

富硒麦芽的制备工艺优化

孙美侠¹, 严宏康², 程超², 赵海锋^{2*}

(1. 广州中储粮粮油质监中心有限公司, 广东广州 510800)

(2. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 为了获得有机硒含量高且品质优良的富硒麦芽, 该研究以啤酒大麦为研究对象, 比较两种富硒方式对麦芽硒含量的富集作用, 分别研究了 Na_2SeO_3 溶液浸麦浓度、浸麦温度和浸麦时间对大麦芽长、发芽率和硒含量的影响, 以总硒含量和有机硒比率为考察指标, 采用响应面设计优化出富硒麦芽的最佳制备工艺, 并对比了富硒麦芽和普通麦芽的理化指标。结果表明: 对比发芽阶段采用 Na_2SeO_3 溶液喷淋, 浸麦阶段采用 Na_2SeO_3 溶液浸泡显著提高了麦芽的有机硒含量。优化得到的最佳富硒麦芽制备工艺为: Na_2SeO_3 溶液质量浓度为 98 mg/L, 浸麦温度为 18 °C, 浸麦时间为 20 h, 此条件下麦芽总硒含量为 19.81 mg/kg DW, 有机硒含量为 12.90 mg/kg DW。与普通麦芽相比, 富硒麦芽的品质未受影响, 总硒和有机硒分别提高了 151 倍和 107 倍。说明该制备工艺具有一定的竞争优势, 可为今后富硒麦芽开发与利用提供一定的参考价值。

关键词: 富硒麦芽; 有机硒; 制麦工艺

文章编号: 1673-9078(2023)06-221-229

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.6.0849

Optimization of Preparation Processes for Selenium-rich Malt

SUN Meixia¹, YAN Hongkang², CHENG Chao², ZHAO Haifeng^{2*}

(1. Guangzhou Sinograin Quality Control Center of Grain and Oil Co. Ltd., Guangzhou 510800, China)

(2. School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: To obtain high-quality selenium-rich malt, the effects of two selenium enrichment methods on the selenium content of malt (from barley) were compared and the effects of Na_2SeO_3 concentration, steeping temperature, and steeping time on bud length, germination rate, and selenium content of malt studied. The total selenium content and organic selenium ratio were selected as evaluation indices, and the processes used to produce selenium-rich malt were optimized using response surface methodology. The physical and chemical indicators of selenium-rich malt and normal malt were then compared, with results showing that the organic selenium content of malt can be significantly increased by immersing in Na_2SeO_3 solution in the steeping stage rather than spraying with Na_2SeO_3 solution in the germination stage. The optimal conditions for selenium-rich malt preparation were an Na_2SeO_3 concentration of 98 mg/L, steeping temperature of 18 °C, and a steeping period of 20 hours. Under these conditions, a total selenium content of 19.81 mg/kg DW and organic selenium content of 12.90 mg/kg DW was obtained, which is 151 and 107 times those of malt obtained via normal methods. Moreover, the malt quality remained unaffected. The results indicate that the developed preparation process has competitive advantages and provide reference values for the development and utilization of selenium-rich malt in the future.

Key words: selenium-rich malt; organic selenium; malting

引文格式:

孙美侠, 严宏康, 程超, 等. 富硒麦芽的制备工艺优化[J]. 现代食品科技, 2023, 39(6): 221-229.

SUN Meixia, YAN Hongkang, CHENG Chao, et al. Optimization of preparation processes for selenium-rich malt [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(6): 221-229.

硒是人体生命活动所必需的微量元素之一^[1]。中国营养学会于 1988 年将硒这一微量元素列入了我国

收稿日期: 2022-07-06

基金项目: 广东省科技计划项目 (2018A050506008)

作者简介: 孙美侠 (1978-), 女, 硕士, 工程师, 研究方向: 粮油质量安全, E-mail: amsunmx@163.com

通讯作者: 赵海锋 (1977-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: hfzhao@scut.edu.cn

居民每日必须摄入的 15 种膳食营养素中。研究表明, 有机硒具有很强的免疫调节活性、抗氧化活性以及抗肿瘤活性, 适当的补充硒元素可以有效提高机体的免疫力, 在一定程度上可以预防肿瘤、肝病、老年性心脑血管疾病^[2-4]。然而, 硒的可利用资源十分有限且分布极不均匀, 我国更是典型的硒缺乏型国家。研究显示, 我国的缺硒或低硒地区约占国土面积的 72%^[5], 在这些地区, 自然状态农作物中的硒含量无法满足人

体所需,因此通过补充常规食物难以达到每日推荐硒摄入量。为了解决硒摄入量不足的问题,科研人员近年来加强了富硒食品的研究,通过生物载体的富硒作用,将有毒的无机硒转化为无毒的有机硒,将生物载体所富集转化的有机硒作为膳食中安全而可靠的硒来源,进而用以补充人体每日所需的硒元素。

目前国内外生产富硒食品的技术途径主要包括以下四类:(1)植物种子发芽转化法,产品包括富硒麦芽、富硒豆芽等;(2)植物天然合成转化法,产品包括富硒藻类、富硒茶叶等;(3)动物转化法,产品包括富硒蛋、富硒奶等;(4)微生物合成转化法,产品包括富硒食用菌、富硒酵母等。其中,植物天然合成转化采用叶面施硒等方法可以显著提高稻米^[6]、茶叶^[7]和莴苣^[8]中的硒含量,但是此方法易造成土壤污染,而且生产成本高;微生物合成法对微生物的培养条件、培养方法要求比较苛刻,选育优良品种也较为复杂,同时成本较高且容易受到环境的影响^[9];动物富集法需要长期使用硒添加剂,这会对动物体造成不良影响,进而危害人体健康^[10];而通过植物种子发芽转化法,利用种子发芽期间旺盛的生命代谢作用,可以安全有效地将无机硒转化为有机硒,提高硒的有效利用率。该方法不仅富硒效果好,而且投资成本低,具有高生物利用度和安全性,因此,采用植物富集法获取富硒作物目前被认为是许多缺硒地区补硒的最佳选择。

大麦是世界上第四大谷类作物,普通大麦麦芽中硒元素平均含量仅为0.13 mg/kg DW,无法满足人体健康所需的硒含量,作为硒敏感型植物,大麦对硒元素具有较强的富集能力,将无机硒添加到麦芽的制备工艺中,利用种子发芽的过程使其转化为有机硒,不仅可以满足人体对硒的需求,还可以避免过量无机硒对人与动物造成的毒害作用。为了获得含硒量高且品质优良的富硒麦芽,本文以啤酒大麦为原料,以发芽率、芽长、总硒及有机硒含量为指标,采用单因素实验和响应面设计对 Na_2SeO_3 浓度、浸麦时间、浸麦温度三个条件进行工艺优化,得到富硒麦芽的最佳制备工艺条件,为富硒麦芽的工业化生产提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 原料与试剂

大麦籽粒:产自澳大利亚,澳麦(*La Trobe*),收获于2019年,由广州麦芽有限公司提供。

亚硒酸钠:分析纯,广州市齐云生物有限公司;次氯酸钠、高氯酸、盐酸、硝酸、硼氢化钠、铁氰化钾、碘、碘酸钾等:均为分析纯,广州市同源化工科

技有限公司;牛血清白蛋白、硒标准溶液:均为生化试剂,国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器设备

JMF小型麦芽粉碎机,肇庆市东源实业有限公司;恒温恒湿培养箱,上海一恒科技有限公司;BGT-8A糖化仪,CanNeed嘉仪仪器有限公司;AFS-930双道原子荧光光度计,北京吉天仪器有限公司;3-18K型高速冷冻离心机,德国Sigma公司;JJ500型精密电子天平,美国双杰兄弟有限公司;紫外可见分光光度计,上海科仪仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 富硒麦芽的制备工艺

准确称取50 g大麦籽粒,置于1%(V/V)的 NaClO 水溶液浸泡消毒5 min,然后用蒸馏水冲洗至中性,再置于一定浓度的 Na_2SeO_3 溶液浸泡,采用浸4断8的浸麦工艺(湿浸20 h,干浸40 h),放置于温度16℃、相对湿度90%的恒温恒湿培养箱中避光培养60 h。浸泡后的大麦置于15℃的培养箱中发芽5 d,每12 h喷淋一次蒸馏水,保持大麦表面湿润。将发芽后的绿麦芽置于烘箱中,设置调萎温度45℃干燥12 h,干燥温度70℃干燥3.5 h,最后焙焦温度85℃干燥3.5 h。焙焦完毕后快速冷却40℃以下并除根贮存。

1.3.2 富硒方式

浸麦阶段富硒:准确称取50 g大麦籽粒,置于1%(V/V)的 NaClO 水溶液浸泡消毒5 min,然后用蒸馏水冲洗至中性,再置于80 mg/L的 Na_2SeO_3 溶液中浸泡,采用浸4断8的浸麦工艺,放置于温度16℃、相对湿度90%恒温恒湿培养箱中避光培养60 h。浸泡后的大麦置于15℃的培养箱中发芽5 d,每12 h喷淋一次蒸馏水,保持大麦表面湿润。发芽结束后,同方法1.3.1对绿麦芽进行干燥。

发芽阶段富硒:准确称取50 g大麦籽粒,置于1%(V/V)的 NaClO 水溶液浸泡消毒5 min,然后用蒸馏水冲洗至中性,再置于蒸馏水中浸泡,采用浸4断8的浸麦工艺,放置于温度16℃、相对湿度90%恒温恒湿培养箱中避光培养60 h。浸泡后的大麦置于15℃的培养箱中发芽5 d,每12 h用80 mg/L的 Na_2SeO_3 溶液喷淋,保持大麦表面湿润。发芽结束后,同方法1.3.1对绿麦芽进行干燥。

1.3.3 不同浸麦条件下麦芽生长及富硒能力试验

Na_2SeO_3 浸麦浓度:准确称取50 g大麦籽粒,置于1%(V/V)的 NaClO 水溶液浸泡消毒5 min,然后用蒸馏水冲洗至中性,再置于浓度为20、40、60、80、

100、120、140、160、180 mg/L 的 Na_2SeO_3 溶液中浸泡, 采用浸 4 断 8 的浸麦工艺, 放置于温度 16 °C、相对湿度 90% 恒温恒湿培养箱中避光培养 60 h。浸泡后的大麦置于 15 °C 的培养箱中发芽 5 d, 每 12 h 喷淋一次蒸馏水, 保持大麦表面湿润。发芽结束后, 同方法 1.3.1 对绿麦芽进行干燥。

浸麦温度: 准确称取 50 g 大麦籽粒, 置于 1%(V/V) 的 NaClO 水溶液浸泡消毒 5 min, 然后用蒸馏水冲洗至中性, 再置于 80 mg/L 的 Na_2SeO_3 溶液中浸泡, 采用浸 4 断 8 的浸麦工艺, 放置于温度 12、14、16、18、20 °C, 相对湿度 90% 的恒温恒湿培养箱中避光培养 60 h。浸泡后的大麦置于 15 °C 的培养箱中发芽 5 d, 每 12 h 喷淋一次蒸馏水, 保持大麦表面湿润。发芽结束后, 同方法 1.3.1 对绿麦芽进行干燥。

浸麦时间: 准确称取 50 g 大麦籽粒, 置于 1%(V/V) 的 NaClO 水溶液浸泡消毒 5 min, 然后用蒸馏水冲洗至中性, 再置于 80 mg/L 的 Na_2SeO_3 溶液中浸泡, 采用浸 4 断 8 的浸麦工艺, 放置于温度 16 °C、相对湿度 90% 的恒温恒湿培养箱中避光培养 60 h。其中用 Na_2SeO_3 溶液和蒸馏水浸泡的时间分别为 4 h+16 h、8 h+12 h、12 h+8 h 和 16 h+4 h 和 20 h。浸泡后的大麦置于 15 °C 的培养箱中发芽 5 d, 每 12 h 喷淋一次蒸馏水, 保持大麦表面湿润。发芽结束后, 同方法 1.3.1 对绿麦芽进行干燥。

1.3.4 响应面设计

在单因素实验的基础上, 以浸麦温度 (A)、 Na_2SeO_3 浓度 (B)、浸麦时间 (C) 为考察因子, 以麦芽中总硒含量和有机硒比率作为响应值, 采用 Design-Expert 软件, 选择 Box-Behnken design 的三因素三水平实验设计评价各个因素及其交互作用对麦芽总硒含量和有机硒比率的影响。

1.3.5 发芽率的测定

发芽结束后每组处理随机选取 100 颗绿麦芽, 计算其发芽率。

1.3.6 芽长的测定

发芽结束后每组处理随机选取 20 颗绿麦芽, 用游标卡尺测定其叶芽的长度, 取其平均值。

1.3.7 硒含量的测定

将制备好的麦芽粉碎, 依照以下程序采用氢化物发生-原子荧光光谱法测定硒元素含量。

麦芽总硒含量测定参照中华人民共和国国家标准《食品安全国家标准食品中硒的测定》(GB 5009.93-2017) 测定^[11]。准确称取固体试样 0.1 g, 置于烧杯中, 加入 10 mL 硝酸-高氯酸混合酸 (9:1) 及几粒玻璃珠, 盖上表面皿冷消化过夜。次日于电热板

上加热, 并及时补加混酸。当溶液变为清亮并伴有白烟产生时, 再继续加热至剩余体积为 2 mL 左右, 切不可蒸干。冷却, 再加入 5 mL 盐酸溶液 (6 mol/L), 继续加热至溶液变为清亮无色并伴有白烟出现。冷却后转移至 10 mL 容量瓶中, 用盐酸 (5%, m/m) 定容。取 1 mL 定容后的液体于 100 mL 容量瓶中, 加入 3 mL 铁氰化钾溶液 (100 g/L), 用 5% 盐酸定容, 混匀待测 (所有玻璃器皿均需 $\varphi=15\%$ 硝酸溶液浸泡过夜, 用自来水反复冲洗, 最后用超纯水冲洗干净)。

无机硒的含量测定需要将样品进行预处理。准确称取 0.5 g 麦芽粉末样品置于试管中, 加入 6 mol/L 盐酸溶液 5 mL, 充分混匀, 将试管放入超声波清洗机中超声提取 30 min, 再沸水水浴处理 30 min, 待样品自然冷却后用脱脂棉过滤, 收集到的滤液即为无机硒提取液。再将提取液按照国标《食品安全国家标准食品中硒的测定》(GB 5009.93-2017) 测总硒的方法测定硒含量, 所得即为无机硒含量。

有机硒含量: 总硒含量减去无机硒含量即为有机硒含量。

有机硒比率: 有机硒含量占总硒含量的百分比。

1.3.8 麦芽理化性质测定

糖化时间、浸出物、 α -氨基氮、库尔巴哈值、糖化力的测定均参照中华人民共和国轻工行业标准《啤酒麦芽》(QB/T 1686-2008)^[12]。

1.3.9 数据分析

以上所有结果至少测定 3 次并以平均值 \pm 标准差 (SD) 表示。采用 SPSS 19.0 处理数据, 以 0.05 水平 ($P<0.05$) 的方差分析 (ANOVA) 确定样本间的统计学差异。

2 结果与讨论

2.1 不同富硒方式对麦芽硒含量的影响

两种不同的富硒方式对麦芽硒含量的影响如图 1 所示。发芽阶段喷淋处理所制备的麦芽总硒含量高于浸麦阶段浸泡处理所制备的麦芽, 然而, 前者所得的麦芽有机硒含量低于后者, 有机硒比率更是显著低于后者。在高等植物的种子发芽阶段, 其生长代谢活力旺盛^[13,14]。

在浸麦阶段使用 Na_2SeO_3 溶液浸泡处理, 麦粒能快速吸收溶液中的无机硒, 经过发芽阶段的一系列生理生化反应, 结合到麦芽体内的生物大分子上, 将无机硒转化为有机硒。而在发芽阶段喷淋 Na_2SeO_3 溶液, 虽然此时麦芽代谢旺盛, 麦粒对无机硒的吸收总量较多, 但是转化时间短, 无法转化为生物活性更好的有机硒, 导致

其有机硒比率远远低于浸麦阶段富硒处理。综合总硒和有机硒含量来看,浸麦阶段富硒的方式优于发芽阶段喷淋富硒,此时麦芽中总硒与有机硒含量分别为 17.21 和 11.21 mg/kg DW,有机硒比率为 65.11%。

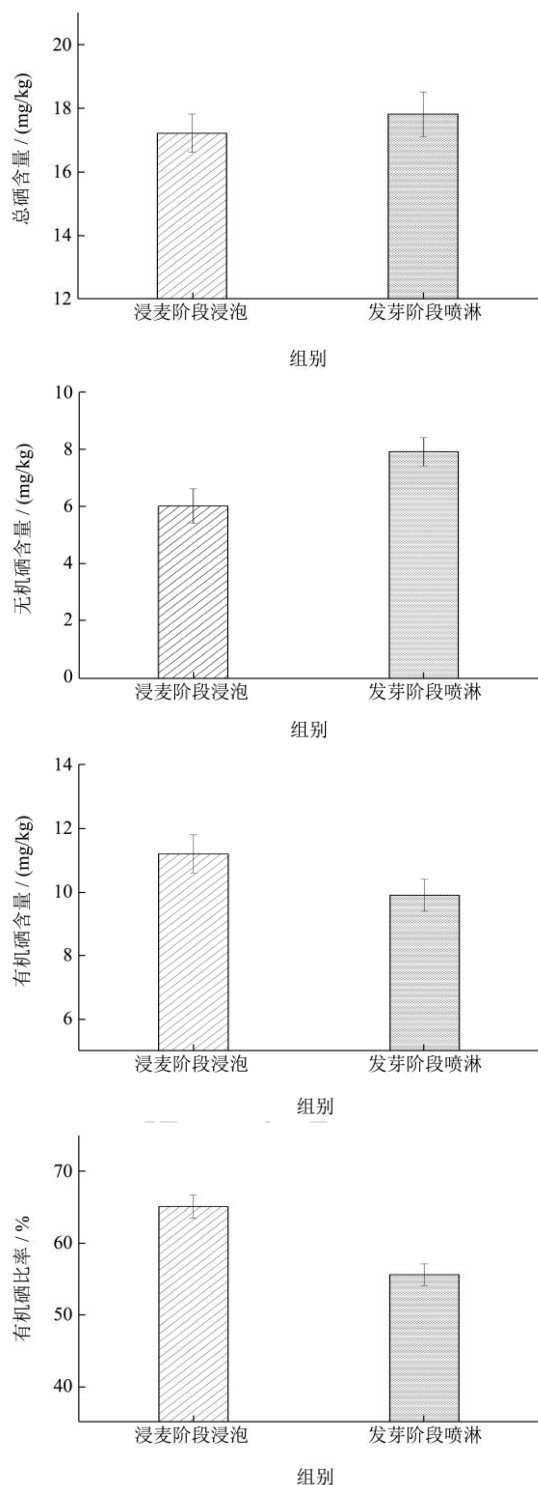


图 1 不同富硒方式对麦芽硒含量的影响

Fig.1 Effects of different selenium-rich methods on selenium content of malt

2.2 Na₂SeO₃ 浓度对大麦发芽率、芽长以及硒含量的影响

含量的影响

如图 2 所示, Na₂SeO₃ 对麦芽生长的影响表现为低促高抑,这与水稻、黑麦草,甚至藻类石莼的结果相一致^[15]。当较低浓度的 Na₂SeO₃ 处理大麦种子,外源硒促进了麦芽的生长, Poschenrieder 等^[16]将这种促进生长的作用称为毒物兴奋效应;而在较高浓度条件下 (Na₂SeO₃ 质量浓度高于 120 mg/L),外源硒施加会显著抑制植物生长 ($P < 0.05$),这是由于高硒环境造成氧化应激作用或(和)硒元素非特异性地替换蛋白质等含硫组分中的硫^[17]所致。

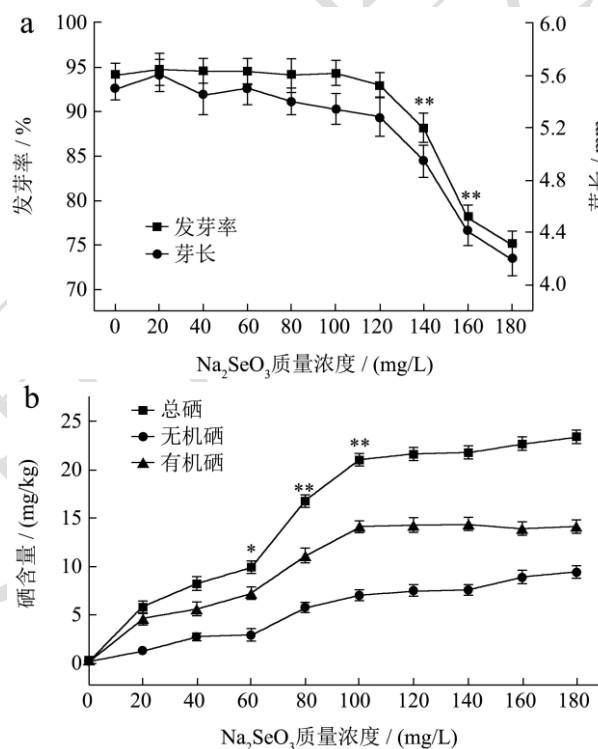


图 2 Na₂SeO₃ 质量浓度对大麦发芽率、芽长以及硒含量的影响

Fig.2 Effects of Na₂SeO₃ concentration on germination rate, bud length and selenium content of barley

注: *代表有显著性差异, **代表有极显著性差异。图 3、4 同。

当 Na₂SeO₃ 溶液质量浓度低于 120 mg/L 时,随着质量浓度的升高,发芽率和芽长基本保持不变,此外,用 20 mg/L Na₂SeO₃ 溶液处理时,芽长和发芽率略有升高。当 Na₂SeO₃ 溶液质量浓度高于 120 mg/L 时,麦芽的生长受到了抑制,发芽率和芽长明显低于对照组,说明高硒浓度对种子产生了毒副作用。总硒、有机硒、无机硒含量随着 Na₂SeO₃ 溶液质量浓度的升高呈现上升的趋势。对植物自身而言,硒并非植物的必需元素,当 Na₂SeO₃ 溶液质量浓度升高至 100 mg/L 时,高浓度硒抑制植物生命活动的正常进行,植物拥有非常复杂的体系来保护自身的正常生长发育,因此,有机硒的富集效率逐渐降低,无机硒占比逐渐变大。综上所述,

浸麦时 Na_2SeO_3 溶液质量浓度为 100 mg/L 最为适宜, 在此条件下, 总硒和有机硒含量分别为 20.93 和 12.95 mg/kg DW。

2.3 浸麦温度对大麦发芽率、芽长以及硒含量的影响

如图 3 所示, 浸麦温度对麦芽的发芽率无显著影响, 而对芽长有显著影响 ($P < 0.05$), 温度越高, 麦芽的叶芽长度越长。浸麦温度过高, 其蛋白酶、淀粉酶等酶活力大幅提高, 使得麦芽生长过快, 生长代谢旺盛, 导致大麦中的蛋白质、淀粉等营养物质大量分解, 造成过多的制麦损失, 并影响麦芽的制麦特性。研究表明, 麦芽的叶芽长度不宜超过大麦颗粒的三分之一^[13]。相反, 温度过低, 麦芽生长缓慢, 酶系不发达, 蛋白质、淀粉含量较高, 大麦胚乳仍然保持玻璃状, 将不利于麦芽粉碎、糖化, 啤酒品质也会相应下降^[18]。

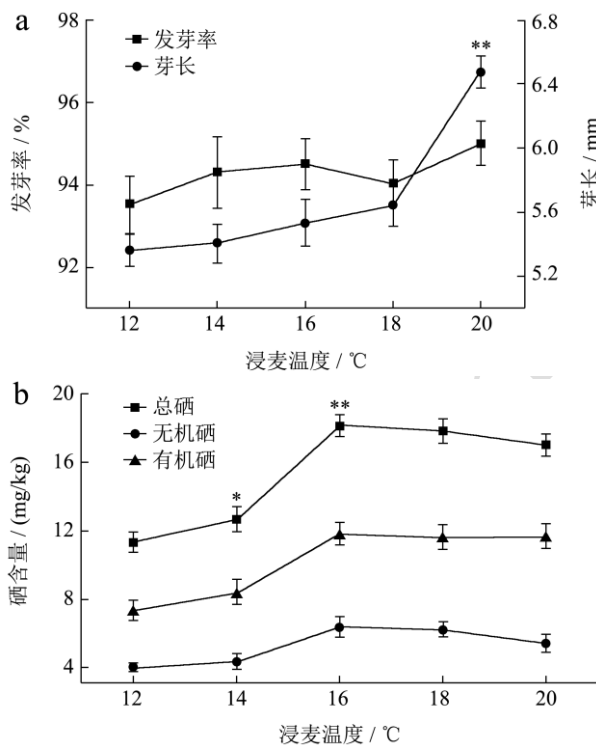


图 3 浸麦温度对大麦发芽率、芽长以及硒含量的影响

Fig.3 Effects of steeping temperature on germination rate, bud length and selenium content of barley

浸麦温度对麦芽硒含量也存在显著影响 ($P < 0.05$)。随着温度的升高, 麦芽中的总硒、无机硒、有机硒含量均呈现先上升后缓慢下降的趋势, 浸麦温度为 16 °C 时, 麦芽富硒效果最佳, 麦芽中总硒和有机硒含量分别为 18.10 和 10.12 mg/kg DW。植物吸收 SeO_3^{2-} 过程最初被认为是一种被动扩散机制^[19], 而后来的研究证实植物可以通过磷酸盐转运子和硅内

流转运子以主动运输方式吸收渗透 SeO_3^{2-} ^[20]。当浸麦温度高于 16 °C 时, 可能影响麦芽体内硒吸收及转化相关酶的代谢活力, 因而影响硒在麦芽体内进一步转化利用。基于此, 浸麦最佳温度设置为 16 °C。

2.4 浸麦时间对大麦发芽率、芽长以及硒含量的影响

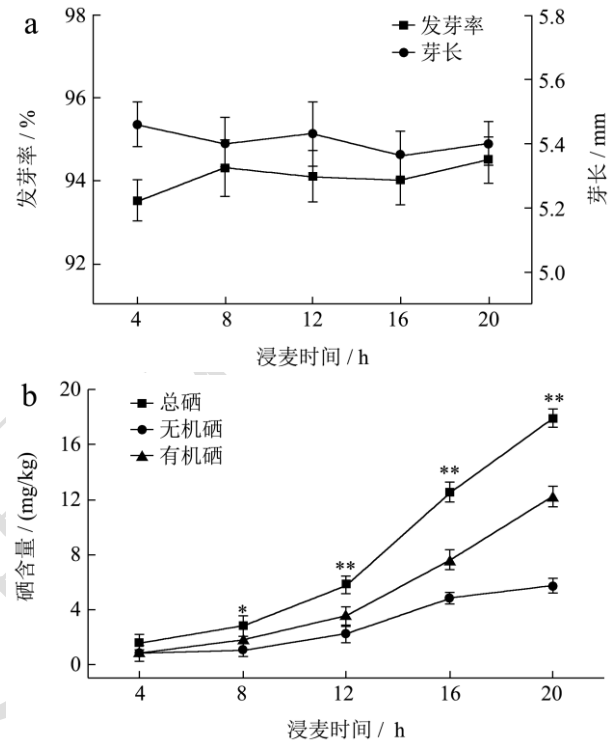


图 4 浸麦时间对大麦发芽率、芽长以及硒含量的影响

Fig.4 Effects of steeping time on germination rate, bud length and selenium content of barley

如图 4 所示, 浸麦时间对发芽率和芽长无显著影响, 发芽率稳定在 95% 左右, 芽长在 5.2~5.5 mm 之间, 均达到了啤酒麦芽的生产标准。然而总硒、无机硒、有机硒含量均随着浸麦时间呈现快速增长趋势, 浸麦时间对硒含量有显著影响 ($P < 0.05$)。浸麦初期, 大麦从休眠状态转变为活体, 麦粒体内复杂的酶系开始被激活, 发生一系列复杂的生理、生化反应, 麦粒的生理代谢活动逐渐活跃, 麦粒对硒的吸收转化能力逐步提升。经 12 h 浸麦处理后, 麦粒对硒的吸收转化能力较弱, 硒的吸收累积速率较为缓慢。当浸麦时间达到 16 h 时, 大麦处于露点状态, 麦粒内部生理活动最为活跃, 吸收后的硒大部分能与麦粒内物质相结合, 此时对麦粒对无机硒的吸收及转化效率达到最高。当浸麦时间达 20 h 时, 麦粒硒含量也达到了最高。受限于制备工艺需求, 采用浸 4 断 8 法浸麦, 浸麦时间设置为 20 h 富硒效果最优。因此, 最佳浸麦时间为 20 h,

在此条件下，总硒含量和有机硒含量分别为 17.22 和 12.12 mg/kg DW。

2.5 富硒麦芽制备工艺响应面优化

在以上单因素试验的基础上，选用三因素三水平的 Box-Behnken 实验设计表进行试验，优化富硒麦芽的制备工艺条件，试验方案及结果见表 1。

对试验结果进行统计分析，分别得到响应值总硒 (Y_1) 和有机硒比率 (Y_2) 的二次方程模型为：

$$Y_1 = 8.30 + 1.77 \times A + 0.0086 \times B + 5.24 \times C + 0.52 \times A \times B + 2.49 \times A \times C - 1.34 \times B \times C + 0.26 \times A^2 - 1.37 \times B^2 + 1.71 \times C^2$$

$$Y_2 = 66.24 - 1.52 \times A + 0.286 \times B + 9.91 \times C + 1.51 \times A \times B + 0.83 \times A \times C - 1.65 \times B \times C - 4.80 \times A^2 - 9.51 \times B^2 - 5.13 \times C^2$$

表 1 响应面试验结果

Table 1 Response surface experimental results

序号	A: 浸麦温度/°C	B: Na ₂ SeO ₃ 质量浓度/(mg/L)	C: 浸麦时间/h	总硒含量/(mg/kg DW)	有机硒比率/%
1	16	100	16	6.96	73.13
2	16	100	16	8.86	64.67
3	14	80	16	4.96	51.01
4	14	100	20	11.27	73.29
5	18	80	16	6.98	52.01
6	16	80	12	3.37	42.73
7	16	100	16	9.92	63.91
8	16	120	12	3.95	46.33
9	16	100	16	8.47	65.41
10	14	100	12	5.26	49.43
11	18	100	20	20.25	64.84
12	14	120	16	6.37	48.82
13	18	120	16	10.47	55.87
14	18	100	12	4.30	37.67
15	16	120	20	11.23	57.17
16	16	80	20	16.02	60.17
17	16	100	16	7.29	64.06

表 2 总硒含量回归模型方差分析表

Table 2 ANOVA table of malt total selenium content regression model

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	296.89	9	32.99	13.49	0.001 2	极显著
A	24.99	1	24.99	10.22	0.015 1	不显著
B	0.06	1	0.060	0.024	0.880 5	
C	219.35	1	219.35	89.67	<0.000 1	
AB	1.08	1	1.08	0.44	0.527 4	
AC	24.70	1	24.70	10.10	0.015 5	
BC	7.21	1	7.21	2.95	0.129 7	
A ²	0.29	1	0.29	0.12	0.741 8	
B ²	7.86	1	7.86	3.21	0.116 2	
C ²	12.29	1	12.29	5.03	0.059 9	
残差	17.12	7	2.45	2.61	0.188 0	
失拟项	11.34	3	3.78			
纯误差	5.78	4	1.45			
总变异	314.02	16				

表 3 有机硒比率回归模型方差分析表

Table 3 ANOVA table of malt organic selenium ratio regression model

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	147 6.03	9	164.00	5.09	0.021 6	显著
A	18.48	1	18.48	0.57	0.473 5	不显著
B	0.64	1	0.64	0.02	0.891 5	
C	786.26	1	786.26	24.41	0.001 7	
AB	9.15	1	9.15	0.28	0.610 5	
AC	2.74	1	2.74	0.085	0.779 0	
BC	10.89	1	10.89	0.34	0.579 2	
A ²	97.03	1	97.03	3.01	0.126 2	
B ²	380.64	1	380.64	11.82	0.010 9	
C ²	110.72	1	110.72	3.44	0.106 1	
残差	225.47	7	32.21	3.61	0.123 4	
失拟项	164.67	3	54.89			
纯误差	60.81	4	15.20			
总变异	170 1.50	16				

表 2、3 分别为总硒含量回归模型方差分析、有机硒占比回归模型方差分析。通过表 2 和表 3 可知，两个模型具有极高的显著性 ($P < 0.01$)，变量对于响应值的影响都表现为显著或失拟项结果为不显著 ($P > 0.05$)，表示该模型极显著，并且该模型的失拟项不显著，表明模型建模成功。两个模型的相关系数分别为 $R^2 = 0.945 5$ 、 $R^2_{adj} = 0.875 4$ 、 $R^2 = 0.867 5$ 、 $R^2_{adj} = 0.697 1$ ，表明两个模型的回归拟合度较好，所以可用该模型对于富硒麦芽制备参数进行预测和分析。

对硒溶液的吸收转化可能达到饱和，当浓度进一步增加时，基于植物自身对硒毒害的保护机制，避免硒对麦芽生长造成毒性损害，麦芽将会减少对硒元素的过度吸收与转化，这一现象与之前单因素的试验结果相吻合，也与 Wang 等^[21]报道的一致，在一定浓度范围内，麦芽总硒含量随着 Na_2SeO_3 质量浓度的增加而提高，浓度进一步增大时，总硒含量基本保持不变。通过表 3 可知，只有浸麦时间 (C) 显著影响了有机硒比率，而浸麦温度 (A) 和 Na_2SeO_3 质量浓度 (B) 对麦芽中硒吸收与转化影响较小。植物对无机硒的生物转化是通过硫代谢途径^[22]，分多个步骤完成，浸麦时间延长因而更有利于无机硒向有机化合物的转化。

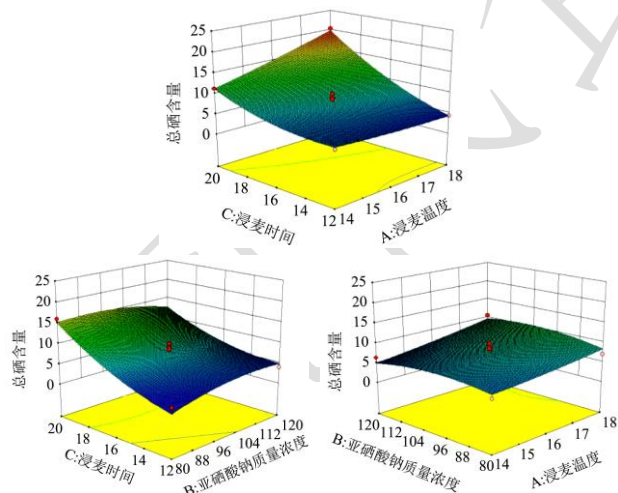


图 5 各因素交互作用对总硒含量的响应面图

Fig.5 Response surface of the interaction of various factors on the total selenium content

回归系数显著性检验结果表明：浸麦温度 (A) 和浸麦时间 (C) 对总硒含量具有显著的影响，然而 Na_2SeO_3 质量浓度 (B) 几乎不影响麦芽总硒含量。这是因为当 Na_2SeO_3 质量浓度超过 80 mg/L 以后，麦芽

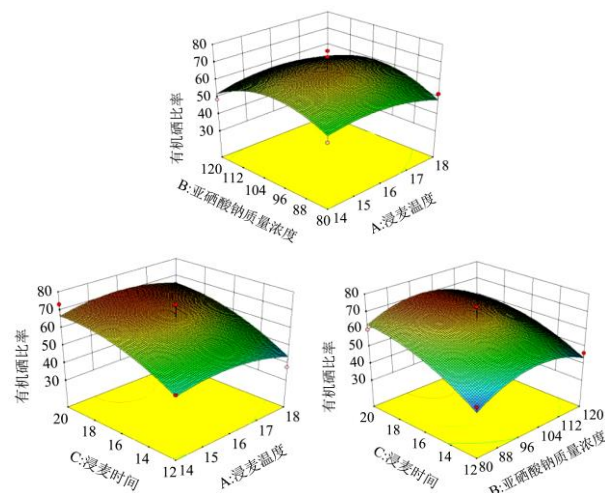


图 6 各因素交互作用对有机硒比率的响应面图

Fig.6 Response surface of the interaction of various factors on organic selenium ratio

2.6 模型优化与验证

通过对二次回归模型的分析,在设定麦芽有机硒比率大于65%的前提下,以总硒含量为指标,确定的富硒麦芽理论最佳制备工艺为浸麦温度17.7℃,浸麦浓度98 mg/L,浸麦时间20 h,在该条件下,模型预测总硒含量为19.01 mg/kg DW,有机硒比率为67.10%。

为考察模型的可靠性与准确性,并结合实际设备与操作将条件进行修正,在浸麦温度18℃,浸麦浓度98 mg/L,浸麦时间20 h的条件下制备富硒麦芽。验证实验结果表明,富硒麦芽的总硒含量为19.81 mg/kg DW,与模型预测拟和率达95.96%,有机硒比率为65.47%,与模型预测拟和率达97.57%,这与预测值非常吻合,表明优化条件可靠。

2.7 富硒工艺对麦芽理化指标的影响

如表4所示,富硒麦芽和普通麦芽相比糖化时间和浸出物几乎无差别,而 α -氨基氮、库尔巴哈值、糖化力均略高于普通麦芽。 α -氨基氮反应麦芽中蛋白质的分解程度,反映了蛋白质在发芽过程中受到蛋白酶分解以后,形成并积累存在于麦芽的氨基酸和低肽量,因此它间接反应了发芽中蛋白酶类的活性^[23]。富硒麦芽的 α -氨基氮略高于普通麦芽,表明硒可能提高了麦芽体内的蛋白酶活力。此外,硒元素改善了麦芽库尔巴哈值,作为衡量麦芽质量的重要指标,麦芽库尔巴哈值高于45%表示溶解过度,低于36%表示溶解不足,都不利于啤酒的酿造。糖化力是指麦芽中形成还原糖的能力,同时也能间接表示麦芽中淀粉酶的综合活力。富硒麦芽的糖化力略高于普通麦芽,表明硒可能直接或者间接提高了麦芽中淀粉酶活力。最重要的是,和普通麦芽相比,富硒麦芽极大地提高了麦芽中的硒含量,其中能被人体有效吸收的有机硒含量提高了100多倍。

表4 麦芽理化指标

Table 4 Physical and chemical indicators of malt

理化指标	普通麦芽	富硒麦芽
糖化时间/min	10.00±0.00 ^a	10.00±0.00 ^a
浸出物/%	78.70±1.40 ^a	78.40±1.50 ^a
α -氨基氮/(mg/100 g)	147.00±5.70 ^a	152.00±6.30 ^a
库尔巴哈值/%	40.00±3.50 ^a	43.00±3.10 ^a
糖化力/WK	245.00±10.22 ^a	253.00±9.80 ^a
总硒含量/(mg/kg DW)	0.13±0.01 ^a	19.81±0.90 ^b
有机硒含量/(mg/kg DW)	0.12±0.01 ^a	12.90±0.70 ^b

注:同行右肩不同小写字母表示具有显著差异($P<0.05$)。

3 结论

本文讨论了富硒方式、 Na_2SeO_3 浓度、浸麦温度、浸麦时间对麦芽发芽率、芽长和硒含量的影响,进一步采用响应面法优化富硒麦芽制备工艺。结果显示,浸麦阶段采用 Na_2SeO_3 溶液浸泡富硒效果显著优于发芽阶段采用 Na_2SeO_3 溶液喷淋富硒。浸麦阶段采用不同的富硒工艺对麦芽的发芽率、芽长和硒含量具有显著影响。响应面法确定富硒麦芽的最佳制备工艺条件为: Na_2SeO_3 溶液浓度98 mg/L、浸麦温度18℃、浸麦时间20 h,在此条件下富硒对麦芽的生长几乎无影响,麦芽总硒含量为19.81 mg/kg DW,有机硒含量为12.90 mg/kg DW,与普通麦芽相比,富硒麦芽品质基本保持不变,总硒和有机硒分别提高了151倍和107倍。研究结果可为富硒麦芽的工业化生产提供理论依据,以期为富硒啤酒的开发奠定基础。

参考文献

- [1] Melanie W R, Monika S, Susanne B, et al. Mechanisms of selenium enrichment and measurement in brassicaceous vegetables, and their application to human health [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8(1): 1365-1377.
- [2] Lin Y, Jiang L Q. Research progress on the immunomodulatory effect of trace element selenium and its effect on immune-related diseases [J]. *Food Therapy and Health Care*, 2020, 2(2): 13-21.
- [3] Papadomichelakis G, Zoidis E, Pappas A C, et al. Dietary organic selenium addition and accumulation of toxic and essential trace elements in liver and meat of growing rabbits [J]. *Meat Science*, 2018, 145(9): 383-388.
- [4] Liu M, Jing H, Zhang J, et al. Optimization of mycelia selenium polysaccharide extraction from *Agrocybe cylindracea* SL-02 and assessment of their antioxidant and anti-ageing activities [J]. *Plos One*, 2016, 11(8): 1-15.
- [5] Fordyce F M, Zhang G, Green K, et al. Soil, grain and water chemistry in relation to human selenium-responsive diseases in Enshi district, China [J]. *Applied Geochemistry*, 2000, 15(1): 117-132.
- [6] 周鑫斌,施卫明,杨林章.叶面喷硒对水稻籽粒硒富集及分布的影响[J].*土壤学报*,2007,44(1):73-78.
- [7] Xu J, Yang F M, Chen L C, et al. Effect of selenium on increasing the antioxidant activity of tea leaves harvested during the early spring tea producing season [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003, 51(4): 1081-1084.

- [8] 张驰,刘信平,张升辉,等.莴苣中硒含量分布和赋存形态研究[J].湖北农业科学,2003,46(5):70-72.
- [9] 邹小智,康德灿,罗佳,等.微生物富硒食品的研发近况浅析[J].现代食品,2022,28(8):26-29.
- [10] 张峰.不同日粮硒水平对泛素介导的虹鳟肌肉蛋白质降解的影响及其作用机制研究[D].武汉:华中农业大学,2021.
- [11] GB 5009.93-2017,中华人民共和国卫生部.食品安全国家标准食品中硒的测定[S].
- [12] QB/T 1686-2008,中国轻工业联合会.啤酒麦芽[S].
- [13] 管敦仪.《啤酒工业手册(修订版)(精)》新版发行[M].北京:中国轻工业出版社:2008.
- [14] 马燕.NaCl 胁迫下 GABA 介导的大麦芽苗酚酸富集机理[D].南京:南京农业大学,2019.
- [15] 王梦柯.不同外源硒吸收及木质部和韧皮部转运的差异[D].咸阳:西北农林科技大学,2019.
- [16] Poschenrieder C, Cabot C, Martos S, et al. Do toxic ions induce hormesis in plants [J]. Plant Science, 2013, 212(1): 15-25.
- [17] Hossain A, Skalicky M, Brestic M, et al. Selenium biofortification: Roles, mechanisms, responses and prospects [J]. Molecules, 2021, 64(4): 881-910.
- [18] González A, Tamés R S, Rodríguez R. Ethylene in relation to protein, peroxidase and polyphenol oxidase activities during rooting in hazelnut cotyledons [J]. Physiologia Plantarum, 1991, 83(4): 611-620.
- [19] Wang Mengke, Peng Qin, Zhou Fei, et al. Uptake kinetics and interaction of selenium species in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedlings [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2019, 26(10): 9730-9738.
- [20] Teixeira L, Pimenta T, Brito F, et al. Selenium uptake and grain nutritional quality are affected by nitrogen fertilization in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. Plant Cell Reports, 2021, 40(5): 871-880.
- [21] Wang Y D, Wang X, Wong Y S. Generation of selenium-enriched rice with enhanced grain yield, selenium content and bioavailability through fertilisation with selenite [J]. Food Chemistry, 2013, 141(3): 2385-2393.
- [22] Zhou X, Yang J, Kronzucker H J, et al. Selenium biofortification and interaction with other elements in plants: A review [J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11(23): 1-18.
- [23] 朱丽丽,赵长新,苏红旭,等.大麦和麦芽中酚类物质与抗氧化力关系的研究[J].食品科技,2013,38(8):154-158.