

综合利用

超声波辅助提取发芽糙米米糠多糖的工艺优化及其抗氧化活性研究

潘姝璇^{1,2},王嘉怡^{2,3},夏 陈²,蒲 彪¹,陈 建²,张盈娇¹,邓俊琳¹

(1. 四川农业大学 食品学院,四川 雅安 625014; 2. 四川省农业科学院 农产品加工研究所,成都 610066;

3. 四川大学 华西公共卫生学院,成都 610041)

摘要:研究超声波辅助水提发芽糙米米糠多糖的工艺优化及多糖的抗氧化活性。以单因素试验为基础,采用响应面法优化多糖的提取工艺,并以 DPPH·清除率和·OH清除率为指标考察其体外抗氧化活性。结果表明:在提取温度 40℃、液料比 14:1、超声功率 140 W、超声时间 76 min 条件下,发芽糙米米糠多糖的得率为 2.85%;米糠多糖对 DPPH·的最大清除率为 40.57%,对·OH的最大清除率达到 57.25%,高于同质量浓度 V_C 溶液的清除率。超声波辅助水提的发芽糙米米糠多糖具有较好的抗氧化能力。

关键词:发芽糙米米糠;多糖;超声波辅助提取;响应面法;抗氧化活性

中图分类号:TS213.3;O426.9 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2018)02-0124-05

Optimization of ultrasound – assisted extraction of polysaccharides from germinated brown rice bran and its antioxidant activity

PAN Shuxuan^{1,2}, WANG Jiayi^{2,3}, XIA Chen², PU Biao¹, CHEN Jian²,
ZHANG Yingjiao¹, DENG Junlin¹

(1. College of Food Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, Sichuan, China;

2. Institute of Agro – Products Processing Science and Technology, Sichuan Academy of Agricultural Sciences, Chengdu 610066, China; 3. West China School of Public Health, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

Abstract: The ultrasound – assisted water extraction of polysaccharides from germinated brown rice bran and its antioxidant activity were studied. On the basis of single factor experiment, the response surface methodology was used to optimize the extraction process of polysaccharides. The in vitro antioxidant activity of polysaccharides was also studied with DPPH· and ·OH scavenging rates as indexes. The results showed that the optimal extraction conditions were obtained as follows: extraction temperature 40℃, ratio of liquid to material 14:1, ultrasonic power 140 W and ultrasonic time 76 min. Under the optimal conditions, the yield of polysaccharides was 2.85%. The maximum DPPH· scavenging rate of the polysaccharides was 40.57%, and the maximum ·OH scavenging rate was 57.25%, which was higher than that of V_C. So the polysaccharides extracted from germinated brown rice bran by ultrasound – assisted water extraction process had good antioxidant activity.

Key words: germinated brown rice bran; polysaccharides; ultrasound – assisted extraction; response surface methodology; antioxidant activity

收稿日期:2017-05-19;修回日期:2017-10-17

基金项目:四川省农业科学院省财政创新能力提升工程专项资金特色产业培育工程项目(2016TSCY-012)

作者简介:潘姝璇(1992),女,硕士研究生,研究方向为农产品综合利用(E-mail)lvkui07@163.com。

通信作者:蒲 彪,教授(E-mail)pubiao2002@163.com;陈 建,研究员(E-mail)jc_saas@yahoo.com。

稻谷去掉稻壳后保留胚芽、糠层和胚乳的全谷米粒即为糙米。人们在长久的饮食过程发现,糙米不但能使人产生饱腹感,还对人体健康具有很多益处^[1]。但糙米口感粗糙,不适口,通过发芽处理后

的糙米不仅品质得到了较大的改善,而且富含许多生物活性物质,如 γ -氨基丁酸、植酸等。因此,发芽糙米营养较为全面,具有特殊的营养价值^[2]。发芽糙米的重要营养成分,如维生素、矿物质、氨基酸、膳食纤维和多糖等,都主要聚集在米糠部分^[3-4]。

发芽糙米经历了种子萌发的启动并激活了各种酶,由于生理过程中酶解作用,糙米中多糖的含量、结构、种类及其生物活性都有可能有所改变。基于此,本文采用超声波辅助提取发芽糙米米糠多糖并对其抗氧化活性进行研究,为发芽糙米的精深加工及增值产品的产业化开发提供基础研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

发芽糙米,市购;石油醚(35~60℃)、浓硫酸、硫酸亚铁、水杨酸、过氧化氢、葡萄糖,分析纯;苯酚,分析纯;DPPH·,梯希爱化成工业发展有限公司。

FA2104 电子天平, KH2200DE 型数控超声波清洗器, FY-250 中药粉碎机, UV-6100 扫描型紫外可见分光光度计, Gentrifuge 5180R 高速冷冻离心机。

1.2 试验方法

1.2.1 发芽糙米米糠的制备

将 50 kg 发芽糙米用碾米机去除胚乳(主要是淀粉)得到 4.5 kg 米糠。取 1.0 kg 米糠浸泡于 5 L 石油醚中并搅拌 4 h 脱脂处理后,过滤,置于通风橱风干,粉碎,过 60 目筛,密封保存,备用。

1.2.2 超声波辅助提取米糠多糖

称取 1.0 g 发芽糙米米糠粉,在 40℃ 条件下用去离子水按一定的液料比、超声时间及超声功率提取,离心,取 5 mL 上清液醇沉,离心,冷冻干燥后复溶于 5 mL 去离子水中。参考文献[5]的条件,在提取温度 40℃ 条件下,分别就液料比、超声功率和超声时间做单因素试验,同时采用响应面试验进行工艺优化。

1.2.3 多糖含量的测定

采用苯酚-硫酸法测定多糖含量^[6]。

标准曲线的制作:按照文献[5]配制 100 mg/L 葡萄糖标准溶液,分别准确吸取 0.0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.4 mL 于试管中,用去离子水将各管补至 2.0 mL 后,加入 1.0 mL 5% 的苯酚溶液并充分混匀,加入 5.0 mL 浓硫酸迅速摇匀,并于 40℃ 恒温水浴 15 min,冷却至室温,以加入去离子水 2 mL 为空白,在 490 nm 波长处测定不同质量浓度葡萄糖溶液的吸光度(A),以葡萄糖质量浓度为横坐标,吸光

度为纵坐标,绘制标准曲线并计算回归方程。

水提液中多糖含量的测定:取多糖提取溶液 1 mL 稀释 10 倍,取稀释后的多糖溶液 2.0 mL,对其进行多糖含量的测定,测定方法同 1.2.3,每个样品平行测定 3 次,由标准曲线计算水提液中多糖含量。按下式计算多糖得率。

$$\text{得率} = \frac{\text{水提液总糖质量} \times \text{稀释倍数}}{\text{样品质量}} \times 100\%$$

1.2.4 抗氧化活性测定

1.2.4.1 清除 DPPH· 能力的测定

根据文献[7-9]改进后进行清除 DPPH· 能力的测定。取 3.0 mL 不同质量浓度的样品溶液,分别加入 1.0 mL (0.2 mmol/L) DPPH· 乙醇溶液,混匀,避光环境下反应 0.5 h,以无水乙醇调零,于 517 nm 波长处测定吸光度 A_x 。将 1.0 mL 无水乙醇代替 DPPH· 溶液加入 3.0 mL 去离子水中为空白组,测得其吸光度 A_0 ;将 1.0 mL 无水乙醇代替 DPPH· 溶液加入 3.0 mL 不同质量浓度的样品溶液为相对应质量浓度样品溶液的本底组测得吸光度为 A_{x0} ,以同质量浓度的 V_c 溶液作为阳性对照,每个样品重复测 3 次,取平均值。按下式计算 DPPH· 清除率。

$$\text{DPPH} \cdot \text{清除率} = \frac{1 - (A_x - A_{x0})}{A_0} \times 100\%$$

1.2.4.2 清除·OH 能力的测定

根据文献[10-12]改进后进行清除·OH 能力的测定。取不同质量浓度的样品溶液 5.0 mL,分别加入 9 mmol/L FeSO_4 溶液 0.2 mL,再加 8.8 mmol/L H_2O_2 溶液 0.1 mL,摇匀,静置 10 min,再加入 9 mmol/L 的水杨酸溶液 0.3 mL,摇匀,37℃ 恒温水浴反应 30 min 后,于波长 510 nm 处测吸光度为 A_x ;以去离子水代替 H_2O_2 为样品本底组,测吸光度为 A_{x0} ;以去离子水代替样品溶液为空白对照组,测吸光度为 A_0 ;以 V_c 作为阳性对照,每个样品重复 3 次,取平均值。按下式计算·OH 清除率。

$$\cdot \text{OH} \text{清除率} = 1 - \frac{(A_x - A_{x0})}{A_0} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 标准曲线的绘制

按照 1.2.3,以葡萄糖质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制吸光度-葡萄糖质量浓度的关系曲线,得到标准曲线方程为 $y = 2.2663x - 0.012$, $R^2 = 0.9994$ 。结果表明葡萄糖标准溶液在 0.1~0.7 mg/mL 的质量浓度范围内与吸光度有良好的线性关系。

2.2 单因素试验

2.2.1 超声功率对发芽糙米米糠多糖得率的影响

在提取温度 40℃、液料比 15:1、超声时间 45 min 的条件下,考察超声功率对发芽糙米米糠多糖得率的影响,结果如图 1 所示。

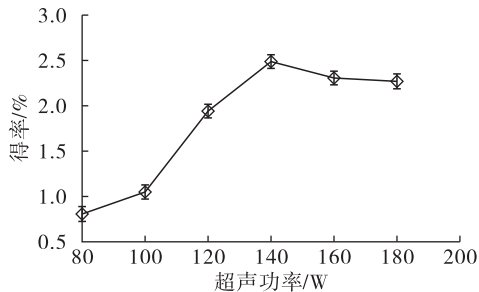


图 1 超声功率对发芽糙米米糠多糖得率的影响

由图 1 可知,超声功率在 80~140 W 的范围内时,多糖得率逐渐增加,超声功率在 140 W 时达到最大得率 2.49%,之后多糖得率随着超声功率的增加而逐渐缓慢降低。这可能是因为在一一定的超声时间内,超声功率越大超声波的空化作用越强,对米糠细胞的破碎作用越强,有助于米糠中多糖的溶出;当超声功率达到一定值后,因空化作用产生的大量气泡有碍于提取液渗透到物料的内部,导致细胞破碎作用减弱,进而影响了多糖的提取。因此,选择 140 W 为最佳超声功率。

2.2.2 液料比对发芽糙米米糠多糖得率的影响

在提取温度 40℃、超声功率 140 W、超声时间 45 min 的条件下,考察液料比对发芽糙米米糠多糖得率的影响,结果如图 2 所示。

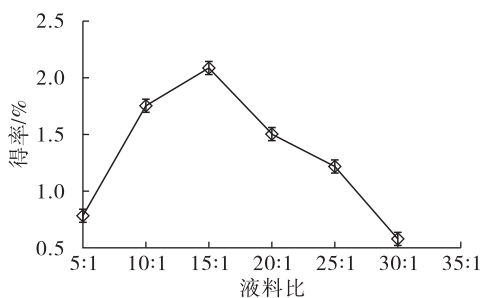


图 2 液料比对发芽糙米米糠多糖得率的影响

由图 2 可知,液料比在 5:1~15:1 的范围内时,多糖得率逐渐增大,液料比达到 15:1 时达到最大得率 2.09%。当液料比继续增大时,多糖得率开始降低。这可能是因为随着溶剂量的增加,物料与溶剂间的浓度差增加,因此加快了溶质的传递速度;但液料比过大之后增加了超声波对物料空化作用的阻力,导致了对细胞破碎能力的降低。因此,选择 15:1 为最佳液料比。

2.2.3 超声时间对发芽糙米米糠多糖得率的影响

在提取温度 40℃、超声功率 140 W、液料比 15:1 的条件下,考察超声时间对发芽糙米米糠多糖得率的影响,结果如图 3 所示。

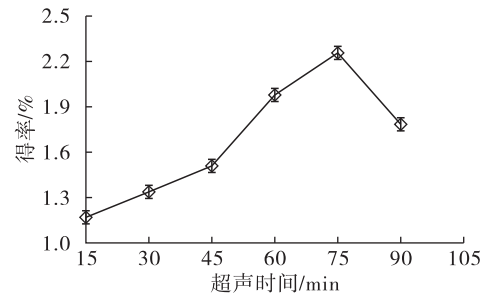


图 3 超声时间对发芽糙米米糠多糖得率的影响

由图 3 可知,超声时间在 15~75 min 范围内时,超声时间越长多糖得率逐渐增大,当超声时间为 75 min 时,达到最大得率 2.25%。但随着超声时间继续延长时,多糖得率反而逐渐降低。这可能是因为超声时间越长,加大了细胞的破碎程度使多糖的溶出量增加;但超声时间过长,杂质的溶出量增加而导致多糖的溶解度降低,也可能是因为超声波的剪切作用破坏了部分多糖的结构,因此降低了多糖得率。因此,选择 75 min 为最佳超声时间。

2.3 响应面法优化超声波辅助提取发芽糙米米糠多糖

2.3.1 响应面优化试验设计

根据单因素试验结果,在提取温度 40℃ 条件下,采用 Box-Behnken 模型,选择自变量为超声功率(A)、液料比(B)、超声时间(C),发芽糙米米糠多糖得率(Y)为响应值设计三因素三水平响应面试验设计^[13]。响应面因素水平见表 1,响应面试验设计及结果见表 2,响应面回归方程的方差分析见表 3。

表 1 响应面因素水平

水平	A 超声功率/W	B 液料比	C 超声时间/min
-1	120	10:1	60
0	140	15:1	75
1	160	20:1	90

表 2 响应面试验设计及结果

试验号	A	B	C	Y/%
1	-1	-1	0	1.85
2	0	-1	1	2.08
3	0	0	0	2.74
4	1	1	0	1.65
5	0	0	0	2.82
6	0	1	1	1.96
7	1	0	1	1.99
8	0	1	-1	1.74
9	1	0	-1	2.11
10	1	-1	0	1.99

续表 2

试验号	A	B	C	Y/%
11	0	0	0	2.79
12	0	0	0	2.81
13	-1	1	0	1.71
14	0	0	0	2.8
15	0	-1	-1	2.1
16	-1	0	1	2.17
17	-1	0	-1	1.73

根据表2 试验结果,运用 Design - Expert 8.0 数据统计软件进行多元回归拟合^[13],得到发芽糙米米糠多糖得率对自变量超声功率(A)、液料比(B)和超声时间(C)的二次多项回归方程: $Y = 2.79 + 0.035A - 0.12B + 0.065C - 0.05AB - 0.14AC + 0.06BC - 0.48A^2 - 0.51B^2 - 0.31C^2$ 。

表 3 响应面回归方程的方差分析

来源	平方和	自由度	均方	F	P
模型	3.017 9	9	0.335 3	313.80	<0.000 1**
A	0.009 8	1	0.009 8	9.17	0.019 2*
B	0.115 2	1	0.115 2	107.81	<0.000 1**
C	0.033 8	1	0.033 8	31.63	0.000 8**
AB	0.010 0	1	0.010 0	9.36	0.018 3*
AC	0.078 4	1	0.078 4	73.37	<0.000 1**
BC	0.014 4	1	0.014 4	13.47	0.008 0**
A ²	0.974 1	1	0.974 1	911.64	<0.000 1**
B ²	1.099 4	1	1.099 4	1 028.90	<0.000 1**
C ²	0.407 2	1	0.407 2	381.11	<0.000 1**
残差	0.007 5	7	0.001 1		
失拟	0.003 6	3	0.001 2	1.24	0.406 3
纯差	0.003 9	4	0.000 9		
总差	3.025 3	16			

注: ** 为极显著 ($P < 0.01$), * 为显著 ($P < 0.05$)。

由表3 可知,模型极显著 ($P < 0.000 1$),失拟不显著 ($P > 0.05$),变异系数 1.50%。相关系数 R^2 为 0.997 5,调整相关系数 R^2_{Adj} 为 0.994 3,说明模型拟合程度较好,可用于提取发芽糙米米糠多糖实验的预测。各因素对发芽糙米米糠多糖得率的影响程度大小为液料比 > 超声时间 > 超声功率。B、C、AC、BC、A²、B²、C² 影响极显著,A、AB 影响显著,说明各因素对多糖得率的影响均为非线性关系。

2.3.2 响应面的优化与验证(见表4)

由表4 可知,发芽糙米米糠多糖得率的预测值 2.80%,同验证试验所得得率平均值 2.85%,误差值为 1.78%,说明回归方程能有效地反映各因素对发芽糙米米糠多糖得率的影响,证明应用响应面法优化发芽糙米米糠多糖得率的回归模型可靠。

表 4 验证试验结果 ($n = 3$)

项目	超声功率/W	液料比	超声时间/min	得率/%	RSD/%
模拟优化	140.6	14.43:1	76.3	2.80	
验证	140.0	14:1	76.0	2.85	0.36

2.4 米糠多糖的抗氧化活性

2.4.1 对 DPPH· 的清除能力(见图4)

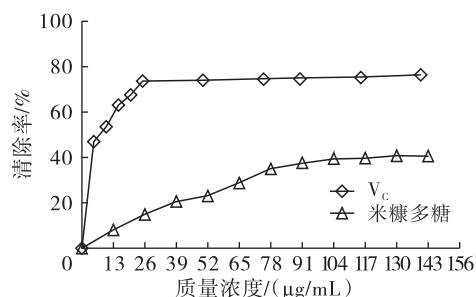


图 4 发芽糙米米糠多糖对 DPPH· 的清除作用

由图4 可知,超声波辅助提取的发芽糙米米糠多糖溶液 DPPH· 清除能力随着质量浓度的增大先增加后趋于平稳。在米糠多糖溶液质量浓度达到 117 $\mu\text{g/mL}$ 时,对 DPPH· 清除率达到最大值 40.57%。结果表明,虽然发芽糙米米糠多糖溶液对 DPPH· 的清除能力小于 V_c ,但比普通米糠多糖对 DPPH· 的清除能力大^[14]。其原因很可能是经历发芽过程,改变了糙米中多糖的理化性质及其生物活性。

2.4.2 对 ·OH 的清除能力(见图5)

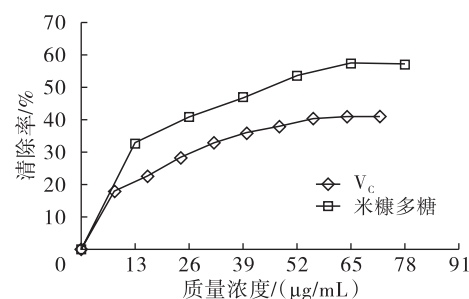


图 5 发芽糙米米糠多糖对 ·OH 的清除作用

由图5 可知,超声波辅助提取的米糠多糖溶液对 ·OH 清除能力随着质量浓度的增大先增加后趋于平稳。当米糠多糖溶液质量浓度达到 65 $\mu\text{g/mL}$ 时,对 ·OH 的清除率达到最大值 57.25%。发芽糙米米糠多糖溶液对 ·OH 有很强的清除能力,不仅比普通米糠多糖对 ·OH 的清除能力强^[14],甚至明显高于 V_c 的清除能力。结果表明糙米在发芽时启动并激活了各种酶,酶的作用改变了米糠多糖的理化性质并提高了米糠多糖的抗氧化能力。

3 结论

超声波辅助提取过程中,影响发芽糙米米糠多

糖得率的因素依次为:液料比 > 超声时间 > 超声功率。在最佳条件下,即提取温度 40 °C、液料比 14:1、超声功率 140 W、超声时间 76 min 时,发芽糙米米糠多糖得率为 2.85%。发芽糙米米糠多糖具有较强的抗氧化能力,不仅比普通米糠水提多糖的抗氧化活性高,而且对·OH 的清除能力高于 V_C。提示发芽糙米米糠多糖有更好的功能活性。

参考文献:

- [1] 张守文. 糙米的营养保健功能[J]. 粮食与饲料工业, 2003(12): 38-41.
- [2] 高丽红, 吴盛文, 何旭孔, 等. 糙米及其制品营养成分含量的比较[J]. 粮食与饲料工业, 2016(5): 4-5.
- [3] ZHOU Z, RAOBRDS K, HELLIWELL S, et al. Composition and functional properties of rice [J]. Int J Food Sci Technol, 2002, 37(8): 849-868.
- [4] LAMBERTS L, DEBIC E, VANDEPUTTE G E, et al. Effect of milling on colour and nutritional properties of rice [J]. Food Chem, 2007, 100(4): 1496-1503.
- [5] 王文平, 郭祀远, 李琳, 等. 苯酚-硫酸法测定野木瓜中多糖含量的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(4): 276-279.
- [6] 董群, 郑丽伊. 改良的苯酚-硫酸法测定多糖和寡糖含

(上接第 123 页)

参考文献:

- [1] GUILLÉN M D, RUIZ A, CABO N, et al. Characterization of sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil by FTIR spectroscopy and ¹H NMR. Comparison with linseed oil [J]. J Am Oil Chem Soc, 2003, 80(8): 755-762.
- [2] 刘瑞营. 提升生活品质造福人类健康——西双版纳印奇生物资源开发有限公司创新发展美藤果产业[J]. 中国科技产业, 2015(10): 78.
- [3] 张思佳, 黄璐, 熊周权, 等. 美藤果油研究进展[J]. 粮食与油脂, 2013, 26(6): 4-6.
- [4] 张嘉怡, 杜冰, 谢蓝华, 等. 绿色新资源食品——美藤果油[J]. 中国油脂, 2013, 38(7): 1-4.
- [5] 陈亮, 李医明, 陈凯先, 等. 植物多酚类成分提取分离研究进展[J]. 中草药, 2013(11): 1501-1507.
- [6] HUANG W Y, CAI Y Z, ZHANG Y. Natural phenolic compounds from medicinal herbs and dietary plants: potential use for cancer prevention [J]. Nutr Cancer, 2009, 62(1): 1-20.
- [7] 杨国峰, 周建新, 汪海峰, 等. 花生壳提取物的制备及其抗氧化与抗菌活性的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2007(2): 97-101.
- [8] 王彩云. 石榴叶多酚的提取富集工艺及其药理作用研究[D]. 北京:北京林业大学, 2013.
- [9] 王超华. 柿叶中酚类物质的提取、纯化及初步鉴定研究

量的研究[J]. 中国药学杂志, 1996, 31(9): 550-553.

- [7] 郭磊, 王嘉新, 皮佳玉, 等. 腾冲红花油茶多糖体外抗氧化活性研究[J]. 中国油脂, 2014, 39(3): 37-39.
- [8] 朱艳华, 谭军. 玉米多肽抗氧化作用的研究[J]. 中国粮油学报, 2008, 23(1): 36-43.
- [9] 叶文姣, 冯武, 黄文, 等. 蛹虫草胞外多糖的体外抗氧化活性分析[J]. 华中农业大学学报, 2014, 33(5): 105-110.
- [10] 涂宗财, 寇玉, 王辉, 等. 荷叶多糖的超声波辅助提取和抗氧化活性[J]. 食品科学, 2013, 34(16): 108-112.
- [11] 魏明, 王晨, 杨超英, 等. 酶法协同超声波提取米糠多糖及其抗氧化活性研究[J]. 中国油脂, 2015, 40(1): 78-82.
- [12] 殷军, 葛青, 毛建卫, 等. 竹叶多糖的组分及抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2013, 34(2): 100-103.
- [13] 董万领, 闫晓明, 程江华, 等. 响应面法优化水提菜籽多糖工艺[J]. 中国油脂, 2014, 39(4): 87-89.
- [14] ZHA X Q, WANG J H, YANG X F, et al. Antioxidant properties of polysaccharide fractions with different molecular mass extracted with hot-water from rice bran [J]. Carbohydr Polym, 2009, 78(3): 570-575.

[D]. 长沙:湖南农业大学, 2010.

- [10] 鲁晓翔, 赵晨光, 连喜军. 板栗壳多酚提取条件及其抗氧化性研究[J]. 食品研究与开发, 2008(3): 32-36.
- [11] GARRIDO I, MONAGAS M, GÓMEZ-COROVÉS C, et al. Extracción de antioxidantes a partir de subproductos del procesado de la almendra [J]. Grasas Y Aceites, 2007, 58(2): 130-135.
- [12] WEISZ G M, KAMMERER D R, CARLE R. Identification and quantification of phenolic compounds from sunflower (*Helianthus annuus* L.) kernels and shells by HPLC-DAD/ESI-MSn [J]. Food Chem, 2009, 115(2): 758-765.
- [13] SHAHIDI F, ALASALVAR C, LIYANA-PATHIRANA C M. Antioxidant phytochemicals in hazelnut kernel (*Corylus avellana* L.) and hazelnut byproducts [J]. J Agric Food Chem, 2007, 55(4): 1212-1220.
- [14] 卜彦花, 周娜娜, 王春悦, 等. 福林酚试剂法和紫外分光光度法测定冬枣多酚含量的比较研究[J]. 中国农学通报, 2012, 28(1): 212-217.
- [15] 何志勇. 橄榄酚类化合物的分离纯化和结构研究[D]. 江苏无锡:江南大学, 2007.
- [16] 童鑫, 张瑞芬, 邓媛元, 等. 米糠酚类物质的大孔树脂分离纯化工艺[J]. 中国农业科学, 2016, 49(19): 3818-3830.