

# 超声-微波协同提取富硒米糠蛋白的工艺优化及其抗氧化活性评价

贺远锐<sup>1</sup>, 谢勇<sup>1</sup>, 陈朝军<sup>1</sup>, 刘雄<sup>1,2</sup>, 王群<sup>3</sup>

(1. 西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2. 重庆西部食品产业技术研究院, 重庆 402260;

3. 重庆国科食品检测有限公司, 重庆 402260)

**摘要:**为解决富硒米糠蛋白提取率低、提取时间长及提取后功能特性下降等问题,以脱脂富硒米糠粉为原料,通过单因素试验和正交试验对超声-微波协同提取富硒米糠蛋白的工艺进行优化,通过与超声辅助法、微波辅助法和碱提法比较,探究该提取方法对富硒米糠蛋白的提取效果、抗氧化活性以及提取后米糠颗粒表面形貌变化的影响。结果表明,超声-微波协同提取富硒米糠蛋白的最佳工艺条件为超声功率 600 W、微波功率 500 W、提取时间 20 min、料液比 1:40,在此条件下富硒米糠蛋白的提取率为 86.94%,与超声辅助法、微波辅助法、碱提法相比富硒米糠蛋白提取率分别提高了 40.96%、48.00%、53.50%,并且提取的富硒米糠蛋白抗氧化能力和硒含量更高。扫描电镜结果显示,超声-微波协同提取后米糠颗粒表面疏松卷曲,完整皮层结构消失,说明超声-微波协同能通过强烈破坏米糠颗粒结构增加富硒米糠蛋白的提取率,并提高其抗氧化活性。综上,超声-微波协同提取技术能够促进富硒米糠蛋白的提取并提高其抗氧化活性。

**关键词:**富硒米糠;超声-微波提取;米糠蛋白;抗氧化活性

中图分类号:TS210.1;Q51 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2023)02-0041-07

## Optimization of ultrasonic - microwave assisted extraction of selenium - enriched rice bran protein and evaluation of its antioxidant activity

HE Yuanrui<sup>1</sup>, XIE Yong<sup>1</sup>, CHEN Zhaojun<sup>1</sup>, LIU Xiong<sup>1,2</sup>, WANG Qun<sup>3</sup>

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. Chongqing the West Food Industry Technology Research Institute, Chongqing 402260, China;

3. Chongqing Guoke Food Testing Co., Ltd., Chongqing 402260, China)

**Abstract:** In order to solve the problems of low extraction rate, long extraction time and decreasing functional properties of selenium - enriched rice bran protein (Se - RBP) after extraction, using defatted selenium - enriched rice bran powder as raw material, the process of ultrasonic - microwave assisted extraction (UMAE) of Se - RBP was optimized through single factor experiment and orthogonal experiment, and the extraction effect, antioxidant activity of Se - RBP extracted by UMAE and surface morphology changes of rice bran particles after UMAE were compared with ultrasonic - assisted extraction (UAE), microwave - assisted extraction (MAE) and alkali - assisted extraction (AAE). The results

showed that the optimal conditions of UMAE was ultrasonic power 600 W, microwave power 500 W, extraction time 20 min and material liquid ratio 1:40. Under these conditions, the extraction rate of Se - RBP was 86.94%, which increased by 40.96%, 48.00% and 53.50% compared with UAE, MAE and AAE, respectively, and the antioxidant capacity and selenium content of the

收稿日期:2021-12-19;修回日期:2022-10-09

基金项目:重庆市技术创新与应用发展专项面上项目(cstc2020jsex-msxmX0039);重庆市营养学会硒科研基金资助项目(2019008)

作者简介:贺远锐(1997),女,在读硕士,研究方向为粮食、油脂与植物蛋白(E-mail)742831120@qq.com。

通信作者:刘雄,教授,博士(E-mail)Liuxiong848@hotmail.com。

extracted Se - RBP were higher. The results of scanning electron microscopy showed that the surface of rice bran particles after UMAE was loosened and curled, and the intact cortex structure disappeared, indicating that UMAE could increase the extraction rate of Se - RBP by strongly destroying the structure of rice bran particles, and improve its antioxidant activity. The UMAE technology can promote the extraction of Se - RBP and improve its antioxidant activity.

**Key words:** selenium - enriched rice bran; ultrasound - microwave assisted extraction; rice bran protein; antioxidant activity

稻谷是重要的粮食产品,占我国居民口粮消费的60%<sup>[1]</sup>。米糠作为稻谷加工过程中的主要副产物,年产量超1 000万t<sup>[2]</sup>。目前,我国超过70%的米糠都作为废料丢弃或用作生产动物饲料<sup>[3]</sup>,没有得到充分利用。富硒米糠的应用现状也基本如此,其蛋白质含量高达13.4%<sup>[4]</sup>,这些蛋白质不仅具有米糠蛋白所特有的高消化率和低致敏性,还因富含硒元素而具有更多的生理功能。研究表明,硒是一种人体必需的微量矿物质元素,在抗氧化、抗肿瘤、拮抗重金属、预防心血管疾病、改善情绪、提高机体免疫力等方面起着重要作用<sup>[5]</sup>。目前我国有72%的地区存在缺硒现象,人们主要通过食用富硒食品和硒补充剂来改善因缺硒而引起的大骨节病、克山病等病症<sup>[6-7]</sup>。同时,与无机硒相比,有机硒无毒性、生物利用率高,更有利于发挥其生理功效<sup>[8]</sup>。富硒米糠蛋白(Se - RBP)作为一种高质、低毒的有机硒来源,既可缓解有机硒资源缺乏的问题,还能改善人们的硒营养水平。

米糠蛋白提取方法主要为碱提酸沉法,但该方法提取率低、提取时间长,并且碱会使蛋白质的某些结构发生变化,进一步影响米糠蛋白的功能特性<sup>[9-10]</sup>。近年来,一些新兴技术被广泛应用于蛋白提取中,其中超声波和微波是最常用的两种技术,其中:超声波产生的机械作用能够有效破坏细胞壁,加速传热和传质,使溶剂更好地渗透进细胞组织中,增加接触面积,从而提高蛋白提取效率<sup>[11]</sup>;微波可通过直接加热使样品基质内部的温度和压力升高,使目标化合物有效地转移到溶剂中<sup>[12]</sup>。虽然这些新兴技术显著提高了蛋白的提取效率,但同时也存在一些缺点,如微波加热不均匀,超声波控温难。与两种单一技术相比,超声 - 微波协同处理能够充分结合微波的高能效应和超声波的振动空化作用,是一种更具优势的蛋白提取方式<sup>[13-14]</sup>。研究发现,超声 - 微波协同提取与其他提取方法相比能够明显提高蛋白得率,缩短提取时间,目前已应用在花生蛋

白<sup>[15]</sup>、辣木叶蛋白<sup>[16]</sup>和南瓜籽蛋白<sup>[17]</sup>的提取中。但是超声 - 微波协同提取对Se - RBP功能(如抗氧化活性)的影响尚不知晓。

本研究拟通过单因素试验和正交试验探究超声 - 微波协同提取Se - RBP的工艺条件,并与碱提法、超声辅助法、微波辅助法的提取效果进行比较。此外,通过扫描电镜观察4种提取方法对米糠颗粒表面结构的影响,阐明不同提取方法影响Se - RBP提取率的可能机制,并在体外探究不同提取方法对Se - RBP DPPH自由基清除率、ABTS<sup>+</sup>自由基清除率、铁离子还原能力(FRAP)的影响,以期为Se - RBP的高值化利用提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 原料与试剂

富硒米糠,购自湖北恩施新塘乡。氢氧化钠、硫酸钾、无水硫酸铜、硫酸,均为分析纯;硝酸、盐酸、过氧化氢,均为优级纯,成都科隆化学品有限公司;DPPH、ABTS<sup>+</sup>试剂盒、FRAP试剂盒,北京索莱宝科技有限公司。

#### 1.1.2 仪器与设备

XH - 300B微波超声波组合合成萃取仪,北京祥鹤科技发展有限公司;SHZ - 88型水浴恒温振荡器,江苏常州朗越仪器制造有限公司;K9860全自动凯氏定氮仪,山东海能科学仪器有限公司;S - 3000N型扫描电子显微镜,日本HITACHI公司;BIOTEK型酶标仪,美国基因公司;AFS - 8520原子荧光光度计,北京海光仪器有限公司。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 样品前处理

称取100g新鲜的富硒米糠,加入500mL正己烷,在室温条件下搅拌脱脂1h,上述步骤重复2次后,将脱脂米糠置于通风橱风干24h,在45℃烘箱中低温烘干从而去除正己烷制得脱脂富硒米糠,在-4℃储存备用。

### 1.2.2 超声-微波协同提取 Se-RBP

称取 5 g 过 0.150 mm (100 目) 筛的脱脂富硒米糠粉, 按一定料液比加入去离子水, 用 2 mol/L NaOH 溶液调节 pH 为 9.0, 在 50 °C、一定超声功率、一定微波功率下提取一定时间后, 离心 (8 200 × g, 20 min) 收集上清液, 用 1 mol/L HCl 调节上清液 pH 至 3.0, 于 -4 °C 过夜沉淀, 离心 (4 612 × g, 10 min) 收集沉淀, 将沉淀用去离子水洗涤 3 次后复溶 (pH 调至 7.0), 冷冻干燥后获得 Se-RBP。

采用 GB 5009.5—2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》中的凯氏定氮法测定蛋白质含量, 并按公式(1)计算 Se-RBP 的提取率(Y)。

$$Y = x_1/x_2 \times 100\% \quad (1)$$

式中:  $x_1$  为上清液中蛋白质质量;  $x_2$  为富硒米糠中蛋白质质量。

### 1.2.3 碱提法(AAE)、微波辅助法(MAE)、超声辅助法(UAE)提取 Se-RBP

参照文献[18]采用 AAE 提取 Se-RBP; 参照 1.2.2 的方法分别采用 MAE (1.2.2 中去掉超声辅助) 和 UAE (1.2.2 中去掉微波辅助) 提取 Se-RBP。

### 1.2.4 扫描电镜分析

收集提取 Se-RBP 后的米糠粉末样品, 冷冻干燥后固定于导电胶上, 喷金处理, 用扫描电镜在放大

倍数为 2 500 倍下观察微观形貌, 同时以脱脂富硒米糠粉 (未处理) 为对照。

### 1.2.5 硒含量的测定

参照 GB 5009.93—2017《食品安全国家标准 食品中硒的测定》中的氢化物原子荧光光谱法测定样品中的硒含量, 绘制的标准曲线方程为  $y = 23.11x + 2.8582$  ( $R^2 = 0.9996$ ), 式中  $y$  为荧光强度,  $x$  为硒质量浓度。

### 1.2.6 抗氧化活性的测定

DPPH 自由基清除率参照 Chen 等<sup>[19]</sup> 的方法进行测定, ABTS<sup>+</sup> 自由基清除率参考试剂盒说明书测定, FRAP 参照试剂盒说明书测定。

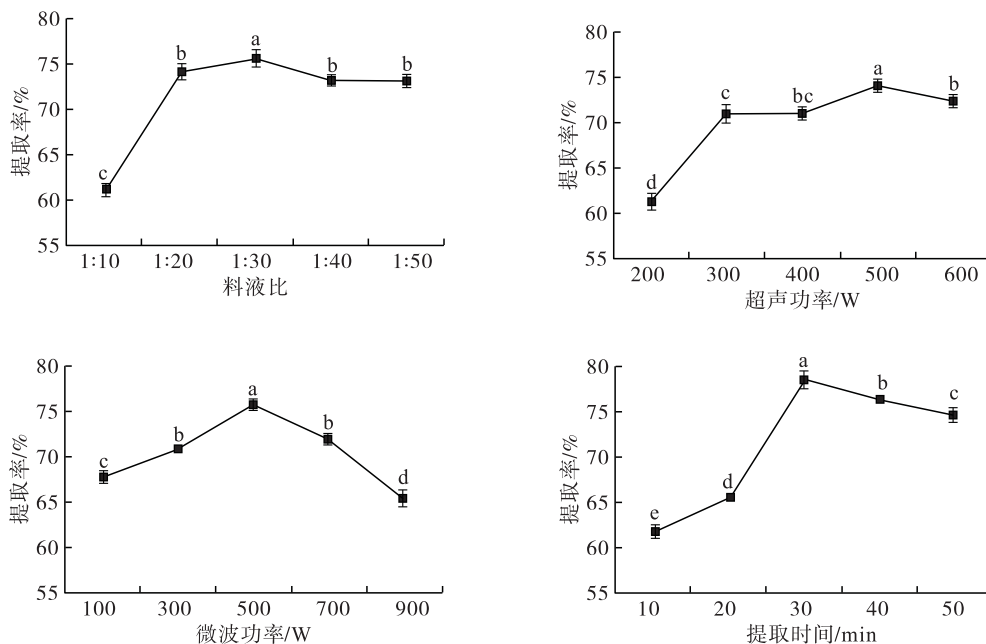
### 1.2.7 数据分析

使用软件 SPSS 26.0 进行 ANOVA 分析, 所有试验重复 3 次, 数据以“平均值 ± 标准差”表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 超声-微波协同提取 Se-RBP 单因素试验

初始提取条件为超声功率 500 W、料液比 1:30、提取时间 30 min、微波功率 700 W。通过单因素试验考察料液比 (1:10 ~ 1:50)、超声功率 (200 ~ 600 W)、微波功率 (100 ~ 900 W)、提取时间 (10 ~ 50 min) 4 个因素对 Se-RBP 提取率的影响, 结果见图 1。



注: 不同字母表示差异显著 ( $p < 0.05$ )

图 1 不同因素对 Se-RBP 提取率的影响

由图 1 可知, 随着料液比的增大, Se-RBP 的提取率逐渐升高, 当料液比为 1:30 时, Se-RBP 的提取率达到最大值, 为 75.51%, 进一步增大料液比,

Se-RBP 的提取率显著降低。这是因为富硒米糠中含有吸水膨胀性能较强的淀粉与膳食纤维, 当料液比较低时, 米糠-水混合液较黏稠, 从而导致流动

性较差,分子扩散速度慢,Se-RBP 溶出少,蛋白提取率低<sup>[20]</sup>;随着料液比的增加,米糠-水混合液的流动性变好,溶剂与物料间的接触面积变大,分子扩散速度加快,蛋白提取率也随之增大;而当料液比超过 1:30 时,一些杂质随蛋白质一起溶出,可能导致蛋白质溶出量减少,蛋白提取率降低。

由图 1 可知,Se-RBP 的提取率随着超声功率的增大而升高,当超声功率达到 500 W 时 Se-RBP 的提取率最高,为 74.15%。这是因为超声波空化强度的增加会促进对细胞结构组织的破坏,增加传质,加速细胞内溶质的释放,并且超声引起的机械振动还能扩大溶剂中液固相间的间隙,增大接触面积,从而提高 Se-RBP 提取率<sup>[21]</sup>;而当超声功率超过 500 W 时,空化强度增大所带来的强烈冲击波和剪切应力可能会损伤蛋白质的结构,从而导致蛋白提取率下降<sup>[22]</sup>。

由图 1 可知,Se-RBP 的提取率随着微波功率的增加先升高后降低,在微波功率 500 W 时提取率最高。在微波功率 100~500 W 时,微波处理能够在植物细胞中局部加热,破坏植物基质,使蛋白质扩散出来并溶解在溶剂中<sup>[23]</sup>。但当进一步提高微波功率时,微波处理产生的高温会导致蛋白质分解和结构损伤,使 Se-RBP 的提取率下降。

由图 1 还可知,随着提取时间的延长,Se-RBP 的提取率呈先升高后降低的趋势。在提取时间 30 min 时,Se-RBP 提取率达到最大,为 78.82%。这是因为超声波与微波的协同作用能够有效促进 Se-RBP 的溶出,并随着提取时间的延长而逐渐增强;而提取时间超过 30 min 时,蛋白质发生聚集和变性,提取率降低<sup>[24]</sup>。

## 2.2 超声-微波协同提取 Se-RBP 正交试验

在单因素试验的基础上,选取超声功率(A)、微波功率(B)、提取时间(C)、料液比(D)为考察因素,以 Se-RBP 提取率为指标进行  $L_9(3^4)$  正交试验,优化超声-微波协同提取 Se-RBP 的工艺条件。正交试验因素与水平见表 1,正交试验设计及结果见表 2,方差分析见表 3。

表 1 正交试验因素与水平

水平	超声 功率/W	微波 功率/W	提取 时间/min	料液比
1	400	300	20	1:20
2	500	500	30	1:30
3	600	700	40	1:40

表 2 正交试验设计及结果

试验号	A	B	C	D	提取率/%
1	1	1	1	1	66.31 ± 0.01
2	1	2	2	2	69.77 ± 1.45
3	1	3	3	3	70.08 ± 0.64
4	2	1	2	3	70.51 ± 1.81
5	2	2	3	1	70.31 ± 1.81
6	2	3	1	2	68.81 ± 2.13
7	3	1	3	2	71.99 ± 1.25
8	3	2	1	3	86.94 ± 1.57
9	3	3	2	1	66.32 ± 3.15
$k_1$	68.72	69.60	74.02	67.65	
$k_2$	69.88	75.67	68.87	70.19	
$k_3$	75.08	68.40	70.79	75.84	
R	6.36	7.27	5.15	8.19	

表 3 方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F
A	206.687	2	103.343	31.151**
B	273.188	2	136.594	41.174**
C	122.058	2	61.029	18.396**
D	317.149	2	158.575	47.800**
误差	59.715	18	3.317	

注:\*\*表示差异极显著( $p < 0.01$ )

由表 2 和表 3 可知:4 个因素对 Se-RBP 提取率均有极显著的影响( $p < 0.01$ );4 个因素对 Se-RBP 提取率的影响程度为  $D > B > A > C$ ;提取条件最佳因素水平组合为  $A_3B_2C_1D_3$ ,在该组合下 Se-RBP 提取率可达 86.94%。故最终确定超声-微波协同提取 Se-RBP 的最佳工艺条件为超声功率 600 W、提取时间 20 min、微波功率 500 W、料液比 1:40。

## 2.3 Se-RBP 不同提取方法提取效果的比较

比较 AAE、MAE、UAE 和超声-微波协同法(UMAE)(后 3 种方法均在本文优化条件下进行提取)4 种不同提取方法对 Se-RBP 提取效果的影响,结果如表 4 所示。由表 4 可知,UMAE 提取的 Se-RBP 纯度与 MAE、UAE 相比差异不显著( $p > 0.05$ ),而显著低于 AAE( $p < 0.05$ ),UMAE 的 Se-RBP 提取率显著高于 AAE、UAE、MAE 的( $p < 0.05$ ),分别高出 53.50%、40.96%、48.00%。这是因为超声波和微波的协同作用能够有效地破坏米糠细胞的细胞壁,增加溶剂的可及性,有利于蛋白质的溶出<sup>[14]</sup>。其中 MAE 与 AAE 的 Se-RBP 提取率虽差异不显著( $p > 0.05$ ),但 MAE 极大地缩短了提取时间,提高了 Se-RBP 的提取效率。

由表4还可知,不同提取方法对Se-RBP中硒含量的影响程度不同,UAE提取的Se-RBP中硒含量最高,与UAE、MAE、AAE相比分别提高了48.98%、7.88%和62.22%,但UAE与MAE之间不具有显著差异( $p > 0.05$ ),而与UAE、AAE差异显著( $p < 0.05$ )。这可能是因为超声-微波的协同作用能够将细胞基质分解得更彻底,有助于更多的生物活性成分被提取出来<sup>[25]</sup>,从而使UAE提取的Se-RBP中硒含量更高。此外,UAE提取的Se-RBP的硒含量(2.19 mg/kg)与富硒米糠原料中的硒含量相比(1.00 mg/kg)提高了119%,说明Se-RBP的UAE提取过程富集了硒。

表4 不同提取方法提取效果的比较

提取方法	提取率/%	蛋白硒含量/(mg/kg)	蛋白纯度/%
UAE	86.94 ± 1.57 <sup>a</sup>	2.19 ± 0.24 <sup>a</sup>	65.31 ± 1.20 <sup>b</sup>
UAE	61.68 ± 1.61 <sup>b</sup>	1.47 ± 0.10 <sup>b</sup>	66.67 ± 3.68 <sup>b</sup>
MAE	58.74 ± 1.27 <sup>c</sup>	2.03 ± 0.19 <sup>a</sup>	66.47 ± 0.37 <sup>b</sup>
AAE	56.64 ± 1.12 <sup>c</sup>	1.35 ± 0.15 <sup>b</sup>	70.84 ± 0.96 <sup>a</sup>

注:同列肩标字母不同表示差异显著( $p < 0.05$ )

#### 2.4 不同提取方法对Se-RBP抗氧化活性的影响

图2为4种不同提取方法对Se-RBP DPPH自由基清除率、ABTS<sup>+</sup>自由基清除率、FRAP的影响。由图2可知,Se-RBP的DPPH自由基清除率较强,在蛋白质量浓度0.25~3.0 mg/mL的范围内,随着质量浓度的增加其DPPH自由基清除率逐渐增强,具有良好的正相关性。通过比较IC<sub>50</sub>得到4种方法提取的Se-RBP的DPPH自由基清除能力强弱顺序为UAE(IC<sub>50</sub> = 0.85 mg/mL) > MAE(IC<sub>50</sub> = 1.09 mg/mL) > AAE(IC<sub>50</sub> = 1.15 mg/mL) > UAE(IC<sub>50</sub> = 1.18 mg/mL),说明UAE显著提高了Se-RBP的DPPH自由基清除能力( $p < 0.05$ )。

由图2可知,与其他3种方法相比,UAE的Se-RBP ABTS<sup>+</sup>自由基清除力最强,清除率最高为83.85%。经拟合计算,UAE、UAE、MAE、AAE 4种方法提取的Se-RBP ABTS<sup>+</sup>自由基清除率的IC<sub>50</sub>分别为12.66、15.39、14.83、15.17 mg/mL,可见UAE提取的Se-RBP ABTS<sup>+</sup>自由基清除能力最强,UAE的最弱,这与DPPH自由基清除能力的测定结果一致。

由图2还可知,不同方法提取的Se-RBP的FRAP与DPPH、ABTS<sup>+</sup>自由基清除能力的变化趋势类似。Se-RBP的FRAP随着蛋白质量浓度的增加而增加,且UAE提取的Se-RBP具有最高的FRAP,

在质量浓度为25 mg/mL时,FRAP达到1.78 mmol/L。这可能是UAE提取的Se-RBP具有较高的硒含量,导致其具有更高的FRAP。

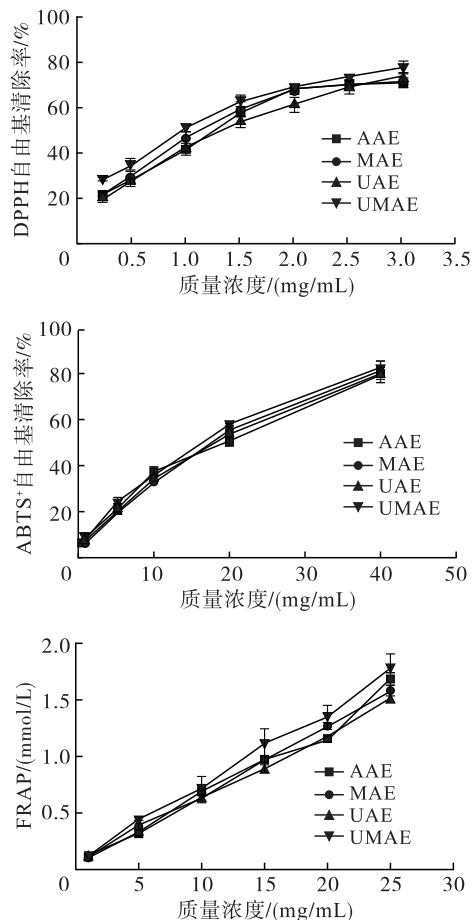


图2 不同提取方法对Se-RBP抗氧化活性的影响

#### 2.5 不同提取方法对富硒米糠显微结构的影响

不同提取方法处理后的米糠颗粒表面结构如图3所示。由图3a可知,未处理的米糠颗粒表面相对完整光滑,且颗粒较大。由图3b可知,AAE处理后米糠颗粒明显减小,能明显观察到破裂的细胞壁结构。由图3c可知,MAE处理后米糠细胞壁表面结构被破坏,出现少量孔洞。这是因为微波作为一种高频电磁波,能够在短时间内迅速转化生成热能,升高细胞内部压力和温度,促进细胞壁基质的破坏<sup>[26]</sup>。由图3d可知,UAE处理后样品表面被破碎得更加细小、均匀,出现了明显的空隙和孔洞。这是因为超声波的空化力会在介质中形成高剪切力,使得空化气泡爆裂进一步产生微射流,从而产生表面剥离、侵蚀和颗粒破碎等多种效应<sup>[27]</sup>。由图3e可知,UAE处理后样品组织结构变得更加疏松卷曲,整个皮层结构被完全破坏。这是因为超声-微波协同处理能够有效地将微波的高能作用与超声波的空化作用相结合,加强了对组织细胞结构的破坏<sup>[28]</sup>。疏松的结构增加了细胞内物质与溶剂的相互作用,

促使细胞内的蛋白质溶出,从而提高了 Se - RBP 的提取率。扫描电镜图显示的细胞破坏程度结果与提

取率结果是一致的。

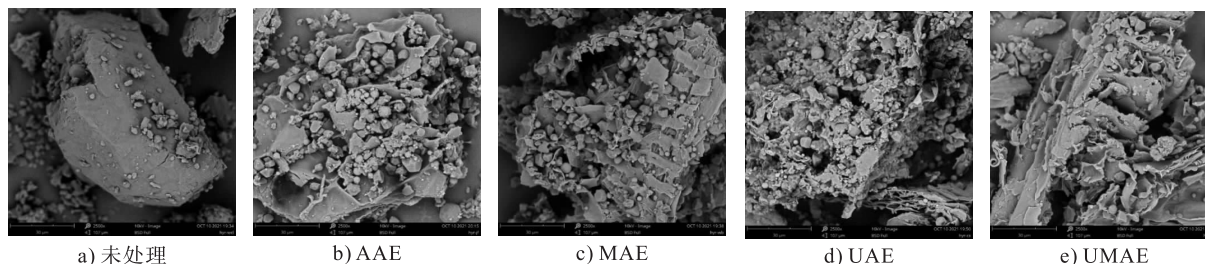


图3 不同提取方法处理后米糠的扫描电镜图

### 3 结论

(1) 超声 - 微波协同提取富硒米糠蛋白的最佳工艺条件为超声功率 600 W、微波功率 500 W、提取时间 20 min、料液比 1:40。在最佳条件下,富硒米糠蛋白的提取率为 86.94%,与超声辅助法、微波辅助法、碱提法相比显著增加( $p < 0.05$ ),且硒含量(2.19 mg/kg)最高。

(2) 超声 - 微波协同提取的富硒米糠蛋白的抗氧化活性显著高于超声辅助法、微波辅助法、碱提法( $p < 0.05$ )。在相同的蛋白质质量浓度下,超声 - 微波协同提取的蛋白 FRAP 最强,其 DPPH 和 ABTS<sup>+</sup> 自由基清除能力的 IC<sub>50</sub> 分别为 0.85 mg/mL 和 12.66 mg/mL,优于其他 3 种提取方法的。

(3) 扫描电镜结果显示不同提取方法对富硒米糠表面形貌的破坏程度大小顺序为超声 - 微波协同法 > 超声辅助法 > 微波辅助法 > 碱提法 > 未处理。超声 - 微波协同处理后米糠的结构更加疏松多孔,更有利于蛋白质的溶出。

综上,超声 - 微波协同法能够更大程度破坏米糠颗粒结构,显著提高富硒米糠蛋白的提取率、抗氧化活性以及硒含量,表明超声 - 微波协同提取技术在富硒米糠蛋白提取方面具有较大应用前景,为富硒米糠资源的开发利用提供了新的途径。

#### 参考文献:

[1] 陈静,唐振闯,程广燕. 我国稻谷口粮消费特征及其趋势预测[J]. 中国农业资源与区划, 2020, 41(4): 108 - 116.

[2] 朱珈庆,李帅斐,于雷,等. 米糠蛋白碱法提取联合微波与酶法改性工艺的优化[J]. 粮食与油脂, 2017, 30(7): 60 - 64.

[3] HUANG S Y, BENCHAMAS G, HUANG G L, et al. Whole processing and use of rice polishings[J/OL]. Innov Food Sci Emerg, 2020, 63: 102373 [2021 - 12 - 19]. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102373>.

[4] 胡秋辉,陈曦,方勇,等. 富硒米糠蛋白的优化制备及其蛋白营养复配研究[J]. 中国农业科学, 2014, 47(2): 374 - 382.

[5] ZHAO M, LUO T, ZHAO Z X, et al. Food chemistry of selenium and controversial roles of selenium in affecting blood cholesterol concentrations[J]. J Agric Food Chem, 2021, 69(17): 4935 - 4945.

[6] WANG Z, GAO Y. Biogeochemical cycling of selenium in Chinese environments[J]. Appl Geochem, 2001, 16(11/12): 1345 - 1351.

[7] NAVARRO - ALARCON M, CABRERA - VIQUE C. Selenium in food and the human body: a review[J]. Sci Total Environ, 2008, 400(1/2/3): 115 - 141.

[8] RAYMAN M. The importance of selenium to human health [J]. Lancet, 2000, 356(9225): 233 - 241.

[9] 张琴秋,秦文,胡欣洁. 米糠蛋白提取和利用的研究进展[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(19): 307 - 313.

[10] FABIAN C, JU Y H. A review on rice bran protein: its properties and extraction methods[J]. Crit Rev Food Sci Nutr, 2011, 51(9): 816 - 827.

[11] WEN L, ALVAREZ C, ZHANG Z H, et al. Optimisation and characterization of protein extraction from coffee silverskin assisted by ultrasound or microwave techniques [J]. Biomass Convers Biorefin, 2021, 5(11): 1575 - 1585.

[12] MUNOZ - ALMAGRO N, MORALES - SORIANO E, VILLAMIEL M, et al. Hybrid high - intensity ultrasound and microwave treatment: a review on its effect on quality and bioactivity of foods [J/OL]. Ultrason Sonochem, 2021, 80: 105835 [2021 - 12 - 19]. <https://doi.org/10.1016/j.ultrsonch.2021.105835>.

[13] LU X, ZHENG Z C, LI H, et al. Optimization of ultrasonic - microwave assisted extraction of oligosaccharides from lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) seeds[J]. Ind Crops Prod, 2017, 107: 546 - 557.

[14] CHEN Y Y, GU X H, HUANG S Q, et al. Optimization of ultrasonic/microwave assisted extraction (UMAE) of polysaccharides from *Inonotus obliquus* and evaluation of its anti - tumor activities[J]. Int J Biol Macromol, 2010, 46(4): 429 - 435.

[15] OCHOA - RIVAS A, NAVA - VALDEZ Y, SERNA - SALDIVAR S O, et al. Microwave and ultrasound to

- enhance protein extraction from peanut flour under alkaline conditions: effects in yield and functional properties of protein isolates [J]. *Food Bioprocess Technol*, 2017, 10(3): 543–555.
- [16] CHENG F F, SHU G W, CHEN L, et al. Ultrasound – microwave assisted extraction of proteins from *Moringa oleifera* leaves: comparative optimization study and LC – MS analysis of the protein concentrate [J/OL]. *J Food Process Preserv*, 2021, 6(45): 15547 [2021 – 12 – 19]. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15547>.
- [17] LIU R L, YU P, GE X L, et al. Establishment of an aqueous PEG 200 – based deep eutectic solvent extraction and enrichment method for pumpkin (*Cucurbita moschata*) seed protein [J]. *Food Anal Methods*, 2017, 10(6): 1669 – 1680.
- [18] CHANDI G K, SOGI D S. Functional properties of rice bran protein concentrates [J]. *J Food Eng*, 2007, 79(2): 592 – 597.
- [19] CHEN D J, SUN H Y, SHEN Y X, et al. Selenium bio – absorption and antioxidant capacity in mice treated by selenium modified rice germ polysaccharide [J/OL]. *J Funct Foods*, 2019, 61: 103492 [2021 – 12 – 19]. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103492>.
- [20] 冯海云. 富硒米糠微波稳定化研究和蛋白提取工艺 [D]. 南京: 南京农业大学, 2010.
- [21] WANG F, ZHANG Y Z, XU L, et al. An efficient ultrasound – assisted extraction method of pea protein and its effect on protein functional properties and biological activities [J/OL]. *LWT – Food Sci Technol*, 2020, 127: 109348 [2021 – 12 – 19]. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109348>.
- [22] ZHANG Y P, WANG B, ZHANG W N, et al. Effects and mechanism of dilute acid soaking with ultrasound pretreatment on rice bran protein extraction [J]. *J Cereal Sci*, 2019, 87: 318 – 324.
- [23] GUO Z B, ZHAO B B, LI H, et al. Optimization of ultrasound – microwave synergistic extraction of prebiotic oligosaccharides from sweet potatoes (*Ipomoea batatas* L.) [J]. *Innov Food Sci Emerg*, 2019, 54: 51 – 63.
- [24] WU W F, JIA J, WEN C R, et al. Optimization of ultrasound assisted extraction of abalone viscera protein and its effect on the iron – chelating activity [J/OL]. *Ultrason Sonochem*, 2021, 77: 105670 [2021 – 12 – 19]. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105670>.
- [25] SILLERO L, PRADO R, LABIDI J. Simultaneous microwave – ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from bark [J/OL]. *Chem Eng Process*, 2020, 156: 108100 [2021 – 12 – 19]. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2020.108100>.
- [26] XU L, HE W J, LU M, et al. Enzyme – assisted ultrasonic – microwave synergistic extraction and UPLC – QTOF – MS analysis of flavonoids from Chinese water chestnut peels [J]. *Ind Crops Prod*, 2018, 117: 179 – 186.
- [27] CHEMAT F, ROMBAUT N, SICAIRE A G, et al. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review [J]. *Ultrason Sonochem*, 2017, 34: 540 – 560.
- [28] HU B, LI Y, SONG J X, et al. Oil extraction from tiger nut (*Cyperus esculentus* L.) using the combination of microwave – ultrasonic assisted aqueous enzymatic method – design, optimization and quality evaluation [J/OL]. *J Chromatogr A*, 2020, 1627: 461380 [2021 – 12 – 19]. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2020.461380>.

· 公益广告 ·

