%、11.00% 和 22.00%。这些结果表明超微粉碎可以促进黑米糠中酚类物质的提取,这可能是由于超微粉碎处理后的黑米糠粒径减小、比表面积增大,酚类物质更易溶出;此外,由于结合酚主要以糖苷键的形式与膳食纤维作用,超微粉碎处理对膳食纤维的改性作用有利于结合多酚的释放<sup>[19]</sup>。该研究结果与超微粉碎可有效提高香菇伞粉和香菇柄粉<sup>[20]</sup>、桑叶<sup>[21]</sup>以及米糠<sup>[22]</sup>等的多酚溶出量的结果趋势一致。

## 2.4 超微粉碎处理对黑米糠中多酚组成和花色苷的影响

黑米糠中酚类物质的主要成分和含量如表 3 所示,超微粉碎处理虽不会影响黑米糠中多酚物质的单体组成种类,但对单体酚的含量有不同程度的影响。超微粉碎前后黑米糠中提取的酚类物质均主要有阿魏酸、原儿茶酸、香草酸、对香豆酸、槲皮素、异阿魏酸、阿魏酸甲酯、没食子酸、香兰素和咖啡酸,其中槲皮素、香兰素和咖啡酸仅以结合态形式存在,游离酚均以原儿茶酸、香草酸和异阿魏酸为主,结合酚均以阿魏酸、原儿茶酸和对香豆酸为主;阿魏酸作为含量最高的单体酚,黑米糠粗粉和超微粉结合态阿魏酸含量分别占阿魏酸总量的 99.15% 和 98.42%。

除了游离态的没食子酸和结合态的原儿茶酸外,超微粉碎后黑米糠的游离态和结合态的单体酚含量均有不同程度的升高,其中游离态阿魏酸、异阿魏酸、香草酸和阿魏酸甲酯分别增加了 137.53%、33.61%、138.02% 和 12.17%,结合态没食子酸、对香豆酸、阿魏酸、异阿魏酸、香草酸和阿魏酸甲酯分别增加了 94.16%、52.38%、26.55%、83.69%、51.94% 和 137.52%,这表明超微粉碎能提高黑米糠酚酸单体可提取性,与提高黑米糠游离酚和结合酚的可提取性一致。Zhao 等<sup>[19]</sup>研究也发现米糠 IDF 经超微粉碎后其游离态和结合态的对香豆酸、香兰素、阿魏酸、咖啡酸甲酯和丁香酸可提取性均得到改善。

表 3 超微粉碎对黑米糠中多酚的组成及含量的影响

Table 3 Effects of ultrafine grinding on the composition and content of polyphenols in black rice bran

单体名称	样品	含量/( $\mu\text{g/g DW}$ )		
		游离态	结合态	总量
阿魏酸	粗粉	27.90 $\pm$ 6.07	3 269.49 $\pm$ 20.89	3297.39 $\pm$ 14.82
	超微粉	66.27 $\pm$ 0.98**	4 137.49 $\pm$ 195.31*	4 203.76 $\pm$ 194.49**
原儿茶酸	粗粉	386.27 $\pm$ 5.77	670.27 $\pm$ 10.49	1 056.53 $\pm$ 13.61
	超微粉	397.57 $\pm$ 7.39	405.93 $\pm$ 56.98**	803.51 $\pm$ 62.38**
香草酸	粗粉	168.87 $\pm$ 13.87	164.82 $\pm$ 1.33	333.69 $\pm$ 14.06
	超微粉	401.94 $\pm$ 8.73**	250.43 $\pm$ 33.55*	652.37 $\pm$ 39.21**
对香豆酸	粗粉	26.25 $\pm$ 0.59	352.92 $\pm$ 19.37	379.18 $\pm$ 19.03
	超微粉	40.30 $\pm$ 0.53	539.38 $\pm$ 34.22*	579.69 $\pm$ 34.45**
槲皮素	粗粉	ND	240.73 $\pm$ 12.59	261.07 $\pm$ 18.96
	超微粉	ND	275.37 $\pm$ 18.25	295.59 $\pm$ 11.98
异阿魏酸	粗粉	74.35 $\pm$ 3.31	28.87 $\pm$ 0.09	103.23 $\pm$ 3.30
	超微粉	99.34 $\pm$ 10.45*	53.03 $\pm$ 3.93**	152.36 $\pm$ 11.08*
阿魏酸甲酯	粗粉	17.67 $\pm$ 1.28	44.35 $\pm$ 4.30	62.01 $\pm$ 4.45
	超微粉	19.82 $\pm$ 0.13*	105.34 $\pm$ 0.97**	125.16 $\pm$ 0.87**
没食子酸	粗粉	27.71 $\pm$ 1.32	16.45 $\pm$ 0.09	44.16 $\pm$ 1.23
	超微粉	20.34 $\pm$ 0.38**	31.94 $\pm$ 2.03**	52.28 $\pm$ 2.12
香兰素	粗粉	ND	20.98 $\pm$ 1.45	20.98 $\pm$ 1.45
	超微粉	ND	19.35 $\pm$ 1.01	19.35 $\pm$ 1.01
咖啡酸	粗粉	ND	5.56 $\pm$ 0.65	5.56 $\pm$ 0.69
	超微粉	ND	8.47 $\pm$ 0.41	8.47 $\pm$ 0.41

注: ND 表示未检测出。\* 表示与粗粉组相比有显著差异 ( $P < 0.05$ ); \*\* 表示与粗粉组相比有极显著差异 ( $P < 0.01$ )。

如表 4 所示, 矢车菊素 -3-O-葡萄糖苷 (Cy3G) 作为花色苷的主要单体化合物在黑米糠中仅以游离态形式存在, 其含量分别占粗粉和超微粉花色苷总含量的 85.47% 和 88.85%。与粗粉相比, 黑米糠超微粉的 Cy3G 的提取率增加了 26.68%, 即超微粉碎是提高 Cy3G 提取率的有效方法之一。

表 4 超微粉碎对黑米糠中花色苷单体的影响

Table 4 Effects of ultrafine grinding on anthocyanin monomers in black rice bran

花色苷单体	样品	单体含量/( $\mu\text{g/g DW}$ )	
		游离态	结合态
矢车菊素 -3-O-葡萄糖苷	粗粉	4 594.33 $\pm$ 140.99	ND
	超微粉	5 820.11 $\pm$ 198.84**	ND

注: ND 表示未检测出。\*\* 表示与粗粉组相比有极显著差异 ( $P < 0.01$ )。

## 2.5 超微粉碎处理对黑米糠多酚抗氧化活性的影响

单一的抗氧化方法不足以评价多酚的抗氧化能

力, 本研究分别采用 FRAP、ORAC 和 PSC 方法对黑米糠多酚的抗氧化活性进行了测定, 结果如图 2 所示。黑米糠超微粉的游离酚、总酚的 FRAP、ORAC 和 PSC 值均明显高于粗粉 ( $P < 0.001$ ), 与其多酚含量的变化趋势一致; 其中超微粉总酚的 FRAP、ORAC 和 PSC 值分别为 446.16  $\mu\text{mol/g DW}$ 、910.28  $\mu\text{mol TE/g DW}$  和 191.78  $\mu\text{mol TE/g DW}$ , 较粗粉分别升高了 20.79%、69.67% 和 23.93%。游离酚作为黑米糠提取物的主要抗氧化物质, 对超微粉和粗粉总酚的 FRAP、ORAC 和 PSC 的贡献值相似, 分别为 85.88%、75.91%、79.92% 以及 82.79%、84.48% 和 82.46%。一方面酚类物质含量与其抗氧化活性高度正相关<sup>[23]</sup>, 另一方面超微粉中具有强抗氧化能力的阿魏酸<sup>[24]</sup>、香草酸<sup>[25]</sup>、对香豆酸<sup>[26]</sup> 和 Cy3G<sup>[27]</sup> 含量均显著高于粗粉。Tao 等<sup>[5]</sup>报道的经超微粉碎后柑橘渣游离酚含量增加导致其抗氧化能力 (DPPH 自由基清除能力和 FRAP) 增强以及蔡亭等<sup>[6]</sup>报道的经超微粉碎后苦荞的游离酚、结合酚和总酚含量增加, 超微粉总酚的 DPPH 自由基清除

能力、FRAP 铁离子还原能力和 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除能力分别增加了 17.01%、26.36% 和 45.03%。

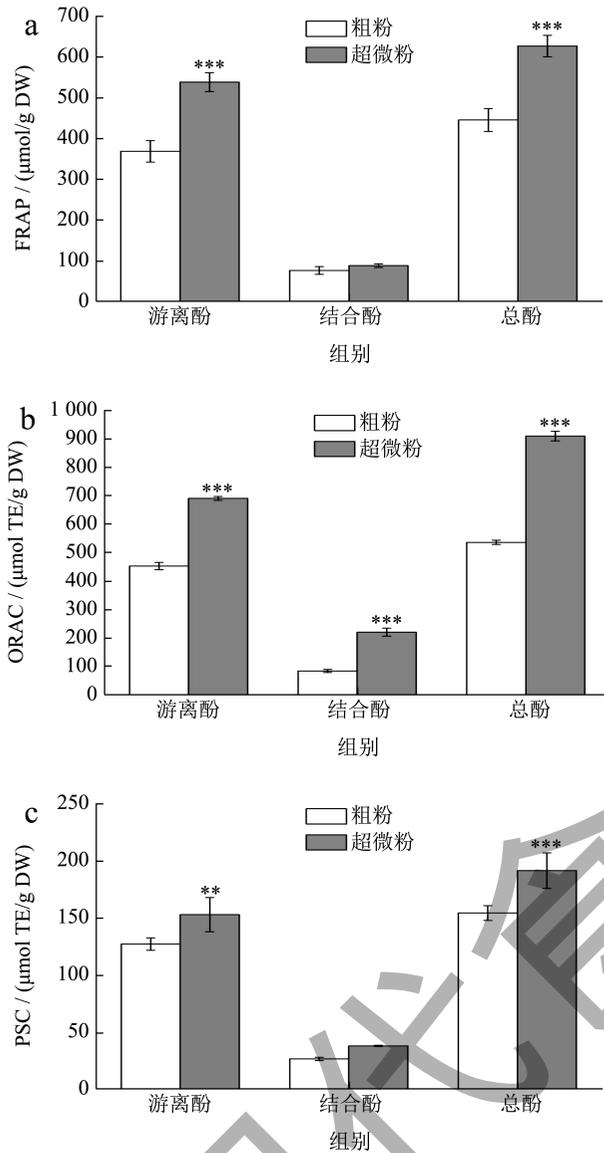


图2 超微粉碎对黑米糠多酚抗氧化活性的影响

Fig.2 Effects of ultrafine grinding on antioxidant activity of black rice bran polyphenols

注: \*\* 表示与粗粉组相比有极显著差异 ( $P < 0.01$ );  
\*\*\* 表示与粗粉相比有非常显著差异 ( $P < 0.001$ )。

### 2.6 超微粉碎处理对黑米糠多酚 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性的影响

黑米糠游离酚和结合酚的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性如图3所示。从图中可以看出黑米糠粗粉和超微粉的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性均随着浓度的升高而增强,其中黑米糠超微粉游离酚的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性显著高于粗粉 ( $P < 0.05$ ),其 $IC_{50}$ 值分别为0.12

和0.21 mg/mL;当质量浓度大于3 mg/mL时,超微粉结合酚的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的抑制活性较粗粉显著提高 ( $P < 0.05$ ),其 $IC_{50}$ 值分别为2.80和3.84 mg/mL;另外,按多酚浓度计,黑米糠粗粉和超微粉游离酚的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制 $IC_{50}$ 值分别为6.93和4.29  $\mu$ g GAE/mL,均低于课题组前期研究发现黑米糠最外层游离酚23.96  $\mu$ g GAE/mL的抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶 $IC_{50}$ 值<sup>[14]</sup>和Boue等<sup>[28]</sup>发现四种不同颜色的有色稻米米糠的抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶 $IC_{50}$ 值(8.44、45.2、88.2和27 641.4  $\mu$ g GAE/mL)。据报道黑米中的各种酚类化合物,包括Cy3G、阿魏酸、原儿茶酸和香草酸均具有抑制 $\alpha$ -葡萄糖苷酶的能力<sup>[29]</sup>,且Truong等<sup>[30]</sup>研究发现28种食用植物的水提物和甲醇提取物的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性和多酚含量之间均呈正相关,推测黑米糠超微粉 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性的提高可能与超微粉碎促进酚类物质的溶出及物质间的协同作用有关。

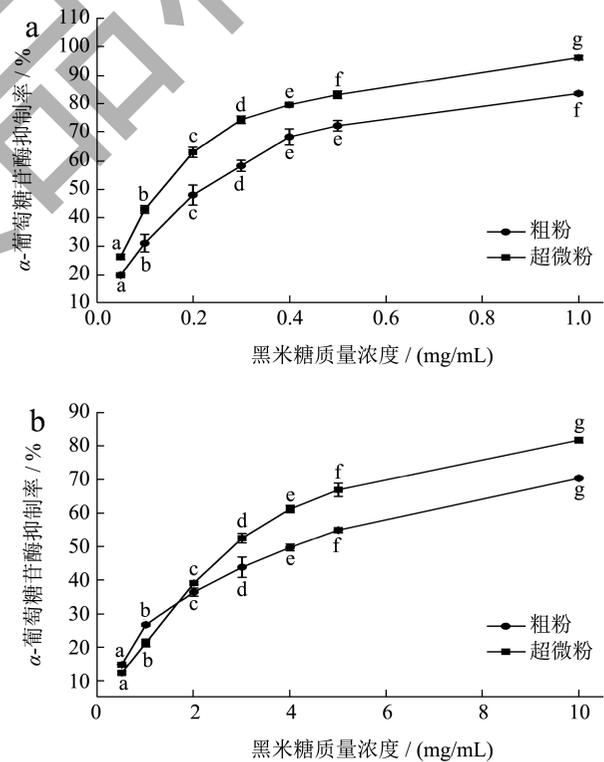


图3 超微粉碎对黑米糠游离酚 (a) 和结合酚 (b)  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性的影响

Fig.3 Effects of ultrafine grinding on the inhibitory activity of free phenol (a) and bound phenol (b)  $\alpha$ -glucosidase in black rice bran

注: 不同小写字母表示具有差异性 ( $P < 0.05$ )。

### 3 结论

本文探究了超微粉碎处理对黑米糠的多酚含量、组成、抗氧化活性和 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性的影响。经过超微粉碎处理后,黑米糠的粒径显著减小、比表面积和跨度显著增大,游离酚、总酚、花色苷和SDF含量均显著提高,但单体酚组成无明显变化;阿魏酸作为黑米糠含量最高的单体酚主要以结合态形式存在,分别占黑米糠粗粉和超微粉阿魏酸总量的99.15%和98.42%。黑米糠超微粉的游离酚、总酚的总抗氧化能力、氧自由基吸收能力和清除过氧自由基能力均显著高于粗粉。超微粉碎可显著提高黑米糠游离酚和结合酚的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性有显著提高,其超微粉游离酚和结合酚的 $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制 $IC_{50}$ 值分别为0.12和2.80 mg/mL。综上,超微粉碎处理是黑米糠深加工的一种有效方式,有助于黑米糠活性成分的释放及高功能特性的加工。

### 参考文献

- [1] JANG H H, PARK M Y, KIM H W, et al. Black rice (*Oryza sativa* L.) extract attenuates hepatic steatosis in C57BL/6 J mice fed a high-fat diet via fatty acid oxidation [J]. *Nutrition & Metabolism*, 2012, 9(1): 27.
- [2] CHOI S, SEO H S, LEE K R, et al. Effect of cultivars and milling degrees on free and bound phenolic profiles and antioxidant activity of black rice [J]. *Applied Biological Chemistry*, 2017, 61(1): 49-60.
- [3] ZHANG S, MA Q, DONG L H, et al. Phenolic profiles and bioactivities of different milling fractions of rice bran from black rice [J]. *Food Chemistry*, 2022, 378: 132035.
- [4] 王博,姚铁俊,李枝芳,等.超微粉碎对4种杂粮粉理化性质及功能特性的影响[J].*食品科学*,2020,41(19): 111-117.
- [5] TAO B B, YE F Y, LI H, et al. Phenolic profile and *in vitro* antioxidant capacity of insoluble dietary fiber powders from citrus (*Citrus junos* Sieb. ex Tanaka) pomace as affected by ultrafine grinding [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62(29): 7166-7173.
- [6] 蔡亭,汪丽萍,刘明,等.超微粉碎对苦荞多酚及抗氧化活性的影响研究[J].*中国粮油学报*,2015,30(10):95-99,106.
- [7] 余青,陈嘉浩,王寅竹,等.超微粉碎处理对麦麸粉功能及结构特性的影响[J].*粮食科技与经济*,2020,45(2):56-62, 81.
- [8] 黄晟,朱科学,钱海峰,等.超微及冷冻粉碎对麦麸膳食纤维理化性质的影响[J].*食品科学*,2009,30(15):40-44.
- [9] BENDER A B B, CAROLINE S S, KARINE I B M, et al. Effects of micronization on dietary fiber composition, physicochemical properties, phenolic compounds, and antioxidant capacity of grape pomace and its dietary fiber concentrate [J]. *Food Science and Technology*, 2020, 117: 108652.
- [10] XU F, ZHANG S K, ZHOU T, et al. Green approaches for dietary fibre-rich polysaccharide production from the cooking liquid of Adzuki beans: Enzymatic extraction combined with ultrasonic or high-pressure homogenisation [J]. *Food Hydrocolloids*, 2022, 130: 107679.
- [11] 赵广河.米糠膳食纤维中结合态酚类物质的模拟消化释放特征及其改善脂质代谢作用[D].武汉:华中农业大学,2018.
- [12] ZHANG M W, ZHANG R F, ZHANG F X, et al. Phenolic profiles and antioxidant activity of black rice bran of different commercially available varieties [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(13): 7580-7587.
- [13] LIU L, GUO J J, ZHANG R F, et al. Effect of degree of milling on phenolic profiles and cellular antioxidant activity of whole brown rice [J]. *Food Chemistry*, 2015, 185: 318-325.
- [14] LIN Z S, FISCHER J G, WICKER L, et al. Intermolecular binding of blueberry pectin-rich fractions and anthocyanin [J]. *Food Chemistry*, 2016, 194: 986-993.
- [15] ZHANG R F, ZENG Q, DENG Y, et al. Phenolic profiles and antioxidant activity of litchi pulp of different cultivars cultivated in Southern China [J]. *Food Chemistry*, 2013, 136(3-4): 1169-1176.
- [16] ZHANG R F, CHI J W, WEI Z C, et al. Different effects of extrusion on the phenolic profiles and antioxidant activity in milled fractions of brown rice [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2018, 88: 64-70.
- [17] 杨锟,车一鸣,黄斯琦,等.石榴花游离型和结合型多酚提取物抗氧化活性探究[J].*食品工业科技*2021,42(22):290-296.
- [18] 魏春红,曾明霞,武云娇,等.物理改性处理对小米水溶性膳食纤维理化性质及结构的影响[J].*中国粮油学报*, 2022,37(5):56-62.
- [19] ZHAO G H, ZHANG R F, DONG L H, et al. Particle size of insoluble dietary fiber from rice bran affects its phenolic profile, bioaccessibility and functional properties [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2018, 87: 450-456.
- [20] 张小利,夏春燕,王慧清,等.超微粉碎对香菇多酚组成及抗氧化活性的影响[J].*食品科学*,2015,36(11):42-49.
- [21] EDWIN H M, TOSIN M O. Effect of superfine grinding on the phytochemicals and antioxidant activities of mulberry leaves [J]. *Science Journal of Public Health*, 2016, 4(3): 138.
- [22] 卫子颜,谢勇,王朦朦,等.超微粉碎对米糠多酚的组成及抗氧化活性的影响[J].*食品与发酵工业*,2022,48(14):138-144.
- [23] MARYAM I, ZHANG H J, ASRA I, et al. Comparative assessment of functional properties, free and bound phenolic

- profile, antioxidant activity, and *in vitro* bioaccessibility of rye bran and its insoluble dietary fiber [J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2020, 44(10): e13388.
- [24] ZDUNSKA K, DANA A, KOLODZIEJCZAK A, et al. Antioxidant properties of ferulic acid and its possible application [J]. *Skin Pharmacol Physiol*, 2018, 31(6): 332-336.
- [25] VINOTHIYA K, ASHOKKUMAR N. Modulatory effect of vanillic acid on antioxidant status in high fat diet-induced changes in diabetic hypertensive rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 87: 640-652.
- [26] CHEN F X, ZHANG X X, WANG J X, et al. *P*-Coumaric Acid: Advances in pharmacological research based on oxidative stress [J]. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2024, 24(5): 416-436.
- [27] SHAMANIN V P, TEKIN-CAKMAK Z H, GORDEEVA E I, et al. Antioxidant capacity and profiles of phenolic acids in various genotypes of purple wheat [J]. *Foods*, 2022, 11(16): 2515.
- [28] BOUE S M, DAIGLE K W, CHEN M H, et al. Antidiabetic potential of purple and red rice (*Oryza sativa* L.) bran extracts [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2016, 64(0021-8561): 5345-5353.
- [29] SARINYA A, PIYAWAN C, SIRINTORN Y, et al. Inhibitory activities of cyanidin and its glycosides and synergistic effect with acarbose against intestinal  $\alpha$ -Glucosidase and pancreatic  $\alpha$ -Amylase [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2010, 11: 3387-3396.
- [30] TRUONG T M, NGHIEM N T, PHAMG T, et al. Alpha-glucosidase inhibitory and antioxidant activities of vietnamese edible plants and their relationships with polyphenol contents [J]. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 2007, 53: 267-276.