

# 米糠肽抗氧化活性研究

刘梁<sup>1</sup>, 孙维矿<sup>1</sup>, 赵玲<sup>1</sup>, 李赫宇<sup>2</sup>, 陈新<sup>1\*</sup>

(1. 武汉轻工大学生物与制药工程学院, 湖北 武汉 430023;

2. 天津市益倍建生物技术有限公司, 天津 300457)

**摘要:** 过 $\alpha$ -脱氧核糖氧化法测定了米糠提取物及纯化米糠肽水解前、后对羟基自由基和超氧阴离子的清除能力; 结果显示米糠醇总提取物的比单纯米糠肽的清除羟基自由基和超氧阴离子的能力更强, 且经水解后二者的抗氧化性均显著增强。

**关键词:** 米糠; 抗氧化; 羟基自由基; 超氧阴离子

## Study on the Antioxidant Activity of Rice Bran

LIU Liang<sup>1</sup>, SUN Wei-kuang<sup>1</sup>, ZHAO Ling<sup>1</sup>, LI He-yu<sup>2</sup>, CHEN Xin<sup>1\*</sup>

(1. School of biological and pharmaceutical engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, Hubei, China; 2. Tianjin Ubasichealth Nutrition Co., Ltd., Tianjin 300457, China)

**Abstract:** The scavenging capacity to hydroxyl free radical and superoxide radical by rice bran peptide and the total extract of rice bran were determined through alpha deoxyribose oxidation method. The results showed that the total extract of rice bran had a more significant capacity to scavenge the hydroxyl free radical and superoxide anion radical, and the antioxidant capacity were significantly enhanced after they been hydrolyzed.

**Key words:** rice bran; antioxidant; hydroxy radical; superoxide radical

近些年, 功能活性肽因其健康安全等特点已成为食品领域研究最为热门的课题之一, 而从植物蛋白中提取活性肽更受人们青睐, 其中抗氧化肽尤其受到人

作者简介: 刘梁(1981—), 男(汉), 讲师, 博士, 研究方向: 食品功能因子研究。

\* 通信作者

们的关注<sup>[1-2]</sup>。相关研究表明证明米糠蛋白水解提取物的抗氧化值为 19.9 mg/g, 约为 V<sub>c</sub> 的 27 倍, 约为大豆肽的 1.9 倍<sup>[3]</sup>。由 6~30 个氨基酸组成, 分子量在 70 u~3 600 u 的米糠肽具有强抗氧化性<sup>[4]</sup>。张强等通过酶解米糠蛋白制备得到的米糠抗氧化肽, 对常见的自由基如 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 和 ·OH 均具有良好的捕获能力<sup>[5]</sup>。梅德军等选

## 参考文献:

- [1] 胡国华, 杨帆, 马正智, 等. 米糠多糖的研究及应用进展[J]. 中国食品添加剂, 2007(5): 80-85
- [2] 王梅, 赵凤敏, 刘威, 等. 米糠多糖的提取、分析及应用[J]. 中国食物与营养, 2010(2): 40-43
- [3] 姜元荣, 姚惠源, 王勇, 等. 米糠多糖 BPR 及 BPR-II 对小鼠体外细胞因子分泌的影响研究[J]. 粮食科技与经济, 2014, 4(39): 61-63
- [4] 姜元荣, 姚惠源, 陈正行. 米糠多糖的生物活性研究进展[J]. 食品科技, 2002(10): 66-68
- [5] 陈明, 汪善锋. 米糠多糖的提取工艺及其生物活性的研究进展[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(6): 173-176
- [6] 赵倩, 熊善柏, 邵小龙, 等. 米糠多糖的提取及性质和结构[J]. 中国粮油学报, 2008, 23(3): 4-7
- [7] 汪艳, 吴曙光, 徐伟, 等. 米糠多糖抗肿瘤作用及其作用的部分机制[J]. 中国药理学通报, 1999, 15(1): 70-72
- [8] 姜元荣, 姚惠源, 陈正行. 碱溶性米糠多糖的提取及其免疫调节功能研究[J]. 中国粮油学报, 2004: 19(6): 1-7
- [9] 丘玉昌, 吴曙光, 徐伟. 米糠多糖的提取及免疫调节作用[J]. 中国生化药物杂志, 1999, 20(2): 91-93
- [10] 易翠萍, 王立, 姚惠源. 米糠多糖研究进展[J]. 粮食与油脂, 2003(2): 20-22

用两种蛋白酶木瓜和风味蛋白酶水解制备米糠制得抗氧化肽<sup>⑨</sup>。通过酶水解法制得的米糠抗氧化肽的水解度为 23.67%，对 DPPH 自由基清除率可达 64.26%<sup>⑩</sup>。从目前的研究看来，从米糠中提取单一抗氧化物质，利用率不高<sup>⑪</sup>。不同天然抗氧化成分之间存在着协同效应，复合组方抗氧化功能比单一组分更好<sup>⑫</sup>。目前，将米糠肽作为抗氧化成分的单方或复方商业化产品基本上没有，但是鉴于大豆蛋白和活性肽产品的成功开发，米糠活性肽及其复合物又具有抗氧化的生理活性使得其将会是食品行业的研究热点<sup>[10-11]</sup>。基于米糠总提取物及米糠肽水解前后抗氧化活性的变化，测定了不同浓度米糠总提取物及米糠蛋白抗氧化提取物清除羟自由基( $\cdot\text{OH}$ )和超氧阴离子自由基( $\text{O}_2\cdot^-$ )能力，研究酶解工艺对米糠多肽抗氧化活性的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料与试剂

米糠提取物有本实验提取所得；EDTA、 $\text{H}_2\text{O}_2$ 、Tris、乙醇、邻苯三酚：国药集团； $\text{FeSO}_4$ 、抗坏血酸、三氯乙酸、硫代巴比妥酸、盐酸：科密欧公司； $\alpha$ -脱氧核糖，北京奥博星生物公司；乙酸，天大化学试剂厂。

### 1.2 仪器和设备

电子天平(AL204-01)：梅特勒-托利多仪器有限公司；电子恒温不锈钢水浴锅(HHS-2S)：上海光地仪器设备有限公司；紫外-可见分光光度计(752N)：上海光谱仪器有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 羟自由基( $\cdot\text{OH}$ )清除能力的测定方法

采用  $\alpha$ -脱氧核糖氧化法测定。10 mmol/L 的  $\text{FeSO}_4$ -EDTA 混和液取 0.2 mL 于具塞试管中，加入 0.20 mL 的  $\alpha$ -脱氧核糖溶液 (10 mmol/L)，然后加入 0.20 mL 的 2、4、6、8、10 mg/mL 的样品 (米糠总提取物或纯化米糠肽) 溶液，并用 pH=7.4 磷酸盐缓冲液定容到 1.8 mL，最后加入 0.20 mL 的 10 mmol/L 的双氧水，混匀后于 37 °C 水浴中保温 1 h，然后加入 1 mL 质量分数 2.8% 的三氯乙酸(TCA)溶液，加入质量分数 1.0% 硫代巴比妥酸(TBA)溶液 1.00 mL，混匀后沸水浴加热 10 min；冷却后，在 532 nm 波长下用紫外分光光度计检测，以蒸馏水为参比，测得其吸光度为  $A_1$ 。同上操作处理，不加异黄酮溶液，测定其对比吸光度  $A_2$ 。其他处理同上，不加异黄酮溶液且不在 37 °C 水浴中反应，测定空白吸光度  $A_3$ 。样品的自由基清除能力(scavenging activity, SA)可表示为： $\text{SA}(\%) = [1 - (A_1 - A_3) / (A_2 - A_3)] \times 100$ 。

#### 1.3.2 超氧阴离子自由基( $\text{O}_2\cdot^-$ )清除能力的测定方法

在 pH8.2, 2.8 mL 50 mmol/L 的 Tris-HCl 缓冲液中加入 0.1 mL 蒸馏水，于 25 °C 保温 10 min，加入 25 °C 预热的 60 mmol/L 的邻苯三酚 0.1 mL，总体积为 3.0 mL，迅速混匀，转移至比色杯中，在 420 nm 处，每隔 30 秒测一次吸光度，作为对比。测得吸光度记做  $A_1$ 。同上，在缓冲体系中加入 0.1 mL 米糠总提取物或纯化米糠肽溶液，测得吸光度记做  $A_2$ 。其它条件相同，在同样的缓冲体系中加入 25 °C 预热的 10 mmol/L 的盐酸 0.1 mL，测得吸光度记做  $A_3$ 。通过公式“清除率/ % =  $(A_1 - (A_2 - A_3)) / A_1 \times 100$ ”计算超氧阴离子自由基清除率。

## 2 结果与讨论

### 2.1 米糠酶解前后羟自由基( $\cdot\text{OH}$ )清除能力测定

利用芬顿(Fenton)反应体系产生  $\cdot\text{OH}$ ，通过考察和分析  $\cdot\text{OH}$  对 2-脱氧核糖分子的氧化及破坏情况，确定米糠肽、米糠提取物以及二者水解产物的存在是否对  $\cdot\text{OH}$  具有清除能力，保护 2-脱氧核糖分子不被氧化破坏。分别利用 2、4、6、8、10 mg/mL 的样品溶液，测定相应的羟自由基清除率，实验结果如图 1~图 2 所示。

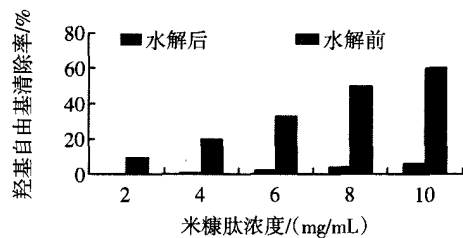


图 1 米糠肽水解前后羟自由基清除作用

Fig.1 The scavenging capacity to hydroxyl free radical by rice bran peptide before and after hydrolysis

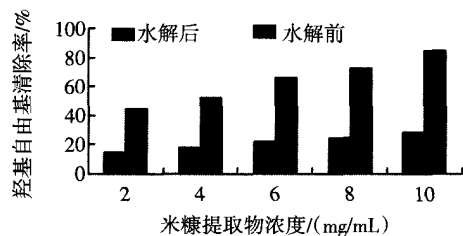


图 2 米糠水解后提取物羟自由基清除作用

Fig.2 The scavenging capacity to hydroxyl free radical by the total extract of rice bran before and after hydrolysis

在邻苯三酚在自氧化反应中，随着米糠提取物浓度的增大对邻苯三酚自氧化抑制就越强，在 420 nm 处形成的有光吸收的中间产物越少，样品吸光度  $A_2$  相应数值也越低，从而清除率逐渐增大。实验结果如图 1、2 所示，米糠总提取物和米糠肽都具有一定的羟基自由

基清除能力,且米糠总提取物的清除能力强于纯化米糠肽;米糠总提取物和米糠肽在经过水解后对羟基自由基的清除能力均显著增强;随着受试样品浓度的增大,受试样品对羟基自由基的清除能力逐渐增强。

## 2.2 米糠酶解前后超氧阴离子自由基清除能力测定

分别利用 2、4、6、8、10 mg/mL 的样品溶液,测定相应的超氧自由基清除率,如图 3~图 4 所示。

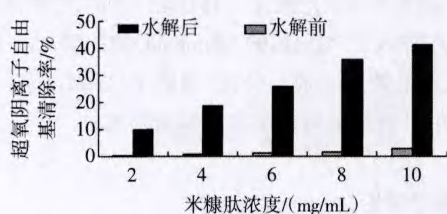


图 3 米糠肽水解前后超氧阴离子自由基清除能力比较

Fig.3 The scavenging capacity to superoxide radical by rice bran peptide before and after hydrolysis

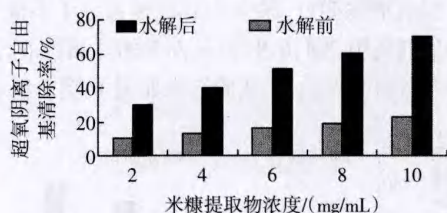


图 4 米糠酶解前后醇提物超氧阴离子自由基清除能力比较

Fig.4 The scavenging capacity to superoxide radical by the total extract of rice bran before and after hydrolysis

实验结果如图 3、4 所示,超氧自由基清除率随样品浓度增大而增大。米糠酶解醇提物和米糠肽对超氧阴离子自由基的清除能力明显大于酶解前超氧阴离子自由基清除能力。

## 3 结论

对米糠总提取物、纯化米糠肽以及二者水解产物的抗氧化活性进行了比较研究,实验结果证实,米糠总提取物、纯化米糠肽以及二者水解产物均有对 $\cdot\text{OH}$ 和 $\text{O}_2\cdot$ 的清除能力,二者对 $\cdot\text{OH}$ 和 $\text{O}_2\cdot$ 的清除能力随浓度增加而增强。进一步对比分析可得出以下结论,米糠总提取物的抗氧化活性强于纯化米糠肽,二者的水解产物的抗氧化活性强于水解前。

## 参考文献:

- [1] 周小理,李红敏.植物抗氧化(活性)肽的研究进展[J].食品工业,2006(3):11-13
- [2] 包斌,德力格尔桑,许勤.抗氧化肽的研究进展[J].内蒙古农业大学学报,2004,25(1):121-124
- [3] 刘友明,赵思明,熊善柏,等.米糠的蛋白水解提取物抗氧化活性及分子量分布研究[J].中国粮油学报,2006,21(2):1-4
- [4] 张强,周正义,马玉涵,等.米糠抗氧化活性的研究[J].中国粮油学报,2008,23(5):9-12
- [5] 李文林,黄凤洪.天然抗氧化剂研究现状[J].粮食与油脂,2003(10):10-13
- [6] 金世合,陈正行.米糠蛋白提取和功能性性质研究[J].粮食与油脂,2003(6):21-22
- [7] 付岩松,罗霞,张心昱,等.米糠抗氧化肽对 D-半乳糖致衰小鼠肝线粒体的保护[J].食品工业科技,2010,31(6):310-316
- [8] 樊金娟,罗霞,董智.米糠抗氧化肽的提取和纯化工艺研究[J].食品科技,2008,33(12):169-173
- [9] 樊金娟,罗霞,付岩松.米糠抗氧化肽大鼠体外抗氧化作用研究[J].食品科学,2010,31(9):251-254
- [10] 赵东海,张建平,王云.米糠蛋白提取工艺和功能性性质评价[J].食品工业,2005(5):9-11
- [11] 樊金娟,付岩松,宗立立.米糠抗氧化肽的抗衰老作用[J].食品科学,2010,31(23):40-43

收稿日期:2014-10-13

## 《食品研究与开发》编辑部常年办理订阅读手续

地址:天津市静海县静海经济开发区南区科技路 9 号

邮编:301609

邮汇收款人:《食品研究与开发》编辑部

电话:022-59525671

