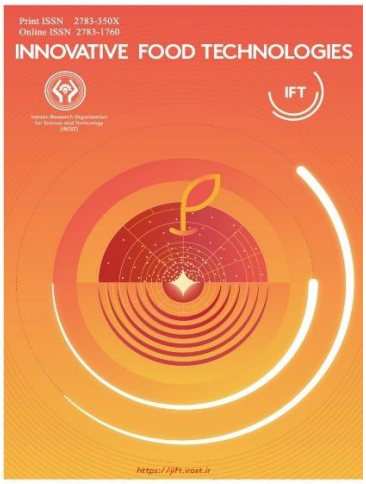
Journal Pre-proofs



Physicochemical and structural properties assessment of rice bran oil and proteins

Shiva Abbasi, Homa Torabi Zadeh

DOI: https://doi.org/ 10.22104/ift.2025.7772.2226

To appear in: Innovative Food Technologies (IFT)

Received Date: 27 July 2025
Revised Date: 13 September 2025
Accepted Date: 15 September 2025

Please cite this article as: Shiva Abbasi, Homa Torabi Zadeh, Physicochemical and structural properties assessment of rice bran oil and proteins, *Innovative Food Technologies (2025)*, doi: https://doi.org/ 10.22104/ift.2025.7772.2226

This is a PDF file of an article that has undergone enhancements after acceptance, such as the addition of a cover page and metadata, and formatting for readability, but it is not yet the definitive version of record. This version will undergo additional copyediting, typesetting and review before it is published in its final form, but we are providing this version to give early visibility of the article. Please note that, during the production process, errors may be discovered which could affect the content, and all legal disclaimers that apply to the journal pertain.

© 2023 The Author(s). Published by irost.org.

Journal Pre-proof

Journal Pre-proofs

مقاله مروری

ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ساختاری روغن و پروتئین‌های سبوس برنج

شیوا عباسی[1]، هما ترابی زاده[2*]

۱. دانشجوی دکتری، گروه صنایع غذایی و تبدیلی، سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران

۲. دانشیار، گروه صنایع غذایی و تبدیلی، سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران

چکیده

برنج با نام علمی *Oryza sativa* L. یکی از غلات اصلی تغذیه انسانی به ویژه در آسیا است و سبوس برنج، لایه خارجی حدود ۱۰ درصد دانه برنج قهوه‌ای، محصول جانبی فرآیند آسیاب است. سبوس حاوی ۱۰ تا ۱۶ درصد پروتئین، ۱۲ تا ۲۲ درصد چربی، فیبر رژیمی و ترکیبات زیست‌فعال مانند ویتامین‌های گروه B، ویتامین E و گاما-اوریزانول است که خواص آنتی‌اکسیدانی و تغذیه‌ای قابل توجهی دارند. روغن استخراج‌شده از سبوس، با ترکیبی متعادل از اسیدهای چرب شامل حدود ۴۳ درصد اسید اولئیک (تک‌غیراشباع)، حدود ۳۲ درصد اسید لینولئیک (چندغیراشباع) و میزان تقریبا ۱۵ درصد پالمیتیک اسید (اشباع)، نقش مهمی در بهبود سلامت قلب و کاهش استرس اکسیداتیو ایفا می‌کند. نسبت اسیدهای چرب اشباع به غیراشباع در این روغن تقریباً ۲۰ به ۸۰ است. همچنین، وجود مقدار جزئی اسید لینولنیک (۰/۸ درصد) از ویژگی‌های آن است. ترکیبات غیرصابونی مانند توکوفرول‌ها، فیتواسترول‌ها، پلی‌فنول‌ها و گاما-اوریزانول (حدود ۱/۷۶ درصد) خواص آنتی‌اکسیدانی و کاهش‌دهنده کلسترول را افزایش می‌دهند. پروتئین‌های سبوس شامل آلبومین، گلوبولین، گلوتلین و پرولامین هستند و با قابلیت هضم بیش از ۹۰ درصد و نسبت بازدهی پروتئین بین ۲ تا ۲/۵، منبع پروتئینی ارزشمندی محسوب می‌شوند. تنوع ژنتیکی برنج، منجر به تفاوت‌هایی در ترکیب اسیدهای آمینه سبوس شده است. نسبت اسیدهای آمینه ضروری به کل اسیدهای آمینه در بخش‌های مختلف سبوس حدود ۳۱/۳۵ تا ۳۴/۸ درصد متغیر است که نشان‌دهنده تثبیت کیفیت پروتئینی در لایه‌های مختلف است. با وجود غنای ترکیبات، مصرف مستقیم سبوس برنج محدود بوده و عمدتاً در خوراک دام، کود و سوخت کاربرد دارد. با این حال، سبوس برنج با ترکیب متعادل اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب مفید و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، ماده‌ای با ارزش برای کاربردهای غذایی، دارویی و بهداشتی است.

واژه‌های کلیدی: سبوس برنج، اسید های آمینه، آبکافتیده های پروتئینی، اسیدهای چرب، استخراج روغن، استخراج پروتئین.

Journal Pre-proofs

مقدمه

برنج با نام علمی *Oryza sativa* L. یک محصول غذایی اساسی است که نزدیک به ۳ میلیارد نفر، یعنی بیش از نیمی از جمعیت جهان، به‌ویژه در کشورهای آسیایی، آن را مصرف می‌کنند. از آنجایی‌که برنج حدود ۲۰ درصد از مصرف کالری جهانی را تأمین می‌کند از این رو، یکی از پرکشت‌ترین غلات در جهان است و از نظر اقتصادی و اجتماعی اهمیت بالایی دارد. برنج اکثرا به صورت کامل و پس از جداسازی پوسته، سبوس و جوانه مصرف می‌شود. با اینکه تفاوت‌های منطقه‌ای در ذائقه افراد وجود دارد، اکثر مردم برنج سفید کاملاً آسیاب‌شده یا برنجی با مقدار کمی سبوس روی آندوسپرم را ترجیح می‌دهند. عمده مصرف آن مصرف خانگی است و برنج به‌صورت آب‌پز، سرخ‌شده یا همراه با خورشت، مانند آنچه در بنگلادش و برخی دیگر کشورها رایج است، مصرف می‌شود. [۱–۴]

سبوس برنج، محصول جانبی فرآوری برنج است که در طی فرایند آسیاب حاصل می‌شود و شامل بخش‌هایی از دانه مانند پریکارپ[۱]، تگمن[۲] و لایه آلورون[۳] است. این ماده حدود ۱۱ درصد از حجم کل برنج فرآوری‌شده را تشکیل می‌دهد که معادل با حدود ۸۳ میلیون تن ضایعات جامد تولیدشده سالانه در جهان است. در این میان، کشور چین با تولید حداقل ۱۴ میلیون تن سبوس برنج در سال، رتبه نخست جهانی را به خود اختصاص داده است. سبوس برنج سرشار از ترکیبات زیست‌فعال و مغذی نظیر فیبر غذایی، پروتئین، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها، ویتامین‌ها، مواد معدنی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی ارزشمندی مانند گاما اوریزانول، توکوفرول، توکوتری انول، پلی‌فنول‌ها، فلاونوئیدها و پپتیدها است. همچنین این ماده دارای مقادیر قابل‌توجهی اسید فیتیک است که میزان آن می‌تواند بین ۶ تا ۱۰ درصد متغیر باشد و همین امر آن را به منبع بسیار مناسبی برای استخراج اسید فیتیک تبدیل می‌کند. [۵،۶]

با وجود این ارزش تغذیه‌ای و ترکیبی بالا، سبوس برنج هنوز در صنعت غذا به‌طور مؤثر و گسترده مورد استفاده قرار نگرفته است. در حال حاضر، بخش زیادی از سبوس تنها به تولید خوراک دام اختصاص می‌یابد، که این استفاده محدود نوعی اتلاف منابع طبیعی به شمار می‌رود. برای حل این مشکل و دستیابی به توسعه پایدار، باید از این محصول جانبی به‌عنوان منبع جایگزین در صنایع مختلف بهره‌برداری شود. برخی از کاربردهای پیشنهادی و بالقوه شامل تولید روغن‌های خوراکی، مکمل‌های غذایی، کودهای زیستی، محیط‌های کشت میکروبی، کربوهیدرات‌های پری‌بیوتیک، بیواتانول، آنتی‌اکسیدان‌ها و منابع پروتئینی است که می‌تواند هم از نظر اقتصادی سودآور و هم از نظر زیست‌محیطی ارزشمند باشد. [۷]

در حالیکه پروتئین‌های سبوس برنج دارای ارزش تغذیه‌ای بالایی گزارش شده‌اند، کنسانتره‌ها و ایزوله‌های پروتئین سبوس برنج به دلیل نبود فناوری‌های مناسب برای فراوری آن‌ها به‌صورت تجاری در دسترس نیستند. به‌ویژه، پیچیدگی ساختاری، حلالیت کم و تمایل به تجمع، جداسازی این پروتئین‌ها از سایر اجزای دیواره سلولی را دشوار کرده و استفاده از این ماده را به‌عنوان یک ترکیب غذایی محدود می‌کند. [۸،۹]

در سال‌های اخیر روش‌های مختلفی برای تسهیل استخراج ترکیبات با ارزش سبوس برنج مانند روغن و پروتئین معرفی شده اند که از جمله آنها می‌توان به تیمارهای فیزیکی، شیمیایی و آنزیمی اشاره کرد. فرآیندهای شیمیایی مانند آبکافت قلیایی یا اسیدی کنترل دشواری دارند و می‌توانند منجر به دناتوره شدن پروتئین و تغییر ساختار اسیدهای آمینه شوند. در مقابل، روش‌های آنزیمی

[1] Pericarp
[2] Tegmen
[3] Aleurone

Journal Pre-proofs

که بر پایه کربوهیدرازها و پروتئازها هستند، از کارآمدترین روش‌ها محسوب می‌شوند، زیرا بازیابی پروتئین را به‌طور قابل‌توجهی افزایش می‌دهند. کربوهیدرازها اجزای دیواره سلولی را تجزیه کرده و آزادسازی پروتئین از ساختار پلی‌ساکاریدی سبوس را تسهیل می‌کنند، در حالیکه پروتئازها پیوندهای پپتیدی را آبکافت کرده و پروتئین‌ها را به مخلوطی از پپتیدها و اسیدهای آمینه محلول تبدیل می‌کنند. [۱۰–۱۲]

آبکافت آنزیمی تحت شرایط ملایم انجام می‌شود و از واکنش‌های جانبی جلوگیری کرده و ارزش تغذیه‌ای پروتئین را حفظ می‌کند. علاوه بر این، بسته به اختصاصیت آنزیم و درجه آبکافت ، می‌توان آبکافتیده‌هایی با خواص عملکردی، بیولوژیکی و تغذیه‌ای متمایز با پروتئین اولیه تولید کرد. به‌طور خاص، امروزه پذیرفته شده است که ویژگی‌های زیستی آبکافتیده‌هایی پروتئینی با وزن مولکولی و پپتیدهای تشکیل‌دهنده آن‌ها مرتبط است. معمولاً پپتیدهای با وزن مولکولی پایین بیشترین فعالیت زیستی را دارند، زیرا می‌توانند به‌راحتی از سد روده‌ای عبور کرده و عملکردهای زیستی خود را انجام دهند. در این راستا، فیلتر اولترافیلتراسیون با غشاهای دارای محدوده کاهش وزن مولکولی، یکی از رایج‌ترین راهکارها برای جداسازی آبکافتیده‌هایی پروتئینی است، زیرا دارای مزایایی همچون تولید بالا، هزینه کم و حفظ خلوص محصول در شرایط محیطی می‌باشد. [۱۳–۱۵]

چنین فرآیندهایی در رابطه با استخراج روغن نیز مزایایی دارند. این نوع فرآیندها با استفاده از آنزیم‌های تجزیه‌کننده دیواره سلولی، سبوس برنج حاوی روغن را تحت تیمار قرار می‌دهند تا بتوان روغن و سایر ترکیبات را در شرایط ملایم‌تری استخراج کرد؛ برای مثال، در این روش‌ها دمای استخراج پایین‌تر است، نیازی به استفاده از حلال‌های قابل اشتعال و سمی مانند هگزان نیست و پسماندهای زیان‌آور نیز تولید نمی‌شود. [۱۶،۱۷]

معرفی کلی برنج

برنج با نام علمی *Oryza sativa* L. به‌عنوان یکی از مهم‌ترین غلات در سراسر جهان به‌ویژه در آسیا و آفریقا مورد استفاده قرار می‌گیرد. بر اساس آمار ارائه شده توسط سازمان خواربار و کشاورزی[1] در میان تمامی کشورها، چین و هند بزرگ‌ترین صادرکنندگان برنج هستند و تقریباً ۵۰ درصد از تجارت جهانی برنج را به خود اختصاص می‌دهند. برنج یکی از مهم‌ترین غلات برای تغذیه انسانی به‌ویژه در کشورهای آسیایی است. بر اساس آمار ارائه شده (سازمان خواربار و کشاورزی ملل متحد، ۲۰۲۴) تولید انبوده آن (۵۲۶ میلیون تن در سال ۲۰۲۲-۲۳) منجر به تولید مقدار قابل توجهی از ضایعات و فرآورده‌های جانبی برنج شده است. پیش‌بینی تولید جهانی برنج برای سال‌های ۲۵-۲۰۲۴ با تغییر اندکی به ۵۴۳/۳ میلیون تن رسیده است که نشان‌دهنده افزایش ۱/۶ درصدی سالانه است که عمدتاً به دلیل گسترش کاشت است. پیش‌بینی جدید سازمان خوار و بار جهانی برای مصرف غلات جهان در سال زراعی ۲۰۲۴-۲۵، ۲۸۶۸ میلیون تن است که نشان‌دهنده افزایش ۰/۹ درصدی نسبت به سال زراعی ۲۴-۲۰۲۳ است و دلیل اصلی آن، رکورد جدید مصرف برنج است. [۱۸]

برنج در مقایسه با ذرت، گندم و سیب‌زمینی منبع خوبی از کربوهیدرات‌ها، مواد معدنی از جمله کلسیم و آهن و همچنین ویتامین‌ها مانند تیامین، اسید پانتوتنیک، فولات و ویتامین E محسوب می‌شود. علاوه بر برنج سفید، برخی از انواع خاص برنج رنگی و معطر نیز کشت می‌شوند. [۱۹،۲۰]

[1] FAO

Journal Pre-proofs

ساختار و ترکیبات برنج

دانه برنج از سه قسمت اصلی تشکیل شده است که شامل قسمت‌های آندوسپرم یا برنج سفید (حدود ۷۰ درصد)، پوسته (حدود ۲۰ درصد) و سبوس (حدود ۱۰ درصد) می‌باشد. [۲۱] همانگونه که در شکل ۱. نشان داده شده است. [۲۲] سبوس برنج شامل پریکارپ[1] (پوسته)، پوشش بذر، نوکلئوس[2]، لایه آلورون، جنین خردشده و همچنین مقداری از پوسته و قطعاتی از آندوسپرم می‌باشد. شکل ۱. بخش‌های مختلف دانه برنج را نشان می‌دهد که از لایه‌های بیرونی پوسته، سبوس و قسمت‌های داخلی آندوسپرم و جوانه تشکیل شده است. [۲۳–۲۵] .

شکل ۱

همانگونه که در شکل ۲. آورده شده است، سبوس برنج ۱۰ درصد خارجی‌ترین لایه برنج قهوه‌ای را تشکیل می‌دهد که در طی فرآیند تبدیل برنج قهوه‌ای به برنج سفید در طی فرآیند آسیاب برنج به‌دست می‌آید. در فرآیند آسیاب برنج، ۷۰ درصد از دانه (آندوسپرم) به‌عنوان محصول اصلی به دست می‌آید و محصولات جانبی شامل ۲۰ درصد پوسته، ۸ درصد سبوس و ۲ درصد جوانه هستند. طبق تعریف سازمان خواربار و کشاورزی، سبوس برنج یک محصول جانبی از صیقل دادن برنج قهوه‌ای است که شامل پریکارپ، لایه آلورون، جوانه و بخشی از آندوسپرم می‌شود. [۲۶،۲۷] . این محصول حاوی حدود ۱۰ تا ۲۳ درصد چربی، ۳۷ تا ۶۰ درصد کربوهیدرات، ۹ تا ۱۴ درصد خاکستر و ۱۳ تا ۱۹ درصد پروتئین است. [۲۸] .

شکل ۲

اجزای حاصل از آسیاب دانه برنج از نظر ترکیب پروتئینی با یکدیگر تفاوت دارند. داده‌های گزارش‌شده در منابع علمی درباره درصد محلول‌پذیری اجزای پروتئینی برنج بسیار متغیر است و این تغییرات به نوع رقم برنج و روش‌های استخراج بستگی دارد. پروتئین‌های برنج بر اساس طبقه‌بندی محلول‌پذیری که توسط آزبرن[3] در سال ۱۹۲۴ ارائه شد، دسته‌بندی می‌شوند. چهار جزء اصلی پروتئینی برنج شامل آلبومین (قابل‌حل در آب)، گلوبولین (قابل‌حل در نمک)، گلوتلین (قابل‌حل در مواد قلیایی یا اسیدی) و پرولامین (قابل‌حل در الکل) هستند. [۲۹] [۳۰] بررسی محتوای پروتئینی اجزای پروتئین برنج نشان می‌دهد که بخش غالب پروتئین برنج یعنی حدود ۷۵ درصد از کل آن را گلوتلین تشکیل می دهد که بالاترین غلظت پروتئین (حدود ۹۵ درصد) را نیز دارا می باشد. پس از آن، گلوبولین با حدود ۱۵ درصد قرار دارد و سپس آلبومین (۶ درصد) و پرولامین (۲/۷ درصد) در رتبه‌های بعدی قرار خواهند گرفت. در روش استخراج آزبورن، آلبومین کمترین میزان محتوای پروتئین (حدود ۷۸ درصد) را در مقایسه با سایر اجزا یعنی گلوبولین، پرولامین یا گلوتلین دارد که همگی دارای محتوای پروتئینی بیش از ۹۰ درصد هستند. [۳۱،۳۲]

مقدار پروتئین برنج معمولاً از طریق ضرب مقدار نیتروژن اندازه‌گیری‌شده با روش کجلدال در ضریب تبدیل نیتروژن به پروتئین برابر با ۵/۹۵ محاسبه می‌شود؛ این ضریب بر اساس محتوای نیتروژن (۱۶/۸ درصد) گلوتلین، یعنی پروتئین اصلی برنج، تعیین شده است. با این حال، در مطالعات تغذیه‌ای معمولاً از ضریب تبدیل ۶/۲۵ استفاده می‌شود تا محاسبه بر پایه نیتروژن برای تمامی پروتئین‌ها به‌صورت یکسان انجام گیرد. همچنین لازم به ذکر است که مقدار پروتئین برنج تحت تأثیر عواملی مانند روش‌های مدیریتی و زراعی، شرایط آب‌وهوایی و ژنوتیپ (ترکیب ژنتیکی گیاه) قرار دارد. [۲۵]

[1] Pericarp
[2] Nucellus
[3] Osborne

Journal Pre-proofs

پروتئین‌های برنج عمدتاً به‌صورت اندامک‌های ذخیره‌ای به نام اجسام پروتئینی [1] یا PBs مشاهده می‌شوند که در آندوسپرم نشاسته‌ای دانه تجمع می‌یابند. به طور کلی، پروتئین‌ها در بخش‌های مختلف دانه برنج از جمله آندوسپرم، لایه صیقلی و سبوس یافت می‌شوند، اما بیشترین مقدار آن‌ها درون سلول‌های آندوسپرم به‌عنوان پروتئین‌های ذخیره‌ای قرار دارند که در اجسام پروتئینی بین دانه‌های نشاسته‌ای واقع شده‌اند. مطالعات دقیق روی پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه نشان داده است که پروتئین‌های غلات در قالب این اندامک‌ها وجود دارند. در آندوسپرم برنج، دو نوع جسم پروتئینی با ساختارهای مورفولوژیکی متفاوت شناسایی شده‌اند: نوع اول (PB-I) که دارای ساختاری لایه‌لایه، کروی‌شکل و سرشار از پرولامین است، و نوع دوم (PB-II) با ساختاری بلوری، نامنظم و حاوی مقدار غالبی از گلوتلین. پرولامین در جسم پروتئینی نوع اول (PB-I) ذخیره می‌شود و شامل زیرواحدهایی با وزن مولکولی بین ۱۰ تا ۱۶ کیلودالتون است که حدود ۲۰ تا ۳۰ درصد از کل پروتئین ذخیره‌ای را تشکیل می‌دهد. در مقابل، گلوتلین که ابتدا به صورت پروگلوتلین ۵۵ تا ۶۰ کیلودالتونی ساخته شده و سپس به زیرواحدهای اسیدی و بازی فراوری می‌گردد، به سیستم انتقال وزیکولی وارد شده و در جسم پروتئینی نوع دوم (PB-II) تجمع می‌یابد که حاوی ۷۰ تا ۸۰ درصد از کل پروتئین ذخیره‌ای است و در کنار گلوتلین، مقداری گلوبولین نیز در خود دارد. پرولامین و گلوتلین مهم‌ترین پروتئین‌های ذخیره‌ای موجود در آندوسپرم برنج هستند. پروتئین‌های ذخیره‌ای آندوسپرم شامل ۶۰ تا ۶۵ درصد PB-II، ۲۰ تا ۲۵ درصد PB-I و ۱۰ تا ۱۵ درصد آلبومین و گلوبولین هستند که در سیتوپلاسم توزیع شده‌اند. [۳۳–۳۵]

آلبومین و بخشی از گلوبولین در لایه‌های بیرونی و جنین دانه برنج قرار دارند و طی فرآیند سفید کردن و سبوس‌گیری از بین می‌روند؛ این دو نوع پروتئین تنها ۱۰ تا ۱۵ درصد از کل پروتئین دانه را شامل می‌شوند. از جنبه ارزش غذایی، گلوتلین به دلیل داشتن میزان بالاتری از اسید آمینه لیزین (اسید آمینه محدود کننده غلات)نسبت به پرولامین و نیز قابلیت هضم بهتر در دستگاه گوارش، دارای اهمیت بیشتری است. در واقع، محدودیت اصلی در ارزش تغذیه‌ای پروتئین‌های برنج مربوط به کمبود لیزین است و از این نظر، گلوتلین سهم مهم‌تری در بهبود کیفیت تغذیه‌ای دانه برنج دارد. [۳۶]

در روش استخراج آزبورن که برای جداسازی انواع پروتئین‌های برنج به کار می‌رود، ابتدا آرد برنج آسیاب شده تحت فرآیند چربی‌زدایی قرار می‌گیرد و سپس با آب استخراج می‌شود تا بخش آلبومین به دست آید. در ادامه، به ترتیب با محلول نمک رقیق، قلیای رقیق و اتانول ۷۰ درصد تیمار می‌شود تا بخش‌های گلوبولین، گلوتلین و پرولامین استخراج شوند. تحقیقات اخیر نشان داده است که حذف آنزیمی نشاسته از آرد برنج می‌تواند روشی مؤثر برای تولید ایزوله‌های غنی از پروتئین باشد که تا ۷۶ درصد پروتئین دارند. با این حال، هنوز مشخص نیست که حذف نشاسته از طریق آبکافت آنزیمی یا اصلاح به‌وسیله ژلاتینه شدن، در مرحله پیش از استخراج به روش آزبورن، چگونه بر میزان بازیابی، خواص ساختاری یا ویژگی‌های عملکردی پروتئین‌ها تأثیر می‌گذارد. [۱،۳۵]

پروتئین‌های برنج به دلیل بی‌رنگ بودن، غنی بودن از اسیدهای آمینه ضروری، داشتن طعم ملایم و خاصیت غیر آلرژی‌زایی و کاهندگی کلسترول ارزشمند هستند. با این حال، برای کاربردهای غذایی، مطلوب است که آنها دارای خواص دیگری مانند قابلیت کف‌کنندگی [۳۷،۳۸]، ژل‌شوندگی [۳۹] و امولسیون‌کنندگی [۴۰] باشند. اطلاعاتی درباره این خواص عملکردی وجود دارد که نشان داده شده است به نوع واریته برنج بستگی دارد. همچنین مشخص شده است که روش استفاده شده در جداسازی پروتئین‌ها می‌تواند تأثیرات مهمی بر خواص آنها داشته باشد. [۳۲،۳۷]

[1] Protein Bodies

محتوای پروتئین و اسید آمینه برنج به عوامل مختلفی بستگی دارد به طور مثال در مطالعات پیشین مشخص شده است که محتوای ۱۷ اسید آمینه و پروتئین در برنج تحت تیمار کود نیتروژن به طور قابل توجهی افزایش یافته و کیفیت خوراکی برنج به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد.[۴۱،۴۲] این احتمالاً به دلیل افزایش محتوای پروتئین در اثر کاربرد کود نیتروژن است، که منجر به تجمع اجسام پروتئینی بیشتر می‌شود. این اجسام پروتئینی با چسبیدن به سطح دانه‌های نشاسته، از جذب آب و تورم کامل نشاسته جلوگیری کرده و مانع از خمیری شدن بافت برنج می‌گردند. [۴۳] علاوه بر این، واریته‌های مختلف برنج ظرفیت‌های متفاوتی برای تجمع پروتئین دارند، بنابراین افزایش محتوای پروتئین نیز متفاوت است. [۴۴،۴۵]

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی سبوس برنج

سبوس برنج به‌عنوان یکی از محصولات جانبی صنعت برنج محسوب می‌شود و معادل ۱۰ گرم در هر ۱۰۰ گرم از دانه کامل برنج است. این بخش به دلیل دارا بودن پروتئین، چربی، مواد معدنی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، در استخراج روغن، تولید خوراک دام و همچنین به‌عنوان یک ماده اولیه در فرمولاسیون محصولات غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. [۴۶]

در سال‌های اخیر، سبوس برنج به دلیل ویژگی‌های زیستی بالقوه آن مورد توجه قرار گرفته است. این ویژگی‌ها شامل خواص آنتی‌اکسیدانی [۴۷،۴۸]، فعالیت ضدالتهابی [۴۹،۵۰]، کاهش بروز سرطان [۵۱،۵۲]، پیشگیری از بیماری‌های قلبی عروقی [۵۳،۵۴] و کاهش سطح کلسترول [۵۵،۵۶] است. بسیاری از مردم تصور می‌کنند که برنج سفید صیقل‌خورده که مصرف می‌کنند مغذی است. در حالی که آنچه واقعاً باید بدانند این است که ۶۵ درصد از مواد مغذی و ترکیبات زیست‌فعال (فیتوشیمیایی‌ها) در واقع در سبوس برنج قرار دارند. به طور مثال آنتوسیانین‌های موجود در لایه سبوس عامل رنگ این نوع برنج‌ها هستند و این گونه‌های رنگی غنی از آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات عملکردی می‌باشند. [۵۷–۵۹]

سبوس برنج به طور متوسط و بسته به واریته آن حاوی ۱۲ تا ۲۲ درصد روغن، ۱۰ تا ۱۶ درصد پروتئین [۶۰] ، ۱۸ درصد فیبر رژیمی کل، ۲۲ درصد نشاسته و ۴ درصد سایر اجزا (بر اساس تفاوت واریته) می‌باشد. قابل ذکر است که ترکیبات سبوس برنج بسته به نوع واریته و شرایط کاشت متفاوت خواهد بود. روغن سبوس برنج به رنگ زرد کم رنگ، بی بو و شفاف با طعمی ملایم است. اوریزانول و ویتامین E که از آنتی‌اکسیدان‌های قوی محسوب می‌شوند، در روغن سبوس برنج وجود دارند. علاوه بر این، سبوس برنج سرشار از ویتامین‌های گروه B است. [۱۲،۶۱]

در جدول ۱. مقدار درصد ترکیبات شیمیایی اجزای حاصل از آسیاب دانه برنج در رطوبت ۱۴ درصد آورده شده است. این جدول نشان می‌دهد که سبوس برنج در مقایسه با برنج قهوه‌ای و سفید، از نظر پروتئین، چربی، فیبر و مواد معدنی (خاکستر خام) بسیار غنی‌تر است، اما مقدار نشاسته و کربوهیدرات‌های قابل‌استفاده در آن بسیار پایین‌تر است. در مقابل، برنج سفید بیشترین میزان نشاسته و کربوهیدرات‌ها را دارد ولی از نظر مواد مغذی مثل پروتئین، چربی و فیبر فقیرتر است. برنج قهوه‌ای بین این دو قرار دارد و تعادلی از ارزش تغذیه‌ای و کربوهیدرات‌ها را ارائه می‌دهد. در مجموع، سبوس برنج یک منبع مغذی متمرکز است، در حالیکه آسیاب کردن باعث کاهش چشمگیر ارزش تغذیه‌ای می‌شود. [۲۵]

جدول ۱

روغن سبوس برنج منبع غنی از اسیدهای چرب آزاد، موم‌ها، ترکیبات غیرصابونی‌شونده (۴/۳ درصد) و لیپیدهای قطبی است و فرآیند استخراج آن چالش‌برانگیز است. [۱۹] همچنین این روغن حاوی اسیدهای چرب غیر اشباع است که شامل ۳۸ تا ۴۲ درصد اسید اولئیک و ۳۲ تا ۳۵ درصد اسید لینولئیک می‌باشد. [۲۱] روغن سبوس برنج می‌تواند از روش‌های متداول با استفاده از حلال‌ها

Journal Pre-proofs

و همچنین روش‌های استخراج مدرن مانند استخراج با امواج مایکروویو[1] (MAE) و استخراج آنزیمی آبی[2] (AEE) به‌دست آید. از جمله تاثیرات منفی ناشی از استفاده از حلال‌ها سمی بودن آنها برای انسان‌ها و محیط‌زیست است. استخراج آنزیمی آبی یکی از جدیدترین تکنیک‌های استخراج است که از آنزیم‌ها در یک محیط آبی برای آبکافت و حل دیواره‌های سلولی برای آزادسازی روغن از سبوس برنج استفاده می‌شود. [۶۲]

ترکیبات شیمیایی موجود در سبوس برنج نشان‌دهنده تنوع بالای اجزای تغذیه‌ای و زیست‌فعال آن است. همانگونه که در جدول ۲. آورده شده است، ترکیبات مهمی مانند گاما-اُریزانول و توکوفرول به‌عنوان آنتی‌اکسیدان‌های قوی آورده شده‌اند که در بهبود سلامت قلب و کاهش استرس اکسیداتیو نقش دارند. همچنین، ترکیب اسیدهای چرب آن شامل اسیدهای چرب اشباع و اسید چرب تک‌غیراشباع است که بیشترین سهم آن مربوط به اسید اولئیک (۴۲/۶ درصد) می‌باشد که این اسید چرب در بهبود پروفایل چربی خون مؤثر شناخته شده است. اسیدهای چرب چندغیراشباع نیز سهم مهمی دارند که شامل اسید لینولئیک و مقادیر کمتری از اسید لینولنیک (۰/۸ درصد) و اسیدهای چرب امگا-۳ و امگا-۶ می‌باشد. این ترکیب متنوع و متعادل از اسیدهای چرب، در کنار ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، سبوس برنج را به یک ماده غذایی با ارزش برای سلامت قلب و عروق تبدیل کرده است. [۶۳–۶۶]

جدول ۲

سبوس برنج شامل مجموعه‌ای از ترکیبات زیست فعال مانند اوریزانول، فیتواسترول، توکوتری‌انول، اسکوالن، پلی‌کوزانول، اسید فیتیک، اسید فرولیک و اینوزیتول هگزافسفات است. اسید فرولیک جزو اصلی‌ترین اسید فنولیک های موجود در آن است و پس از آن هیدروکسی سینامیک اسید [3]، سیناپینیک، گالیک، پروتوکاتچوئیک[4]، هیدروکسی بنزوئیک و اسید وانیلیک در سبوس برنج قرار دارند. همانگونه که پیش‌تر اشاره شد، روغن سبوس برنج حاوی طیف وسیعی از اسیدهای چرب است، که ۴۷ درصد آن اسیدهای چرب تک‌غیراشباع، ۳۳ درصد آن اسیدهای چرب چندغیراشباع و ۲۰ درصد آن اسیدهای چرب اشباع است. این ترکیبات زیست‌فعال فعالیت‌های بیولوژیکی متعددی دارند و به‌عنوان آنتی‌اکسیدان، ضد دیابت، ضد سرطان عمل می‌کنند. [۶۷,۶۸]

به‌دلیل میزان بالای اسید فیتیک موجود در سبوس برنج، این ماده منبعی ارزشمند برای استخراج و تولید اسید فیتیک به شمار می‌آید. اسید فیتیک یا میو-اینوزیتول هگزافسفات ترکیبی آلی از فسفر است که به‌طور گسترده در دانه‌ها و غلات گیاهی یافت می‌شود و نقش اصلی آن ذخیره‌سازی فسفر در بذر گیاهان می‌باشد. این ترکیب به‌دلیل ویژگی شلات‌کنندگی قوی خود، توانایی بالایی در اتصال به یون‌های فلزی چندظرفیتی به‌ویژه آهن، روی و کلسیم دارد. همین ویژگی باعث شده است که این ترکیب برای سال‌ها به‌عنوان یک ترکیب ضدتغذیه‌ای در نظر گرفته شود، زیرا با اتصال به این مواد معدنی، میزان دسترسی زیستی آن‌ها در بدن انسان را کاهش می‌دهد و در نتیجه می‌تواند بر جذب ریزمغذی‌های ضروری تأثیر منفی بگذارد. با این حال، از دهه ۱۹۹۰ به بعد، توجه علمی به اسید فیتیک افزایش یافته است، چرا که پژوهش‌های متعددی نشان داده‌اند مزایای دارویی و زیستی این ترکیب می‌تواند بیشتر از اثرات منفی آن باشد. [۶۹–۷۱]

در میان بخش‌های مختلف دانه برنج، اسید فیتیک به‌طور نامتوازن توزیع شده است. بیشترین میزان این ترکیب در جوانه برنج با مقدار حدود ۷/۶ گرم در هر ۱۰۰ گرم یافت می‌شود، در حالی که آندوسپرم برنج تنها حدود ۱/۲ گرم در هر ۱۰۰ گرم اسید فیتیک

[1] Microwave-Assisted Extraction
[2] Aqueous Enzymatic Extraction
[3] p-hydroxycinnamic acid
[4] Protocatechuic

Journal Pre-proofs

دارد. سبوس برنج، که شامل پریکارپ، لایه آلورون و جوانه است، دارای غلظت بالایی از اسید فیتیک است که در محدوده ۵/۹۴ تا ۶/۰۹ گرم در هر ۱۰۰ گرم گزارش شده است. با این حال، میزان دقیق این ترکیب ممکن است بسته به شرایط اقلیمی و زراعی محل کشت برنج متفاوت باشد. [۷۲–۷۴]

یکی از مهم‌ترین خواص زیستی اسید فیتیک، توانایی آن در فعال‌سازی آنزیم SIRT-1 در بافت‌های مختلف بدن است. ترکیب SIRT-1 یک دی‌استیلاز وابسته به NAD^+ (نیکوتین‌آمید آدنین دی‌نوکلئوتید) است که در تنظیم فرآیندهای سلولی گوناگونی مانند متابولیسم، پیری، و التهاب نقش کلیدی دارد. اسید فیتیک با تحریک این مسیر می‌تواند به تنظیم متابولیسم آهن، کاهش استرس اکسیداتیو و کاهش التهاب کمک کند. این خاصیت، اسید فیتیک را به ترکیبی امیدوارکننده در پیشگیری یا کنترل بیماری‌های مزمن بدل کرده است. [۷۵,۷۶]

مطالعات علمی متعددی به بررسی تأثیرات مفید اسید فیتیک بر سلامت انسان پرداخته‌اند. نتایج این مطالعات حاکی از آن است که این ترکیب می‌تواند در پیشگیری از طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها از جمله سنگ‌های کلیوی، برخی سرطان‌ها، دیابت نوع ۲، بیماری پارکینسون و همچنین در کاهش چربی خون مؤثر باشد. از این رو اسید فیتیک نه‌تنها تهدیدی تغذیه‌ای نیست، بلکه می‌تواند به‌عنوان یک عامل محافظ سلامت مورد توجه قرار گیرد. [۷۷–۷۹]

در همین راستا، مطالعاتی با هدف بهینه‌سازی روش‌های استخراج و خالص‌سازی اسید فیتیک از سبوس برنج انجام شده است. یکی از این پژوهش‌ها با هدف معرفی یک روش تحلیلی مؤثر برای استخراج و تصفیه اسید فیتیک با استفاده از سبوس برنج به‌عنوان سیستم مدل، طراحی شده است. استفاده از سبوس برنج در این زمینه نه‌تنها ارزش افزوده بیشتری برای این محصول جانبی ایجاد می‌کند، بلکه امکان بهره‌برداری از ترکیبات زیست‌فعال آن در صنایع دارویی و غذایی را نیز فراهم می‌سازد. [۸۰]

همانگونه که جدول ۳. نشان می‌دهد اسید فیتیک استخراج‌شده از سبوس برنج در مقایسه با اسید فیتیک استاندارد، حاوی مقادیر بسیار بیشتری از عناصر معدنی از جمله منگنز، آهن، روی، کبالت، کلسیم و منیزیم است. همچنین محتوای پروتئین و نیتروژن آن نیز به‌طور معنی‌داری بیشتر است. در مقابل، مقدار فسفر کل و فسفر فیتات در نمونه استاندارد بیشتر است، که نشان می‌دهد خالص‌سازی باعث کاهش فسفر فیتات و افزایش فراهمی زیستی عناصر معدنی می‌شود. این موضوع می‌تواند اهمیت تغذیه‌ای اسید فیتیک سبوس برنج را در مقایسه با نوع استاندارد افزایش دهد. [۲۰]

جدول ۳

به علاوه سبوس برنج حاوی ترکیب کوآنزیم کیو ۱۰ [1] یا یوبیکینون ۱۰ [2] است و شواهد اپیدمیولوژیک و بیوشیمیایی نشان می‌دهد این ترکیب یک آنتی اکسیدان سلولی مهم در داخل بدن است که مهار پراکسیداسیون لیپیدی را بر عهده دارد و سایر آنتی اکسیدان‌ها مانند آلفا توکوفرول را بازسازی می‌کند. فعالیت هیپوکلسترولمی سبوس برنج به وجود گاما اوریزانول و استرول‌های گیاهی نسبت داده می‌شود. به علاوه توکوتری‌انول‌های موجود در سبوس برنج فعالیت HMG CoA ردوکتاز که یک آنزیم محدود کننده سرعت سنتز کلسترول است را مهار می‌کند. [۲۸,۸۱]

[1] CoQ10H2
[2] Ubiquinone-10

Journal Pre-proofs

تحقیقات گوناگون نشان داده است که فرایند پاربویل[1] یا نیم جوش کردن می‌تواند تاثیرات زیادی بر ویژگی‌های سبوس برنج بگذارد. نیم جوش کردن به فرآیندی گفته می‌شود که در آن شلتوک (برنج با پوسته) قبل از سفید شدن، در آب خیسانده، بخار داده و سپس خشک می‌شود. وجود آنزیم‌های لیپاز در سبوس برنج استفاده بهینه از ترکیبات مغذی و با ارزش موجود در آن را مشکل‌ساز می‌کند. این آنزیم‌ها موجب هیدرولیز تری آسیل گلیسرول‌ها به اسیدهای چرب آزاد و گلیسرول شده و در طی این فرآیند، اسیدهای چرب آزاد با استفاده از دو مسیر متفاوت یعنی، مسیر غیرآنزیمی و یا مسیر اکسیداتیو آنزیمی توسط آنزیم لیپوکسیژناز، پراکسیدها را تولید کرده و منجر به فساد و ایجاد طعم و بوی نامطلوب در روغن می‌گردند. انواعی از روش‌های پیشگیری از فعالیت لیپازها توسط محققان مطرح شده که شامل، روش‌های فیزیکی (حرارت‌دهی خشک/مرطوب، استفاده از امواج میکروویو، حرارت دهی اهمیک، مادون قرمز و اکستروژن)، روش‌های بیولوژیکی (افزودن آنزیم‌های پروتئاز جهت غیرفعال‌سازی لیپازها، توسعه خطوط تولید با PUFA بالا و افزایش میزان آنتی اکسیدان‌ها)، و روش‌های شیمیایی (اسیدی و یا قلیایی‌کردن) می‌باشند. [۲۰] اما روش‌های متفاوت غیرفعال‌سازی لیپازها، با درجات متفاوتی موجب غیرفعال نمودن آنزیم می‌گردد. [۸۲،۸] از بین روش‌های مختلف برای غیرفعال‌سازی آنزیم‌های لیپاز، روش پاربویل یا نیم‌پز کردن در دمای ۲ ±۱۰۰ درجه سانتی‌گراد بمدت ۳۰ دقیقه روشی آسان و با کارایی بالا محسوب می‌گردد. [۸۳] در یک پژوهش تأثیر فرآیند نیم جوش کردن بر عصاره آنزیمی سبوس برنج بررسی شد. دو نوع عصاره تهیه گردید که یکی از سبوس خام و دیگری از سبوس نیم جوش شده تهیه شده بود. نتایج نشان داد سبوس برنج نیم جوش شده دارای چربی بیشتر و کربوهیدرات کمتر است، در حالی‌که تفاوتی در پروتئین دیده نشد. از نظر ترکیبات زیست‌فعال، هر دو عصاره سرشار از فیتواسترول‌ها، توکوفرول‌ها، توکوتری‌انول‌ها و گاما-اوریزانول بودند. با این حال سبوس برنج نیم جوش شده توکوفرول‌ها و فیتواسترول بیشتری داشت، ولی عصاره آنزیمی سبوس برنج بیشترین مقدار فنول‌های آب‌دوست را دارا بود. بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان داد عصاره آنزیمی سبوس برنج توان بیشتری در حذف رادیکال‌ها و حفاظت در برابر اکسیداسیون لیپیدها و پروتئین‌ها را دارد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که عصاره آنزیمی سبوس برنج از خواص زیست فعال قوی‌تری نسبت به سبوس برنج نیم جوش شده برخوردار است. به طور کلی، نیم جوش کردن ترکیب زیست فعال سبوس را تغییر می‌دهد و این عصاره‌ها می‌توانند در صنایع دارویی و آرایشی-بهداشتی کاربرد داشته باشند. [۸۴]

اما جای بسیار تاسف است که علی رقم وجود تمامی این ترکیبات ارزشمند در سبوس برنج مصرف خوراکی آن بسیار پایین است و مواد مغذی ارزشمند و نیز ترکیبات زیست‌فعال موجود در آن معمولاً به هدر می‌روند. در نتیجه، سبوس برنج اغلب به‌عنوان خوراک دام استفاده شده یا در تولید کودها و سوخت‌ها به کار می‌رود یا متاسفانه در محل‌های دفن زباله دور ریخته می‌شود. [۶۱]

روغن سبوس برنج ، پروفایل اسیدهای چرب و اجزای تشکیل دهنده آنروغن سبوس برنج به دلیل خواص منحصر به‌فرد، ارزش دارویی بالا و وجود ترکیبات با ارزش به‌طور گسترده در صنایع غذایی، دارویی، آرایشی و بهداشتی و شیمیایی کاربرد دارد. این روغن در میان روغن‌های گیاهی خوراکی منحصربه‌فرد است و منبعی سالم از اسیدهای چرب چندغیراشباع بوده و نیز خواص تغذیه‌ای مطلوبی دارد. در ژاپن به دلیل تأثیرات مثبت آن بر سلامت قلب، با عنوان «روغن قلب» شناخته می‌شود. همچنین به دلیل ترکیب اسیدهای چرب مناسب، کیفیت پخت بالا و ماندگاری مطلوب، از آن به‌عنوان یکی از باکیفیت‌ترین روغن‌های گیاهی یاد می‌شود. نقطه دود بالای آن (۲۵۴ درجه سانتی‌گراد)، طعم ملایم و جذب ۱۵ درصد کمتر روغن هنگام پخت، این محصول را گزینه‌ای ایده‌آل برای سرخ‌کردن و پخت‌وپز در دمای بالا تبدیل کرده است. [۸۵،۸۶]

[1] Parboil

Journal Pre-proofs

همانطور که قبلا گفته شد ویژگی‌های منحصر به فرد این روغن (خواص آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، ضدمیکروبی، ضددیابتی و ضدسرطانی) موجب شده است که روغن سبوس برنج را به ماده‌ای ارزشمند برای کاربردهای مختلف در صنایع غذایی (روغن پخت‌وپز، محصولات لبنی و فرآورده‌های گوشتی) و صنایع غیرغذایی (پلیمر، روان‌کننده، زیست‌سوخت، لیپیدهای ساختاری و محصولات آرایشی) تبدیل کند روغن سبوس برنج در مقایسه با سایر روغن‌های گیاهی متفاوت است زیرا دارای محتوای اسیدهای چرب آزاد بالاتر همراه با محتوای غیرعادی بالای موم، ترکیبات غیر صابونی، لیپیدهای قطبی و رنگدانه‌ها می‌باشد. [۱۹،۸۷]

روغن سبوس برنج دارای محتوای چربی غیراشباع مطابق با استانداردهای سازمان بهداشت جهانی (WHO) است. به همین دلیل شورای تحقیقات پزشکی هند[۱]، سازمان بهداشت جهانی[۲]، انجمن قلب آمریکا[۳]، انجمن غلات و روغن چین[۴] روغن سبوس برنج را به دلیل مشخصات اسیدهای چرب و سایر ترکیبات آن به عنوان یک "روغن سالم" معرفی کرده‌اند. با توجه به استاندارد بین المللی کدکس ۲۰۱۰ به شماره CXS 210-1999، روغن سبوس برنج یکی از سالم ترین روغن‌های خوراکی است و منبع متعادلی از اسیدهای چرب اشباع (۲۰ درصد اسید پالمیتیک)، اسیدهای چرب تک غیراشباع (۴۲ درصد اولئیک اسید) و اسیدهای چرب چند غیراشباع (۳۲ درصد اسید لینولئیک) می‌باشد. اسید لینولئیک به طور گسترده‌ای به عنوان یک اسید چرب ضروری شناخته می‌شود و کلسترول خون را کاهش می‌دهد، از تصلب شرایین و سایر اثرات سلامتی جلوگیری می‌کند. [۱۹،۲۱،۶۲]

در مطالعه انجام شده توسط Yoshida و همکاران در سال ۲۰۱۱، در بررسی ترکیب اسیدهای چرب لیپیدهای سبوس برنج در چندین واریته، اسیدهای پالمیتیک (C16:0)، استئاریک (C18:0)، اولئیک (18:1n-9) و لینولئیک (18:2n-6) به‌عنوان اجزای اصلی شناسایی شدند. همانگونه که در جدول ۴. آورده شده است، با وجود تفاوت در نوع لیپید، الگوی توزیع اسیدهای چرب در کل لیپیدها، TAG، FFA و PL بین واریته‌ها مشابه بود. نتایج نشان داد که بخش عمده ترکیب لیپیدی را اسیدهای چرب غیراشباع، به‌ویژه لینولئیک و اولئیک، تشکیل می‌دهند که بیش از ۷۰ تا ۸۰ درصد کل لیپیدها را شامل می‌شوند. ترکیب اسیدهای چرب در سه رقم برنج *Koshihikari*، *Haenuki* و *Akitakomachi* نشان داد که اسیدهای چرب اولئیک (C18:1) و لینولئیک (C18:2) اسیدهای غالب در تمامی کلاس‌های لیپیدی هستند و به‌ترتیب حدود ۴۰ تا ۴۴ درصد و ۳۵ تا ۴۲ درصد از کل اسیدهای چرب را تشکیل می‌دهند. در مقابل، اسید پالمیتیک (C16:0) بین ۱۸ تا ۲۶ درصد و اسید استئاریک (C18:0) تنها ۱ تا ۲ درصد سهم داشتند. در تری‌گلیسریدها (TAG) الگوی مشابهی مشاهده شد، اما در موقعیت sn-2 غلظت اسیدهای غیراشباع به‌ویژه لینولئیک (۵۰ تا ۵۲ درصد) و اولئیک (۴۳ تا ۴۴ درصد) چشمگیرتر بود، در حالی‌که سهم پالمیتیک و استئاریک تقریباً ناچیز شد؛ ویژگی‌ای که ارزش تغذیه‌ای بالاتری دارد، زیرا اسیدهای غیراشباع در این موقعیت زیست فراهمی بیشتری دارند. در مقابل، موقعیت sn-1,3 با افزایش میزان پالمیتیک (۲۳ تا ۲۶ درصد) مشخص می‌شد. در اسیدهای چرب آزاد (FFA)، نسبت پالمیتیک افزایش یافت و لینولئیک کاهش پیدا کرد که احتمالاً ناشی از هیدرولیز تری‌گلیسریدها در طی ذخیره‌سازی است. همچنین در فسفولیپیدها نسبت لینولئیک بر اولئیک غالب بود که بیانگر غنی‌تر بودن این گروه از اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه است. به‌طور کلی، تفاوت میان ارقام اندک است و این تفاوت بیشتر به نوسان در نسبت اسیدهای چرب مربوط است تا به تغییر در الگوی کلی ترکیب لیپیدی. [۸۸]

جدول ۴

[1] Indian Council of Medical Research
[2] World Health Organization
[3] American Heart Association
[4] Chinese Cereals and Oils Association

Journal Pre-proofs

با توجه به در نظر گرفتن ترکیبات فراسودمند خاص این ماده غذایی ارزشمند می‌توان گفت که روغن سبوس برنج اسیدهای چرب خاص، ترکیبات فنولی گاما اوریزانول، اسید فرولیک و ویتامین E (توکوفرول و توکوتری‌انول) را دارا است. که به طور کلی حاوی بیش از ۸۰ درصد اسید اولئیک، لینولئیک و لینولنیک اسید است. این روغن به دلیل نقطه دود بسیار بالا، طعم خنثی و عطر لطیف، به گزینه‌ای عالی برای پخت‌وپز تبدیل شده است. مصرف اسید چرب اولئیک می‌تواند با کاهش لیپوپروتئین‌های با چگالی پایین (LDL) یا کلسترول بد، از تصلب شرایین پیشگیری کرده و خطر بیماری‌های قلبی-عروقی را کاهش دهد. به علاوه این یک اسید چرب ضروری شناخته شده کلسترول خون را کاهش می دهد. همچنین، گزارش‌ها نشان می‌دهند که اسید لینولئیک با کاهش میزان چربی بدن، نقش مؤثری در کاهش خطر تصلب شرایین دارد. از این‌رو، وجود این دو اسید چرب در ترکیب روغن سبوس برنج، آن را به عنوان یک روغن فراسودمند تبدیل می‌کند. [۲۱،۸۹،۹۰]

در شکل ۳. پروفایل کلی اسیدهای چرب موجود در روغن سبوس برنج آورده شده است که نشان می‌دهد است میزان هر یک از اسیدهای چرب روغن سبوس برنج در محدوده خاصی گزارش شده است. البته لازم به ذکر است که میزان هر یک از اسیدهای چرب در واریته‌ها و شرایط محیطی مختلف کمی متفاوت خواهد بود. نتایج نشان می‌دهد که ترکیب اسیدهای چرب در نمونه مورد بررسی عمدتاً شامل اسیدهای چرب غیراشباع است. اسید اولئیک (C18:1) با ۴۳ درصد و اسید لینولئیک (C18:2) با ۳۲ درصد بیشترین سهم را دارند که نشان‌دهنده‌ی مقدار بالای اسیدهای چرب تک و چند غیر اشباع و در نتیجه پتانسیل تغذیه‌ای و سلامت‌محور خوب است. از میان اسیدهای چرب اشباع، پالمیتیک اسید (C16) با ۱۵ درصد بیشترین مقدار را دارد. وجود مقدار جزئی اسید لینولنیک (C18:3) نیز قابل توجه است، زیرا این اسید چرب در برخی منابع گیاهی دیده می‌شود. در مجموع، پروفایل چربی نشان‌دهنده کیفیت مناسب و خواص کاربردی بالقوه در صنایع غذایی و دارویی است. [۴۱،۸۹]

شکل ۳

روغن سبوس برنج از دو بخش قابل صابونی و غیر قابل صابونی شدن تشکیل شده است. بخش غیرصابونی این روغن شامل ترکیباتی ارزشمند با خواص بیولوژیکی و تغذیه‌ای قابل توجه است. از جمله این ترکیبات می‌توان به توکوفرول‌ها و توکوتری‌انول‌ها اشاره کرد که هر دو از اشکال ویتامین E با خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی هستند. گاما اوریزانول ترکیب دیگری است که علاوه بر نقش آنتی‌اکسیدانی، در کاهش کلسترول خون نیز مؤثر شناخته شده است. فیتواسترول‌ها نیز با ساختاری مشابه کلسترول، در کاهش جذب کلسترول در روده نقش دارند. پلی‌فنول‌ها به عنوان ترکیبات گیاهی، فعالیت ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی نشان می‌دهند. در نهایت، اسکوالن که یک ترکیب لیپیدی طبیعی است، در سلامت پوست و عملکرد ایمنی اهمیت دارد. این ترکیبات، روغن سبوس برنج را به یک روغن گیاهی منحصربه‌فرد با خواص عملکردی و دارویی تبدیل کرده‌اند. روغن سبوس برنج خام در مقایسه با سایر روغن‌های گیاهی دارای سطح بالاتری از تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها است. در شکل ۴. میزان ترکیبات بخش صابونی روغن سبوس برنج آورده شده است: [۱۹]

شکل ۴

گاما اوریزانول یکی از ترکیبات غیر صابونی موجود در روغن سبوس برنج است. یکی از مهم‌ترین ریزمغذی‌هایی که مسئول بسیاری از اثرات مفید بر سلامت انسان است این ترکیب می‌باشد. این ترکیب زیست‌فعال نخستین بار در سال ۱۹۴۵ توسط کانکو و تسوچیا از روغن سبوس برنج جداسازی شد. در ابتدا، گاما اوریزانول به‌عنوان یک ترکیب منفرد شناخته شد، اما بررسی‌های بعدی نشان دادند که در واقع مخلوطی از استرهای اسید فروئولیک و فیتواسترول‌ها است. اگرچه در خصوص تعداد دقیق اجزای این

مخلوط زیست‌فعال اختلاف‌نظرهایی وجود دارد، اما تحقیقات جدید موفق به شناسایی، جداسازی و تعیین ساختار بیست‌وسه ترکیب مختلف از گاما اوریزانول شده‌اند. با این حال، چهار استر اصلی شامل سیکلوآرتنیل فروئات، ۲۴-متیلن‌سیکلوآرتنیل فروئات، کامپستریل فروئات و β-سیتوستریل فروئات است که حدود ۸۰ درصد از گاما اوریزانول موجود در روغن سبوس برنج را تشکیل می‌دهند. ویژگی مشترک این ترکیبات، حضور جزء اسید فروئولیک حاوی گروه‌های هیدروکسیل است که موجب افزایش قطبیت آن‌ها شده و در نتیجه، گاما اوریزانول را در حلال‌های قطبی و غیرقطبی قابل‌حل می‌سازد. آنتی‌اکسیدان‌های دیگر موجود در سبوس برنج شامل توکوفرول‌ها، توکوتری‌انول‌ها و گاما اوریزانول هستند که در مدل‌های اکسیداسیون کلسترول و اسید لینولیئک اثرات آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی نشان داده‌اند. تحقیقات نشان می‌دهند که گاما اوریزانول در مقایسه با توکوفرول‌ها و توکوتری‌انول‌ها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری در جلوگیری از اکسیداسیون کلسترول دارد. [۹۱–۹۳]

برخی از ترکیبات با ارزش، مانند سبوس برنج، به‌طور گسترده و در مقیاس بالا تولید می‌شوند، اما هر ساله چندین تن از آن بدون استفاده مناسب به پسماند تبدیل می‌شود. این در حالی است که سبوس برنج می‌تواند به‌عنوان یک ماده اولیه غنی برای تولید ترکیبات زیست‌فعال و با ارزش افزوده مورد استفاده قرار گیرد. بهره‌برداری صحیح از این منابع نه‌تنها از هدررفت آن‌ها جلوگیری می‌کند، بلکه فواید تغذیه‌ای و اقتصادی قابل‌توجهی نیز به همراه دارد. استفاده بهینه از این منابع نه‌تنها از نظر اقتصادی مقرون‌به‌صرفه است، بلکه به کاهش آلودگی‌های زیست‌محیطی نیز کمک می‌کند. در این راستا، انتخاب روش مناسب برای استخراج ترکیبات ارزشمند اهمیت ویژه‌ای دارد. [۹۴]

روش بازیابی ترکیبات با ارزش افزوده بالا از پسماندهای غذایی مانند سبوس برنج باید با دقت انتخاب شود تا حداکثر بازده و خلوص استخراج حاصل گردد، از کاهش عملکرد ترکیب جلوگیری شود و محصول نهایی با درجه کیفی مناسب برای مصرف غذایی به دست آید. برای دستیابی به این اهداف، می‌توان از فرآیند معروف به «فرآیند بازیابی جهانی پنج‌مرحله‌ای» استفاده کرد که شامل مراحل در دو سطح ماکروسکوپی و میکروسکوپی است. مراحل گفته شده به صورت زیر است:

۱. پیش‌تیمار در مقیاس ماکروسکوپی،

۲. جداسازی ماکرومولکول‌ها و میکرومولکول‌ها،

۳. استخراج،

۴. جداسازی و خالص‌سازی،

۵. تشکیل محصول.

در میان این مراحل، استخراج مهم‌ترین و بحرانی‌ترین مرحله به شمار می‌رود، زیرا یک پدیده انتقال جرم است که در آن، حل‌شونده از ماتریس به داخل حلال منتقل می‌شود و تاثیر مستقیمی بر بازده تولید محصول نهایی خواهد داشت. [۹۵]

روش‌های نوین استخراج این روغن نسبت به روش‌های سنتی کارآمدتر و سازگارتر با محیط زیست هستند. پیشرفت‌های صورت‌گرفته در استخراج با استفاده از روش‌های نوآورانه مانند استخراج باکربن دی اکسید فوق/زیر بحرانی، استخراج با کمک مایکروویو، استخراج آبی با کمک آنزیم، استخراج آبی با امواج اولتراسونیک و استخراج با آب زیر بحرانی نشان داده‌اند که این تکنیک‌ها نه‌تنها بازده استخراج را افزایش می‌دهند، بلکه پروفایل تغذیه‌ای روغن سبوس برنج را نیز بهبود می‌بخشند. [۱۹,۸۶,۹۶]

Journal Pre-proofs

به طور معمول در تولید تجاری روغن سبوس برنج، معمولاً از هگزان به‌عنوان حلال استفاده می‌شود. از اینرو که هگزان به‌عنوان یک آلاینده هوا شناخته شده است تحقیقات نشان داده است که در فرایند استخراج روغن با استفاده از آب و آنزیم‌ها برخی از مشکلات مرتبط با استفاده از حلال‌ها کاهش یابد. [۱۲]

استخراج روغن با آنزیم‌های آبی در مقایسه با روش‌های استخراج سنتی مزایای بسیاری دارد. به‌عنوان مثال، این روش مصرف حلال‌ها را حذف می‌کند، که ممکن است منجر به کاهش هزینه‌های سرمایه‌گذاری نیز شود. در یک مطالعه اخیر استخراج روغن از سبوس برنج را با روش‌های استخراج آنزیمی و با استفاده از حلال هگزان در مقایسه با روغن تجاری موجود در بازار مقایسه گرده است. همچنین، فرآوری آنزیمی دانه‌های روغنی پیش از استخراج باعث افزایش مقدار روغن استخراج‌شده می‌شود، زیرا آنزیم‌های خاصی دیواره‌های سلولی را تجزیه می‌کنند. همچنین تحقیقات نشان داده اند که در فرآیند استخراج آنزیمی روغن سبوس برنج با استفاده از آنزیم‌های سلولاز با توجه به بازدهی مناسب روشی کارآمد است. در این فرآیند پارامترهای دما و زمان انکوباسیون بر بازده روغن تولید شده تأثیر دارند. [۶۲]

جدول ۵. مقایسه‌ای از کیفیت روغن سبوس برنج به‌دست‌آمده از روش‌های مختلف استخراج (تجاری، با حلال هگزان و آنزیمی) را ارائه می‌دهد. نتایج جدول نشان می‌دهد که روش استخراج تأثیر قابل‌توجهی بر کیفیت روغن سبوس برنج دارد. روغن تجاری و روغن استخراج‌شده با هگزان دارای اسید چرب آزاد بسیار پایین‌تری نسبت به روش آنزیمی هستند (به ترتیب ۰/۱ و ۲/۳۶ در برابر ۷/۴ درصد) که نشان‌دهنده پایداری بهتر و کیفیت بالاتر این روغن‌ها است. نتایج نشان می‌دهد که روغن تجاری کمترین مقدار اسید چرب آزاد، عدد پراکسید و عدد صابونی قابل قبولی دارد که نشان‌دهنده کیفیت بالای آن از نظر پایداری اکسیداتیو است. با این حال، روغن استخراج‌شده با آنزیم دارای مقدار زیادی گاما اوریزانول (۱/۷۶ درصد) و مقدار نسبتاً مناسب توکوفرول‌ها (۰/۹ درصد) است، که نشان‌دهنده غنای بیشتر آن از نظر ترکیبات زیست‌فعال و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. همچنین این روغن بیشترین عدد پراکسید را دارد (۱۲/۰۱)، که می‌تواند نشانه‌ی حساسیت بیشتر به اکسیداسیون باشد. روغن استخراج‌شده با آنزیم دارای بیشترین عدد یدی و میزان گاما اوریزانول نسبت به روغن تجاری است که بیانگر غنای بیشتر از نظر ترکیبات زیست‌فعال است. همچنین، روش آنزیمی نسبت به روش هگزان، میزان کمتری از مواد نامحلول در استون و پراکسید تولید می‌کند، که نشان‌دهنده خلوص و سلامت نسبی بیشتر روغن است. این نتایج نشان می‌دهند که روش استخراج می‌تواند به‌طور قابل توجهی بر کیفیت تغذیه‌ای و شیمیایی روغن تأثیر بگذارد. به‌طور کلی، روش استخراج با آنزیم علی‌رغم برخی ضعف‌ها در پایداری، از نظر ارزش تغذیه‌ای و ترکیبات مفید، عملکرد بهتری نسبت به سایر روش‌ها دارد. [۱۲]

جدول ۵

یکی از چالش‌های اصلی در استفاده مؤثر از این ماده مغذی حضور فعال مجموعه‌ای از آنزیم‌های لیپاز در لایه بیرونی سبوس برنج، می‌باشد. این آنزیم‌ها در حالت طبیعی غیرفعال هستند، اما به‌محض آنکه برنج قهوه‌ای تحت فرآیند آسیاب قرار می‌گیرد، فعال شده و بلافاصله با لیپیدهای موجود در ساختار سبوس وارد واکنش می‌شوند. نتیجه این واکنش، تجزیه چربی‌ها به اسیدهای چرب آزاد است که نه‌تنها باعث افت کیفیت روغن و کاهش ارزش غذایی آن می‌شود، بلکه در عرض چند ساعت پس از آسیاب شدن، موجب فساد سبوس نیز خواهد شد. این مسئله به‌ویژه در نگهداری بلندمدت سبوس اهمیت می‌یابد، چراکه گزارش‌ها نشان می‌دهند محتوای اسید چرب آزاد در روغن حاصل از سبوس خام تصفیه‌نشده می‌تواند طی ۳۰ روز تا حدود ۴۷/۵ درصد افزایش یابد؛

Journal Pre-proofs

افزایشی چشمگیر که کاربرد صنعتی این روغن را با محدودیت مواجه می‌کند. از این‌رو، به‌منظور جلوگیری از تخریب ترکیبات مفید و افزایش پایداری سبوس، پژوهشگران روش‌های متعددی را برای تثبیت یا غیرفعال‌سازی آنزیم‌های لیپولیتیک در سبوس تازه آسیاب‌شده توسعه داده‌اند. این روش‌ها به‌عنوان یک مرحله پیش‌نیاز و ضروری در استخراج روغن سبوس برنج، نقشی کلیدی در حفظ کیفیت محصول نهایی ایفا می‌کنند. [۸۹]

هیدروپراکسیدها به‌عنوان محصولات اولیه اکسایش خودبخودی روغن، ترکیباتی بی‌مزه، بی‌رنگ و بدون بو هستند. این ترکیبات پس از تجزیه، طیفی گسترده از ترکیبات کربونیلی، هیدروکربن‌ها، فوران‌ها و سایر فرآورده‌ها را تولید می‌کنند. شاخص پراکسید به‌عنوان معیاری برای سنجش میزان فساد در روغن مورد استفاده قرار می‌گیرد. تشکیل هیدروپراکسیدها بیانگر آغاز فرآیند اکسایش یا تخریب روغن بوده و در نهایت منجر به فساد، ترشیدگی و ایجاد بوهای ناخوشایند در آن می‌شود. [۸۹]

پژوهش‌های مختلفی در خصوص بررسی انواع روش‌های استخراج روغن سبوس برنج و تفاوت ایجاد شده در کیفیت و کمیت محصول نهایی انجام شده است که در ادامه به بررسی بخشی از آنها پرداخته خواهد شد:

در یک مطالعه انجام شده توسط Hanmoungjai و همکاران در سال ۲۰۰۱ ترکیب اسیدهای چرب روغن سبوس برنج به‌دست‌آمده از سه روش مختلف استخراج شامل روش تجاری، استخراج با هگزان و استخراج آنزیمی مورد بررسی قرار گرفت. لازم به ذکر است که مقادیر ارائه شده میانگین دو بار اندازه‌گیری بوده و استخراج آنزیمی با استفاده از یک گرم آنزیم آلکالاز به ازای ۱۰۰ گرم سبوس، در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد و pH برابر ۹ به مدت ۲ ساعت انجام شده است. این یافته‌ها نشان می‌دهند که روش آنزیمی می‌تواند گزینه‌ای مناسب برای تولید روغن با کیفیت تغذیه‌ای بالاتر باشد. نتایج در جدول ۶ آورده شده است: [۱۲]

جدول ۶

اولئیک اسید و لینولئیک اسید به عنوان بیشترین اسیدهای چرب غیراشباع در روغن سبوس برنج گزارش شده‌اند و نسبت اسیدهای چرب اشباع به غیراشباع تقریباً ۲۰ به ۸۰ می‌باشد، همچنین به طور کلی فرآیند تثبیت حرارتی تأثیری بر پروفایل اسیدهای چرب ندارد. [۹۷] داده‌های جدول نشان می‌دهند که ترکیب اسیدهای چرب روغن سبوس برنج با توجه به روش استخراج تغییر می‌کند؛ به طوری که روغن استخراج‌شده با هگزان و روش آنزیمی دارای مقادیر بالاتری از اسید اولئیک (چربی غیر اشباع مفید) بوده و درصد اسید پالمیتیک (چربی اشباع) در آن‌ها کمتر از روغن تجاری است که می‌تواند نشان‌دهنده کیفیت تغذیه‌ای بهتر این روغن‌ها باشد. همچنین، روش آنزیمی در حفظ مقادیر بالاتری از اسید لینولنیک (امگا-۳) نسبت به روش هگزان عملکرد بهتری داشته است، که این نتایج حاکی از آن است که استخراج آنزیمی می‌تواند روشی مطلوب‌تر از نظر حفظ ترکیبات مفید باشد. [۱۲,۹۸]

در یکی از مطالعات پیشین که توسط Mourad و همکاران در سال ۲۰۰۹ انجام شد، به‌منظور بهبود پایداری و کیفیت روغن استخراجی، سبوس برنج با استفاده از تیمار مایکروویو تثبیت گردید. این روش منجر به تولید روغنی با پایداری قابل‌توجه تا ۴۸ هفته شد که نشان‌دهنده‌ی اثربخشی فرآیند تثبیت در مهار فعالیت آنزیم‌های لیپولیتیک و جلوگیری از فساد لیپیدهاست. در ادامه، سبوس برنج تثبیت‌شده تحت فرآیند آبکافت آنزیمی با استفاده از سه نوع آنزیم مختلف شامل پروتئاز، ماکروآنزیم و آلفا آمیلاز قرار گرفت. نتایج نشان داد که استفاده از هر سه آنزیم موجب افزایش چشمگیر بازده استخراج روغن گردید. با این حال، تفاوت‌های معناداری در کیفیت روغن حاصل مشاهده شد؛ به‌طوری‌که پروتئاز و ماکروآنزیم توانستند روغن‌هایی با اسیدیته در محدوده قابل

Journal Pre-proofs

قبول تولید کنند، در حالیکه استفاده از آلفا آمیلاز منجر به تولید روغن‌هایی با میزان بالای اسیدهای چرب آزاد در محدوده ۱۵ تا ۱۹ درصد گردید که از نظر کیفی نامطلوب تلقی می‌شود. [۹۹]

در برخی از پژوهش‌های انجام شده از روش‌های پیش‌تیماری مختلفی از جمله روش آنزیمی استفاده شده است که این روش شامل استفاده از آنزیم‌های پروتئولیتیک، سلولولیتیک و پکتولیتیک برای تجزیه ساختارهای سلولی دانه‌های روغنی است. [۶۱،۱۰۰] این آنزیم‌ها به‌عنوان پیش‌تیمار قبل از استخراج مکانیکی به کار رفته‌اند تا دیواره‌های سلولی و پوشش‌های اولئوزوم‌ها را تخریب کرده و آزادسازی روغن را تسهیل کنند. نتیجه پژوهش‌ها نشان می‌دهند که این تیمارهای آنزیمی به‌طور مؤثری باعث افزایش بازده استخراج روغن شده، به‌ویژه زمانی که از ترکیب چند نوع آنزیم استفاده شد. همانطور که نتایج جدول۷. نشان می‌دهد تمام روغن‌های مورد بررسی حاوی مقدار کمی اسید میریستیک[1] (۰/۰۹ - ۰/۳۱ درصد) بودند. میزان اسید پالمیتیک بالاتر از مقدار گزارش‌شده در منابع علمی بود که میزان آن (۲۰ - ۲۶/۶۷ درصد) بود، در حالیکه اسید استئاریک در محدوده (۲/۰۶ - ۲/۴۸ درصد) قرار داشت که متناسب با گزارشات پیشین شده بود. از سوی دیگر، اسید اولئیک به میزان قابل توجهی کمتر از محدوده گزارش‌شده (۵/۰۱ - ۳۱/۹۷ درصد) بود، در حالیکه اسید لینولئیک بالاتر از مقدار گزارش‌شده بود. [۶۱]

جدول ۷

در این مطالعه، OC به روغن حاصل از سبوس برنج پایدارشده تحت شرایط فرآوری مشابه اشاره دارد. همچنین پارامتر OS روغنی است که پس از تیمار سبوس برنج پایدارشده با آنزیم مخلوط، از طریق استخراج با حلال به‌دست آمده است. پارامتر OH مربوط به روغنی است که پس از تیمار آنزیمی، از طریق فشردن هیدرولیکی استخراج شده، در حالیکه پارامتر OM نشان دهنده روغن حاصل از تیمار سبوس برنج در محیط هگزان می‌باشد. همچنین، تمامی مقادیر گزارش‌شده میانگین حاصل از دو بار آنالیز هستند. [۱۰۱،۱۰۲]

پروتئین های سبوس برنج و پروفایل اسیدهای آمینهسبوس برنج دارای محتوای پروتئین خامی در بازه ۱۲ تا ۲۲ درصد است که این میزان نسبت به گندم و ذرت بالاتر می‌باشد، هرچند مقدار آن بسته به نوع برنج، شرایط زراعی و فرآیندهای فرآوری متغیر است. [۳۶،۱۰۳] پروتئین استخراج‌شده از سبوس برنج با دارا بودن پروفایل متعادل اسیدهای آمینه، کیفیت بالا، قابلیت هضم مطلوب و حساسیت‌زایی بسیار ضعیف، یک ماده مغذی ارزشمند در تولید غذاهای گیاهی به‌شمار می‌رود. این پروتئین دارای خواص عملکردی متعددی از جمله فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی [۱۰۴،۱۰۵]، ضد دیابتی [۱۰۶،۱۰۷] و ضد سرطانی [۱۰۸،۱۰۹] است و به همین دلیل در تولید محصولات با ارزش افزوده بالا، به‌ویژه در صنایع غذایی، پتانسیل بالایی دارد. فرم کنسانتره آن می‌تواند در توسعه طیف گسترده‌ای از محصولات غذایی مورد استفاده قرار گیرد و به‌ویژه در فرمولاسیون غذاهای مناسب برای نوزادان و افراد مبتلا به آلرژی کاربرد دارد. برنج نیز که منبع مناسبی از انرژی به‌حساب می‌آید، از نظر کارایی ارزش غذایی پروتئین در بین پروتئین‌های گیاهی در جایگاه بالایی قرار دارد، هرچند محتوای پروتئین آن نسبت به سایر غلات نسبتاً پایین‌تر است. [۷،۱۱۰،۱۱۱]

میزان نسبت بازدهی پروتئین[2] سبوس برنج بین ۲ تا ۲/۵ است که در مقایسه با کازئین (۲/۵) عدد قابل توجهی است و میزان قابلیت هضم پروتئین آن بیش از ۹۰ درصد می‌باشد. [۹،۱۱۲] سبوس برنج همچنین سرشار از فیبر غذایی بوده و نسبت به سبوس

[1] Myristic acid
[2] Protein Efficiency Ratio

سایر غلات اصلی، دارای میزان بیشتری از عناصر معدنی (به‌ویژه آهن، منیزیم، فسفر، پتاسیم و منگنز) و ویتامین‌های گروه B و E می‌باشد. [۱۱۳]

برای به‌دست آوردن ایزوله پروتئین از سبوس برنج، دو مرحله اصلی شامل استخراج و جداسازی پروتئین وجود دارد که اجرای مؤثر آن‌ها مستلزم آگاهی دقیق از ویژگی‌هایی مانند حلالیت و وزن مولکولی پروتئین‌ها است. سبوس برنج عمدتاً حاوی پروتئین‌های ذخیره‌ای از جمله آلبومین، گلوبولین، گلوتلین و پرولامین است که طبق طبقه بندی آزبورن[1]، بر اساس میزان حلالیت‌شان گروه‌بندی می‌شوند. این پروتئین‌ها از نظر ساختار، حلالیت و ارزش تغذیه‌ای با یکدیگر تفاوت دارند و شناخت این ویژگی‌ها نقش کلیدی در انتخاب روش مناسب برای استخراج ایفا می‌کند. علاوه بر نقش تغذیه‌ای، این ترکیبات در کاربردهای صنعتی، به‌ویژه در استخراج پروتئین‌های آبکافت شده، اهمیت بالایی دارند. طی فرآیند سفید کردن برنج، پروتئین‌های آلبومین و بخشی از گلوبولین همراه با سبوس جدا می‌شوند. ترکیب پروتئینی سبوس برنج به‌طور معمول شامل آلبومین، گلوبولین، گلوتلین و پرولامین است که به ترتیب برابر با مقادیر ۳۷، ۳۶، ۲۲ و ۵ درصد هستند. این محصول نه‌تنها قابلیت هضم بالایی دارد، بلکه از نظر حساسیت‌زایی نیز در سطح پایینی قرار دارد. میزان پروتئین موجود در سبوس برنج بسته به نوع برنج متغیر گزارش شده است؛ به‌عنوان نمونه، در گونه‌های ایرانی، با استفاده از روش کلدال، میزان پروتئین حدود ۶/۲۴ درصد اندازه‌گیری شده است. سبوس برنج در مقایسه با سایر منابع پروتئین گیاهی، به‌ویژه به‌دلیل محتوای بالای آمینواسیدهای ضروری مانند لیزین، منبعی ارزشمند محسوب می‌شود. [۶۰،۱۱۴–۱۱۶]

آلبومین که در آب محلول است، نسبت به دیگر پروتئین‌ها اتصالات دی‌سولفیدی کمتری دارد و در نمک نیز حل می‌شود. این پروتئین دامنه گسترده‌ای از وزن مولکولی (۱۰ تا ۲۰۰ کیلودالتون) را شامل می‌شود و دارای گلیکوپروتئین‌هایی با وزن تقریبی ۶۰ کیلودالتون است آلبومین به‌راحتی قابل هضم و جذب است و با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی، برای مصرف انسانی بسیار مناسب می‌باشد. این ترکیب متنوع از اسیدهای آمینه و ویژگی‌های عملکردی، پروتئین‌های سبوس برنج را به منبعی مغذی و ارزشمند برای کاربردهای تغذیه‌ای و صنعتی تبدیل کرده است.

گلبولین معمولاً در محلول‌های نمکی حل می‌شود و به‌دلیل وجود نمک‌های طبیعی در گیاه، اغلب همراه آلبومین استخراج می‌گردد. این پروتئین از پلی‌پپتیدهایی با وزن‌های ۱۶ و ۲۵ کیلودالتون تشکیل شده و سرشار از اسیدهای آمینه گوگرددار مانند سیستئین و متیونین است که در سنتز پروتئین‌ها و عملکرد سلولی اهمیت دارند. [۷] پروتئین گلوبولین ۱۹ کیلودالتونی یکی از پروتئین‌های ذخیره‌ای دانه در گیاه *Oryza sativa* (برنج) است که وزن مولکولی آن حدود ۱۹ کیلودالتون می‌باشد. بر اساس اطلاعات پایگاه UniProt با شناسه P29835، این پروتئین عمدتاً در بذر برنج بیان می‌شود و نقش مهمی در تأمین منابع غذایی لازم برای جوانه‌زنی ایفا می‌کند. گلوبولین ۱۹ کیلودالتونی در واکوئل سلول‌ها مستقر بوده و به ابرخانواده کوپین[2] تعلق دارد که به‌واسطه ساختار بشکه‌ای بتا (β-barrel) محافظت‌شده‌اش شناخته می‌شود. این پروتئین از ۱۷۳ اسیدآمینه تشکیل شده و بیان ژنی آن بیشتر در آندوسپرم در حال رشد مشاهده می‌شود. در شکل ۵ ساختار کریستالوگرافی آن آورده شده است. [۱۱۷]

شکل ۵

[1] Osborne classification
[2] Cupin

Journal Pre-proofs

گلوتلین فقط در محیط قلیایی حل می‌شود و وجود پیوندهای دی‌سولفید و گلیکوزیلاسیون باعث دشواری در استخراج و انحلال آن می‌گردد؛ وزن مولکولی آن بین ۴۵ تا ۱۵۰ کیلودالتون است. این پروتئین سرشار از لیزین، یکی از اسیدهای آمینه ضروری، بوده و می‌تواند کیفیت پروتئین رژیم غذایی را بهبود بخشد. [۷] پروتئین Glutelin type-B 2 با شناسه UniProt: Q02897 یکی از مهم‌ترین پروتئین‌های ذخیره‌ای در دانه‌های *Oryza sativa* (برنج) است که نقش اساسی در تأمین منابع نیتروژن و انرژی برای جنین در حال رشد پس از جوانه‌زنی دارد. این پروتئین با وزن مولکولی حدود ۵۲/۲ کیلو دالتون و زنجیره‌ای شامل ۴۶۲ اسیدآمینه، عمدتاً در آندوسپرم دانه بیان می‌شود و در واکوئل سلول‌ها ذخیره می‌گردد. گلوتلین نوع B2 پس از ترجمه به زیرواحدهای سبک و سنگین فراوری می‌شود و به خانواده‌ی گلوتلین‌ها تعلق دارد که در بهبود کیفیت تغذیه‌ای برنج اهمیت بالایی دارند. در شکل ۶. ساختار کریستالوگرافی این پروتئین آورده شده است. [۱۱۷]

شکل ۶

پرولامین در الکل محلول بوده و برای حل شدن نیاز به اتانول ۶۰-۷۰ درصد دارد. این پروتئین اندازه‌ای در حدود ۱۲ تا ۱۷ کیلودالتون داشته و دارای مقادیر بالایی از اسیدهای آمینه‌ای مانند گلوتامیک، آلانین، گلیسین و آرژنین است که در عملکردهای متابولیکی بدن نقش دارند. [۷] در میان پروتئین‌های ذخیره‌ای پرولامین در *Oryza sativa*، انواع مختلفی وجود دارد که تفاوت اصلی آن‌ها در وزن مولکولی و ساختار ژنتیکی‌شان است. پرولامین‌های ۱۴ کیلودالتونی، شامل ایزوفرم‌های 14P و 14E، مهم‌ترین و غالب‌ترین انواع بوده و نقش برجسته‌ای در تغذیه جنین و ساختار دانه دارند. این دو ایزوفرم احتمالاً در نواحی تنظیمی ژن تفاوت‌هایی دارند که بر بیان آن‌ها تأثیر می‌گذارد. پرولامین D17 با وزن مولکولی بزرگ‌تر، ساختار پیچیده‌تری داشته و پرولامین ۱۰ کیلودالتونی با کوچک‌ترین اندازه، ساده‌ترین ساختار را داراست و معمولاً در مراحل اولیه سنتز پروتئین‌های ذخیره‌ای نقش دارد. این تنوع ساختاری و عملکردی نشان‌دهنده پیچیدگی تنظیم ژنتیکی و اهمیت این پروتئین‌ها در دانه‌های برنج است. در میان انواع پرولامین‌های فوق، نوع ۱۴ کیلودالتون به‌ویژه ایزوفرم‌های 14P و 14E، مهم‌ترین و غالب‌ترین نوع به شمار می‌رود. این پروتئین حدود ۷۰ تا ۸۰ درصد از کل پرولامین‌های دانه را تشکیل می‌دهد و بیان آن به‌طور گسترده در آندوسپرم صورت می‌گیرد. همچنین، این نوع نقش کلیدی در ساختار پروتئینی دانه و کیفیت تغذیه‌ای آن دارد و دارای تنوع ژنی و تنظیم بیان بالایی است. در شکل ۷. ساختار کریستالوگرافی آن آورده شده است. [۱۱۷]

شکل ۷

همانطور که پیش‌تر اشاره شد و در شکل ۸. مشاهده می‌شود، پروتئین‌های برنج عمدتاً به صورت اندامک‌های ذخیره‌ای به نام اجسام پروتئینی (PBs) دیده می‌شوند. دو نوع از این اجسام پروتئینی که از نظر ساختاری با هم تفاوت دارند، در آندوسپرم برنج شناسایی شده‌اند که شامل ساختار نوع اول (PB-I) و نوع دوم (PB-II) است. نوع اول ساختاری لایه‌ای، شکلی کروی و محتوای بالایی از پرولامین دارد، در حالی که اجسام پروتئینی نوع دوم ساختاری بلوری و شکلی نامنظم دارد و حاوی مقدار زیادی گلوتلین است. همچنین گزارشات نشان می‌دهد که پروتئین‌های ذخیره‌ای آندوسپرم از جمله تقریباً ۶۰ تا ۶۵ درصد ساختار نوع دوم، حدود ۲۰ تا ۲۵ درصد ساختار نوع اول و ۱۰ تا ۱۵ درصد آلبومین و گلوبولین در سیتوپلاسم هستند. [۱]

شکل ۸

پروتئین‌های موجود در سبوس برنج با وجود برخورداری از ارزش تغذیه‌ای بالا، به دلیل نبود فناوری‌های مناسب، هنوز به‌صورت تجاری به شکل کنسانتره یا ایزوله در دسترس نیستند. یکی از دلایل اصلی این مسئله، ساختار پیچیده، حلالیت پایین و تمایل این

پروتئین‌ها به تجمع است که جداسازی آن‌ها از سایر اجزای دیواره سلولی را دشوار ساخته و استفاده از آن‌ها را در صنایع غذایی محدود کرده است. در سال‌های اخیر، روش‌های متنوعی از جمله تیمارهای فیزیکی، شیمیایی و آنزیمی برای بهبود استخراج پروتئین از سبوس برنج توسعه یافته‌اند. اگرچه فرآیندهای شیمیایی مانند آبکافت قلیایی یا اسیدی می‌توانند به تغییر ساختار پروتئین‌ها و آسیب به اسیدهای آمینه منجر شوند، اما روش‌های آنزیمی (به‌ویژه استفاده از کربوهیدرازها و پروتئازها) به دلیل افزایش چشمگیر بازیابی پروتئین، مؤثرتر ارزیابی می‌شوند. کربوهیدرازها با تجزیه دیواره سلولی، پروتئین را از ماتریس پلی‌ساکاریدی آزاد کرده و پروتئازها نیز با شکستن پیوندهای پپتیدی، آن را به پپتیدها و اسیدهای آمینه محلول تبدیل می‌کنند. [۸–۱۰]

روش‌های استخراج می‌تواند بر خواص عملکردی و تغذیه‌ای پروتئین‌ها تأثیر بگذارد. عملکرد پروتئین سبوس برنج تحت تاثیر خواص سطح، خواص هیدراتاسیون، ساختار و اندازه مولکولی است. در حالیکه، خواص غذایی پروتئین سبوس برنج به کیفیت پروتئین، قابلیت هضم، عدم حساسیت‌زایی و مزایای سلامتی آبکافتیده‌ها و پپتیدها مربوط می‌شود. همچنین بررسی‌ها نشان می‌دهد که پروتئین سبوس برنج یک عنصر بالقوه در تولید گوشت گیاهی، نوشیدنی‌ها، بیوفیلم‌ها و حامل‌ها می‌باشد. [۷]

آبکافت آنزیمی به این دلیل که تحت شرایط ملایم انجام می‌شود و از انجام واکنش‌های جانبی جلوگیری می‌کند، در نتیجه ارزش تغذیه‌ای پروتئین را حفظ می‌کند. علاوه بر این، بسته به اختصاصیت آنزیم و درجه آبکافت ، می‌توان آبکافتیده‌هایی با خواص عملکردی، بیولوژیکی و تغذیه‌ای متمایز با پروتئین اولیه تولید کرد. به‌طور خاص، امروزه پذیرفته شده است که ویژگی‌های زیستی آبکافتیده‌هایی پروتئینی به وزن مولکولی پپتیدهای تشکیل‌دهنده آن‌ها مرتبط است. معمولاً پپتیدهای با وزن مولکولی پایین بیشترین فعالیت زیستی را دارند، زیرا می‌توانند به‌راحتی از سد روده‌ای عبور کرده و عملکردهای زیستی خود را انجام دهند. در این راستا، فیلتر اولترافیلتراسیون با غشاهای دارای محدوده کاهش وزن مولکولی، یکی از رایج‌ترین راهکارها برای جداسازی آبکافتیده‌هایی پروتئینی است، زیرا دارای مزایایی همچون تولید بالا، هزینه کم و حفظ خلوص محصول در شرایط محیطی می‌باشد. [۸،۱۳–۱۵]

مطالعات متعددی نشان داده‌اند که فعالیت زیستی پپتیدها به طول زنجیره، ترکیب اسیدهای آمینه و توالی آن‌ها وابسته است به عنوان مثال، حضور اسیدهای آمینه آبگریز مانند والین(V) ، لوسین (L) و ایزولوسین (I) به‌ویژه در نزدیکی انتهای-C ترمینال، تأثیر زیادی بر فعالیت بازدارندگی آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACE-inhibitory activity) دارد. همچنین وجود پرولین (P) در ساختار پپتیدها، به‌دلیل ساختار حلقوی آن، باعث افزایش پایداری و اثربخشی پپتیدهای مهارکننده ACE می‌شود. به‌طور مشابه، توالی RGQLLIVPQHYV دارای باقی‌مانده‌های هیدروفوبیک (والین، ایزولوسین، لوسین و پرولین) است که آن را با ویژگی‌های پپتیدهای مؤثر بر مهار ACE همسو می‌کند. [۲۸،۱۱۸،۱۱۹]

Han و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که پروتئین سبوس برنج از نظر کیفیت تغذیه‌ای بالاتر از پروتئین آندوسپرم برنج است. پروتئین سبوس برنج دارای قابلیت هضم واقعی[1] (TD) برابر با ۹۴/۸ درصد، ارزش زیستی[2] (BV) برابر با ۷۲/۶ درصد و امتیاز اصلاح‌شده قابلیت هضم پروتئین بر پایه اسیدهای آمینه[3] (PDCAAS) برابر با ۰/۹ درصد بود؛ در حالی‌که همین شاخص‌ها برای پروتئین آندوسپرم برنج به ترتیب ۹۰/۸ ، ۶۶/۷ و ۰/۶۳ درصد گزارش شدند. [۱۲۰]

[1] True digestibility
[2] Biological value
[3] Protein digestibility corrected amino acid score

ترکیب اسیدهای آمینه ضروری (گرم در ۱۰۰ گرم پروتئین) در پروتئین سبوس برنج و پروتئین آندوسپرم برنج در جدول ۸. آورده شده است. بررسی جدول نشان می‌دهد پروتئین سبوس برنج و پروتئین آندوسپرم برنج از نظر مجموع اسیدهای آمینه ضروری تقریباً برابر هستند، اما تفاوت‌هایی در ترکیب آن‌ها وجود دارد. پروتئین سبوس برنج از نظر لیزین و تریپتوفان غنی‌تر است که نشان‌دهنده کیفیت تغذیه‌ای بالاتر آن به‌ویژه برای رژیم‌هایی با کمبود این اسیدهای آمینه است. در مقابل، پروتئین آندوسپرم برنج مقدار بیشتری از متیونین+سیستئین و فنیل‌آلانین+تیروزین دارد که در عملکرد سلولی و ساخت ترکیبات عصبی مؤثرند. در نتیجه، هر دو نوع پروتئین دارای مزایای تغذیه‌ای خاص خود هستند و ترکیب آن‌ها می‌تواند به تعادل بهتر اسیدهای آمینه در رژیم غذایی کمک کند. [۱۲۱] [۱،۱۲۰]

جدول ۸

در پژوهش دیگر انجام شده توسط Yu و همکاران در سال ۲۰۲۲، برای مطالعه اسیدهای آمینه سبوس برنج به چهار بخش از لایه‌های بیرونی به درونی تقسیم شد که شامل بخش ۱، بخش ۲، بخش ۳ و بخش ۴ می‌باشد. از نظر ریزساختار، سبوس برنج از لایه‌های پریکارپ (حدود ۱۰ میکرومتر)، تستا (حدود ۲ میکرومتر)، لایه نوکلئوس (حدود ۱ تا ۲ میکرومتر) و لایه آلورون (حدود ۲۰ میکرومتر) از بیرون به درون تشکیل شده است. بنابراین، بخش ۱ و بخش ۲ عمدتاً شامل پریکارپ، تستا و لایه نوکلئوس هستند، در حالیکه بخش ۳ و بخش ۴ عمدتاً شامل لایه آلورون می‌باشند. [۱۲۲]

جدول ۹. ترکیب اسیدهای آمینه را در چهار بخش مختلف از سبوس برنج (از لایه‌های بیرونی به درونی) مقایسه می‌کند. داده‌ها نشان می‌دهند که از بیرونی‌ترین تا درونی‌ترین لایه‌ها، میزان برخی اسیدهای آمینه مانند گلوتامیک اسید، گلیسین، آلانین و تیروزین افزایش می‌یابد. این اسیدهای آمینه نه تنها در ساختار پروتئین‌ها نقش دارند بلکه می‌توانند در طعم‌پذیری و خواص عملکردی محصول نیز مؤثر باشند. همچنین، مقادیر نسبت‌های تغذیه‌ای نظیر نسبت اسیدهای آمینه ضروری به کل اسیدهای آمینه و نیز

نسبت اسیدهای آمینه ضروری به غیرضروری در لایه‌های بیرونی کمی بالاتر هستند. این موضوع نشان می‌دهد که از نظر کیفیت پروتئین، بخش‌های بیرونی‌تر سبوس دارای ترکیب متعادل‌تری از اسیدهای آمینه ضروری بوده و ارزش تغذیه‌ای بالاتری دارند، هرچند بخش‌های درونی ممکن است از نظر طعم مطلوب‌تر باشند. در مجموع این تفاوت‌ها می‌توانند برای فرآوری‌های غذایی، انتخاب نوع سبوس برای مکمل‌های غذایی یا محصولات خاص بر پایه برنج، اهمیت قابل‌توجهی داشته باشند. [۱۲۲،۱۲۳]

جدول ۹

طی بررسی های انجام شده بر روی تحقیقات مختلف درباره ویژگی‌های پروتئین سبوس برنج و روش‌های استخراج آن نشان داد که چندین روش تیمار شامل روش‌های فیزیکی، حرارتی، آنزیمی و شیمیایی برای استخراج پروتئین از سبوس برنج مورد استفاده قرار گرفته‌اند. نتایج به این صورت بود که استفاده از آنزیم در میان تمام روش‌های پیش‌تیمار موجود، بازده پروتئینی امیدوارکننده‌ای نشان داده‌اند. با این حال، هزینه نسبتاً بالای آنزیم و همچنین حساسیت بالای آنزیم به شرایط خاص صنعتی به عنوان محدودیت‌هایی در استفاده از این روش‌ها مطرح شده‌اند. همچنین بررسی ها نشان داد که تیمار سبوس برنج با روش‌های شیمیایی، آنزیمی و حرارتی پیش از استخراج پروتئین می‌تواند به‌طور نامطلوبی بر عملکرد پروتئین تأثیر بگذارد. [۱،۱۲۴]

Journal Pre-proofs

در نهایت می‌توان گفت که پروتئین سبوس برنج به‌دلیل ویژگی‌های منحصر به‌فرد خود می‌تواند کاربردهای گسترده‌ای در صنایع مختلف داشته باشد. برای مثال، ظرفیت بالای آن در اتصال آب و روغن، که به حفظ رطوبت و ایجاد بافت نرم در دهان کمک می‌کند، آن را گزینه‌ای مناسب برای استفاده در تولید محصولاتی مانند نان‌ها، خامه‌های قنادی، سوسیس و سایر فرآورده‌های غذایی کرده است. علاوه‌براین، این پروتئین می‌تواند پایه‌ای عالی برای تهیه محصولات دارای قند بالا نظیر خمیر کیک، دسرهای یخزده و انواع شیرینی باشد. پروتئین آبکافت شده سبوس برنج نیز کاربردهای متنوعی دارد؛ از جمله آنها می‌توان به استفاده در مکمل‌های غذایی، مواد اولیه فراسودمند، تقویت‌کننده‌های طعم غذا، سفیدکننده‌های قهوه[1]، لوازم آرایشی و محصولات مراقبتی اشاره کرد. همچنین در غنی‌سازی نوشیدنی‌هایی مانند نوشابه و آب‌میوه و نیز در تولید سوپ‌ها، سس‌ها، فرآورده‌های گوشتی و سایر محصولات غذایی استفاده می‌شود. [۶۰]

واریته و ارقام مختلف برنج و تفاوت در انواع سبوس

در جهان بیش از ۴۰،۰۰۰ رقم برنج وجود دارد که بیش از ۱۵،۰۰۰ رقم آن تاکنون در سراسر چین کشت شده‌اند. برنج زراعی آسیایی در نتیجه سازگاری با شرایط اکولوژیکی مختلف، تحت تأثیر انتخاب طبیعی و انسانی، دچار تمایز ژنتیکی چشمگیری شده است. این تمایز ژنتیکی، تنوع ژنتیکی گسترده‌ای در برنج ایجاد کرده است، از جمله اکوتیپ‌های ایندیکا و ژاپونیکا در طی فرآیند اهلی‌سازی، برنج‌های ایندیکا و ژاپونیکا از نظر ویژگی‌های مورفولوژیکی، زراعی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، همچنین در عملکرد، کیفیت و مقاومت به تنش‌ها با یکدیگر تفاوت یافته‌اند. این اکوتیپ‌ها را می‌توان به دو زیرگروه دیگر یعنی ارقام لاین خالص[2] و دورگه[3] تقسیم کرد؛ بنابراین، چهار نوع اصلی برنج شامل ایندیکای لاین خالص (II)، ایندیکای دورگه (IH)، ژاپونیکای لاین خالص (JI) و ژاپونیکای دورگه (JH) وجود دارد. [۱۲۵]

برنج ایندیکا عمدتاً در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری با ارتفاع کم، از جمله منطقه رودخانه یانگ‌تسه و مناطق ساحلی جنوبی کشت می‌شود و حدود ۷۰ درصد از کل سطح زیر کشت برنج در چین را به خود اختصاص می‌دهد. برنج ژاپونیکا نسبت به ایندیکا تحمل بیشتری در برابر سرما دارد، به همین دلیل در مناطقی با دامنه دمایی بیشتر و اغلب در عرض‌های جغرافیایی یا ارتفاعات بالاتر، مانند مناطق شمال‌شرقی و فلات جنوب‌غربی چین، کشت می‌شود. سطح زیر کشت برنج ژاپونیکا در طول زمان افزایش یافته و اکنون به حدود ۹ میلیون هکتار رسیده است، که معادل ۳۰ درصد از کل سطح زیر کشت برنج در چین است. برنج هیبریدی نیز به طور گسترده در بیش از ۵۳ درصد از کل زمین‌های برنج چین کشت می‌شود که از این میزان، ۵۱/۵ درصد مربوط به هیبریدهای ایندیکا (IH) و ۱/۵ درصد مربوط به دورگه‌های ژاپونیکا (JH) است. [۱۲۶،۱۲۷]

در چین، ارقام جدید برنج پیش از عرضه به بازار باید در کمیته‌های ثبت ارقام گیاهی در سطح استانی یا ملی به ثبت برسند. برای شناسایی ارقام برتر، دولت چین از دهه ۱۹۶۰ یک سیستم ارزیابی برای ارقام جدید برنج ایجاد کرده است. در مرحله نخست، لاین‌های اصلاح‌شده جدید توسط اصلاح‌گران در طی یک دوره ۱ تا ۲ ساله در آزمایش‌های مقایسه‌ای در ایستگاه‌های تحقیقاتی بررسی می‌شوند. در آزمون ها صفات زراعی مانند عملکرد، اجزای عملکرد، طول دوره رشد، ارتفاع بوته، طول و عرض دانه، سازگاری، پایداری، مقاومت به بیماری‌ها و آفات مهم، و کیفیت دانه برای هر لاین مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. پس از ۲ تا ۳ سال انجام آزمایش‌های منطقه‌ای، ارقام جدید برای ثبت رسمی به کمیته ثبت ارقام گیاهی استانی یا ملی ارائه می‌شوند. [۱۲۸]

[1] Coffee Whitener
[2] Inbred
[3] Hybrid

Journal Pre-proofs

[۸۸]در مطالعه انجام شده توسط Zarei و همکاران در سال ۲۰۱۸، پروفایل متابولیت‌های سبوس برنج در ۱۷ واریته مختلف با استفاده از روش تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) مطابق شکل ۹. مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور، فراوانی نسبی متابولیت‌ها نرمال‌سازی شد و سپس برای شناسایی الگوهای تنوع و شباهت بین واریته‌ها تحلیل گردید. نتایج نشان داد که مؤلفه اصلی اول (PC1)و دوم (PC2) به‌ترتیب ۲۰/۳ و ۱۶ درصد از تغییرات متابولیتی را توضیح می‌دهند که بیانگر وجود یک متابولوم مرکزی در سبوس برنج است. با این حال، اختلافات قابل توجهی در محدوده متابولیت‌های منفرد (حدود ۶۰ تا ۹۰ ترکیب) در میان رده‌های شیمیایی مختلف از جمله اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب، قندها و ترکیبات فنولی مشاهده شد. همچنین، مقایسه واریته‌ها بر اساس کشور تولید، تمایزات مشخصی را در توزیع متابولیت‌ها نشان داد. [۱۲۹]

شکل ۹

در پژوهش انجام شده توسط Hamada در ۱۹۹۷، تأثیر واریته بر استخراج پروتئین‌های سبوس برنج شامل آلبومین، گلوبولین، پرولامین و گلوتلین توسط ANOVA بررسی شد. تفاوت معنی‌داری بین واریته‌ها در میزان آلبومین، پرولامین و گلوتلین‌های محلول در اسید مشاهده شد، در حالی که میزان گلوبولین تفاوت قابل توجهی نداشت. نتایج در جدول ۱۰. آورده شده است: [۱۳۰]

جدول ۱۰

همچنین در یک پژوهش انجام شده بر روی ۱۷ واریته گوناگون برنج، ۲۱ نوع اسیدآمینه تفاوت قابل توجهی داشتند و از میان آن‌ها، بسیاری نقش‌های مهم و شناخته‌شده‌ای در سلامت انسان و حیوان دارند. شکل ۱۰، توزیع Z-score اسیدهای آمینه نشان می‌دهد که میزان هر اسید آمینه در واریته‌های مختلف نسبت به میانگین چقدر بالاتر یا پایین‌تر است. مقدار مثبت Z-score یعنی بیشتر از میانگین و مقدار منفی یعنی کمتر از میانگین است. این روش کمک می‌کند تا اختلاف‌های نسبی اسیدهای آمینه بین واریته‌ها مشخص شود. سبوس برنج DM-16 میزان کمتری از کوئینات و میزان بیشتری از سروتونین داشت. در واریته Rang Jey مقادیر تریپتوفان و تیروزین کمتر بود. سبوس برنج Chennula نیز دارای سطح پایین‌تری از چهار اسیدآمینه لیزین، تری‌متیل‌لیزین، ترئونین و آرژنین بود. در مقابل، سبوس Gambiaka فراوانی بیشتری از متیل‌پرولین، استاکیدرین و ترانس-۴-هیدروکسی‌پرولین نسبت به سایر واریته‌ها داشت. واریته Njavara مقادیر کمتری از سروتونین، آسپاراژین، گلوتامات، گلوتامین، پیروگلوتامین و تورین نشان داد، اما سطح N- استیل‌گلوتامات در آن بیشتر بود. در سبوس برنج Sawa Mahsuli نیز مقدار پیپکولات و گلیسین بالاتر مشاهده شد. همچنین، واریته‌های Khao Gaew و IAC 600 به‌ترتیب فراوانی کمتری از متیونین سولفوکسید و آسپارتات داشتند. در نهایت، واریته‌های Basmati 217، Basmati 370، Shwetasoke، Dorado، Calrose، RBT 300، Jasmine 85، LTH و SHZ-2 تغییر قابل توجهی در سطح اسیدهای آمینه نشان ندادند. [۱۲۹]

شکل ۱۰

همچنین در پژوهش انجام شده بر روی ارقام برنج ایرانی نشان داد همان‌طور که در شکل ۱۱. مشاهده می‌شود، روغن سبوس برنج دو رقم طارم و خزر از نظر پروفایل اسیدهای چرب با یکدیگر اختلاف معنادار آماری دارند ($p > ۰/۰۵$)، به‌طوری که میزان اسیدهای چرب اولئیک، پالمیتیک و لینولنیک در روغن سبوس برنج رقم طارم بیشتر از رقم خزر بوده و رقم خزر از نظر میزان اسیدهای چرب میرستیک، استئاریک، لینولئیک، آراشیدیک و اسید گادولئیک غنی‌تر از روغن سبوس رقم طارم می‌باشد. این

یافته‌ها نشان می‌دهد که نوع رقم برنج می‌تواند ترکیب اسیدهای چرب روغن سبوس را به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر قرار دهد. [۸۹]

شکل ۱۱

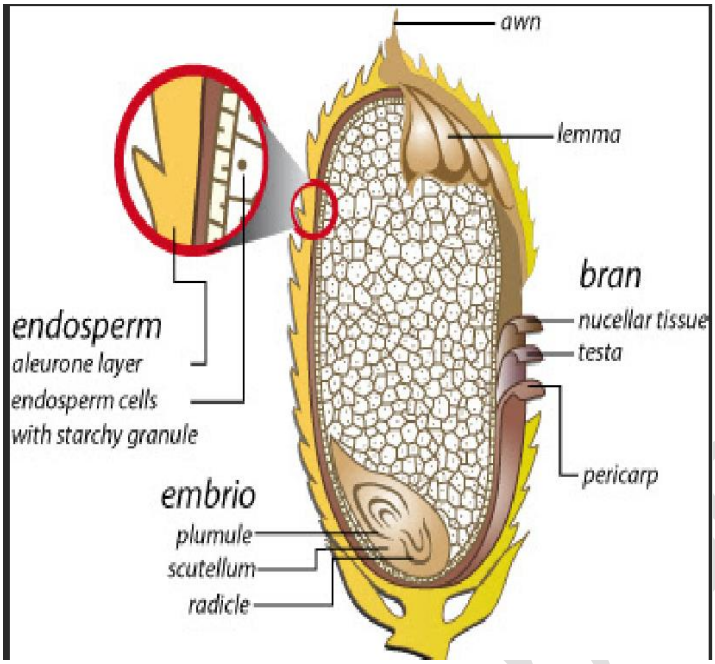
مطالعه دیگری بر روی ارقام برنج ایرانی انجام شده است. نتایج این مطالعه نشان داد بین ژنوتیپ‌های مختلف دانه برنج اختلاف معناداری در میزان پروتئین‌های ذخیره‌ای وجود دارد. به‌طوری‌که ارقام سنگ طارم و روشن بیشترین میزان پروتئین آلبومین را داشتند که به ترتیب مقدار آن‌ها ۱۹/۵۳ و ۲۴/۴۰ میلی‌گرم بر گرم بود. در مقابل، واریته دانه قهوه‌ای کمترین میزان پروتئین آلبومین و گلوبولین را داشت اما بیشترین میزان پروتئین‌های گلوتلین و پرولامین را دارا بود و در مجموع بیشترین میزان پروتئین کل را با مقدار ۱۶۰/۴۳ میلی‌گرم بر گرم به خود اختصاص داد. ارزیابی الگوی باندی پروتئین‌های ذخیره‌ای نیز نشان داد که این الگو به جز در دو رقم موتانت روشن (با باندی در حدود ۶۰ کیلودالتون) و شهریار (با باندی در حدود ۱۳ کیلودالتون)، در سایر ژنوتیپ‌ها مشابه و یکسان بود. آنالیز دنسیتومتری زیرواحدهای پروتئینی نیز مشخص کرد که بیشترین میزان زیرواحدهای گلوتلین در رقم سنگ طارم و کمترین آن در رقم شهریار و واریته دانه قهوه‌ای مشاهده شد. همچنین، بیشترین میزان زیرواحدهای پرولامین در رقم سنگ طارم و واریته دانه قهوه‌ای و کمترین آن در رقم شهریار بود، به‌طوری که رقم شهریار توانست بیشترین نسبت پروتئین گلوتلین به پرولامین را به خود اختصاص دهد. در نهایت، نتایج تحقیق نشان داد که اگرچه پروفایل پروتئین‌های دانه در واریته‌های مختلف برنج از نظر کمی و کیفی عمدتاً مشابه است، اما این الگو در دو رقم موتانت روشن و شهریار تفاوت قابل توجهی دارد. [۳۶]

Journal Pre-proofs

نتیجه‌گیری

برنج (*Oryza sativa* L.) به‌عنوان یکی از غلات اصلی تغذیه انسانی در آسیا اهمیت فراوانی دارد. سبوس برنج، که حدود ۱۰ درصد دانه قهوه‌ای را تشکیل می‌دهد، محصول جانبی فرآیند آسیاب می‌باشد. سبوس برنج حاوی پروتئین (۱۰-۱۶ درصد)، چربی (۱۲-۲۲ درصد)، فیبر رژیمی و ترکیبات زیست‌فعال مانند ویتامین‌های گروه B، ویتامین E و گاما-اوریزانول است که خواص آنتی‌اکسیدانی و تغذیه‌ای قابل توجهی دارند. روغن سبوس برنج با ترکیب متعادل اسیدهای چرب شامل ۴۳ درصد اسید اولئیک، ۳۲ درصد اسید لینولئیک و ۱۵ درصد پالمیتیک اسید، نقش مهمی در سلامت قلب و کاهش استرس اکسیداتیو ایفا می‌کند. نسبت اسیدهای چرب اشباع به غیراشباع در این روغن حدود ۲۰ به ۸۰ است و وجود اسید لینولنیک نیز از ویژگی‌های خاص آن است. ترکیبات غیرصابونی مانند توکوفرول‌ها، فیتواسترول‌ها و پلی‌فنول‌ها خواص آنتی‌اکسیدانی و کاهش‌دهنده کلسترول را تقویت می‌کنند. پروتئین‌های سبوس برنج شامل آلبومین، گلوبولین، گلوتلین و پرولامین هستند که به دلیل قابلیت هضم بالای بیش از ۹۰ درصد و نسبت بازدهی ۲ تا ۲/۵، منبع پروتئینی ارزشمندی محسوب می‌شوند. تنوع ژنتیکی برنج منجر به تفاوت در ترکیب اسیدهای آمینه سبوس شده و نسبت آمینو اسیدهای ضروری به کل اسیدهای آمینه در بخش‌های مختلف سبوس بین ۳۱/۳۵ تا ۳۴/۸ درصد متغیر است که نشان‌دهنده تثبیت کیفیت پروتئینی است. با وجود چنین ترکیبات ارزشمندی متاسفانه مصرف مستقیم سبوس برنج همچنان تا حدودی محدود است و عمدتاً در خوراک دام، کود و سوخت استفاده می‌شود؛ اما همانگونه که اشاره شد، سبوس برنج با ترکیب متعادل اسیدهای آمینه، چربی‌های مفید و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، پتانسیل بالایی برای کاربردهای غذایی، دارویی و بهداشتی دارد.

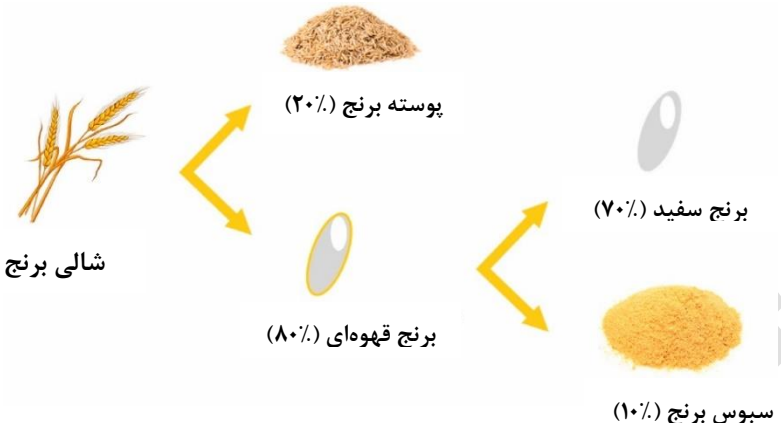
Journal Pre-proofs



شکل ۱. ساختار دانه برنج

Fig. 1. Structure of the Rice Grain

Journal Pre-proofs



شکل ۲. بخش‌های حاصل از آسیاب برنج قهوه‌ای

Fig. 2. Fractions Obtained from Brown Rice Milling

Journal Pre-proofs

جدول ۱. درصد ترکیبات شیمیایی اجزای حاصل از آسیاب دانه برنج در رطوبت ۱۴ درصد

Table 1. Percentage of chemical composition of rice grain milling fractions at 14% moisture content

Chemical Composition	Brown Rice	White Rice (Milled)	Rice Bran
Protein (Nitrogen × 5.95)	7.1 – 8.3	6.3 – 7.1	11 – 15
Crude Fat	1.6 – 2.8	0.3 – 0.5	15 – 20
Available Carbohydrates	73 – 76	77 – 78	34 – 52
Starch	66	78	14
Crude Fiber	0.6 – 1.0	0.2 – 0.5	7 – 11
Crude Ash	1.0 – 1.5	0.3 – 0.8	6.6 – 9.9

Journal Pre-proofs

جدول ۲. میزان ترکیبات مغذی و ترکیب اسیدهای چرب روغن سبوس برنج

Table 2. Nutritional components and fatty acid composition of rice bran oil

Compound	Percentage Composition	Source
γ-Oryzanol	0.9 – 2.9	Lloyd et al., 2000; Patel and Naik, 2004 [63,64]
Tocopherol	0.01 – 0.14	Lloyd et al., 2000; Patel and Naik, 2004 [63,64]
Saturated Fatty Acids	22.5	Orsavova et al., 2015 [65]
Palmitic Acid	21.6	Krishna et al., 2006 [66]
Stearic Acid	2.1 – 4.7	Orsavova et al., 2015 [65]
Arachidic Acid	0.1	Krishna et al., 2006 [66]
Myristic Acid	0.03 – 0.39	Krishna et al., 2006 [66]
Monounsaturated Fatty Acids (MUFA)	44.0	Orsavova et al., 2015 [65]
Oleic Acid	42.6	Krishna et al., 2006 [66]
Palmitoleic Acid	0.19	Orsavova et al., 2015 [65]
Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA)	33.6	Orsavova et al., 2015 [65]
Linoleic Acid	28.0	Krishna et al., 2006 [66]
Linolenic Acid	0.8	Krishna et al., 2006 [66]
n-3 Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA n-3)	0.5	Orsavova et al., 2015 [65]
n-6 Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA n-6)	33.1	Orsavova et al., 2015 [65]

Journal Pre-proofs

جدول ۳. مقایسه ترکیبات اسید فیتیک استخراج‌شده از سبوس برنج در مقایسه با اسید فیتیک استاندارد

Table 3. Comparison of the composition of phytic acid extracted from rice bran with standard phytic acid

Compound / Element	Unit	Standard Phytic Acid	Purified Rice Bran Phytic Acid
Phytate Phosphorus	mg/g	124.86 ± 2.78^{a}	64.63 ± 2.77^{b}
Inorganic Phosphorus	mg/g	0.01 ± 0.00^{b}	0.11 ± 0.00^{a}
Total Phosphorus	mg/g	132.36 ± 1.75^{a}	103.88 ± 1.17^{b}
Total Nitrogen	g/100g	0.03 ± 0.00^{b}	0.15 ± 0.00^{a}
Soluble Proteins	g/100g	0.00 ± 0.00^{b}	0.06 ± 0.01^{a}
Total Proteins	g/100g	0.19 ± 0.00^{b}	0.94 ± 0.00^{a}
Copper	mg/kg	0.00 ± 0.00^{b}	3.00 ± 0.00^{a}
Zinc	mg/kg	1.27 ± 0.00^{b}	742.19 ± 0.01^{a}
Nickel	mg/kg	0.95 ± 0.07^{a}	1.00 ± 0.28^{a}
Cobalt	mg/kg	1.05 ± 0.07^{b}	4.15 ± 0.07^{a}
Manganese	mg/kg	2.45 ± 0.00^{b}	820.30 ± 0.02^{a}
Iron	mg/kg	1.36 ± 0.00^{b}	732.45 ± 5.45^{a}
Calcium	g/kg	0.01 ± 0.00^{b}	1.39 ± 0.01^{a}
Sodium	g/kg	11.00 ± 0.00^{a}	11.00 ± 0.00^{a}
Magnesium	g/kg	0.25 ± 0.00^{b}	32.73 ± 0.00^{b}
Potassium	g/kg	0.00 ± 0.00^{b}	1.83 ± 0.00^{a}

در جدول فوق داده‌ها به‌صورت «میانگین ± انحراف معیار» از ۳ تکرار گزارش شده‌اند. همچنین حروف کوچک متفاوت ^{a} و ^{b} در یک ردیف نشان‌دهنده تفاوت آماری معنی‌دار بر اساس آزمون توکی در سطح معنی‌داری $p \leq ۰/۰۵$ هستند.

Data in the above table are presented as "mean ± standard deviation" from three replicates. Different lowercase letters (^{a} and ^{b}) in the same row indicate statistically significant differences based on Tukey's test at a significance level of $p \leq 0.05$.

Journal Pre-proofs

جدول ۴. توزیع اسیدهای چرب در رده های اصلی لیپیدی استخراج‌شده از ارقام سبوس برنج

Table 4. Fatty acid distribution in major lipid classes extracted from rice bran cultivars

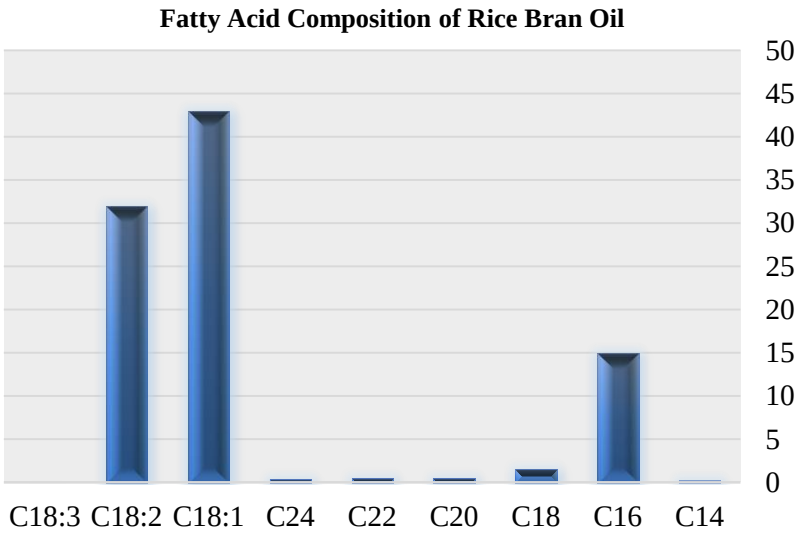
Lipid Class	Cultivar	Fatty acid (wt-%)					
		16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Others
Total Lipids	*Koshihikari*	20.0 ± 1.0^{c}	1.3 ± 0.1^{b}	40.5 ± 1.8^{b}	36.1 ± 1.4^{b}	1.2 ± 0.1^{b}	0.9 ± 0.1^{b}
	Haenuki	20.2 ± 0.1^{c}	1.2 ± 0.1^{b}	40.4 ± 1.8^{b}	36.3 ± 1.2^{b}	1.3 ± 0.1^{b}	0.6 ± 0.1^{a}
	Akitakomachi	19.8 ± 0.8^{c}	1.5 ± 0.1^{b}	41.7 ± 2.0^{c}	35.2 ± 1.5^{b}	1.2 ± 0.1^{b}	0.6 ± 0.1^{a}
Triacylglycerols	*Koshihikari*	17.7 ± 0.8^{b}	1.5 ± 0.1^{b}	40.9 ± 2.0^{b}	37.0 ± 1.6^{b}	1.4 ± 0.1^{b}	1.5 ± 0.1^{c}
	Haenuki	17.3 ± 0.8^{b}	1.3 ± 0.1^{b}	40.3 ± 2.0^{b}	38.3 ± 1.6^{b}	1.6 ± 0.1^{c}	1.2 ± 0.1^{b}
	Akitakomachi	16.2 ± 0.7^{b}	1.6 ± 0.1^{b}	43.3 ± 2.1^{c}	36.3 ± 1.5^{b}	1.4 ± 0.1^{b}	1.2 ± 0.1^{b}
sn-2 position of TAG	*Koshihikari*	2.4 ± 0.1^{b}	1.0 ± 0.1^{a}	43.6 ± 2.0^{c}	50.2 ± 2.0^{d}	1.6 ± 0.1^{c}	1.2 ± 0.1^{b}
	Haenuki	1.6 ± 0.1^{a}	1.3 ± 0.1^{a}	43.4 ± 2.0^{c}	51.3 ± 2.1^{d}	1.2 ± 0.1^{b}	1.2 ± 0.1^{b}
	Akitakomachi	1.5 ± 0.1^{a}	0.8 ± 0.1^{a}	43.8 ± 2.0^{c}	52.3 ± 2.2^{d}	1.0 ± 0.1^{a}	0.6 ± 0.1^{a}
sn-1,3 position of TAG	*Koshihikari*	25.4 ± 1.0^{d}	1.7 ± 0.1^{b}	39.6 ± 1.6^{b}	30.4 ± 1.3^{b}	1.0 ± 0.1^{a}	1.9 ± 0.1^{d}
	Haenuki	25.2 ± 1.0^{d}	1.3 ± 0.1^{b}	38.8 ± 1.5^{b}	31.8 ± 1.3^{b}	1.8 ± 0.1^{c}	1.1 ± 0.1^{b}
	Akitakomachi	23.6 ± 1.0^{d}	2.0 ± 0.1^{c}	42.9 ± 1.8^{c}	28.4 ± 1.2^{b}	1.6 ± 0.1^{c}	1.5 ± 0.1^{c}
Free fatty acids	*Koshihikari*	26.5 ± 1.2^{d}	1.6 ± 0.1^{b}	44.1 ± 1.8^{c}	25.8 ± 1.2^{a}	0.6 ± 0.1^{a}	1.4 ± 0.1^{b}
	Haenuki	26.0 ± 1.2^{d}	1.6 ± 0.1^{b}	43.0 ± 1.8^{c}	27.1 ± 1.2^{b}	0.7 ± 0.1^{a}	1.6 ± 0.1^{c}
	Akitakomachi	25.0 ± 1.2^{d}	1.7 ± 0.1^{b}	45.0 ± 1.8^{c}	26.3 ± 1.2^{a}	0.8 ± 0.1^{a}	1.2 ± 0.1^{b}
Phospholipids	*Koshihikari*	20.3 ± 1.0^{c}	1.1 ± 0.1^{a}	35.7 ± 1.2^{a}	40.9 ± 2.0^{c}	1.7 ± 0.1^{b}	0.3 ± 0.1^{a}
	Haenuki	20.1 ± 1.0^{c}	1.0 ± 0.1^{a}	34.0 ± 1.2^{a}	42.1 ± 2.0^{c}	1.5 ± 0.1^{b}	1.3 ± 0.1^{b}
	Akitakomachi	19.6 ± 0.9^{c}	1.0 ± 0.1^{a}	35.7 ± 1.2^{a}	41.1 ± 2.0^{c}	1.2 ± 0.1^{b}	1.4 ± 0.1^{b}

توزیع اسید چرب در موقعیت sn-1,3 بر اساس فرمول زیر محاسبه شده است:

[۳ × (ترکیب اسید چرب در TAG) − (ترکیب اسید چرب در موقعیت sn-2)] ÷ ۲

هر مقدار نشان‌دهنده میانگین سه اندازه‌گیری بوده و به‌صورت درصد وزنی نسبی (%wt) از کل اسیدهای چرب بیان شده است. عبارت "سایر" (Others) شامل اسیدهای چرب جزئی مانند C14:0، C16:1، C20:0 و C22:0 است.

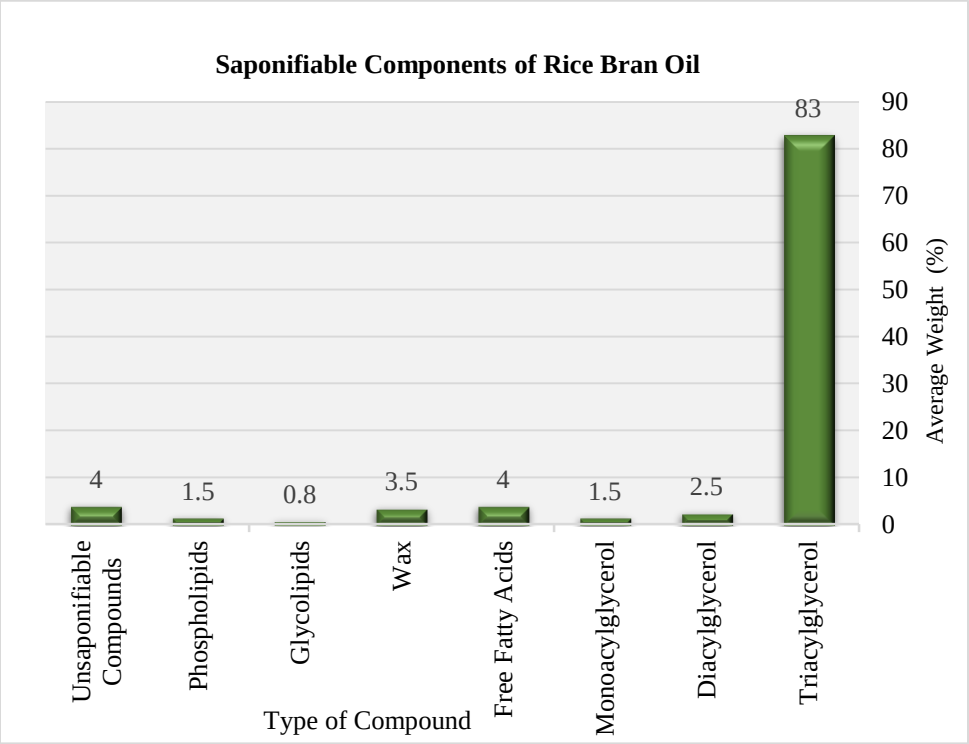
Journal Pre-proofs



شکل ۳. پروفایل اسیدهای چرب روغن سبوس برنج

Fig. 3. Characterization of the Fatty Acid Composition of Rice Bran Oil

Journal Pre-proofs



شکل ۴. میزان ترکیبات بخش صابونی روغن سبوس برنج

Fig. 4. Quantitative Composition of Saponifiable Fractions in Rice Bran Oil

Journal Pre-proofs

جدول ۵. مقایسه‌ای از کیفیت روغن سبوس برنج به‌دست‌آمده از روش‌های مختلف استخراج (تجاری، با حلال هگزان و آنزیمی)

Table 5. Comparative Analysis of Rice Bran Oil Quality Extracted via Commercial, Hexane-Based, and Enzymatic Methods

Analytical Feature	Industrial Specification	Commercial Rice Bran Oil	Hexane Extracted Oil	Enzyme Extracted Oil	Codex standard range (**Refined rice bran oil**)
Free Fatty Acids ((% as oleic acid)	≤ 0.3	0.1	7.4	2.36	0.3
Iodine Value	92 - 115	95.9	95.40	97.18	-
Peroxide Value (meq/kg oil)	≤ 10	5.5	8.2	12.01	Up to 15
Saponification Value	180 - 195	188.3	187.60	188.72	
Insoluble Matter in Acetone (%)	—	1.32	10.23	5.45	
Gamma Oryzanol (%)	—	0.07	2.04	1.76	
Tocopherols (%)	—	0.07	0.10	0.09	
Refractive index		1.4681			1.4600–1.4700

مقادیر ارائه‌شده میانگین نتایج به‌دست‌آمده از سه بار تکرار آزمایش هستند. همچنین شرایط استخراج آنزیمی به این صورت بوده که به ازای هر ۱۰۰ گرم سبوس برنج، یک گرم آنزیم آلکالاز افزوده شده و مخلوط به مدت ۲ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد و pH برابر با ۹ نگه‌داری شده است.

The reported values represent the mean of results obtained from three experimental replicates. The enzymatic extraction was conducted by adding 1 gram of Alcalase enzyme per 100 grams of rice bran, and the mixture was maintained at 50 °C and pH 9 for 2 hours.

Journal Pre-proofs

جدول ۶. بررسی میزان هر یک از اسیدهای چرب در انواع روغن سبوس برنج تجاری، استخراج با هگزان و استخراج آنزیمی

Table 6. Comparative Analysis of Individual Fatty Acid Content in Different Rice Bran Oils (Commercial, Hexane, and Enzymatic Extraction)

Percentage of total fatty acids (%)	Commercial Rice Bran Oil	Hexane-Extracted Oil	Enzymatically Extracted Oil	Codex Standard range (%)
C14:0	3.24	2.99	3.22	ND-1.0
C16:0	13.19	11.88	11.44	14-23
C18:0	1.47	1.40	1.29	0.9-4.0
C18:1	26.16	30.13	29.85	38-48
C18:2	55.06	53.30	53.75	21-42
C18:3	0.89	0.31	0.45	0.1-2.9

Journal Pre-proofs

جدول۷. مقایسه میزان اسیدهای چرب حاصل از روغن سبوس برنج استخراج شده تحت شرایط تیمارهای مختلف

Table 7. Comparative Analysis of Fatty Acid Profiles in Rice Bran Oil Obtained from Various Extraction Treatments

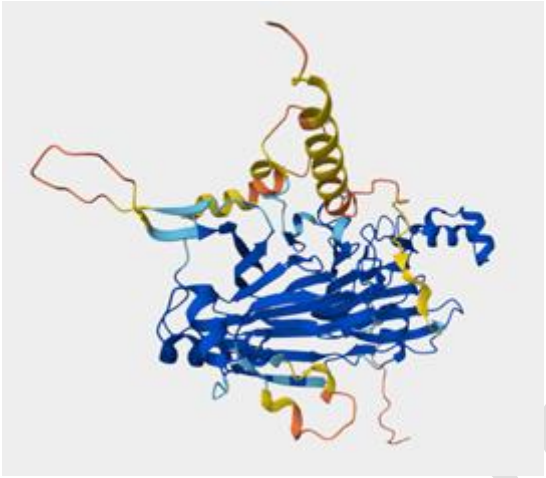
Fatty Acid	OC (Commercial)	OS (Supercritical CO_2)	OH (Hexane)	OM (Mechanical)	Rice Bran Oil (Reported Range)
Myristic Acid	0.13	0	0.09	0.30	0.2
Palmitic Acid	20.63	20.00	21.27	26.67	15.74 – 16.74
Palmitoleic Acid	0	0.34	0.13	0	–
Stearic Acid	2.06	2.41	2.30	2.48	1.9
Oleic Acid	31.97	51.01	24.98	27.30	42.5 – 42.8
Linoleic Acid	45.02	72.24	51.20	43.25	34.7 – 39.1
Linolenic Acid	0.01	Trace	0.03	Trace	0.19 – 1.1

Journal Pre-proofs

شکل ۵. ساختار کریستالوگرافی پروتئین گلوبولین برنج

Fig. 5. Crystallographic structure of rice globulin protein

Journal Pre-proofs



شکل ۶. ساختار کریستالوگرافی پروتئین گلوتلین نوع B2 برنج

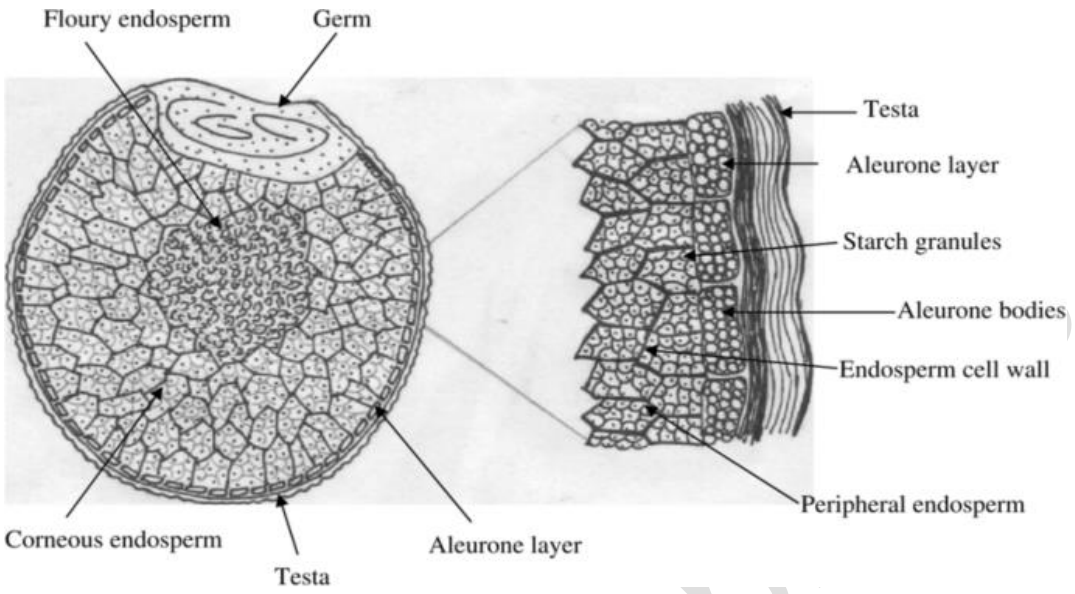
Fig. 6. Crystallographic structure of rice glutelin type B2 protein

Journal Pre-proofs

شکل ۷. ساختار کریستالوگرافی پرولامین ۱۴ کیلودالتونی برنج

Fig. 7. Crystallographic structure of 14 kDa prolamin in rice

Journal Pre-proofs



شکل ۸. ساختار شماتیک اجسام پروتئینی برنج و دانه نشاسته مرکب در لایه ساب‌آلورون آندوسپرم

Fig. 8. Schematic Representation of Rice Protein Bodies and Compound Starch Granules Located in the Sub-aleurone Layer of the Endosperm

Journal Pre-proof

جدول ۸. ترکیب اسیدهای آمینه ضروری (گرم در ۱۰۰ گرم پروتئین) در پروتئین سبوس برنج و پروتئین آندوسپرم برنج

Table 8. Composition of Essential Amino Acids (g/100 g protein) in Rice Bran Protein and Rice Endosperm Protein

Amino Acid	Rice Bran	Rice Endosperm
Histidine	4.48	2.46
Isoleucine	3.61	3.80
Leucine	7.69	8.15
Lysine	4.55	3.31
Methionine + Cysteine	2.70	3.88
Phenylalanine + Tyrosine	8.24	10.10
Threonine	3.68	3.46
Tryptophan	1.17	0.82
Valine	5.53	5.12
Total Essential Amino Acids	**41.7**	**41.1**

Journal Pre-proofs

جدول ۹. ترکیب اسیدهای آمینه بخش‌های مختلف ریزساختارهای سبوس برنج

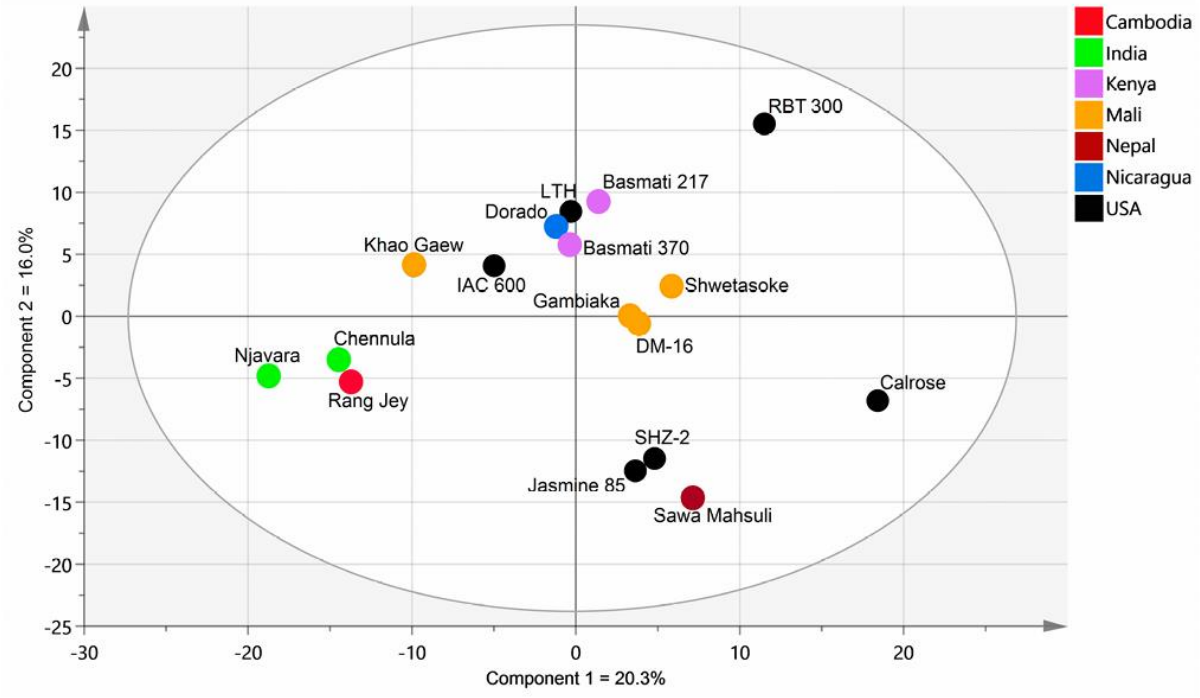
Table 9. Amino Acid Composition of Different Microstructural Fractions of Rice Bran

Amino Acid (mmol/kg)	Fraction 1	Fraction 2	Fraction 3	Fraction 4
Aspartic acid	107.5	107	101	98
Threonine	49	49	46.5	45.5
Serine	65	67	67	69.5
Glutamic acid	140	148.5	160.5	176.5
Glycine	97.5	99	90.5	84.5
Alanine	91.5	95	89.5	87.5
Cysteine	90	90	90	90
Valine	73.5	74	73	75.5
Methionine	9	7.5	9	9
Isoleucine	38.5	39	39	41
Leucine	96	97.5	98	103
Tyrosine	27.5	28.5	30.5	34.5
Phenylalanine	37	38	39	42
Lysine	46	45	39	34.5
Histidine	23	24	22.5	22
Arginine	62.5	65.5	66	67
Total Essential AAs / Total AAs (%)	31.35	34.80	34.50	34.49
Total Non-Essential AAs / Total AAs (%)	58.54	53.39	52.66	52.65

Journal Pre-proofs

Journal Pre-proofs

Journal Pre-proofs



شکل ۹. تحلیل مؤلفه‌های اصلی (PCA) متابولوم سبوس برنج در ۱۷ واریته برنج. تحلیل PCA با استفاده از فراوانی نسبی مقیاس‌بندی‌شده بر اساس میانه برای تمام سبوس‌ها در این ۱۷ واریته انجام شد. مؤلفه اصلی اول (PC1) ۲۰/۳ درصد و مؤلفه اصلی دوم (PC2) ۱۶ درصد از تغییرات پروفایل متابولیتی را توضیح دادند. نقاط رنگی نشان‌دهنده کشوری هستند که برنج در آن تولید شده است.

Fig. 9. Principal component analysis (PCA) of rice bran metabolome in 17 rice cultivars. PCA was performed using median-scaled relative abundance of all bran samples in these 17 cultivars. The first principal component (PC1) explained 20.3% and the second principal component (PC2) explained 16% of the variation in the metabolite profiles. Colored dots indicate the country where the rice was produced.

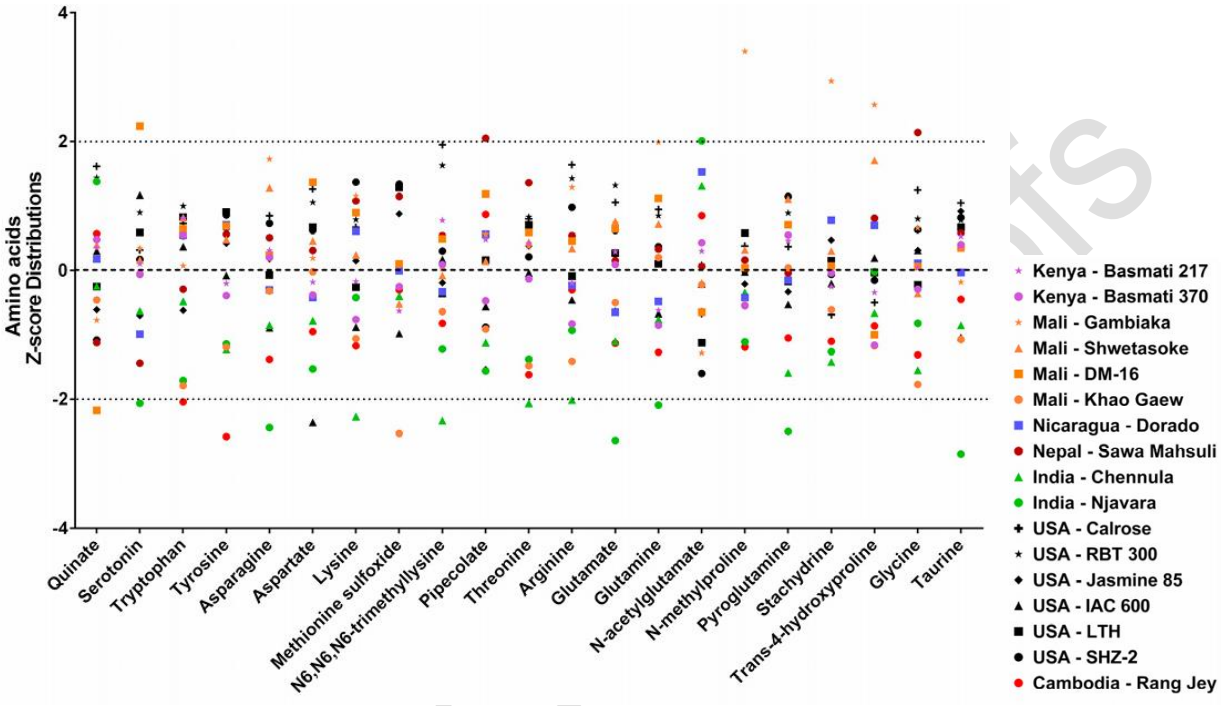
Journal Pre-proofs

جدول ۱۰. بررسی تاثیر واریته بر پروتئین‌های سبوس برنج

Cultivar	Albumin	Globulin	Prolamine	Table 10. Effect of cultivar on rice bran proteinsGlutelin
Bengal	34.7^{b}	17.4^{a}	$6.7^{a,b}$	$11.9^{b,c}$
Cypress	33.0^{b}	13.7^{a}	7.8^{b}	$9.7^{a,b}$
Della	32.2^{b}	13.5^{a}	5.7^{a}	10.4^{b}
Mars	39.5^{c}	17.0^{a}	5.3^{a}	$12.1^{b,c}$
Maybelle	33.4^{b}	12.8^{a}	5.9^{a}	14.7^{c}
Toro-2	30.2^{a}	14.3^{a}	5.3^{a}	6.6^{a}

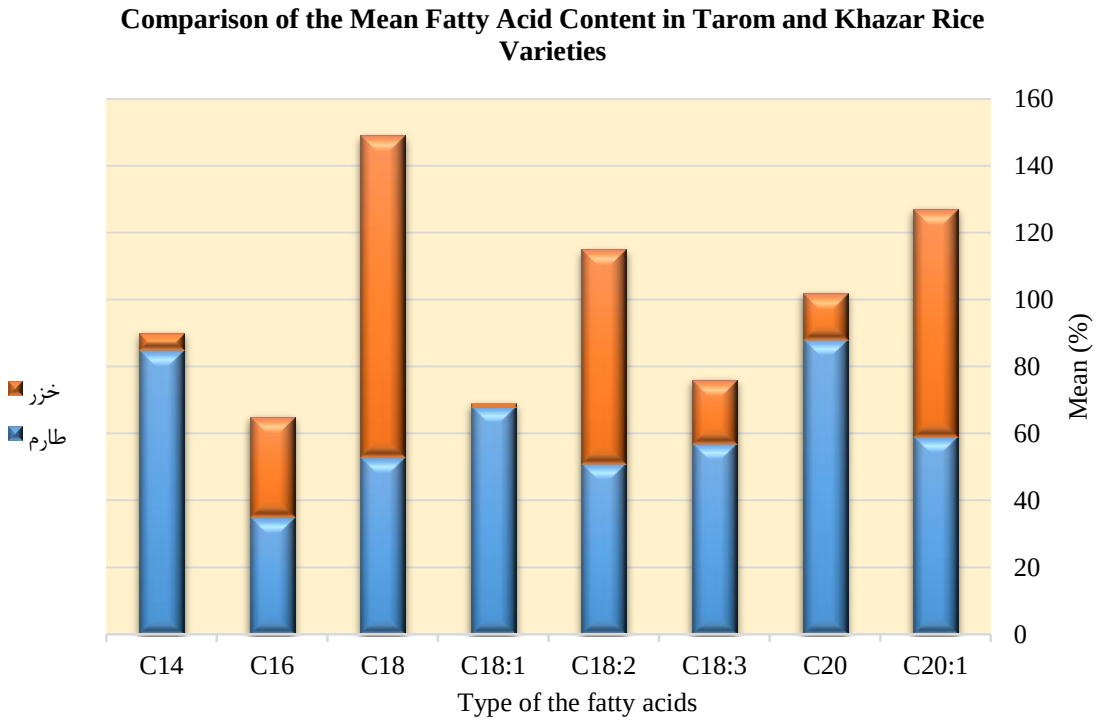
مقادیر دارای حروف مشابه از نظر آماری تفاوت معناداری ندارند ($P < ۰/۰۵$)

Journal Pre-proofs



شکل ۱۰. بررسی میزان پراکندگی Z-score اسیدهای آمینه انواع ۱۷ واریته سبوس برنج

Fig. 10. Analysis of Z-score distribution of amino acids in 17 rice bran cultivars



شکل ۱۱. مقایسه میانگین اثر تنوع بر اسیدهای چرب روغن سبوس برنج

Fig. 11. Comparison of Mean Fatty Acid Profiles of Rice Bran Oil Among Different Varieties

Journal

Abstract

Physicochemical and structural properties assessment of rice bran oil and proteins

Rice (*Oryza sativa* L.) is a staple grain vital for human nutrition, particularly in Asia. Rice bran, constituting approximately 10% of the outer layer of brown rice, is a by-product of the milling process. It contains 10–16% protein, 12–22% lipids, dietary fiber, and various bioactive compounds, including B vitamins, vitamin E, and gamma-oryzanol, which exhibit notable antioxidant and nutritional properties. The oil extracted from rice bran features a well-balanced fatty acid composition, predominantly comprising 43% oleic acid (monounsaturated), 32% linoleic acid (polyunsaturated), and 15% palmitic acid (saturated). This profile contributes significantly to cardiovascular health improvement and oxidative stress reduction. The saturated to unsaturated fatty acid ratio is approximately 20:80, with minor but important amounts of linolenic acid (~0.8%). Non-saponifiable constituents such as tocopherols, phytosterols, polyphenols, and gamma-oryzanol (approximately 1.76% in enzyme-extracted oil) further enhance the oil's antioxidant capacity and cholesterol-lowering effects. Rice bran proteins, including albumin, globulin, glutelin, and prolamin, demonstrate digestibility rates exceeding 90% and a protein digestibility-corrected amino acid score (PDCAAS) ranging from 2.0 to 2.5, underscoring their value as a high-quality protein source. Genetic variability among rice varieties leads to differences in the amino acid profile of rice bran. The proportion of essential amino acids relative to total amino acids in various bran fractions ranges from 31.35% to 34.8%, indicating consistent protein quality throughout the bran layers. Despite its rich nutritional composition, rice bran direct consumption in human diets remains limited, with most usage directed toward animal feed, fertilizers, and biofuel production. Nonetheless, due to its balanced amino acid content, beneficial fatty acid profile, and potent antioxidant compounds, rice bran holds considerable potential as a functional ingredient in food, pharmaceutical, and cosmetic industries.

Keywords: Rice Bran, Protein Composition, Oil Extraction, Hydrolysates, Fatty Acids

Journal Pre-proofs

مراجع

1. Amagliani, L., O'Regan, J., Kelly, A. L., & O'Mahony, J. A. (2017). The composition, extraction, functionality and applications of rice proteins: A review. *Trends in Food Science & Technology*, *64*, 1–12. https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2017.01.008

2. Karim, M. D., Abuhena, M., Hossain, M. D., & Billah, M. M. (2024). Assessment and comparison of cooking qualities and physio-chemical properties of seven rice varieties in terms of amylose content. *Food Physics*, *1*, 100014. https://doi.org/10.1016/J.FOODP.2024.100014

3. Muthayya, S., Sugimoto, J. D., Montgomery, S., & Maberly, G. F. (2014). An overview of global rice production, supply, trade, and consumption. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1324*(1), 7–14. https://doi.org/10.1111/NYAS.12540;WGROUP:STRING:PUBLICATION

4. Tong, C., & Bao, J. (2019). Rice lipids and rice bran oil. *Rice: Chemistry and Technology*, 131–168. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811508-4.00005-8

5. Sha, W., Chen, F., & Mishra, A. K. (2019). Adoption of direct seeded rice, land use and enterprise income: Evidence from Chinese rice producers. *Land Use Policy*, *83*, 564–570. https://doi.org/10.1016/J.LANDUSEPOL.2019.01.039

6. Chen, Y., Sha, R., Dai, J., Wang, Z., Mao, Y., Fan, F., Huang, J., & Mao, J. (2025). Phytic acid extraction from rice bran with acetic acid: Optimization, antioxidant capacity and mechanism based on cellular metabolomics. *LWT*, *217*. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2025.117394

7. Rivero Meza, S. L., Cañizares, L., Dannenberg, B., Peres, B. B., Rodrigues, L. A., Mardade, C., de Leon, M. A., Gaioso, C. A., Egea, I., & de Oliveira, M. (2024). Sustainable rice bran protein: Composition, extraction, quality properties and applications. *Trends in Food Science & Technology*, *145*, 104355. https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2024.104355

8. Liu, Y. Q., Strappe, P., Zhou, Z. K., & Blanchard, C. (2019). Impact on the nutritional attributes of rice bran following various stabilization procedures. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *59*(15), 2458–2466. https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1455638

9. Chinma, C. E., Ilowefah, M., Shammugasamy, B., Ramakrishnan, Y., & Muhammad, K. (2014). Chemical, antioxidant, functional and thermal properties of rice bran proteins after yeast and natural fermentations. *International Journal of Food Science and Technology*, *49*(10), 2204–2213. https://doi.org/10.1111/IJFS.12533;REQUESTEDJOURNAL:JOURNAL:13652621;WGROUP:STRING:PUBLICATION

10. Scarabattoli, L., Sangiorgio, S., Romagnuolo, F., Gelati, L., Cavuoto, D., Rabuffetti, M., Morelli, C. F., Lupinelli, S., & Speranza, G. (2023). Use of carbohydrases to promote protein extraction from rice bran and soybean meal: A comparative study. *LWT*, *184*, 115060. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2023.115060

11. Fabian, C., & Ju, Y. H. (2011). A review on rice bran protein: Its properties and extraction methods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *51*(9), 816–827. https://doi.org/10.1080/10408398.2010.482678;PAGE:STRING:ARTICLE/CHAPTER

12. Hanmoungjai, P., Pyle, D. L., & Niranjan, K. (2001). Enzymatic process for extracting oil and protein from rice bran. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, *78*(8), 817–821. https://doi.org/10.1007/s11746-001-0348-2

Journal Pre-proofs

13. Thamnarathip, P., Jangchud, K., Nitisinprasert, S., & Vardhanabhuti, B. (2016). Identification of peptide molecular weight from rice bran protein hydrolysate with high antioxidant activity. *Journal of Cereal Science*, *69*, 329–335. https://doi.org/10.1016/J.JCS.2016.04.011

14. Zhang, S., Huang, G., Zhang, Y., Lv, X., Wan, K., Liang, J., Feng, Y., Dao, J., Wu, S., Zhang, L., Yang, X., Lian, X., Huang, L., Shao, L., Zhang, J., Qin, S., Tao, D., Crews, T. E., Sacks, E. J., … Hu, F. (2023). Sustained productivity and agronomic potential of perennial rice. *Nature Sustainability*, *6*(1), 28–38. https://doi.org/10.1038/S41893-022-00997-3;SUBJMETA=1143,449,631,706;KWRD=AGRICULTURE,PLANT+SCIENCES

15. Phongthai, S., D'Amico, S., Schoenlechner, R., Homthawornchoo, W., & Rawdkuen, S. (2018). Fractionation and antioxidant properties of rice bran protein hydrolysates stimulated by in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, *240*, 156–164. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2017.07.080

16. Mwaurah, P. W., Kumar, S., Kumar, N., Attkan, A. K., Panghal, A., Singh, V. K., & Garg, M. K. (2020). Novel oil extraction technologies: Process conditions, quality parameters, and optimization. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *19*(1), 3–20. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12507

17. Sorita, G. D., Favaro, S. P., Ambrosi, A., & Di Luccio, M. (2023). Aqueous extraction processing: An innovative and sustainable approach for recovery of unconventional oils. *Trends in Food Science & Technology*, *133*, 99–113. https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2023.01.019

18. *FAO Food Price Index remains stable in March*. (n.d.). Retrieved April 30, 2025, from https://www.fao.org/newsroom/detail/fao-food-price-index-remain-stable-in-march/en

19. Punia, S., Kumar, M., Siroha, A. K., & Purewal, S. S. (2021). Rice Bran Oil: Emerging Trends in Extraction, Health Benefit, and Its Industrial Application. *Rice Science*, *28*(3), 217–232. https://doi.org/10.1016/J.RSCI.2021.04.002

20. Punia, S., Kumar, M., Sandhu, K. S., & Whiteside, W. S. (2021). Rice-bran oil: An emerging source of functional oil. *Journal of Food Processing and Preservation*, *45*(4), e15318. https://doi.org/10.1111/JFPP.15318;WGROUP:STRING:PUBLICATION

21. Huang, W. W., Wang, W., Li, J. lie, & Li, Z. H. (2013). Study on the preparation process of rice bran oil by the ultrasonic enzymatic extraction. *Advance Journal of Food Science and Technology*, *5*(2), 213–216. https://doi.org/10.19026/ajfst.5.3246

22. Blakeney, A. B., & Matheson, N. K. (1984). Some Properties of the Stem and Pollen Starches of Rice. *Starch - Stärke*, *36*(8), 265–269. https://doi.org/10.1002/STAR.19840360803

23. Maclean, J. L. ., Dawe, D. Charles., & Hettel, G. P. . (2002). *Rice almanac : source book for the most important economic activity on earth*. 253.

24. Hernandez, N., Rodriguez-Alegría, M. E., Gonzalez, F., & Lopez-Munguia, A. (2000). Enzymatic treatment of rice bran to improve processing. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, *77*(2), 177–180. https://doi.org/10.1007/s11746-000-0028-2

25. Shih, Y. W., Chou, W. C., Lin, Y. M., Huang, D. D., Liu, Z. H., & Huang, H. J. (2004). Changes in protein tyrosine phosphorylation during mannose and senescence induced cell death in rice. *Plant Growth Regulation*, *42*(3), 271–282. https://doi.org/10.1023/B:GROW.0000026492.88868.AC/METRICS

Journal Pre-proofs

26. Van Hoed, V., Depaemelaere, G., Ayala, J. V., Santiwattana, P., Verhé, R., & De Greyt, W. (2006). Influence of chemical refining on the major and minor components of rice bran oil. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, *83*(4), 315–321. https://doi.org/10.1007/S11746-006-1206-Y/METRICS

27. Abdul-Hamid, A., Raja Sulaiman, R. R., Osman, A., & Saari, N. (2007). Preliminary study of the chemical composition of rice milling fractions stabilized by microwave heating. *Journal of Food Composition and Analysis*, *20*(7), 627–637. https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2007.01.005

28. Scarabattoli, L., Fanzaga, M., Aiello, G., Boschin, G., Adduzio, L. d', Morelli, C. F., Rabuffetti, M., Lammi, C., & Speranza, G. (2025). ACE-inhibitory activity and antioxidant properties of a low MW rice bran protein hydrolysate. *LWT*, *217*, 117381. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2025.117381

29. *The Vegetable Proteins - Google Books*. (n.d.). Retrieved August 22, 2025, from https://www.google.com/books/edition/The_Vegetable_Proteins/7GtbAAAAcAAJ?hl=en&gbpv=0

30. Andressa, I., Nascimento, G. K. S., Santos, T. M. dos, Benassi, V. M., & Schmiele, M. (n.d.). *OSBORNE SOLUBILITY AND ISOELECTRIC POINT OF BROWN RED RICE PROTEINS*.

31. Osborne, T. B. (1919). The Vegetable Proteins. *Pamphlets, Offprints and Reprints*. https://digitalcommons.rockefeller.edu/pamphlets-offprints-and-reprints/79

32. Agboola, S., Ng, D., & Mills, D. (2005). Characterisation and functional properties of Australian rice protein isolates. *Journal of Cereal Science*, *41*(3), 283–290. https://doi.org/10.1016/J.JCS.2004.10.007

33. Bechtel, D. B., & Juliano, B. O. (1980). Formation of Protein Bodies in the Starchy Endosperm of Rice (Oryza sativa L.): A Re-investigation. *Annals of Botany*, *45*(5), 503–509. https://doi.org/10.1093/OXFORDJOURNALS.AOB.A085852

34. Bechtel, D. B., & Pomeranz, Y. (1978). ULTRASTRUCTURE OF THE MATURE UNGERMINATED RICE (ORYZA SATIVA) CARYOPSIS. THE STARCHY ENDOSPERM. *American Journal of Botany*, *65*(6), 684–691. https://doi.org/10.1002/J.1537-2197.1978.TB06126.X

35. Furukawa, S., Mizuma, T., Kiyokawa, Y., Masumura, T., Tanaka, K., & Wakai, Y. (2003). Distribution of storage proteins in low-glutelin rice seed determined using a fluorescent antibody. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, *96*(5), 467–473. https://doi.org/10.1016/S1389-1723(03)70133-9

36. Aref Rad, M., Katalani, K., & Nemat Zadeh, G. A. (2022). Evaluation of Storage Seed Protein Quality in Some Quantitative and Qualitative Rice (Oryza sativa L.) Cultivars. *The Journal of Field Crops Production*, *15*(3), 21–39. https://doi.org/10.22069/EJCP.2022.18658.2386

37. Zhang, Y., Li, D., Diao, Y., Xu, W., Wang, G., Hu, Z., & Hu, C. (2024). Effect of Rice Bran Protein on the Foaming Properties and Foaming Characteristics of Rice Bran Protein–Sodium Caseinate and Rice Bran Protein Nanoparticles–Sodium Caseinate. *Foods*, *13*(15), 2328. https://doi.org/10.3390/FOODS13152328/S1

38. *Foaming and Emulsifying Properties of Rice Bran Extracts Obtained by Subcritical Water Treatment | Science, Engineering and Health Studies*. (n.d.). Retrieved June 25, 2025, from https://li01.tci-thaijo.org/index.php/sehs/article/view/7108

Journal Pre-proofs

39. Rafe, A., Vahedi, E., & Hasan-Sarei, A. G. (2016). Rheology and microstructure of binary mixed gel of rice bran protein–whey: effect of heating rate and whey addition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *96*(11), 3890–3896. https://doi.org/10.1002/JSFA.7586

40. Pang, S., Shao, P., Sun, Q., Pu, C., & Tang, W. (2020). Relationship between the emulsifying properties and formation time of rice bran protein fibrils. *LWT*, *122*, 108985. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.108985

41. Chen, S., Elrys, A. S., Zhao, C., Cai, Z., Zhang, J., & Müller, C. (2023). Global patterns and controls of yield and nitrogen use efficiency in rice. *Science of The Total Environment*, *898*, 165484. https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2023.165484

42. Kashiwagi, T. (2021). Effects of rice grain protein QTL, TGP12, on grain composition, yield components, and eating quality with different nitrogen applications. *Field Crops Research*, *263*, 108051. https://doi.org/10.1016/J.FCR.2020.108051

43. Shi, J., An, G., Weber, A. P. M., & Zhang, D. (2023). Prospects for rice in 2050. *Plant, Cell & Environment*, *46*(4), 1037–1045. https://doi.org/10.1111/PCE.14565

44. Li, L., Shi, S., Cheng, B., Zhao, D., Pan, K., Cao, C., & Jiang, Y. (2023). Association between rice protein components and eating quality traits of different rice varieties under different nitrogen levels. *Journal of Cereal Science*, *113*, 103760. https://doi.org/10.1016/J.JCS.2023.103760

45. Ning, H., Liu, Z., Wang, Q., Lin, Z., Chen, S., Li, G., Wang, S., & Ding, Y. (2009). Effect of nitrogen fertilizer application on grain phytic acid and protein concentrations in japonica rice and its variations with genotypes. *Journal of Cereal Science*, *50*(1), 49–55. https://doi.org/10.1016/J.JCS.2009.02.005

46. Parrado, J., Miramontes, E., Jover, M., Gutierrez, J. F., Collantes de Terán, L., & Bautista, J. (2006). Preparation of a rice bran enzymatic extract with potential use as functional food. *Food Chemistry*, *98*(4), 742–748. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2005.07.016

47. Moongngarm, A., Daomukda, N., & Khumpika, S. (2012). Chemical Compositions, Phytochemicals, and Antioxidant Capacity of Rice Bran, Rice Bran Layer, and Rice Germ. *APCBEE Procedia*, *2*, 73–79. https://doi.org/10.1016/J.APCBEE.2012.06.014

48. Chatha, S. A. S., Anwar, F., Manzoor, M., & Bajwa, J. U. R. (2006). Evaluation of the antioxidant activity of rice bran extracts using different antioxidant assays. *Grasas y Aceites*, *57*(3), 328–335. https://doi.org/10.3989/GYA.2006.V57.I3.56

49. Kurtys, E., Eisel, U. L. M., Hageman, R. J. J., Verkuyl, J. M., Broersen, L. M., Dierckx, R. A. J. O., & de Vries, E. F. J. (2018). Anti-inflammatory effects of rice bran components. *Nutrition Reviews*, *76*(5), 372–379. https://doi.org/10.1093/NUTRIT/NUY011

50. Umeyama, L., Kasahara, S., Sugawara, M., Yokoyama, S., Saiki, I., & Hayakawa, Y. (2021). Anti-inflammatory effect of fermented brown rice and rice bran with Aspergillus oryzae on mice. *Traditional & Kampo Medicine*, *8*(1), 60–65. https://doi.org/10.1002/TKM2.1270

51. Yu, Y., Zhang, J., Wang, J., & Sun, B. (2019). The anti-cancer activity and potential clinical application of rice bran extracts and fermentation products. *RSC Advances*, *9*(31), 18060–18069. https://doi.org/10.1039/C9RA02439E

Journal Pre-proofs

52. Norazalina, S., Norhaizan, M. E., Hairuszah, I., & Norashareena, M. S. (2010). Anticarcinogenic efficacy of phytic acid extracted from rice bran on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, *62*(3), 259–268. https://doi.org/10.1016/J.ETP.2009.04.002

53. Saji, N., Francis, N., Schwarz, L. J., Blanchard, C. L., & Santhakumar, A. B. (2019). Rice Bran Derived Bioactive Compounds Modulate Risk Factors of Cardiovascular Disease and Type 2 Diabetes Mellitus: An Updated Review. *Nutrients 2019, Vol. 11, Page 2736*, *11*(11), 2736. https://doi.org/10.3390/NU11112736

54. Al-Okbi, S. Y., Mohamed, D. A., Hamed, T. E., & Al-Siedy, E. S. K. (2019). Rice bran as source of nutraceuticals for management of cardiovascular diseases, cardio-renal syndrome and hepatic cancer. *Journal of Herbmed Pharmacology*, *9*(1), 68–74. https://doi.org/10.15171/JHP.2020.10

55. Wang, J., Shimada, M., Kato, Y., Kusada, M., & Nagaoka, S. (2015). Cholesterol-lowering effect of rice bran protein containing bile acid-binding proteins. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, *79*(3), 456–461. https://doi.org/10.1080/09168451.2014.978260

56. Zhang, H., Wang, J., Liu, Y., Gong, L., & Sun, B. (2016). Rice bran proteins and their hydrolysates modulate cholesterol metabolism in mice on hypercholesterolemic diets. *Food & Function*, *7*(6), 2747–2753. https://doi.org/10.1039/C6FO00044D

57. Xiang, L., Qiu, Z., Zhao, R., Zheng, Z., & Qiao, X. (2023). Advancement and prospects of production, transport, functional activity and structure-activity relationship of food-derived angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory peptides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *63*(10), 1437–1463. https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1964433

58. Priyadarshini, A., Rajauria, G., O'Donnell, C. P., & Tiwari, B. K. (2019). Emerging food processing technologies and factors impacting their industrial adoption. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *59*(19), 3082–3101. https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1483890

59. Liu, Z. H., Cheng, F. M., Cheng, W. D., & Zhang, G. P. (2005). Positional variations in phytic acid and protein content within a panicle of japonica rice. *Journal of Cereal Science*, *41*(3), 297–303. https://doi.org/10.1016/J.JCS.2004.09.010

60. Phongthai, S., Journal, W. H.-… F. R., & 2017, undefined. (2017). Preparation, properties and application of rice bran protein: A review. *Ifrj.Upm.Edu.My*, *24*(1), 25–34. http://ifrj.upm.edu.my/24%20(01)%202017/(2).pdf

61. Taha, F., Mourad, R. M., Mohamed, S. S., & Hashem, A. (2012). Enzyme Treatment Rice Bran. In *American Journal of Food Technology*.

62. Damayanti, A., Triwibowo, B., & Ekanuramanta, A. T. (2023). *Jurnal Bahan Alam Terbarukan Optimization of The Aqueous Enzymatic Extraction (AEE) of Rice Bran Oil With Cellulase Using Response Surface Methodology*. *12*(200), 87–96.

63. Lloyd, B. J., Siebenmorgen, T. J., & Beers, K. W. (2000). Effects of commercial processing on antioxidants in rice bran. *Cereal Chemistry*, *77*(5), 551–555. https://doi.org/10.1094/CCHEM.2000.77.5.551;WGROUP:STRING:PUBLICATION

64. Patel, M., Patel, M., & Naik, S. N. (2004). Gamma-Oryzanol from rice bran oil-A review. In *Journal of Scientific & Industrial Research* (Vol. 63). https://www.researchgate.net/publication/239785419

Journal Pre-proofs

65. Orsavova, J., Misurcova, L., Vavra Ambrozova, J., Vicha, R., & Mlcek, J. (2015). Fatty Acids Composition of Vegetable Oils and Its Contribution to Dietary Energy Intake and Dependence of Cardiovascular Mortality on Dietary Intake of Fatty Acids. *International Journal of Molecular Sciences 2015, Vol. 16, Pages 12871-12890*, *16*(6), 12871–12890. https://doi.org/10.3390/IJMS160612871

66. Gopala Krishna, A. G., Hemakumar, K. H., & Khatoon, S. (2006). Study on the composition of rice bran oil and its higher free fatty acids value. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, *83*(2), 117–120. https://doi.org/10.1007/S11746-006-1183-1/METRICS

67. Irakli, M., Kleisiaris, F., Kadoglidou, K., & Katsantonis, D. (2018). Optimizing Extraction Conditions of Free and Bound Phenolic Compounds from Rice By-Products and Their Antioxidant Effects. *Foods 2018, Vol. 7, Page 93*, *7*(6), 93. https://doi.org/10.3390/FOODS7060093

68. Wanyo, P., Meeso, N., & Siriamornpun, S. (2014). Effects of different treatments on the antioxidant properties and phenolic compounds of rice bran and rice husk. *Food Chemistry*, *157*, 457–463. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2014.02.061

69. Zheng, L., San, Y., Xing, Y., & Regenstein, J. M. (2024). Rice proteins: A review of their extraction, modification techniques and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, *268*, 131705. https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2024.131705

70. Schlemmer, U., Frølich, W., Prieto, R. M., & Grases, F. (2009). Phytate in foods and significance for humans: Food sources, intake, processing, bioavailability, protective role and analysis. *Molecular Nutrition & Food Research*, *53*(S2), S330–S375. https://doi.org/10.1002/MNFR.200900099

71. Hurrell, R. F. (2013). Phytic Acid Degradation as a Means of Improving Iron Absorption. *Http://Dx.Doi.Org/10.1024/0300-9831.74.6.445*, *74*(6), 445–452. https://doi.org/10.1024/0300-9831.74.6.445

72. Canan, C., Cruz, F. T. L., Delaroza, F., Casagrande, R., Sarmento, C. P. M., Shimokomaki, M., & Ida, E. I. (2011). Studies on the extraction and purification of phytic acid from rice bran. *Journal of Food Composition and Analysis*, *24*(7), 1057–1063. https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2010.12.014

73. Kumar, A., Sahu, C., Panda, P. A., Biswal, M., Sah, R. P., Lal, M. K., Baig, M. J., Swain, P., Behera, L., Chattopadhyay, K., & Sharma, S. (2020). Phytic acid content may affect starch digestibility and glycemic index value of rice (Oryza sativa L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *100*(4), 1598–1607. https://doi.org/10.1002/JSFA.10168

74. Liu, Z., Cheng, F., & Zhang, G. (2005). Grain phytic acid content in japonica rice as affected by cultivar and environment and its relation to protein content. *Food Chemistry*, *89*(1), 49–52. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2004.01.081

75. Zheng, L., Zhu, X. Y., Wang, J., & Su, W. (2023). Mechanochemical-assisted extraction and enzymatic hydrolysis of calcium phytate from defatted rice bran. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, *10*(1), 1–12. https://doi.org/10.1186/S40538-023-00424-5/TABLES/9

76. Hassan, H. M., Abdel-Halim, N. H. M., El-Shenbaby, I., Helmy, M. A., Hammad, M. O., Habotta, O. A., El Nashar, E. M., Alghamdi, M. A., Aldahhan, R. A., Al-Khater, K. M., Almohaywi, B., & Farrag, E. A. E. (2024). Phytic acid attenuates acetaminophen-induced hepatotoxicity via modulating iron-mediated oxidative stress and SIRT-1 expression in mice. *Frontiers in Pharmacology*, *15*, 1384834. https://doi.org/10.3389/FPHAR.2024.1384834/BIBTEX

Journal Pre-proofs

77. Barahuie, F., Dorniani, D., Saifullah, B., Gothai, S., Hussein, M. Z., Pandurangan, A. K., Arulselvan, P., & Norhaizan, M. E. (2017). Sustained release of anticancer agent phytic acid from its chitosan-coated magnetic nanoparticles for drug-delivery system. *International Journal of Nanomedicine*, *12*, 2361–2372. https://doi.org/10.2147/IJN.S126245

78. Masunaga, T., Murao, N., Tateishi, H., Koga, R., Ohsugi, T., Otsuka, M., & Fujita, M. (2019). Anti-cancer activity of the cell membrane-permeable phytic acid prodrug. *Bioorganic Chemistry*, *92*, 103240. https://doi.org/10.1016/J.BIOORG.2019.103240

79. Al-Fatlawi, A. A., Al-Fatlawi, A. A., Irshad, M., Zafaryab, M., Moshahid Alam Rizvi, M., & Ahmad, A. (2014). Rice Bran Phytic Acid Induced Apoptosis Through Regulation of Bcl-2/Bax and p53 Genes in HepG2 Human Hepatocellular Carcinoma Cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, *15*(8), 3731–3736. https://doi.org/10.7314/APJCP.2014.15.8.3731

80. Abdulwaliyu, I., Arekemase, S. O., Adudu, J. A., Batari, M. L., Egbule, M. N., & Okoduwa, S. I. R. (2019). Investigation of the medicinal significance of phytic acid as an indispensable anti-nutrient in diseases. *Clinical Nutrition Experimental*, *28*, 42–61. https://doi.org/10.1016/J.YCLNEX.2019.10.002

81. VS Vallabha, V., Indira, T. N., Jyothi Lakshmi, A., Radha, C., & Tiku, P. K. (2015). Enzymatic process of rice bran: a stabilized functional food with nutraceuticals and nutrients. *Journal of Food Science and Technology*, *52*(12), 8252–8259. https://doi.org/10.1007/s13197-015-1926-9

82. Beaulieu, J. C., Chen, M. H., Wenefrida, I., Ne¸se, N., & Tuncel, Y. (2023). Stabilization of Rice Bran: A Review. *Foods 2023, Vol. 12, Page 1924*, *12*(9), 1924. https://doi.org/10.3390/FOODS12091924

83. Bansal, S., Sundararajan, S., Shekhawat, P. K., Singh, S., Soni, P., Tripathy, M. K., & Ram, H. (2023). Rice lipases: a conundrum in rice bran stabilization: a review on their impact and biotechnological interventions. *Physiology and Molecular Biology of Plants 2023 29:7*, *29*(7), 985–1003. https://doi.org/10.1007/S12298-023-01343-3

84. Santa María, C., Revilla, E., Rodríguez-Morgado, B., Castaño, A., Carbonero, P., Gordillo, B., Cert, R., & Parrado, J. (2016). Effect of rice parboiling on the functional properties of an enzymatic extract from rice bran. *Journal of Cereal Science*, *72*, 54–59. https://doi.org/10.1016/J.JCS.2016.09.010

85. Selvaraju, G. D., S., D., S., K., K., D., T., H., & D., R. J. (2022). a Study on Characterization of Pectinase Assisted Aqueous Extraction of Rice Bran Oil. *Journal of Advanced Scientific Research*, *13*(01), 162–166. https://doi.org/10.55218/jasr.202213117

86. Garba, U., & Singanusong, R. (2017). *Extraction and utilization of rice bran oil: A review*. https://www.researchgate.net/publication/319354031

87. Jiang, Y. (2019). Bioprocessing technology of rice bran oil. In *Rice Bran and Rice Bran Oil: Chemistry, Processing and Utilization*. Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812828-2.00004-4

88. Yoshida, H., Kuriyama, I., Tomiyama-Sakamoto, Y., & Mizushina, Y. (2012). Profiles of Lipid Components, Fatty Acids and Triacylglycerol Molecular Species in Lipids of Rice Bran Cultivars. *Food Science and Technology Research*, *18*(2), 219–226. https://doi.org/10.3136/FSTR.18.219

89. Hosseini Bahri, S. M., Esmaeilzadeh Kenari, R., & Raftani Amiri, Z. (2023). The Effect of Extrusion Process on Quality Characteristics of Rice Bran Oil from Tarom and Khazar Varieties. *Food Industry Engineering Research*, *22*(2), 111–130. https://doi.org/10.22092/FOODER.2024.363337.1373

Journal Pre-proofs

90. Xu, D., Hao, J., Wang, Z., Yang, H., Gao, Q., Ma, N., Wang, J., & Ma, Y. (2020). Aqueous enzymatic extraction of oil from rice bran and its quality evaluation . *Authorea Preprints*, 1–11.

91. Kamyab, S., Ghavami, M., Gharachorlu, M., & Larijani, K. (2011). Evaluation of methods for the separation of gamma-oryzanol from Iranian rice bran oil varieties. *Quarterly Journal of Food Science and Technology*, *8*(31), 95–105. https://sid.ir/paper/72543/fa

92. Lerma-García, M. J., Herrero-Martínez, J. M., Simó-Alfonso, E. F., Mendonça, C. R. B., & Ramis-Ramos, G. (2009). Composition, industrial processing and applications of rice bran γ-oryzanol. *Food Chemistry*, *115*(2), 389–404. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2009.01.063

93. Fraterrigo Garofalo, S., Tommasi, T., & Fino, D. (2021). A short review of green extraction technologies for rice bran oil. *Biomass Conversion and Biorefinery*, *11*(2), 569–587. https://doi.org/10.1007/S13399-020-00846-3/FIGURES/2

94. Hanmoungjai, P., Pyle, L., & Niranjan, K. (2000). Extraction of rice bran oil using aqueous media. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, *75*(5), 348–352. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4660(200005)75:5<348::AID-JCTB233>3.0.CO;2-P

95. Galanakis, C. M. (2012). Recoveryof high added-value components from food wastes: Conventional, emerging technologies and commercialized applications. *Trends in Food Science & Technology*, *26*(2), 68–87. https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2012.03.003

96. Chaisuwan, B., & Supawong, S. (2022). Physicochemical and antioxidative characteristics of rice bran protein extracted using subcritical water as a pretreatment and stability in a functional drink model during storage. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *44*, 102466. https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2022.102466

97. Yilmaz, N. (2016). Middle infrared stabilization of individual rice bran milling fractions. *Food Chemistry*, *190*, 179–185. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2015.05.094

98. Sharma, A., Khare, S. K., & Gupta, M. N. (2001). Enzyme-assisted aqueous extraction of rice bran oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *78*(9), 949–951. https://doi.org/10.1007/S11746-001-0369-X

99. Mourad, R. M., Mohamed, S. S., Hashim, A. E., & Taha, F. S. (2009). STABILIZATION AND ENZYMATIC TREATMENT OF RICE BRAN TO IMPROVE OIL YIELD. *Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology*, *34*(5), 4223–4236. https://doi.org/10.21608/JACB.2009.93096

100. Vovk, H., Karnpakdee, K., Ludwig, R., & Nosenko, T. (2023). Enzymatic Pretreatment of Plant Cells for Oil Extraction. *Food Technology and Biotechnology*, *61*(2), 160–178. https://doi.org/10.17113/FTB.61.02.23.7896

101. R, T., Ata-ur-Rehman, & Butt, M. A. (2007). CHARACTERIZATION OF RICE BRAN OIL. *Journal of Agricultural Research (JAR) .*, *45*(3), 225–230. https://doi.org/10.58475/88108646

102. *Riceland Foods: Innovative Cooperative in the International Market - J. David Morrissy - Google Books*. (n.d.). Retrieved June 21, 2025, from https://books.google.es/books?hl=en&lr=&id=LsY1OH70skUC&oi=fnd&pg=PA3&dq=Riceland+Foods+rice&ots=jXAhsixSDW&sig=7fG6RzueouhRIxARhlThzTMwiXk&redir_esc=y#v=onepage&q=Riceland%20Foods%20rice&f=false

Journal Pre-proofs

103. Wongwaiwech, D., Weerawatanakorn, M., Tharatha, S., & Ho, C. T. (2019). Comparative study on amount of nutraceuticals in by-products from solvent and cold pressing methods of rice bran oil processing. *Journal of Food and Drug Analysis*, *27*(1), 71–82. https://doi.org/10.1016/J.JFDA.2018.06.006

104. Zaky, A. A., Abd El-Aty, A. M., Ma, A., & Jia, Y. (2022). An overview on antioxidant peptides from rice bran proteins: extraction, identification, and applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *62*(5), 1350–1362. https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1842324;JOURNAL:JOURNAL:BFSN18;WGROUP:STRING:PUBLICATION

105. Andriani, R., Subroto, T., Ishmayana, S., & Kurnia, D. (2022). Enhancement Methods of Antioxidant Capacity in Rice Bran: A Review. *Foods 2022, Vol. 11, Page 2994*, *11*(19), 2994. https://doi.org/10.3390/FOODS11192994

106. Nurrohima, D., Nurrohima, D., Wasita, B., & Susilawati, T. N. (2022). Antidiabetic Effects of Red Rice Bran in The Rat Models of Diabetes. *Jurnal Aisyah : Jurnal Ilmu Kesehatan*, *7*(2), 437–444. https://doi.org/10.30604/jika.v7i2.984

107. Pansiri, S., Trigueros, E., Gomes, N. G. M., Andrade, P. B., Duangsrisai, S., & Oliveira, A. P. (2024). Cell-free and cell-based antidiabetic effects and chemical characterization of rice bran from Thai cultivars. *Food Research International*, *196*, 115023. https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2024.115023

108. Sasaki, D., Suzuki, H., Kusamori, K., Itakura, S., Todo, H., & Nishikawa, M. (2024). Development of rice bran-derived nanoparticles with excellent anti-cancer activity and their application for peritoneal dissemination. *Journal of Nanobiotechnology*, *22*(1), 1–16. https://doi.org/10.1186/S12951-024-02381-Z/METRICS

109. Faizah, F., & Paramadini, A. W. (2023). Enhancement of Antioxidant and Colon Anticancer Activity from Fermented Rice Bran Extract. *Jurnal EduHealth*, *14*(03), 1202–1208. https://doi.org/10.54209/JURNALEDUHEALTH.V14I3.2597

110. Sapna, I., & Jayadeep, A. (2022). Cellulolytic and xylanolytic enzyme combinations in the hydrolysis of red rice bran: A disparity in the release of nutraceuticals and its correlation with bioactivities. *LWT*, *154*, 112856. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.112856

111. Cho, Y.-C., Baek, M.-K., Park, H.-S., Cho, J.-H., Ahn, E.-K., Suh, J.-P., Jeung, J.-U., Lee, J.-H., Won, Y.-J., Song, Y.-C., Jeong, E.-G., Kim, B.-K., & Lee, J.-H. (2020). History and Results of Rice Breeding in Korea. *Korean Society of Breeding Science*, *52*(0), 58–72. https://doi.org/10.9787/KJBS.2020.52.S.58

112. Zhang, H. J., Zhang, H., Wang, L., & Guo, X. N. (2012). Preparation and functional properties of rice bran proteins from heat-stabilized defatted rice bran. *Food Research International*, *47*(2), 359–363. https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2011.08.014

113. Ienvenido, B., & Juliano, O. (2003). An Adventure in Rice Chemistry and Quality: The Japan Connection. *Journal of Applied Glycoscience*, *50*(Special), 73–76. https://doi.org/10.5458/JAG.50.SPECIAL_73

114. Vaštag, Ž., Popović, L., Popović, S., Krimer, V., & Peričin, D. (2011). Production of enzymatic hydrolysates with antioxidant and angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity from pumpkin oil cake protein isolate. *Food Chemistry*, *124*(4), 1316–1321. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2010.07.062

Journal Pre-proofs

115. Sapwarobol, S., Saphyakhajorn, W., & Astina, J. (2021). Biological Functions and Activities of Rice Bran as a Functional Ingredient: A Review. *Nutrition and Metabolic Insights*, *14*. https://doi.org/10.1177/11786388211058559

116. Torabizadeh, H., Abbasi, S., & Tafaghodinia, B. (2025). Multi-immobilization of viscozyme, alcalase and flavourzyme by nanomagnetic combi-CLEAs method for oil and protein hydrolysates extraction from rice bran in aqueous phase. *International Journal of Biological Macromolecules*, *311*, 143719. https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2025.143719

117. *Protein Bank Data*. (n.d.). Www.Uniprot.Org.

118. Sitanggang, A. B., Putri, J. E., Palupi, N. S., Hatzakis, E., Syamsir, E., & Budijanto, S. (2021). Enzymatic Preparation of Bioactive Peptides Exhibiting ACE Inhibitory Activity from Soybean and Velvet Bean: A Systematic Review. *Molecules 2021, Vol. 26, Page 3822*, *26*(13), 3822. https://doi.org/10.3390/MOLECULES26133822

119. Orio, L. P., Boschin, G., Recca, T., Morelli, C. F., Ragona, L., Francescato, P., Arnoldi, A., & Speranza, G. (2017). New ACE-Inhibitory Peptides from Hemp Seed (Cannabis sativa L.) Proteins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *65*(48), 10482–10488. https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.7B04522/SUPPL_FILE/JF7B04522_SI_001.PDF

120. Han, S. W., Chee, K. M., & Cho, S. J. (2015). Nutritional quality of rice bran protein in comparison to animal and vegetable protein. *Food Chemistry*, *172*, 766–769. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2014.09.127

121. Devi Ph Scholar, R. D., Lakshmi Veliveli Professor, V., Devi Ph scholar, R. D., Devi, R., Lakshmi Veliveli, V., & Suchiritha Devi, S. (2021). Nutritional composition of rice bran and its potentials in the development of nutraceuticals rich products. *~ 470 ~ Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, *10*(2), 470–473. www.phytojournal.com

122. Yu, C. wei, Luo, T., Xie, T., Li, J., & Deng, Z. yuan. (2022). Classified processing of different rice bran fractions according to their component distributions. *International Journal of Food Science and Technology*, *57*(7), 4052–4064. https://doi.org/10.1111/IJFS.15715

123. Xinkang, L., Chunmin, G., Lin, W., Liting, J., Xiangjin, F., Qinlu, L., Zhengyu, H., & Chun, L. (2023). Rice Storage Proteins: Focus on Composition, Distribution, Genetic Improvement and Effects on Rice Quality. *Rice Science*, *30*(3), 207–221. https://doi.org/10.1016/J.RSCI.2023.03.005

124. Larsson, E. (2020). *Extraction of Rice Bran Protein Screening of enzymatic digestion , solubilization using pH shift*.

125. Nagata, K., Nonoue, Y., Matsubara, K., Mizobuchi, R., Ono, N., Shibaya, T., Ebana, K., Ogiso-Tanaka, E., Tanabata, T., Sugimoto, K., Taguchi-Shiobara, F., Yonemaru, J. I., Uga, Y., Fukuda, A., Ueda, T., Yamamoto, S. I., Yamanouchi, U., Takai, T., Ikka, T., … Yano, M. (2023). Development of 12 sets of chromosome segment substitution lines that enhance allele mining in Asian cultivated rice. *Breeding Science*, *73*(3), 332–342. https://doi.org/10.1270/JSBBS.23006

126. Maclean, J., Hardy, B., & Hettel, G. (2013). *Rice Almanac: Source book for one of the most important economic activities on earth*. https://books.google.com/books?hl=en&lr=&id=aWRJAgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR5&dq=Maclean+2013+rice&ots=vlK-6j8hnz&sig=cgSBL4UDV8_qdfEa_Odi56Y6yrM

Journal Pre-proofs

127. Li, R., Li, M., Ashraf, U., Liu, S., & Zhang, J. (2019). Exploring the relationships between yield and yield-related traits for rice varieties released in china from 1978 to 2017. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 430305. https://doi.org/10.3389/FPLS.2019.00543/BIBTEX

128. Yang, S., Feng, Z., Zhang, X., Jiang, K., Jin, X., Hang, Y., Chen, J. Q., & Tian, D. (2006). Genome-wide investigation on the genetic variations of rice disease resistance genes. *Plant Molecular Biology*, *62*(1–2), 181–193. https://doi.org/10.1007/S11103-006-9012-3/METRICS

129. Zarei, I., Luna, E., Leach, J. E., McClung, A., Vilchez, S., Koita, O., & Ryan, E. P. (2018). Comparative Rice Bran Metabolomics across Diverse Cultivars and Functional Rice Gene–Bran Metabolite Relationships. *Metabolites 2018, Vol. 8, Page 63*, *8*(4), 63. https://doi.org/10.3390/METABO8040063

130. Hamada, J. S. (1997). Characterization of Protein Fractions of Rice Bran to Devise Effective Methods of Protein Solubilization. *Cereal Chemistry*, *74*(5), 662–668. https://doi.org/10.1094/CCHEM.1997.74.5.662

131. Codex Alimentarius Commission. (2024). *FAO and WHO, General standard for food additives. Codex Alimentarius Standard, NO. CXS 210–1999*.

Journal Pre-proofs

Journal Pre-proofs

Journal Pre-proofs