

黑白两种糯米米糠可溶性膳食纤维的特性 及对淀粉体外消化吸收的影响

张 灿 孙梦洋 胡 凯 谢笔钧 孙智达

华中农业大学食品科技学院, 武汉 430070

摘要 以黑糯米米糠和白糯米米糠2种米糠为原料, 从中提取可溶性膳食纤维(soluble dietary fiber, SDF), 比较两者的理化性质和生物活性, 通过模拟葡萄糖体外消化和吸收试验, 探讨SDF降低餐后血糖水平的作用机制。结果表明, 黑糯米米糠和白糯米米糠的红外和紫外光谱特征显示两者均具有多糖的典型特征; 黑糯米米糠SDF的酚含量、粘度、相对分子质量、聚集颗粒的组装、表面孔隙率和孔径、抗氧化性等均有利于其对葡萄糖的吸附和抑制葡萄糖的扩散, 效果优于白糯米米糠SDF; 而白糯米米糠SDF的溶解度、抑制淀粉的消化和 α -淀粉酶活力的能力却大于黑糯米米糠SDF。上述结果说明, 黑糯米米糠SDF具备更好的营养价值和生物活性。

关键词 糯米米糠; 可溶性膳食纤维; 葡萄糖; 淀粉; 体外消化

中图分类号 TS 210.9 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2017)05-0081-09

米糠是糙米表皮层和少量米胚的混合物^[1], 米糠质量占稻谷质量的6%左右^[2], 而其营养成分占稻谷总营养成分的60%。我国米糠产量位居世界第一, 但是大部分被用作畜禽饲料, 只有少部分的米糠被用于榨油, 利用米糠作为原料提取肌醇、谷维素、植酸钙等附加值较高产品的则更少。发达国家对稻米及其副产品的深加工已经实现产业化。例如, 从米糠中提取可溶性米糠营养素、米糠蛋白、米糠多糖、米糠纤维等作为功能因子添加到保健品中, 具有降血脂、降血糖的功效^[3-4]。膳食纤维具有多种生理活性, 但是目前国内外关于米糠可溶性膳食纤维降血糖的研究报道较少, 且作用机制也不明确。袁尔东等^[5]发现富含果胶或瓜儿豆胶的膳食纤维可以提高糖尿病小鼠的葡萄糖耐受量, 可能是因为膳食纤维能增加胃和肠道的黏度, 从而延缓了葡萄糖的扩散。研究发现, 燕麦麸皮膳食纤维可以通过抑制淀粉酶的作用, 降低淀粉的消化率, 从而使葡萄糖的释放速率降低^[6-8]。Weickert等^[9]通过人体试验, 证明谷物膳食纤维可以改善末梢组织对胰岛素的受性, 降低机体对胰岛素的需求, 从而降低糖尿病患者的血糖水平。上述研究结果表明, 不同原料来源的可溶性膳食纤维对葡萄糖的吸附、葡萄糖的扩

散、淀粉酶的活性会产生不同的作用。

黑糯米, 俗称“补血糯”, 营养成分多集中于种皮和胚芽, 其蛋白质、植物脂肪、维生素、矿物质、花色苷的含量均高于白糯米。因此, 本研究针对富有抗氧化性的可溶性膳食纤维利用率低的情况, 考察黑糯米米糠可溶性膳食纤维的提取方法、理化特性及生物活性, 并与白糯米来源的米糠膳食纤维进行比较, 结合体外模拟葡萄糖消化和吸收试验, 综合分析SDF降低餐后血糖水平可能的机制, 为不同来源米糠的应用和相关产品的开发提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

黑糯米为常熟黑糯(A5 QS1020-2), 白糯米为荃香糯S(R767), 由广东省农科院提供; α -淀粉酶(10 000 U/mL), 北京双旋微生物培养基制造厂; 碱性蛋白酶, 上海源叶生物科技有限公司; 无水乙醇、95%乙醇、无水乙醚、氢氧化钠、盐酸、硫酸、正己烷、亚甲蓝、甲基红、丙酮、溴化钾、过硫酸钾、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)等, 均购于上海国药化学试剂有限公司; 葡萄糖、木糖、半乳糖、阿拉伯糖、甘露糖等均购于上海源叶生物科技

有限公司;葡萄糖检测试剂盒,上海荣盛生物药业有限公司;福林酚试剂、没食子酸,美国 Sigma 公司。上述化学试剂均为分析纯。

SHZ-82A 恒温水浴振荡器,常州国华电器有限公司;DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器,上海东玺制冷仪器设备有限公司;5805AN 冷冻离心机,德国 Eppendorf 公司;UV-2100 型紫外可见分光光度计,上海尤尼柯仪器有限公司;JSM-6390LV 扫描电镜,日本 NTC 公司。

1.2 试验方法

1) 脱脂米糠的制备。采用新鲜米糠(过孔径 0.45 mm 孔筛),与正己烷按照 1:4(*m/V*)比例混合,在室温下恒温水浴振荡 12 h,静置,倾去上层液并回收正己烷,重复上述操作 3 次,以完全除去米糠中的脂质。所得沉淀物即为脱脂米糠,于室温干燥,收集置于冰箱待用。

2) 米糠可溶性膳食纤维的制备。精确称量 10 g 脱脂米糠,加至 300 mL 蒸馏水中,用 0.1 mol/L NaOH 调节 pH 至 7.0,加入 5% 混合酶(α -淀粉酶:糖化酶=1:3),60 °C 提取 1.5 h,沸水浴 10 min 灭酶。调节 pH 至 8.2,加入 0.2 g 碱性蛋白酶,65 °C 提取 2.5 h,沸水浴 10 min 灭酶活。于 8 000 r/min 离心 10 min 取上清液,浓缩,调节 pH 至 7.0,按 1:4(*V/V*)加入预热至 60 °C 的 95% 乙醇,静置过夜,于 8 000 r/min 离心 10 min,取下层沉淀,真空冷冻干燥。

1.3 米糠测定

1) 基本成分测定。分别采用国标中规定的方法,分析米糠原料和可溶性膳食纤维中的灰分(GB 5009.4—2010)、膳食纤维(GB 5009.88—2014)、脂肪(GB 5512—2008)、淀粉(GB 5009.9—2008)、水分(GB 5009.3—2010)和蛋白质(GB 5009.5—2010)含量。

2) 总酚含量测量。提取游离酚:称取脱脂米糠 0.2 g,加入丙酮:水:乙酸(体积比为 70:29.5:0.5)的混合液 4 mL,振荡摇匀 2 h,在 10 000 r/min,20 °C 条件下离心 20 min,收集上清液,重复操作 2 次。将 3 次所得上清液混合,并用 100% 二甲亚砜重构。

提取结合酚:收集上述离心后的残渣,加入 2 mol/L NaOH 4 mL,充入氮气并盖紧塞子,室温下振荡 2 h,调节 pH 至 1,用乙酸乙酯萃取 3 次,收集上层液体,真空浓缩,并用 100% 二甲亚砜重构。

酚含量的测量:取二甲亚砜重构液 0.05 mL,加入超纯水 0.55 mL,20% 福林酚试剂 0.25 mL,充分混匀,静置 5 min。加入 0.5 mol/L 的乙醇胺 0.5 mL,室温下反应 90 min。紫外 760 nm 处测其吸光值。酚含量用没食子酸含量/样品质量表示,mg/g。计算公式如下:

$$TPC = \frac{C \times V \times D_F}{m} \quad (1)$$

式(1)中:*C* 为从标准曲线中得出的没食子酸质量浓度,μg/mL; *V* 为样品提取物体积, mL; *D_F* 为稀释倍数; *m* 为样品质量,g。

3) 粘度和溶解性分析。粘度:称取定量样品粉末并配制成不同浓度的溶液,调节体系 pH,在一定温度下保温 20 min,测定不同浓度溶液的粘度。

溶解性:称取质量为 *m* 的干燥可溶性膳食纤维,加入去离子水,调节 pH 至 7.0,一定温度(25、40、55、70、85、100 °C)下搅拌 30 min,于 3 500 r/min 离心 10 min,记录上清液体积 *V*,准确移取上清液 10 mL 加入在烘箱恒质量以后的称量皿里质量记为 *m₁*,再将该称量皿放入烘箱干燥至恒质量^[10]。经过恒质量记为 *m₂*,样品溶解率的测定方法可以用下面的公式计算:

$$\text{溶解率} = \frac{m_2 - m_1}{m} \times \frac{V}{10} \times 100\% \quad (2)$$

式(2)中:*m₁* 为可溶性膳食纤维溶液加入称量皿恒质量后的质量,g; *m₂* 为称量皿恒质量的质量,g; *m* 为样品质量,g; *V* 为记录的上清液的体积, mL。

4) 相对分子质量及相对分子质量分布分析。采用高效凝胶渗透色谱分析 SDF 样品的相对分子质量。以 0.05 mol/L Na₂SO₄ 为流动相,经 0.45 μm 微孔滤膜,上样,进样量 20 μL; 检测温度 35 °C; 流速 0.8 mL/min; 色谱柱, PL aquagel-OH MIXED (7.5 mm × 300 mm, 8 μm)。

5) 分子聚集状态。配置一定浓度的样品溶液,置于光学显微镜下观察其聚集状态。

6) 紫外和红外光谱分析。将样品制成 0.1 mg/mL 的水溶液,紫外 190~700 nm 处扫描进行光谱分析。按照质量比 1:50 称取定量干燥的 SDF 和溴化钾粉末,置于玛瑙研钵中,并在红外灯附近研磨均匀,压制透明完整的薄片。置于红外扫描仪中,迅速扫描,得到样品的红外光谱图。

7) 超微结构分析。取少量干燥的 SDF 粉末,用

溅射镀膜法进行镀金处理,并置于扫描电镜(SEM)下观察。

1.4 体外抗氧化能力分析

1)DPPH自由基清除能力的测定。准确量取不同质量浓度的样品溶液及0.2 mmol/L的DPPH乙醇溶液各2 mL,混合均匀,室温条件下避光反应30 min,置于紫外517 nm处测其吸光值。对照组是2 mL蒸馏水代替样品溶液,空白组是2 mL无水乙醇代替DPPH溶液,以Vc作为阳性对照^[11]。米糠可溶性膳食纤维对DPPH自由基的清除率计算公式:

$$\text{消除率} = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100\% \quad (3)$$

式(3)中, A_0 为对照组吸光度; A_i 为样品组吸光度; A_j 为空白组吸光度。

2)还原力的测定。取不同质量浓度的样品溶液1 mL,加入0.2 mol/L磷酸盐缓冲液(PBS, pH 6.6)和1%六氰合铁酸钾溶液各2.5 mL,混合均匀,50℃恒温水浴20 min后迅速冷却,加入10%三氯乙酸溶液2.5 mL,于3 000 r/min离心10 min,取上清液2.5 mL,加入2.5 mL蒸馏水、0.1%的三氯化铁溶液0.5 mL,混匀后静置10 min,紫外700 nm处测其吸光值,吸光度越大,说明样品的还原能力越强^[12]。

3)ABTS自由基清除能力的测定。量取7 mmol/L ABTS水溶液和2.45 mmol/L过硫酸钾水溶液各5 mL,混合均匀置于暗处室温反应12 h,用水稀释,使其在紫外734 nm处的吸光度为0.70±0.02。取不同质量浓度的样品溶液1 mL,ABTS⁺溶液2 mL,均匀混合,静置10 min,紫外734 nm处测吸光度。对照组为ABTS⁺溶液2 mL和1 mL蒸馏水;空白组为2 mL蒸馏水与1 mL样液。以Vc作为阳性对照^[13]。清除率的计算公式如下所示:

$$\text{消除率} = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100\% \quad (4)$$

式(4)中: A_0 为对照组吸光度; A_i 为样品组吸光度; A_j 为空白组吸光度。

1.5 体外模拟葡萄糖消化和吸收试验

1)葡萄糖吸附能力的测定。准确称取0.25 g米糠可溶性膳食纤维,加至25 mL葡萄糖溶液(5~150 mmol/L)中,混合液置于37℃搅拌反应6 h。4 000 r/min离心20 min,取上清液,采用葡萄糖试剂盒测定上清液中的葡萄糖含量。同时将25 mL葡

萄糖溶液作为阳性对照,0.25 g米糠可溶性膳食纤维加25 mL去离子水作为阴性对照。米糠可溶性膳食纤维吸附葡萄糖的能力(mg/g)表示为:

$$\text{葡萄糖吸附能力} = \frac{A - (A_1 - A_2)}{m} \quad (5)$$

式(5)中, A 为阳性对照组葡萄糖生成量; A_1 为样品组葡萄糖生成量; A_2 为阴性对照组葡萄糖生成量; m 为样品质量。

2)抑制葡萄糖扩散的能力测定。将0.5 g米糠可溶性膳食纤维与25 mL葡萄糖溶液(50 mmol/L)混匀装入15 cm长的透析袋(截留相对分子质量12 000)中,透析液为200 mL去离子水,在37℃透析4.5 h,分别在反应20、30、60、90、120、150、180、210、240、270 min时,取100 μL透析液,采用葡萄糖试剂盒测定其中的葡萄糖含量。同时将25 mL葡萄糖溶液作为阳性对照,0.5 g米糠可溶性膳食纤维加25 mL去离子水作为阴性对照^[14]。

3)对淀粉消化的影响。淀粉溶液的制备:精确称量40 g马铃薯淀粉,加入0.05 mol/L的磷酸盐缓冲液(pH 6.5)900 mL,70℃水浴锅中搅拌糊化30 min,定容至1 000 mL。

淀粉消化率测定:量取25 mL马铃薯淀粉溶液,加入0.10 g α-淀粉酶和0.25 g米糠可溶性膳食纤维,混合液装入15 cm长的透析袋(截留相对分子质量12 000)中。以200 mL去离子水为透析液,在37℃下透析3 h,分别在反应时间为20、30、60、90、120、150和180 min时取100 μL透析液,采用葡萄糖试剂盒测定其中的葡萄糖含量。同时将0.10 g α-淀粉酶加25 mL马铃薯淀粉溶液作为阳性对照,0.25 g米糠可溶性膳食纤维加25 mL马铃薯淀粉溶液作为阴性对照^[15]。

4)对α-淀粉酶的活性抑制能力测定。量取40 mL马铃薯淀粉溶液,加入1.0 g米糠可溶性膳食纤维和4 mg α-淀粉酶,混合液置于37℃搅拌反应30 min。3 500 r/min离心15 min,取上清液,采用葡萄糖试剂盒测定其中生成的葡萄糖量。同时将4 mg α-淀粉酶加40 mL马铃薯淀粉溶液作为阳性对照,1.0 g米糠可溶性膳食纤维加40 mL马铃薯淀粉溶液作为阴性对照^[16]。米糠可溶性膳食纤维对α-淀粉酶的抑制能力计算方法如下:

$$\text{α-淀粉酶抑制能力} = \frac{A - (A_1 - A_2)}{A} \times 100\% \quad (6)$$

式(6)中, A 为阳性对照组葡萄糖生成量; A_1 为样品组葡萄糖生成量; A_2 为阴性对照组葡萄糖生

成量。

1.6 数据处理方法

每个试验重复3次,结果用平均数±标准偏差表示。数据用SPSS 16.0版和Origin 9.0进行统计学分析,通过一元方差分析(One-Way ANOVA)进行多个组之间平均数的比较,若组间存在显著差异($P<0.05$),用Duncan's进行多组间多重比较,对2

个组间平均数进行t检验。

2 结果与分析

2.1 米糠原料和可溶性膳食纤维基本成分

表1显示黑糯米米糠中水分、蛋白质、脂肪、灰分的含量高于白糯米米糠,说明黑糯米米糠富含更高的营养成分。

表1 米糠原料的基本成分

Table 1 Content of rice bran proximate composition

基本成分	Basic ingredients	黑糯米米糠	Black glutinous rice bran	白糯米米糠	White glutinous rice bran	%
水分	Moisture		11.87±0.48*		9.82±0.42	
蛋白质	Protein		9.27±0.51*		7.24±0.32	
脂肪	Fat		10.27±0.44*		7.84±0.29	
淀粉	Starch		6.18±0.21		8.77±0.33*	
灰分	Ash		9.56±0.32*		7.31±0.26	
总膳食纤维	Total dietary fiber		51.25±1.98*		57.80±1.25	
可溶性膳食纤维	Soluble dietary fiber		5.34±0.20		7.26±0.31*	
不溶性膳食纤维	Insoluble dietary fiber		43.18±1.20		47.74±0.94*	

注: * 表示在0.05水平(双侧)上显著相关,下同。Note: * indicates a significant correlation at the 0.05 level (both sides), the same as follows.

按照试验方法所制得的可溶性膳食纤维,对其成分进行定量分析,结果如表2所示。SDF的纯度

表2 米糠可溶性膳食纤维的基本成分(均以干基计)

Table 2 Content of soluble dietary fiber composition

基本成分	Basic ingredients	SDF1	SDF2	%
蛋白质	Protein	1.65±0.07*	0.72±0.03	
脂肪	Fat	0.92±0.04	0.78±0.02	
淀粉	Starch	0.62±0.02	1.31±0.06*	
灰分	Ash	1.46±0.07*	0.90±0.01	
可溶性膳食纤维	Soluble dietary fiber	90.69±3.05	93.21±3.85*	
花色苷	Anthocyanins	6.42±0.29*	0.00	
还原糖	Reducing sugar	12.24±0.60	17.53±0.85*	
总糖	Total sugar	75.17±3.37*	65.88±3.12	

注: SDF1:黑糯米米糠可溶性膳食纤维 Soluble dietary fiber from black glutinous rice bran; SDF2:白糯米米糠可溶性膳食纤维 Soluble dietary fiber from white glutinous rice bran.

高达90%以上,而SDF中残留的蛋白质、淀粉的含量很少,说明酶在合适的条件下能有效地去除原料中的蛋白质和淀粉。脂肪含量显著降低,说明正己烷具有很好的脱脂作用。对比2种SDF,发现黑糯米米糠SDF中花色苷和总糖含量显著高于白糯米米糠SDF,而白糯米米糠SDF的纯度和还原糖含量高于黑糯米米糠SDF。

2.2 总酚含量、溶解性及粘度

由表3可知,米糠原料、SDF、IDF中游离多酚的含量黑糯米显著高于白糯米,并且米糠原料中的多酚富集于SDF中。

由图1A可知,SDF的溶解率随温度升高呈先增大后趋于平缓的趋势,并且白糯米米糠SDF的溶解率大于黑糯米米糠SDF,可能是由于白糯米米糠SDF的还原糖含量高于黑糯米米糠SDF,并且其中的灰分含量也比黑糯米米糠SDF少,使其较易溶解。

表3 总酚在米糠中的分布

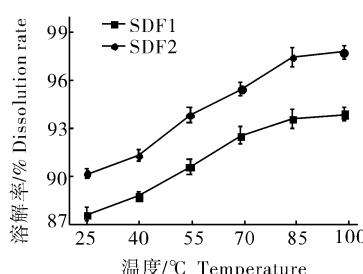
Table 3 Distribution of total phenol in rice bran

项目	Item	米糠 1 Rice bran 1	米糠 2 Rice bran 2	SDF1	SDF2	IDF1	IDF2	mg/g
游离酚	Free phenol	3.22±0.15*	2.11±0.12	10.31±0.48*	7.82±0.32	1.82±0.08*	0.82±0.04	
结合酚	Bound phenol	5.66±0.26	6.21±0.31*	0.31±0.01*	0.17±0.01	6.12±0.29	6.21±0.28	
总酚	Total phenol	8.88±0.39*	8.32±0.41	10.62±0.51*	7.99±0.29	7.94±0.36*	7.03±0.30	

注 Note: IDF1:黑糯米米糠不溶性膳食纤维 Insoluble dietary fiber from black glutinous rice bran; IDF2:白糯米米糠不溶性膳食纤维 Dietary fiber from white glutinous rice bran.

图 1B 表明,当 SDF 含量不断增加时,SDF 的粘度也不断增加,并且黑糯米米糠 SDF 粘度强于白糯米米糠 SDF 的趋势越来越明显。原因可能有以下

两点:一是黑糯米米糠 SDF 中的多糖含量高于白糯米米糠 SDF;二是黑糯米米糠 SDF 聚集颗粒大于白糯米米糠 SDF,使得含量增加,粘度增大。



A: 温度对米糠 SDF 溶解率的影响 Effect of temperature on the dissolution rate of SDF; B: 含量对米糠 SDF 粘度的影响 Effect of concentration on the viscosity of SDF.

图 1 温度对米糠 SDF 溶解率及浓度对米糠 SDF 粘度的影响

Fig.1 Effect of temperature on the dissolution rate of SDF and concentration on the viscosity of SDF

2.3 相对分子质量及相对分子质量分布

选取相对分子质量分别为 186、3 000、6 000、7 000、10 000 的葡聚糖标准品做相对分子质量分布的标准曲线。根据图 2 给出的 2 种米糠来源 SDF

的相对分子质量分布,结合标准曲线,分析结果如表 4 所示。2 种米糠 SDF 的相对分子质量相近,并且出峰时间范围均较窄,都只有单一峰,说明制备的样品纯度较高。

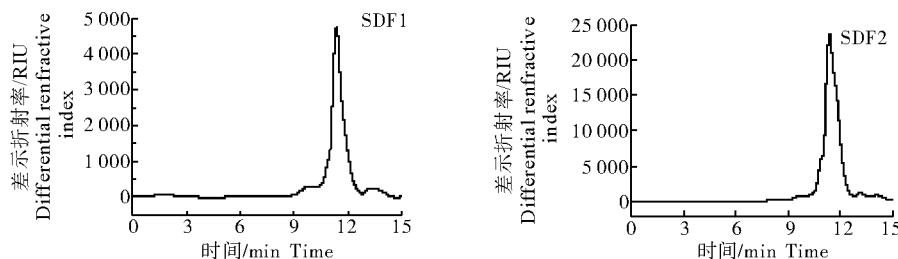


图 2 SDF1 和 SDF2 的相对分子质量分布图

Fig.2 Molecular weight distribution of SDF1 and SDF2

表 4 SDF 样品的相对分子质量大小及其分布结果

Table 4 Result of SDF molecular weight and its distribution

样品 Sample	出峰范围/min Peak range	Mn	Mw	Mp	Mw/Mn
SDF1	10.18~12.81	1 576	3 057	3 249	1.94
SDF2	9.68~12.79	1 365	3 018	3 190	2.21

注 Note: Mn: 数均相对分子质量 Number average molecular weight; Mw: 重均相对分子质量 Weight average molecular weight; Mp: 峰位相对分子质量 Peak molecular weight; Mw/Mn: 相对分子质量的分布系数 Distribution coefficient of molecular weight.

2.4 显微观察及光谱结构

1) 显微观察。从图 3 可知,同一视野相同浓度黑糯米米糠 SDF 分布密集,颗粒聚集度高,而白糯米米糠 SDF 分布较分散,颗粒聚集度较小。说明颗粒聚集度与溶液粘度呈正相关关系。

2) 紫外和红外光谱分析。图 4A 表明 2 种米糠 SDF 均在 200 nm 附近有最大吸收峰,说明均具有多糖紫外图谱特征。黑糯米米糠 SDF 在图 4A 中 280 nm 附近出现的吸收峰,和在图 4B 中 500 nm

附近出现的吸收峰,原因可能是样品中含有黑米色素花色苷。

2 种米糠 SDF 的红外吸收光谱图如图 4C 所示,2 种样品的光谱图大体相似,均具有多糖红外图谱的典型特征,而黑糯米米糠 SDF 的红外光谱图还显示典型的黑米色素花色苷吸收峰。 $3 367 \text{ cm}^{-1}$ 处呈现的吸收较强的宽峰是 O—H 的伸缩振动峰,且黑糯米米糠 SDF 的吸收强度显著大于白糯米米糠 SDF,说明是由黑糯米米糠 SDF 中含有的花色苷苯

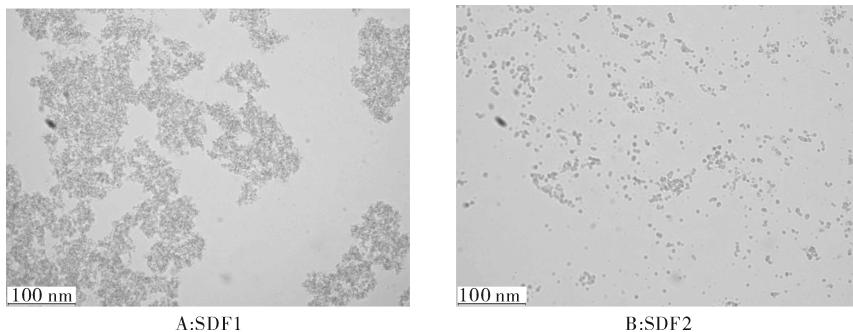
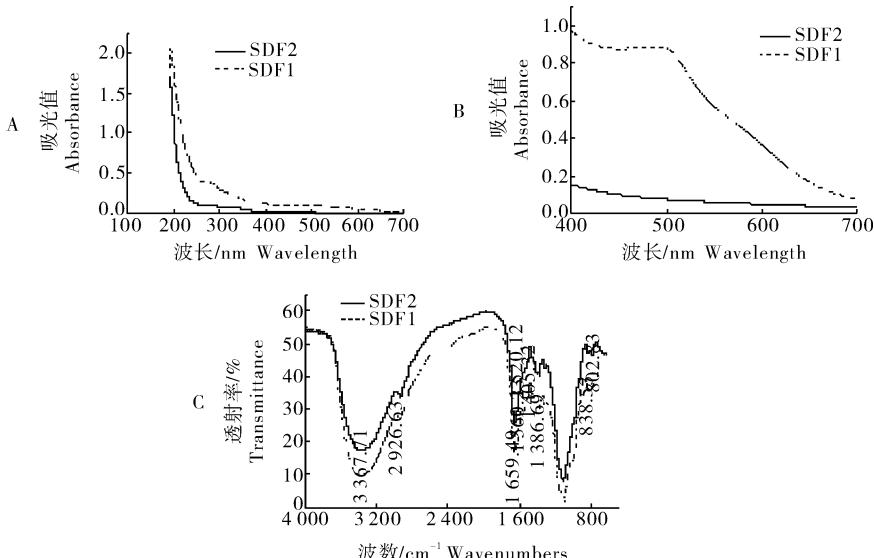


图3 相同浓度 SDF 在溶液中的聚集形态

Fig.3 Optical microscope images of SDF in the same concentrations



A:SDF 在 190~700 nm 紫外图谱 UV spectrum of SDF in 190-700 nm; B:SDF 在 400~700 nm 紫外图谱 UV spectrum of SDF in 400-700 nm;C:SDF 的红外图谱 Infrared spectrum of SDF.

图4 SDF 的紫外和红外光谱图

Fig.4 UV spectrum and Infrared spectrum of SDF

环上的羟基所引起的;2 926 cm^{-1} 处的弱峰是由糖类 C—H 的收缩振动引起的;1 659 cm^{-1} 是—C=O 的伸缩振动峰,且黑糯米米糠 SDF 的吸收强度显著大于白糯米米糠 SDF,说明是由黑糯米米糠 SDF 中含有的花色苷中的羰基所引起的;黑糯米米糠在 1 560 cm^{-1} 、1 520 cm^{-1} 和 1 405 cm^{-1} 出现的吸收峰对应花色苷苯并吡喃的芳环和杂环的骨架振动;1 386 cm^{-1} 呈现的是 C—H 的变角振动峰;1116 cm^{-1} 处最强吸收峰是糖类 C—O 的收缩振动峰。838 cm^{-1} 和 802 cm^{-1} 处是吠喃糖衍生物的特征吸收峰。

3)超微结构观察。通过扫描电镜观察 2 种米糠 SDF 的样品表面结构如图 5。由图 5A、B 可以看出黑糯米米糠 SDF 表面结构疏松,呈有规律的多孔状结构,而图 5C、D 中白糯米米糠 SDF 表面较平滑,

只有少部分呈大小不一,数量较少的孔状结构。在图 5B 上随机取 5 个均匀分布的孔径,在图 5D 右侧 50% 区域随机取 5 个均匀分布的孔径,得出图 5B 的平均孔径为 $(4.22 \pm 0.55) \mu\text{m}$,图 5D 的平均孔径为 $(3.10 \pm 0.72) \mu\text{m}$,表明黑糯米米糠 SDF 结构具有更大的表面积,与其他物质作用时可以形成更多的结合位点,从而具有更强的生物活性。

2.5 体外抗氧化活性

SDF 和 Vc 体外抗氧化能力如表 5 所示。通常来说,样品的还原力和抗氧化活性呈正相关^[12]。SDF1、SDF2、Vc 的体外抗氧化能力顺序为 Vc > SDF1 > SDF2。原因可能为:一是黑糯米米糠 SDF 总酚含量是白糯米米糠 SDF 的 1.36 倍,并且其中含有花色苷,使其表现出更强的清除自由基和

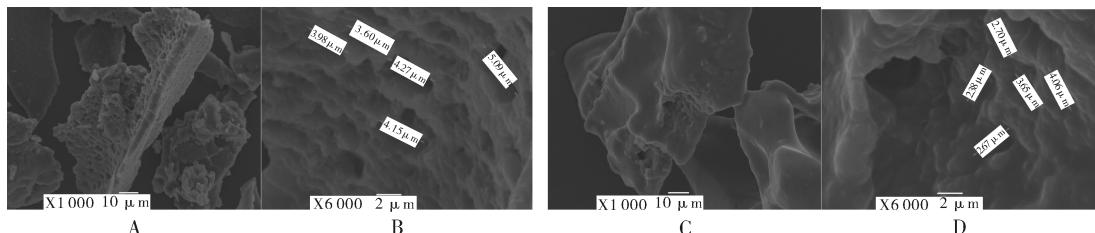
A: SDF1, 1 000 \times ; B: SDF1, 6 000 \times ; C: SDF2, 1 000 \times ; D: SDF2, 6 000 \times .

图 5 米糠可溶性膳食纤维的扫描电镜图

Fig.5 SEM micrograph of soluble rice bran dietary fiber

表 5 SDF、Vc 清除自由基 IC₅₀ 值和还原力 A_{0.5} 值Table 5 IC₅₀ of antioxidant capacity and A_{0.5} of reduction ability of the SDF, Vc

样品 Sample	DPPH 自由基清除 IC ₅₀ /(μg/mL) IC ₅₀ of scavenging DPPH free radical	ABTS 自由基清除 IC ₅₀ /(μg/mL) IC ₅₀ of scavenging ABTS free radical	还原力 A _{0.5} /(mg/mL) A _{0.5} of reduction ability
Vc	7.28 \pm 0.16a	4.16 \pm 0.07a	0.087 \pm 0.006a
SDF1	114.65 \pm 2.99b	29.54 \pm 1.46b	0.810 \pm 0.011b
SDF2	1 557.80 \pm 20.41c	239.68 \pm 5.64c	5.330 \pm 0.450c

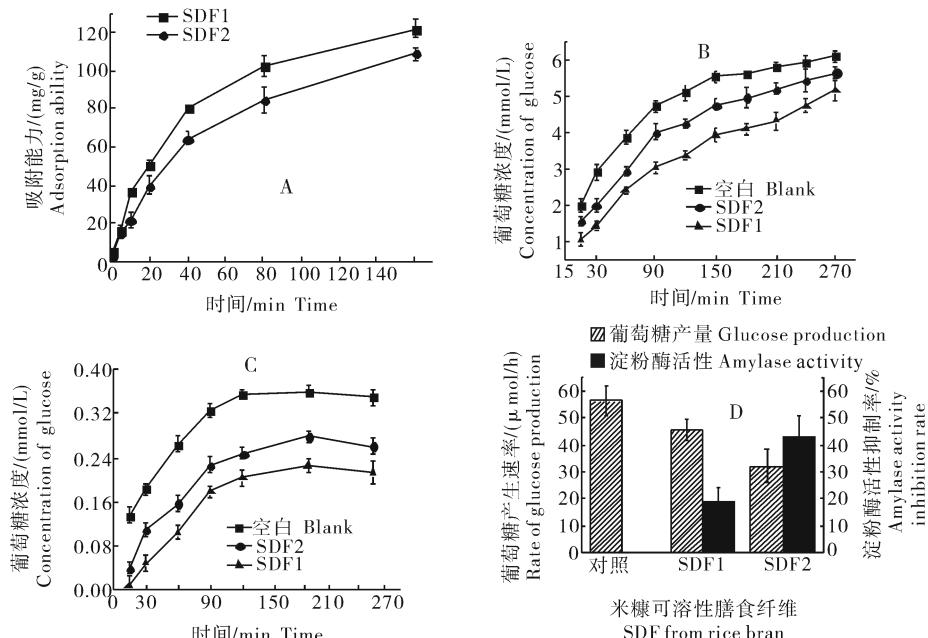
注:同列不同字母代表差异显著($P<0.05$)。Note: Different letters in the same column represent significant difference($P<0.05$)。

抗氧化能力^[17-18];二是黑糯米米糠 SDF 疏松多孔的表面结构,具有更大的表面积,能提供更多的活性位点,作用于自由基。

2.6 体外模拟葡萄糖消化和吸收

1) SDF 对葡萄糖的吸附能力比较。由图 6A 可

知,2 种米糠 SDF 均具有一定的吸附葡萄糖能力,且黑糯米米糠 SDF 对葡萄糖的吸附能力明显大于白糯米米糠 SDF。原因可能是黑糯米米糠 SDF 结构具有较高的孔隙率和合适的孔径有利于吸附更多的葡萄糖。



A: SDF 在不同葡萄糖浓度下吸附葡萄糖的能力 Ability of SDF on glucose adsorption at different glucose concentrations; B: SDF 对葡萄糖扩散的影响 Effect of SDF on glucose diffusion; C: SDF 对淀粉消化的抑制作用 Inhibition capacities of SDF toward amyloylsis kinetics; D: SDF 对 α -淀粉酶的抑制作用 Inhibition capacities of SDF on α -amylase.

图 6 体外模拟葡萄糖消化和吸收试验结果

Fig.6 Simulation experiments of glucose digestion and absorption *in vitro*

2)抑制葡萄糖扩散的能力比较。由图6B可知,与空白对照相比,2个品种的SDF均具有抑制葡萄糖扩散的能力,并且黑糯米米糠SDF对抑制葡萄糖的扩散能力比白糯米米糠SDF强,原因可能是:①结合光学显微镜观察的聚集形态结果,黑糯米米糠SDF分布比较密集,不利于葡萄糖的扩散^[19-20];②黑糯米米糠SDF表面规则的多孔状结构,吸附了一部分葡萄糖,减少了葡萄糖的扩散量和扩散速率^[16];③黑糯米米糠SDF的粘度比白糯米大,提高了体系的粘度,同样抑制了葡萄糖的扩散^[21];④黑糯米米糠SDF表面吸附的带正电荷的花色苷,与葡萄糖分子的羟基结合,抑制葡萄糖的扩散。

3)对淀粉消化的抑制作用比较。2种米糠SDF对淀粉消化的抑制作用如图6C所示。当消化时间为15~20 min,淀粉消化产生的葡萄糖量不断增加,并且2种SDF均对淀粉的消化有一定的抑制作用,其抑制机制可能是:SDF表面存在的酶抑制因子抑制了 α -淀粉酶的活性,使酶钝化或者失活。从植物中提取出的抑制剂如阿卡波糖、米格列醇和伏格列波糖均用于临床试验,能抑制碳水化合物的水解,减缓葡萄糖的释放,具有很好的降血糖的功效^[22]。SDF表面的孔状结构吸附 α -淀粉酶,减少了 α -淀粉酶对底物的消化;SDF能够增加体系的粘度,抑制了 α -淀粉酶的活动,从而减少了 α -淀粉酶与底物的接触,最终降低了淀粉的消化率^[23]。但白糯米米糠SDF对淀粉消化的抑制作用大于黑糯米米糠SDF,说明可能是SDF表面存在的酶抑制因子发挥主要作用。

4)SDF对 α -淀粉酶的抑制作用。本试验进一步研究将SDF直接作用于 α -淀粉酶的效果,结果如图6D所示。当SDF与 α -淀粉酶反应30 min之后,葡萄糖的产生速率由56.43 $\mu\text{mol}/\text{h}$ 下降至32.13 $\mu\text{mol}/\text{h}$,说明SDF抑制了 α -淀粉酶的活性,并且白糯米米糠SDF比黑糯米米糠SDF的抑制作用强,是黑糯米米糠SDF的2.24倍。因此,米糠SDF对淀粉消化的抑制作用主要通过对 α -淀粉酶的抑制作用来实现。

3 讨 论

本研究通过比较黑、白糯米米糠SDF的理化性质和生物活性,发现黑糯米米糠中水分、蛋白质、脂肪、灰分的含量高于白糯米米糠,说明黑糯米米糠具

有更高的营养价值。2种SDF基本成分最大的区别在于黑糯米米糠SDF的酚含量比白糯米米糠SDF高,原因在于黑糯米米糠SDF中富含花色苷,并且使其具有较高的抗氧化活性。黑糯米米糠SDF的相对分子质量为3 057,略大于白糯米米糠SDF的相对分子质量(3 018),且出峰时间范围均较窄,都只有单一峰,说明制备的样品纯度较高。黑糯米米糠SDF的粘度大于白糯米米糠SDF,并且抑制葡萄糖的扩散作用较强,原因可能是较其高的多糖含量和较大的聚集颗粒。比较两者的表面结构,发现黑糯米米糠SDF表面呈疏松、有规律的多孔状结构,而白糯米米糠SDF表面较平滑,只有少部分区域含有大小不一、数量较少的孔隙,所以其吸附葡萄糖的作用较强。白糯米米糠SDF的溶解率大于黑糯米米糠SDF,可能是由于较高的还原糖含量和较少的灰分含量导致的;白糯米米糠SDF抑制淀粉的消化作用和 α -淀粉酶的活力大于黑糯米米糠SDF,可能是因为其表面的酶抑制因子导致。综上所述,黑糯米米糠SDF的生物活性大于白糯米米糠SDF。本研究还通过体外模拟葡萄糖消化和吸收试验,验证了米糠可溶性膳食纤维能够吸附葡萄糖和抑制 α -淀粉酶的活性,为探究米糠SDF对体内葡萄糖代谢的影响和其产品的开发提供了依据。但SDF与葡萄糖之间的分子对接、对 α -淀粉酶的抑制机制和二、三级结构的改变,还需要进一步探究。

参 考 文 献

- [1] THONDRE P S, SHAFAT A, CLEGG M E. Molecular weight of barley β -glucan influences energy expenditure, gastric emptying and glycaemic response in human subjects [J]. British journal of nutrition, 2013, 110(12): 2173-2179.
- [2] 周显青,杨继红,张玉荣.国内外米糠资源利用现状与发展[J].粮食加工,2014(5):24-29.
- [3] 王永斌.米糠中功能性成分的研究现状与发展趋势[J].中国食物与营养,2006(5):17-20.
- [4] 刘亚伟.粮食加工副产物利用技术[M]:北京:化学工业出版社,2009.
- [5] 袁尔东,郑建仙.不同品种膳食纤维影响小鼠糖耐量结果的比较[J].中国粮油学报,2002,17(2):9-11.
- [6] DUNAIF G, SCHNEEMAN B O. The effect of dietary fiber on human pancreatic enzyme activity *in vitro* [J]. American journal of clinical nutrition, 1981, 34(6): 1034-1035.
- [7] SHIYI O, KIN-CHOR K, YAN L. *In vitro* study of dietary fiber in lowering postprandial serum glucose [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2001, 49: 1026-1029.

- [8] 高嘱,姚惠源,郭贯新.燕麦可溶性膳食纤维降糖机理的初步探讨[J].粮食与饲料工业,2001(2):47-48.
- [9] WEICKERT M O, RODEN M, ISKEN F, et al. Effects of supplemented isoenergetic diets differing in cereal fiber and protein content on insulin sensitivity in overweight humans[J]. American journal clinical nutrition, 2011, 94(2): 459-471.
- [10] 赵梅,石勇,邵利平,等.改性枣渣可溶性膳食纤维溶解性和粘性行为初探[J].安徽农业科学,2015(22):251-253.
- [11] 周玲娟,隋勇,孙智达,等.荔枝皮原花青素与VC、VE的协同抗氧化研究[J].食品科学,2012,33(3):5-8.
- [12] 李颖畅.蓝莓花色苷提取纯化及生理功能研究[D].沈阳:沈阳农业大学,2008.
- [13] HUANG W Y, ZHANG H C, LIU W X, et al. Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry, and strawberry in Nanjing[J]. Journal of Zhejiang University-SCIENCE B, 2012, 13(2): 94-102.
- [14] FAIYAZ A, ASNA U. *In vitro* studies on the hypoglycemic potential of *Ficus racemosa* stem bark[J]. Society of chemical industry, 2010, 90: 397-401.
- [15] JING Q, YUE L, KINGSLEY G M, et al. The effect of chemical treatment on the *in vitro* hypoglycemic properties of rice bran insoluble dietary fiber[J]. Food hydrocolloids, 2016, 52: 699-706.
- [16] CHAU C F, HUANG Y L, LEE M H. *In vitro* hypoglycemic effects of different insoluble fiber-rich fractions prepared from the peel of *Citrus sinensis* L. cv. Liucheng[J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2003, 51(22): 6623-6626.
- [17] 孙玲,张名位,池建伟,等.黑米的抗氧化性及其与黄酮和种皮色素的关系[J].营养学报,2000,22(3):246-249.
- [18] 李肖朋,隋勇,关亚飞,等.莲原花青素低聚体对菜籽油抗氧化性的影响[J].华中农业大学学报,2015,34(1):115-122.
- [19] LOPEZ G, ROS G, RINCON F, et al. Relationship between physical and hydration properties of soluble and insoluble fiber of artichoke[J]. Journal of agricultural and food chemistry, 1996, 44(9): 2773-2778.
- [20] NISHIMUNE T, YAKUSHIJI T, SUMIMOTO T, et al. Glycemic response and fiber content of some foods[J]. The American journal of clinical nutrition, 1991, 54(2): 414-419.
- [21] RAINBIRD A L, LOW A, ZEBROWSKA T. Effect of guar gum on glucose and water absorption from isolated loops of jejunum in conscious growing pigs[J]. British journal of nutrition, 1984, 52(3): 489-498.
- [22] ALI H, HOUGHTON P, SOUMYANATH A. α -Amylase inhibitory activity of some Malaysian plants used to treat diabetes; with particular reference to *Phyllanthus amarus*[J]. Ethnopharmacology, 2006, 107: 449-455.
- [23] 邵静.高吸附性米糠纤维的制备及其吸附特性的研究[D].无锡:江南大学,2016.

Characteristics of soluble dietary fiber of black and white rice bran and its effect on digestion and absorption of starch *in vitro*

ZHANG Can SUN Mengyang HU Kai XIE Bijun SUN Zhida

College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract The physical and chemical properties and bioactivities of the two kinds of SDF from black and white glutinous rice bran were studied to explore the possible role of SDF in lowering the blood glucose levels after the meal by digesting and absorbing glucose *in vitro*. The results showed that two samples had the typical characteristic of polysaccharide based on analyzing the infrared and ultraviolet spectrum. The contents of phenol, viscosity, molecular weight, assembly of aggregated particles, porosity of surface and pore size, oxidation resistance of SDF from black glutinous rice bran was favorable for absorbing glucose and inhibiting glucose diffusion, better than that of SDF from white glutinous rice bran. But the dissolution rate, the ability of inhibiting starch digestion and α -amylase activity of SDF from white glutinous rice bran was higher than that of SDF from black glutinous rice bran. It is indicated that the nutritional value and bioactivity of SDF from black glutinous rice bran is better than that from white glutinous rice bran.

Keywords glutinous rice bran; soluble dietary fiber; glucose; amylolysis; *in vitro* digestion