

米糠蛋白肽的酶法制备及其抗氧化性能的研究进展

代国信¹, 魏永忠², 吴酉芝², 李雅丽¹, 杜传来^{1*}

(1. 安徽科技学院食品工程学院, 安徽滁州 233100)

(2. 上海中侨职业技术大学食品药品学院, 上海 201514)

摘要: 米糠蛋白是从大米加工的副产物米糠中提取的植物蛋白, 被证实是一种高质量、易消化的优质蛋白质。为了进一步提升米糠蛋白的生物活性, 近年来研究重点转向通过蛋白酶水解获得功能性的米糠蛋白肽。研究表明, 米糠蛋白肽具有抗氧化、降糖、抗肿瘤、降低心血管疾病等功效。其中, 抗氧化活性是其最基本且应用前景最广阔的功能之一。米糠蛋白肽的抗氧化能力与提取工艺、酶解方法、肽段序列和分子量等因素有关。因此, 该文综述了米糠蛋白肽的酶法制备、体外和体内抗氧化能力及潜在机理(自由基清除能力、超氧化物标志物水平、氢供体能力、调控氧化还原酶的表达、肽段亚基空间结构)。最后, 该文展望了米糠蛋白肽的研究方向, 为进一步开发和利用米糠资源提供新的策略。

关键词: 米糠蛋白肽; 酶解方法; 抗氧化活性; 潜在机理

文章编号: 1673-9078(2025)02-407-416

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.2.0011

Research Progress on Enzymatic Preparation and Antioxidant Properties of Rice Bran Protein Peptides

DAI Guoxin¹, WEI Yongzhong², WU Youzhi², LI Yali¹, DU Chuanlai^{1*}

(1. College of Food Engineering, Anhui Science and Technology University, Chuzhou 233100, China)

(2. Food and Drug College, Shanghai Zhongqiao Vocational and Technical University, Shanghai 201514, China)

Abstract: Rice bran protein, a plant protein obtained from the by-product of rice processing, rice bran. Rice bran protein has been proven to be a high-quality, easily digestible and high-quality protein. To further improve the biological activity of rice bran protein, in recent years, the research focus has shifted to obtaining functional rice bran protein peptides through protease-catalyzed hydrolysis. Research revealed that rice bran protein peptides have antioxidant, hypoglycemic, anti-tumor, and cardiovascular disease-reducing functions. Among them, antioxidant activity is one of the most fundamental and promising functions. The antioxidant capacity of rice bran protein peptides is related to factors such as extraction process, enzymatic hydrolysis methods, peptide sequence, and molecular weight. Therefore, this article provides a comprehensive review of the enzymatic preparation of rice bran protein peptides, as well as their *in vitro* and *in vivo* antioxidant abilities

引文格式:

代国信, 魏永忠, 吴酉芝, 等. 米糠蛋白肽的酶法制备及其抗氧化性能的研究进展 [J]. 现代食品科技, 2025, 41(2): 407-416.

DAI Guoxin, WEI Yongzhong, WU Youzhi, et al. Research progress on enzymatic preparation and antioxidant properties of rice bran protein peptides [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(2): 407-416.

收稿日期: 2024-01-03

基金项目: 安徽省重点研发计划项目 (202004a06020040)

作者简介: 代国信 (1994-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 农产品加工与安全, E-mail: guoxin.dai@mail.ecust.edu.cn

通讯作者: 杜传来 (1968-) 男, 硕士, 教授, 研究方向: 农产品加工与贮藏, E-mail: ducl@ahstu.edu.cn

and potential mechanisms (free radical scavenging ability, superoxide marker level, hydrogen-donating capacity, regulation of oxidoreductase expression, and the spatial structure of peptide subunits). Finally, future research directions for rice bran protein peptides are presented, providing new strategies for further development and utilization of rice bran resources.

Key words: rice bran protein peptides; enzymolysis methods; antioxidant activity; potential mechanisms

大米、玉米和小麦被称为三大谷物，其中大米是全球近一半人口的主食，中国是世界上最大的大米生产国和消费国^[1]。大米经加工脱去稻壳和米糠，得到白米。米糠中含有丰富的营养素如蛋白质、脂质、膳食纤维、维生素、矿物质等。全球每年约产生 2 930 万吨米糠^[2]，如果能充分利用这些米糠资源，是对可持续发展战略的重要践行。

米糠是由果皮、种皮、胚乳、糊粉层和胚芽组成。其中米糠蛋白含量为 10%~16%，是一种可用于食品和制药的植物蛋白，由白蛋白、球蛋白和谷蛋白组成^[3,4]。米糠蛋白含有优质的总氨基酸（Total Amino Acids, TAA）和必须氨基酸（Essential Amino Acids, EAA），其 EAA/TAA 比值高于大米蛋白和大豆蛋白。米糠蛋白的消化率为 94.80%，高于分离乳清蛋白^[5]。如图 1 所示，为了提高米糠蛋白的生物利用和功能活性，可以进一步开发米糠蛋白肽。肽是由氨基酸通过肽键连接而成的短链蛋白质分子，它们通常由 10 到 50 个氨基酸残基组成。肽不仅具有低过敏、易吸收的优点，而且可以作为信号分子，参与细胞间的信息传递，许多激素、神经递质和生长因子都是蛋白肽。此外，蛋白肽还具有抗菌、抗氧化、抗炎、抗衰老等生物活性^[6,7]。

根据米糠蛋白肽制备方式的不同，可分为酶解法和发酵法。酶解法是利用蛋白酶切断不同位置的肽键来获得水解蛋白肽，并通过酶的选择对反应进行控制。主要使用的食品级蛋白酶包括胃蛋白酶、胰蛋白酶、木瓜蛋白酶、风味蛋白酶、碱性蛋白酶等^[8]。根据酶解辅助方式的不同，又可分为物理法和化学法。物理法是通过超声波、高压、微波和超滤等物理手段，来提高米糠蛋白肽的得率^[7]。物理法对设备的要求较高，投入成本高，但是得率低，实际操作中建议与其他方法进行联合使用。化学法是通过强酸或强碱对米糠蛋白进行辅助水解^[9]，反应快，适合规模化制备，但是水解强度大，容易破坏蛋白质或者肽的营养结构。发酵法是通过乳酸菌、真菌、芽孢菌等微生物代谢产生特定的酶来生产活性蛋白肽，同时在发酵中也会生成多糖、有机

酸、维生素等物质^[10]。但是该过程复杂，难以控制，对于目标肽的制备效率低，分离纯化成本高^[11]。相比较而言，酶解法需要在特定的温度和 pH 值溶液中进行，易受环境影响，但是具有安全性高、反应速度快、水解程度可控等优点，因此是食品行业中最常用的制备方法。酶解米糠蛋白肽具有多种营养活性，如抗氧化、降糖、抗肿瘤、降低心血管疾病等^[7,12]。其中，抗氧化特性的应用范围最广，可清除体内的自由基和超氧化物，调节氧化还原酶的表达，减轻氧化损伤，并降低因代谢疾病导致的氧化应激水平。米糠蛋白肽的抗氧化性与蛋白的提取工艺、酶解方法、肽段种类和分子量等因素有关。因此，控制相关参数对其抗氧化性能的发挥具有重要作用。本文将对米糠蛋白肽的酶法制备和抗氧化性能进行综述，旨在为进一步挖掘和利用米糠资源提供参考。

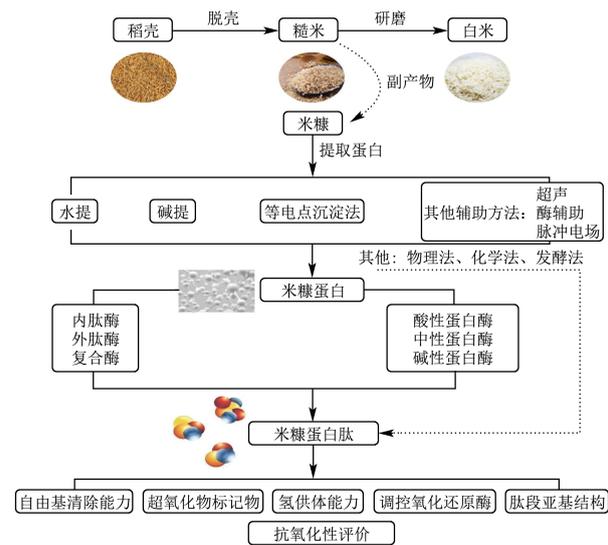


图 1 米糠蛋白肽的制备及其抗氧化性能的图片摘要

Fig.1 Graphical abstract on the preparation and antioxidant properties of rice bran protein peptides

1 米糠蛋白肽的制备

1.1 米糠蛋白的提取工艺

米糠蛋白的提取方法有水提、碱提、等电点沉淀和其他辅助法联合使用等。米糠蛋白可溶解于

中性至碱性环境 (pH 值 7.0~12.5), 并且在碱性环境中溶解度更大。因此通过水提, 再辅以化学碱萃取, 是最常用提取米糠蛋白的方法。如表 1 所示, Senaphan 等^[13]和 Boonloh 等^[14]采用碱提的方法分别获得了 27.47% 和 23.51% 的米糠蛋白溶液。建议控制米糠溶液 pH 值在 9.0~11.0 的范围内, 碱度过高会破坏蛋白结构^[13]。向饱和的米糠蛋白碱液中快速加酸, 使 pH 值迅速降到 5.0 以内的蛋白等电点, 可以获得纯度 70% 以上的米糠蛋白^[15,16]。

等电点沉淀法操作简单, 反应快, 但是得到的是混合蛋白, 若要提取单一蛋白, 可以采用 Osborne 分级提取法, 来获得溶于氢氧化钠的馏分 (富含碱溶谷蛋白)、溶于水的馏分 (富含白蛋白)、溶于氯化钠的馏分 (富含球蛋白) 和溶于乙醇的馏分 (富含醇溶谷蛋白)^[17,18]。通过物理或酶辅助方法, 可提高米糠蛋白的提取率, 未来会有较大应用前景。Thongkong 等^[19]发现利用 2.3 kV 的脉冲电场法 (PEF) 处理米糠溶液 25 min, 使蛋白质提取率增加了 20.71%~22.80%。Fathi 等^[20]采用物理法 (超声波) 和酶法 (淀粉酶) 联合对米糠溶液进行处理以提取蛋白, 使最终米糠蛋白的提取率达到了 71.13%。尽管另一项研究也采用了联合处理的方法, 但是可能由于碱液 pH 值较低 (仅有 8.0) 以及酶选择的不同, 因此提取率仅有 42.20%^[21]。将提取后的米糠蛋白进一步用蛋白酶进行处理, 可以切断特定位置的肽键, 获得不同水解度 (Degree of Hydrolysis, DH) 和抗氧化性能的米糠蛋白肽, 因此酶解方法的选择对米糠蛋白肽的分子结构特征和生理活性至关重要。

1.2 酶解反应制备米糠蛋白肽

1.2.1 酶解反应的条件

温度、时间和 pH 值是控制米糠蛋白肽酶解反应的最主要的条件。如表 1 所示, 反应温度一般控制在 37~55 °C, 不会超过 60 °C。如果温度过低, 达不到蛋白酶最佳的催化温度, 会延长反应的时间, 增加成本^[27], 如果温度过高, 会导致酶的空间结构改变, 影响催化能力, 甚至终止反应^[28]。根据目标获得的米糠蛋白肽水解程度和分子大小的不同, 反应时间设置至少要 0.5 h, 长的甚至达到 10.0 h。酶解反应的 pH 值主要根据所选酶来调整^[29]。大多数酶的最适反应 pH 值是 8 左右, 在模拟消化的研究中,

需要用到胃蛋白酶和胰蛋白酶, 前者最适 pH 值为 1.5~3.0, 后者为 7.0~8.0^[30]。

1.2.2 酶的选择和米糠蛋白肽的水解度

如表 1 所示, 按酶最适 pH 值的不同, 可以分为酸性蛋白酶、中性蛋白酶和碱性蛋白酶^[31]。用于米糠蛋白水解的酸性蛋白酶有胃蛋白酶、蛋白酶 M^[17], 中性蛋白酶有胰蛋白酶、风味酶^[15,18], 碱性蛋白酶有蛋白酶 G6、蛋白酶 GN、木瓜蛋白酶^[13,25]。蛋白酶的添加量与其活力有关, 一般是和蛋白溶液质量比 1:50 至 1:100。水解度是指在一定条件下, 米糠蛋白质的可水解性或水解程度。水解度受到蛋白质的种类、酶的种类和活性、酶解反应条件等因素影响^[32]。不同水解度的米糠蛋白肽在生物活性、溶解性、消化吸收、口感、稳定性、功能性等方面存在差异^[33,34]。在食品工业中, 研究蛋白肽的水解度, 对于设计和改良食品配方、优化其功能性和营养特性非常重要。在药物研发领域, 水解度也是药物吸收和代谢考虑的重要参数。

如表 1 所示, 单独使用蛋白酶 (如胰蛋白酶、风味酶、蛋白酶 G6) 处理米糠蛋白, 水解度一般不高于 20%, 通过联合淀粉酶处理可以提高水解度, 达到 27.35%^[20]。在模拟消化环境中, 添加胃蛋白酶或蛋白酶 M 水解的米糠蛋白肽水解度可以达到 50% 以上, 这也印证了米糠蛋白的易吸收性。在实际生产中, 如果想要提高米糠蛋白的水解度, 首先要尽可能提高蛋白的纯度, 可以先采用酶法去除米糠中的杂质, 然后通过物理法和碱法溶解出高纯度的米糠蛋白, 暴露出更多酶切作用的位点。在酶解过程中, 优先选择高活力的蛋白酶进行单独或者联用, 在强酸性或者弱碱性的环境下水解。最后要严格控制反应温度以免造成酶活力下降。

2 米糠蛋白肽的抗氧化能力

2.1 米糠蛋白肽体外抗氧化研究

体外抗氧化研究是通过试剂检测、体外模拟氧化反应, 测定米糠蛋白肽的抗氧化能力, 优点是检测周期短, 速度快^[35]。如表 2 所示, 根据体外抗氧化测定的反应机理, 分为以下三种: 第一种是基于电子转移的自由基清除反应, 如 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 法、铁离子还原抗氧化能力 (Ferric Reducing Antioxidant Power, FRAP) 法、2,2'-联氮-

双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸 [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), ABTS] 法、羟基自由基清除法、超氧阴离子自由基 ($O_2^{\cdot-}$)、一氧化氮自由基 ($NO\cdot$) 清除法等^[36,37]。第二种是基于 H 原子转移途径的自由基清除反应, 如氧自由基吸收能力 (Oxygen Radical Absorbance Capacity, ORAC) 法、光化学发光 (Photochemiluminescence, PCL) 法、总自由基清除抗氧化能力 (Total Peroxyl Radical-trapping Antioxidant Parameter, TRAP) 法等^[38,39]; 第三种是基于与金属离子形成螯合物, 降低金属离子的活性, 从而抑制和减少自由基的生成, 来判断其对氧化反应的抑制效果^[40]。

据报道, 通过模拟消化产生的米糠蛋白肽的 DPPH 和 $ABTS^+$ 自由基清除活性分别提高了 37.84%~40.45% 和 28.46%~37.86%^[19]。Hunsakul 等^[23]采用响应面法优化了水解工艺, 当肽质量浓度分别为 6.59 mg/mL 和 0.99 mg/mL 就可以达到对 DPPH \cdot 和 $ABTS^+$ 清除作用的半数抑制浓度。米糠醇溶谷蛋白肽展现出极好的自由基清除能力, Chanput 等^[17]利用质量浓度为 1.00 mg/mL 的醇溶谷蛋白肽溶液, 作用于 ABTS 溶液, 展现出接近 4 000.00 μmol 的水溶性维生素 E (Trolox) 等价抗氧化能力 (TEAC)。另一项研究中, 质量浓度为 0.20 mg/mL 的醇溶谷蛋白肽溶液, 可以清除 81.90% 的 100.00 μmol 浓度 DPPH 溶液, 并且每单位蛋白可以还原 9 696.00 μmol 铁离子 (Fe^{2+})^[18]。水解肽的抗氧化能力与肽的浓度、结构和分子质量有关, 目前发现小分子肽具有更强的抗氧化能力。通过超滤膜将水解米糠蛋白肽分为三个组分: 分子量大于 10 ku、介于 3~10 ku 和小于 3 ku。其中分子量 < 3 ku 的组分具有最强的抗氧化活性, 金属螯合活性为 71.06%。并经 RP-HPLC 进一步纯化, 发现亚肽的金属螯合活性达到 82.13%。Piotrowicz 等^[22]也发现分子量小于 3 ku 的肽段具有最强的抗氧化性, 每单位蛋白肽的 ORAC 活力最高达到了 1 040.27 μmol Trolox。因此可通过提高米糠蛋白的短肽含量来增强抗氧化性能。水解肽并非单一物质, 而是多种不同亚肽的混合物, 因此若要找到最强氧化的目标肽, 需要进一步分离和检测。

2.2 米糠蛋白肽体内抗氧化研究

体内抗氧化研究主要通过动物模型中相关抗氧

化指标, 反映出体内氧化还原的程度。如表 2 所示, 动物模型可大致分为两大类: 一类为氧化应激模型, 如局部性的器官氧化应激模型、全身性氧化应激模型 (臭氧模型、转基因动物模型、 γ -辐射模型等)^[41]; 另一类为生物标志物模型, 如 DNA 氧化损伤、蛋白质氧化损伤、脂质氧化损伤等, 在体内产生过氧化物标志物如 8-羟基鸟嘌呤、半胱氨酸二硫化物和丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 等。机体内有许多酶及非酶保护屏障对抗自由基造成的 DNA、蛋白质等损伤, 米糠蛋白肽可通过调节超氧化物歧化酶 (Superoxide Dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (Catalase, CAT)、酪氨酸酶 (Tyrosine Hydroxylase, TH)、谷胱甘肽过氧化物酶 (Glutathioneperoxidase, GPx)、谷胱甘肽转移酶 (Glutathione Transferase, GST)、还原型谷胱甘肽 (Glutathione, GSH) 等酶的作用, 防御自由基造成的氧化损伤, 实现内源性自我保护^[42,43]。

Boonla 等^[24]研究发现, 给高血压模型小鼠连续 6 周灌胃 50~100 mg/kg 的米糠蛋白水解肽, 降低了老鼠体内的活性氧 (Reactive Oxygen Species, ROS)、血管 $O_2^{\cdot-}$ 和 MDA 水平。Senaphan 等^[44]给代谢缺陷模型的大鼠口服米糠蛋白肽干预 6 周后, 减少了体内的超氧化物的产生并抑制血管组织中还原型辅酶 II (Triphosphopyridine Nucleotide, NADPH) 氧化酶的表达。Jan-on 等^[45]使用一氧化氮合酶 (Endothelial Nitric Oxide Synthase, eNOS) 抑制剂 *N ω* -硝基-L-精氨酸甲酯作用于雄性大鼠 6 周, 诱导高血压, 测量氧化应激标志物。采取单独使用米糠蛋白肽或与阳性药物赖诺普利 1 mg/(kg·d) 联合使用对大鼠进行治疗。结果发现高剂量的米糠蛋白肽 500 mg/(kg·d) 可以降低氧化应激标志物水平和 GSH 氧化状态, 并在一定程度上恢复血管结构, 且与药物联用效果更佳。在另一项关于成年犬的氧化应激实验中^[46], 服用同样干预剂量 500 mg/(kg·d) 的米糠蛋白肽后, 犬血浆 MDA 和蛋白质羰基水平降低, 并提高了 GSH 含量及其还原率。可见, 米糠蛋白肽可以通过触发体内的氧化应激反应、提高酶活力以及减少过氧化物含量来提升机体自身的抗氧化能力。体外和体内实验均表明, 米糠蛋白肽具有抗氧化能力, 该能力与水解程度、肽段的分子大小相关联, 需要进一步分析其抗氧化原理来探究其抗氧化性能。

表 1 米糠蛋白肽提取工艺和酶解方法的比较

Table 1 Comparison of extraction process and enzymolysis methods of rice bran protein peptides

米糠蛋白提取方法	蛋白含量	酶及活力	酶的添加量	酶解温度/°C 和时间/h	pH 值	DH	文献
水提, 碱性萃取法, Osborne 分级提取法	粗蛋白 (74.29%), 白蛋白 (73.48%), 球蛋白 (92.57%), 醇溶谷蛋白 (59.08%), 碱溶谷蛋白 (77.78%)	胃蛋白酶/Pepsin (1 120 U/mg)	1:100 (m/m)	37, 4.0	2.0~3.0	55.00%~75.00%	[17]
		蛋白酶 M/Protease M (500 U/mg)	1:25 (m/m)	50, 4.0	2.0~3.0	0.00%~55.00%	
水提, 等电点沉淀法, Osborne 分级提取法	粗蛋白 (63.20%), 白蛋白 (42.40%), 球蛋白 (41.14%), 谷蛋白 (69.01%)	胰蛋白酶/Trypsase (10 000 U/mg)	1:100 (m/m)	37, 4.0	8.0	5.80%	[18]
脉冲电场法, 碱性萃取法, 等电点沉淀法	增加 20.71%~22.80% 提取率	胃蛋白酶/Pepsin (≥250 U/mg)	1:100 (m/m)	37 ± 2, 2.0	1.5	60.92%~62.51%	[19]
		胰蛋白酶/Trypsase (≥10 000 U/mg)	1:100 (m/m)	37 ± 2, 2.0	7.0~8.0		
碱性萃取法, 等电点沉淀法	77.15%	风味酶/Flavorzyme (活力未提及)	1:100 (m/m)	50, 2.0	7.0	—	[15]
碱性萃取法, 等电点沉淀法	62.10%	内肽酶 (碱性蛋白酶/Alcalase, 2.4 AU/g)	1:50 (V/m)	50, 10.0	8.0	13.40%	[22]
		外肽酶 (风味酶/Flavorzyme, 1 000 U/g)	1:50 (V/m)	50, 10.0	7.0	5.90%	
碱性萃取法, 等电点沉淀法	34.40%~42.36%	风味酶/Flavorzyme (9.81%, 500 U/g), 碱性酶 (90.19%, 2.4 AU/g)	2.84:100 (m/m)	60, 1.0	7.5	7.09%~19.31%	[23]
碱性萃取法, 等电点沉淀法	46.60%	蛋白酶 G6/Protease G6 (活力未提及)	—	55, 4.0	8.0	8.80%	[24]
水提, 碱性萃取法	27.47%	蛋白酶 G6/Protease G6 (活力未提及)	1:50 (V/m)	55, 4.0	8.0	—	[13]
		蛋白酶 GN/Protease GN (活力未提及)	1:50 (V/m)	55, 2.0	8.0		
碱性萃取法, 等电点沉淀法	—	木瓜蛋白酶/Papain (活力未提及)	1:100 (m/m)	37, 0.5	8.0	—	[25]
淀粉酶法, 超声波辅助碱性提取	71.13%	碱性蛋白酶/Alcalase (活力未提及)	1:100 (m/m)	55, 4.0	8.5	27.35%	[20]
亚临界碱性水萃取	46.60%	蛋白酶 G6/Protease G6 (活力未提及)	0.5:100 (V/m)	55, 4.0	8.0	—	[26]
		蛋白酶 GN/Protease GN (活力未提及)	0.5:100 (V/m)	55, 2.0	8.0		
碱性萃取法, 等电点沉淀法	75.00%	鲜味强化酶 G/Umamizyme G (活力未提及)	1:100 (m/m)	45, 8.0	—	—	[16]
水提, 碱性萃取法	23.51%	蛋白酶 G6/Protease G6 (活力未提及)	—	55, 4.0	8.0	—	[14]
糖化酶法, 超声波辅助碱性提取	42.20%	蛋白酶 G6/Protease G6 (活力未提及)	1:20 (V/m)	55, 1.0	8.0	—	[21]

表 2 不同产地米糠蛋白肽抗氧化性能和机理的比较

Table 2 Comparison of antioxidant properties and mechanisms of rice bran protein peptides from different regions

实验模型	抗氧化性评价方法	米糠蛋白肽作用剂量	抗氧化功能发挥机理	分子量或者肽段	文献
体外	自由基清除能力	1.0 mg/mL	米糠蛋白质消化释放更多具有抗氧化作用的肽	—	[17]
体外	自由基清除能力, 氧化还原能力	0.2 mg/mL	米糠蛋白通过酶解释放出更多的酚类化合物和含酚基团的肽	—	[18]
体外	自由基清除能力	1.0 mg/mL	分子结构改变, 暴露更多抗氧化酶结合位点	—	[19]
体外	自由基清除能力, 金属离子螯合能力	5.0 mg/mL	肽的亚基结构具有更好的金属螯合能力	<3 ku	[15]
体外体内	自由基清除能力, 细胞酶氧化抑制能力	20.0 mg/mL 80 mg/(kg·d)	米糠蛋白肽通过支链基团调节酚酸的抗氧化活性	<3 ku	[22]
体外	自由基清除能力	10.0 mg/mL	米糠蛋白肽中含组氨酸 (His)、色氨酸 (Trp) 和酪氨酸 (Tyr) 的肽段具有咪唑和酚基, 作为氢供体	LLANSLLA (肽段一) VATLSVGPV (肽段二) VETGLPAGPPV (肽段三) FPVGGDDGAPE (肽段四) GLATAGGDAGLW (肽段五, 活力最高)	[47]
体外	自由基清除能力, 氧化还原能力, 细胞酶氧化抑制能力	1.0 mg/mL	米糠蛋白肽可以作为潜在氢供体或电子供体以清除自由基	<3 ku 和 3~5 ku	[23]
体外	细胞酶氧化抑制能力	9.0 mg/mL	水解后暴露的氨基酸残基 (如丝氨酸, 含硫氨基酸, 色氨酸, 精氨酸和亮氨酸) 具有抑制酪氨酸酶和铜整合剂的作用。	SSEYYGGGSSEQGYGEG	[25]
体外	细胞酶氧化抑制能力	5.0 mg/mL	提高了 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶 (γ -GCS)、血红素氧化酶-1 (HO-1) 和醌氧化还原酶 1 (NQO1) 的表达水平	—	[48]
体内	自由基清除能力, 脂质过氧化抑制能力	50~100 mg/(kg·d)	上调硝酸盐/亚硝酸盐水平和 eNOS 表达, 上调 NADPH 氧化酶亚基表达水平, 提高 NO 生物利用度	—	[24]
体内	自由基清除能力, 脂质过氧化抑制能力, 细胞酶氧化抑制能力	250~500 mg/(kg·d)	上调 eNOS 蛋白的表达来增加 NO 的产生, 下调 p47Phox NADPH 氧化酶亚基来降低血管 O_2^- , 并降低血浆 MDA、肿瘤坏死因子- α 和血管紧张素转换酶的活性	—	[44]
体内	自由基清除能力, 脂质过氧化抑制能力	500 mg/(kg·d)	上调内皮 NO 合酶表达以及下调 gp91phox 和 AT1R 表达	—	[45]

2.3 米糠蛋白肽抗氧化原理

2.3.1 释放出酚类化合物和酚基结合肽

米糠层中含有酚类化合物, 是米糠蛋白中常见的天然抗氧化物质^[49], 主要包括羟基肉桂酸 (没食子酸、香草酸、丁香酸) 和羟基苯甲酸 (咖啡酸、绿原酸、阿魏酸、对香豆酸、辛酸) 及其衍生物^[50]。这些化合物以可溶性游离酚酸和不溶性结合酚酸的形式存在。人体不能消化不溶性结合的酚酸,

同时酚类化合物中含有羟基和羧酸的芳香环, 增加了它们与蛋白质的亲和力。通过水解或者发酵迫使米糠蛋白质分解, 从而使得到的组分中有效释放出酚类化合物或与肽结合形成更强的相互作用力^[51], 是抗氧化能力提高的主要原因之一。

2.3.2 肽结构作为氢供体能力

研究发现, 尽管米糠蛋白水解物中的总酚含量明显低于其他谷类水解物, 但是却展现出更高的抗氧化活性, 因此米糠蛋白水解物的抗氧化活性更多

来自于米糠蛋白释放的肽^[17]。具有抗氧化潜力的蛋白质水解物可以作为氢供体或电子供体预防或阻断自由基链式反应，减少氢过氧化物和 ROS 的产生^[52]。尽管一些氨基酸，如半胱氨酸、酪氨酸，可以通过氢供体或电子供体的方式来减轻氧化反应，但是氨基酸的抗氧化能力相较而言较弱，而肽包含多个氨基酸和官能团，拥有更多 α -螺旋和 β -折叠的空间结构^[53]，尤其是含有氨基酸残基的肽更容易产生如内酰胺键和二硫键等特殊结构。这些一级和二级结构有助于肽分子中的氨基酸残基之间形成更密切的相互作用，从而使抗氧化性得到提高。此外，一些具有亲电性的官能团，如酰基和羟基，也能使肽分子具有抗氧化性^[25]。当肽裂解为游离氨基酸时，破坏了这种空间结构，抗氧化活性可能会完全丧失^[54,55]。米糠蛋白肽中含组氨酸 (His)、色氨酸 (Trp) 和酪氨酸 (Tyr) 的肽段具有吡啉和酚基，是最有效的氢供体^[47]。具有氢供体能力的肽可以通过捕捉自由基、氧化还原等方式中和自由基，修复受损的分子和细胞，减轻氧化应激和氧化损伤^[23]。

2.3.3 调控基因表达系统

米糠蛋白肽可以协同调节基因表达系统来降低氧化应激反应，包括转录因子的调节、抗氧化基因的表达调节和信号通路的调控^[56]。这些调节机制可以增加抗氧化酶和其他抗氧化蛋白的合成，从而提高细胞对氧化应激的抵抗能力。Moritani 等^[48]研究表明米糠蛋白肽能够诱导细胞中的谷胱甘肽 / 氧化谷胱甘肽比例失衡，随后触发 Nrf2 通路的激活，上调 GSH 的生物合成，增加其他抗氧化酶的表达。米糠蛋白肽还可以上调 eNOS 蛋白表达来增加 NO 的产生，下调 NADPH 的氧化酶亚基 p47phox 蛋白的表达降低血管 O_2^- 、血浆 MDA、肿瘤坏死因子- α 和 ACE 活性^[44]。此外，米糠蛋白下调 NADPH 的另一个亚基 gp91phox 蛋白和血管紧张素 II 型受体 (AT1R) 的表达，有利于减轻氧化应激反应和炎症反应^[45]。

2.3.4 其他潜在机理

米糠蛋白水解后暴露的氨基酸残基（如丝氨酸、含硫氨基酸、色氨酸、精氨酸和亮氨酸）可提供孤对电子的官能团，从而与金属形成配位键，具有高效的金属螯合作用^[25]。这种螯合作用在亚肽结构中表现得更加明显，因此通过超滤获得亚肽结构

往往具有更高的抗氧化活性^[15]。抗氧化酶通过与氧自由基结合反应来中和其活性，米糠蛋白肽可以通过结构的调整促进其与氧自由基的反应^[19]。米糠蛋白肽结构变化包括分子的构象、电荷分布、活性位点的暴露程度，这些结构改变可能涉及蛋白质肽的折叠状态、氨基酸残基的置换或修饰等，因此小分子结构的肽一般比大分子蛋白具有更高的抗氧化性^[57]。通过这些结构调整，米糠蛋白肽能够增加抗氧化酶结合位点的可用性，更有效地与其结合，并促进与氧自由基的中和作用。

2.4 提高米糠蛋白肽的抗氧化性能

米糠蛋白的低成本，天然含有酚类和易消化性等优点，使其氧化性能和性价比高于乳蛋白。同时相较于其他植物蛋白如麦麸蛋白和高粱蛋白，米糠蛋白水解的肽具有更强的氢供体能力^[17]，因此利用米糠蛋白制备抗氧化肽具有广阔的应用前景。米糠蛋白肽的抗氧化性与蛋白种类、肽段结构、分子量有关。由于不同的制备和分析方法，水解产物的抗氧化能力也有显著差异，如水解富含米糠谷蛋白的组分比其他组分具有更高的抗氧化活性^[18]，这可能与酚类化合物在谷蛋白中的含量更高有关。优化蛋白提取工艺可以提高米糠酶解物中特定抗氧化物质的含量，如米糠白蛋白水解肽具有较高的酪氨酸酶抑制活性^[58]，醇溶性的谷蛋白水解肽具有较高的自由基清除能力^[23]。使用碱性蛋白酶、风味酶和中性蛋白酶水解米糠蛋白，碱性蛋白酶产生的水解产物具有最高的抗氧化活性，而中性蛋白酶水解产物的活性最低^[59]，这表明酶类型对蛋白质水解产物的抗氧化能力有显著影响。肽段的种类也会影响其抗氧化能力，如肽段 GLATAGGDAGLW 的抗氧化活性高于另外四个肽段^[47]。采用鲜味强化酶 G 处理的米糠蛋白肽，获得了具有更强酪氨酸酶抑制作用的肽段 SSEYYGGSSSEQGYGEG。利用膜过滤、阳离子交换色谱、凝胶过滤色谱和反相高效液相色谱在内的连续色谱方法可用于分离出不同抗氧化能力的肽段。目前尚未发现米糠蛋白肽分子量与抗氧化性的直接关系，但是基于肽是通过氨基酸残基、官能团以及肽段的亚基结构来发挥抗氧化效果的，因此肽的分子量不宜太大，一般控制在小于 5 ku。此外，可以将米糠蛋白肽作为稳定的递送系统装载其内部天然含有的酚类化合物进行组合使用，可以增强其抗氧化能力^[60]。

3 总结与展望

米糠蛋白是米糠中主要的营养成分之一,通过水解获得米糠蛋白肽可以提高其生物活性。其中,抗氧化是最基本、最具应用前景的功能之一,已经引起学者的广泛关注。近些年随着对米糠蛋白肽提取和制备工艺的研究,已经可以结合水提、碱提、等电点沉淀法、多种蛋白酶联用、液相等方法,开发出具有抗氧化性能的米糠蛋白水解肽及其亚肽组分。研究表明,米糠蛋白肽可以通过释放酚类化合物、作为氢供体、调控氧化酶基因表达、与金属离子形成配位键等方式,实现体外和体内的抗氧化活性。但是由于酶解反应影响因素多(酶的种类、底物浓度、pH值、温度、反应时间等)、水解肽段产物复杂、提纯成本高等原因,现阶段研究主要局限于分析混合水解肽的抗氧化数据,而米糠蛋白肽分子三级、四级结构与其抗氧化能力的相关性研究尚不充分。同时,米糠蛋白肽在体内的生物利用度还缺乏深入的研究,对于人体的抗氧化应激反应及相关酶的表达效果还不明确。综上所述,需要进一步对提取工艺标准化,开发出最经济的提取方案。进一步确定酶切靶向位点,优化酶解参数以提高目标肽的得率和产量,实现产业化应用。未来的功能研究方向应该深入到具体肽段对机体的生物利用度、药理活性、作用机制等方面,最大化挖掘米糠蛋白肽的经济和健康价值。

参考文献

- [1] 焦悦,黄清,费小吉,等.国外稻谷生产加工现状[J].粮油食品科技,2022,30(2):68-76.
- [2] SOHAIL M, RAKHA A, BUTT M S, et al. Rice bran nutraceuticals: a comprehensive review [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2017, 57(17): 3771-3780.
- [3] FABIAN C, JU Y H. A review on rice bran protein: its properties and extraction methods [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2011, 51(9): 816-827.
- [4] 玄国东.米糠蛋白提取及酶法制备抗氧化活性肽及降血压活性肽的研究[D].杭州:浙江大学,2005.
- [5] HAN S W, CHEE K M, CHO S J. Nutritional quality of rice bran protein in comparison to animal and vegetable protein [J]. Food Chemistry, 2015, 172: 766-769.
- [6] 孟祥州.多肽药物筛选及基于肿瘤细胞膜的多肽运载体系的构建与应用[D].合肥:中国科学技术大学,2021.
- [7] FERRI M, GRAEN H J, BRETZ K, et al. Peptide fractions obtained from rice by-products by means of an environment-friendly process show *in vitro* health-related bioactivities [J]. PLoS ONE, 2017, 12(1): 1-14.
- [8] 王欣驰.碱性蛋白酶突变体的筛选及废弃蛋白水解应用研究[D].天津:天津科技大学,2020.
- [9] BANDYOPADHYAY K, MISRA G, GHOSH S. Preparation and characterisation of protein hydrolysates from Indian defatted rice bran meal [J]. Journal of Oleo Science, 2008, 57(1): 47-52.
- [10] HAN Y, ZEE S, CHO K H. Beeswax alcohol and fermented black rice bran synergistically ameliorated hepatic injury and dyslipidemia to exert antioxidant and anti-inflammatory activity in ethanol-supplemented zebrafish [J]. Biomolecules, 2023, 13(1): 136.
- [11] 刘显儒.复合菌液态发酵米糠制备ACE抑制肽[D].哈尔滨:哈尔滨商业大学,2013.
- [12] GONG X, SUI L, MORTON J, et al. Investigation of nutritional and functional effects of rice bran protein hydrolysates by using preferred reporting items for systematic reviews and meta-analysis (PRISMA) guidelines: a review [J]. Trends in Food Science & Technology, 2021, 110: 798-811.
- [13] SENAPHAN K, KUKONGVIRIYAPAN U, SUWANNACHOT P, et al. Protective effects of rice bran hydrolysates on heart rate variability, cardiac oxidative stress, and cardiac remodeling in high fat and high fructose diet-fed rats [J]. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 2021, 11(5): 183-193.
- [14] BOONLOH K, KUKONGVIRIYAPAN V, KONGYINGYUES B, et al. Rice bran protein hydrolysates improve insulin resistance and decrease pro-inflammatory cytokine gene expression in rats fed a high carbohydrate-high fat diet [J]. Nutrients, 2015, 7(8): 6313-6329.
- [15] ZAKY A A, LIU Y, HAN P, et al. Effect of flavorzyme digestion on the antioxidant capacities of ultra-filtrated rice bran protein hydrolysates [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2020, 44(8): 1-10.
- [16] HATANAKA T, INOUE Y, ARIMA J, et al. Production of dipeptidyl peptidase IV inhibitory peptides from defatted rice bran [J]. Food Chemistry, 2012, 134(2): 797-802.
- [17] CHANPUT W, LAWYER R. The potential of fractionated rice bran protein hydrolysates as antioxidative and anti-inflammatory agents [J]. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, 2020, 66: 349-355.
- [18] RODRIGUEZ-RESTREPO Y A, FERREIRA-SANTOS P, ORREGO C E, et al. Valorization of rice by-products: Protein-phenolic based fractions with bioactive potential [J]. Journal of Cereal Science, 2020, 95: 103039.
- [19] THONGKONG S, KLANGPETCH W, UNBAN K, et al. Impacts of electroextraction using the pulsed electric field on properties of rice bran protein [J]. Foods, 2023, 12(4): 835.

- [20] FATHI P, MOOSAVI-NASAB M, MIRZAPOUR K A, et al. Generation of hydrolysates from rice bran proteins using a combined ultrasonication-alcalase hydrolysis treatment [J]. Food Bioscience, 2021, 42: 101110.
- [21] JAN-ON G, SANGARTIT W, PAKDEECHOTE P, et al. Antihypertensive effect and safety evaluation of rice bran hydrolysates from Sang-Yod rice [J]. Plant Foods for Human Nutrition, 2020, 75: 89-95.
- [22] PIOTROWICZ I B B, GARCES-RIMON M, MORENO-FENANDEZ S, et al. Antioxidant, angiotensin-converting enzyme inhibitory properties and blood-pressure-lowering effect of rice bran protein hydrolysates [J]. Foods, 2020, 9(6): 812.
- [23] HUNSAKUL K, LANKULDILOK T, SAKDATORN V, et al. Optimization of enzymatic hydrolysis by alcalase and flavourzyme to enhance the antioxidant properties of jasmine rice bran protein hydrolysate [J]. Scientific Reports, 2022, 12(1): 12582.
- [24] BOONLA O, KUKONGVIRIYAPAN U, PAKDEECHOTE P, et al. Peptides-derived from Thai rice bran improves endothelial function in 2K-1C renovascular hypertensive rats [J]. Nutrients, 2015, 7(7): 5783-5799.
- [25] KUBGLOMSONG S, THEERAKULKAIT C, REED R L, et al. Isolation and identification of tyrosinase-inhibitory and copper-chelating peptides from hydrolyzed rice-bran-derived albumin [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(31): 8346-8354.
- [26] PANNANGPETCH P, TANGSUCHARIT P, THANARUKSA R, et al. Antihypertensive effect of Mali-Nil surin rice bran hydrolysate and its mechanisms related to the EDHF-mediated vasorelaxation and L-type Ca^{2+} channel-mediated vasoconstriction in L-NAME hypertensive rats [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2022, 150: 113003.
- [27] ZHONG C, SUN L C, GENG J T, et al. Characterization of endogenous proteases from lizardfish (*Saurida wanieso*) viscera and associated salt-dependent properties [J]. International Food Research Journal, 2016, 23(3): 1145.
- [28] LEE S Y, KANG J H, JEONG J W, et al. Methods for improving meat protein digestibility in older adults [J]. Journal of Animal Science and Technology, 2023, 65(1): 32-56.
- [29] FLAIBAM B, GOLDBECK R. Effects of enzymes on protein extraction and post-extraction hydrolysis of non-animal agro-industrial wastes to obtain inputs for cultured meat [J]. Food and Bioprocess Technology, 2024, 143: 117-127.
- [30] YU Y, QI Y X, JIN Y. Milk digestion peptidomics: Tracking caseinophosphopeptides in simulated gastrointestinal digestion [J]. Food Bioscience, 2019, 28: 143-150.
- [31] WAN J, SHAHID M S, YUAN J. The comparative effects of supplementing protease combined with carbohydrase enzymes on the performance and egg *n-3* deposition of laying hens fed with corn-flaxseed or wheat-flaxseed diets [J]. Animals, 2023, 13(22): 3510.
- [32] VASQUEZ P, SEPULVEDA C T, ZAPATA J E. Functional properties of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) viscera protein hydrolysates [J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2022, 39: 102268.
- [33] MESHGINFAR N, MAHOONAK A S, HOSSEINIAN F, et al. Physicochemical, antioxidant, calcium binding, and angiotensin converting enzyme inhibitory properties of hydrolyzed tomato seed proteins [J]. Journal of food Biochemistry, 2019, 43(2): e12721.
- [34] JIMENEZ-MUNOZ L, BRODKORB A, GOMEZ-MASCARAQUE L G, et al. Effect of heat treatment on the digestion behavior of pea and rice protein dispersions and their blends, studied using the semi-dynamic INFOGEST digestion method [J]. Food & Function, 2021, 12(18): 8747-8759.
- [35] KETPRAYOON T, NOITANG S, SANGTANOO P, et al. An *in vitro* study of lipase inhibitory peptides obtained from de-oiled rice bran [J]. RSC Advances, 2021, 11(31): 18915-18929.
- [36] FIGUEIREDO C C M, DA C G A, ZIBORDI L C, et al. Biosynthesis of silver nanoparticles of *Tribulus terrestris* food supplement and evaluated antioxidant activity and collagenase, elastase and tyrosinase enzyme inhibition: *in vitro* and *in silico* approaches [J]. Food and Bioprocess Technology, 2023, 138: 150-161.
- [37] LIU C, DING W, HUO Y, et al. Comprehensive assessment of peptide derived from pig spleen: preparation, bioactivity and structure-activity relationships [J]. Food Bioscience, 2023, 56: 103361.
- [38] KHODARAHMI M, JAVIDZADE P, FARHANGI M A, et al. Interplay between fatty acid desaturase2 (FADS 2) rs174583 genetic variant and dietary antioxidant capacity: cardiometabolic risk factors in obese individuals [J]. BMC Endocrine Disorders, 2022, 22(1): 167.
- [39] MAHMOUD E, STAROWICZ M, CISKA E, et al. Determination of volatiles, antioxidant activity, and polyphenol content in the postharvest waste of *Ocimum basilicum* L [J]. Food Chemistry, 2022, 375: 131692.
- [40] RAMESH L, BV L L, KUMAR M C. Identification and characterization of metal-chelating bioenhancer peptide derived from fermented *Citrullus lanatus* seed milk [J]. Journal of Food Biochemistry, 2022, 46(7): e14102.
- [41] CHOI S I, JUNG T D, CHO B Y, et al. Anti-photoaging effect of fermented agricultural by-products on ultraviolet B-irradiated hairless mouse skin [J]. International Journal of Molecular Medicine, 2019, 44(2): 559-568.
- [42] LIU N, WANG Y, AN X, et al. Study on the enhancement of antioxidant properties of rice bran using mixed-bacteria solid-

- state fermentation [J]. *Fermentation*, 2022, 8(5): 1-11.
- [43] 陈嘉佳,李璐,余元善,等.发酵蔬菜抗氧化活性的研究进展[J].*中国酿造*,2022,41(1):13-18.
- [44] SENAPHAN K, SANGARTIT W, PAKDEECHOTE P, et al. Rice bran protein hydrolysates reduce arterial stiffening, vascular remodeling and oxidative stress in rats fed a high-carbohydrate and high-fat diet[J]. *European Journal of Nutrition*, 2018, 57: 219-230.
- [45] JAN-ON G, TUBSAKUL A, SANGARTIT W, et al. Sang-Yod rice bran hydrolysates alleviate hypertension, endothelial dysfunction, vascular remodeling, and oxidative stress in nitric oxide deficient hypertensive rats [J]. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2021, 11(1): 10-19.
- [46] SUWANNACHOT P, THAWORNCHINSOMBUT S, JONGJAREONRAK A, et al. Supplementation with rice bran hydrolysates reduces oxidative stress and improves lipid profiles in adult dogs [J]. *Journal of Veterinary Medical Science*, 2023, 85(7): 727-734.
- [47] SAISAVOEY T, SANGTANOO P, REAMTONG O, et al. Antioxidant and anti-Inflammatory effects of defatted rice bran (*Oryza Sativa* L.) protein hydrolysates on raw 264.7 macrophage cells [J]. *Journal of Food Biochemistry*, 2016, 40(6): 731-740.
- [48] MORITANI C, KAWAKAMI K, FUJITA A, et al. Anti-oxidative activity of hydrolysate from rice bran protein in HepG2 cells [J]. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2017, 40(7): 984-994.
- [49] PEANPARKDEE M, BOROMPICHAICHARTKUL C, IWAMOTO S. Bioaccessibility and antioxidant activity of phenolic acids, flavonoids, and anthocyanins of encapsulated Thai rice bran extracts during *in vitro* gastrointestinal digestion [J]. *Food Chemistry*, 2021, 361: 130161.
- [50] LE B, ANH P T N, KIM J E, et al. Rice bran fermentation by lactic acid bacteria to enhance antioxidant activities and increase the ferulic acid, *p*-coumaric acid, and γ -oryzanol content [J]. *Journal of Applied Biological Chemistry*, 2019, 62(3): 257-264.
- [51] LINSÄNKART P, RUKSIRIWANICH W, JANTRAWUT P, et al. Natural melanogenesis inhibitor, antioxidant, and collagen biosynthesis stimulator of phytochemicals in rice bran and husk extracts from purple glutinous rice (*Oryza sativa* L. cv. Pieisu 1 CMU) for cosmetic application [J]. *Plants*, 2023, 12(4): 970.
- [52] DURAND E, BEAUBIER S, FINE F, et al. High metal chelating properties from rapeseed meal proteins to counteract lipid oxidation in foods: controlled proteolysis and characterization [J]. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 2021, 123(6): 2000380.
- [53] 吴伟,蔡勇建,吴晓娟,等.米糠贮藏时间对米糠蛋白结构的影响[J].*现代食品科技*,2017,33(1):173-178.
- [54] CHEN H, ZHAO M, LIN L, et al. Identification of antioxidative peptides from defatted walnut meal hydrolysate with potential for improving learning and memory [J]. *Food Research International*, 2015, 78: 216-223.
- [55] TIRONI V A, ANON M C. Amaranth proteins as a source of antioxidant peptides: effect of proteolysis [J]. *Food Research International*, 2010, 43(1): 315-322.
- [56] MINEO S, TAKAHASHI N, YAMADA-HARA M, et al. Rice bran-derived protein fractions enhance sulforaphane-induced anti-oxidative activity in gingival epithelial cells [J]. *Archives of Oral Biology*, 2021, 129: 105215.
- [57] SEPULVEDA C T, ZAPATA J E. Effects of enzymatic hydrolysis conditions on the antioxidant activity of red Tilapia (*Oreochromis* spp.) viscera hydrolysates [J]. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 2020, 21(12): 1249-1258.
- [58] KUBGLOMSONG S, THEERAKULKAIT C, REED R L, et al. Isolation and identification of tyrosinase-inhibitory and copper-chelating peptides from hydrolyzed rice-bran-derived albumin [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(31): 8346-8354.
- [59] LIU Y Q, STRAPPE P, SHANG W T, et al. Functional peptides derived from rice bran proteins [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2019, 59(2): 349-356.
- [60] SHI M, YANG Y P, JIN J, et al. Using defatted rice bran as a bioadsorbent for carrying tea catechins [J]. *Journal of Food Science*, 2015, 80(10): 2134-2139.