

生物强化提高水稻糙米锌含量及其生物有效性

刘晓航¹, 王张民^{2,3,4*}, 牛珊珊⁵, 宋佳平⁶, 张泽洲⁶, 刘志奎^{3,4}, 庞敏⁴, 尹雪斌^{3,4,7,8*}

(1 山西农业大学农学院, 山西太谷 030801; 2 苏州科技大学环境科学与工程学院, 江苏苏州 215009; 3 江苏省晒生物工程技术研究中心 / 中国科学技术大学苏州高等研究院功能农业重点实验室, 江苏苏州 215123; 4 南京恒宝田功能农业产业研究院 / 国家粮食产业(功能稻米)技术创新中心, 江苏南京 210031; 5 中国科学技术大学地球和空间科学学院, 安徽合肥 230026; 6 安徽科技学院资源与环境学院, 安徽滁州 239000; 7 安徽科技学院长三角功能农业(食品)研究院, 安徽滁州 239000; 8 山西农业大学山西功能农业研究院, 山西太谷 030801)

摘要:【目的】研究利用有机锌肥生物强化水稻糙米锌含量的可行性及其生物可给性。【方法】锌生物强化试验在江苏溧阳进行, 供试锌肥为糖醇螯合态锌(Zn 170 g/L), 供试水稻品种为中熟晚粳稻‘南粳46’。设5个处理: 喷施清水(CK); 锌肥喷施一次, 用量为2.55 kg/hm² (Zn1)、5.10 kg/hm² (Zn2); 锌肥喷施两次, 总施用量为5.10 kg/hm² (Zn3)、10.20 kg/hm² (Zn4)。水稻成熟后, 测定糙米中锌、植酸含量, 测定糙米中锌赋存形态含量, 计算糙米植酸/锌摩尔比、糙米锌赋存形态占比, 并利用 *in vitro* 人工胃肠模拟法分析糙米锌在胃阶段和胃肠阶段的溶出量, 以溶出锌与糙米锌量之比来计算糙米锌生物可给性。【结果】与CK处理相比, 锌生物强化对糙米植酸含量无显著影响, 但显著提高了糙米锌含量, Zn1、Zn2、Zn3和Zn4处理的增幅分别为23.93%、37.51%、82.38%和87.81%, Zn3和Zn4处理增幅差异不显著。Zn1、Zn2处理对糙米植酸/锌摩尔比无显著影响, Zn3和Zn4处理显著降低了植酸/锌摩尔比。锌处理不同程度提高了糙米中各赋存形态锌含量, Zn2处理显著提高了糙米盐溶态和碱溶态锌含量, Zn3处理显著提高了所有赋存形态锌含量, 而Zn4处理显著提高了除水溶态锌外的其他3类锌含量, Zn3和Zn4处理间各赋存形态锌含量无显著差异。锌处理水平影响着糙米各赋存形态锌的占比, 与CK处理相比, Zn1处理下各赋存形态锌占比无显著变化, Zn2处理显著降低了复合态锌占比, Zn3处理显著降低了水溶态锌占比, 而Zn4处理显著降低了水溶态锌占比, 显著提高了盐溶态锌占比。锌生物强化可提高糙米中锌在胃肠阶段的溶出量, CK、Zn1、Zn2、Zn3和Zn4处理强化后糙米锌在胃肠阶段的溶出量分别为19.52、24.15、23.14、30.62和32.55 mg/kg, Zn3和Zn4处理的溶出量无显著差异, 但明显高于Zn1和Zn2处理。相关性分析表明, 糙米锌在胃肠阶段溶出量与糙米锌含量极显著正相关, 与糙米水溶态锌占比极显著负相关, 与复合态锌占比无显著相关, 糙米锌生物可给性与植酸/锌摩尔比呈极显著相关。【结论】锌生物强化可显著提高糙米总锌含量, 降低植酸/锌摩尔比, 提高稻米中强化锌的生物有效锌。低施锌量虽然也提升了糙米的总锌含量, 但不影响糙米中各赋存形态锌的比例。高施锌量不论是一次还是分两次喷施, 不仅更有效提升了糙米总锌含量, 还显著降低了水溶态锌占比, 增加了盐溶态锌比例, 因而提高了胃肠阶段的锌溶出量。因此, 以提高糙米锌含量及其生物有效性为目的的生物强化措施推荐喷施5.10 kg/hm² 糖醇螯合态锌肥, 并分两次施用。

关键词: 锌生物强化; 糙米; 锌生物有效性; 植酸/锌摩尔比; 锌赋存形态; 胃肠锌溶出量

Effects of zinc biofortification fertilizer on zinc content and bioavailability of brown rice

LIU Xiao-hang¹, WANG Zhang-min^{2,3,4*}, NIU Shan-shan⁵, SONG Jia-ping⁶, ZHANG Ze-zhou⁶, LIU Zhi-kui^{3,4},
PANG Min⁴, YIN Xue-bin^{3,4,7,8*}

(1 College of Agronomy, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801, China; 2 School of Environmental Science and Engineering, Suzhou University of Science and Technology, Suzhou, Jiangsu 215009, China; 3 Jiangsu Bio-Engineering Research

收稿日期: 2023-02-16 接受日期: 2023-05-03

基金项目: 国家农创园功能农业发展专项(NJGJNCY-FAST01); 常熟市科技发展计划项目(CN202101); 山西省农谷建设科研专项(SXNGJSKYZX201706); 山西省重点研发计划重点项目(201703D211001-01-02)。

联系方式: 刘晓航 E-mail: 2191623582@qq.com

* 通信作者 王张民 E-mail: zmwangess@usts.edu.cn; 尹雪斌 E-mail: xbyin@ahstu.edu.cn

Center for Selenium / Advanced Lab for Functional Agriculture, Suzhou Institute for Advanced Research, University of Science and Technology of China, Suzhou, Jiangsu 215123, China; 4 Nanjing Institute for FAST / National Innovation Center for Functional Rice, Nanjing, Jiangsu 210031, China; 5 School of Earth and Space Sciences, University of Science and Technology of China, Hefei, Anhui 230026, China; 6 College of Resource and Environment, Anhui Science and Technology University, Chuzhou, Anhui 239000, China; 7 Institute of Functional Agriculture (Food) Science and Technology (iFAST) at Yangtze River Delta, Anhui Science and Technology University, Chuzhou, Anhui 239000, China; 8 Shanxi Functional Agriculture Research Institute, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801, China)

Abstract: [Objectives] We studied the availability of zinc (Zn) biofortification of brown rice and the bioavailability of Zn in brown rice. **[Methods]** Zn biofortification experiment was carried out in Liyang County, Jiangsu Province. The tested Zn fertilizer was alditol chelated Zn (Zn 170 g/L), and the tested rice cultivar was mid-maturing late *japonica* rice ‘Nanjing 46’. The treatments included one foliar application of Zn fertilizer at rate of 2.55 (Zn1), and 5.10 kg/hm² (Zn2), two foliar application at total rate of 5.10 (Zn3) and 10.20 kg/hm² (Zn4), and spraying water was used as control (CK). At maturing stage, brown rice samples were collected for measurement of the content of total Zn, four Zn fractions, and phytic acid (PA), and the molar ratio of phytic acid to Zn (PA/Zn) was calculated. The dissolution rate of brown rice Zn in the gastric and gastrointestinal stage was detected by in vitro gastrointestinal simulation method. **[Results]** Compared with CK, Zn biofortification did not significantly change the phytic acid content, but increased the total Zn content of brown rice. Zn1, Zn2, Zn3, and Zn4 treatment increased the total Zn content by 23.93%, 37.51%, 82.38% and 87.81%, respectively. Zn3 and Zn4 treatment had similar but significantly higher promotion effect than Zn1 and Zn2. Zn1 and Zn2 treatment did not change the PA/Zn ratio of brown rice significantly, while Zn3 and Zn4 treatment reduced the ratio. Zn treatments affected the contents of the four Zn fractions in brown rice to varying degrees. Zn2 increased the salt-soluble and alkali-soluble Zn content, Zn3 treatment increased all the four Zn fraction contents, and Zn4 treatment increased all the Zn fraction contents except water soluble Zn. Compared with CK, Zn1 had no significant impact on the proportion of Zn fractions; Zn2 reduced the proportion of complex Zn; Zn3 reduced the proportion of water-soluble Zn, Zn4 reduced the proportion of water-soluble Zn but increased that of salt-soluble Zn. Zn biofortification enhanced the dissolution amount of brown rice Zn at the gastrointestinal stage, with the Zn dissolution amount of 19.52, 24.15, 23.14, 30.62 and 32.55 mg/kg under CK, Zn1, Zn2, Zn3, and Zn4 treatments, respectively. Zn3 and Zn4 treatment had similar but significantly higher Zn dissolution amount than Zn1 and Zn2. According to the correlation analysis, the gastrointestinal dissolution amount of Zn was positively correlated with total Zn content, negatively correlated with water-soluble Zn proportion, not correlated with complex Zn proportion. The bioavailability of Zn in brown rice was significantly correlated with PA/Zn ratio. **[Conclusions]** Zn biofortification is effective in increasing the total Zn content of brown rice and reduce the PA/Zn ratio, so increasing the bioavailability of Zn. Low Zn application rate does not affect the proportion of various Zn existing fractions in brown rice, while high Zn application rate significantly reduces the water-soluble Zn proportion and increases the salt-soluble Zn proportion, resulting in high gastrointestinal Zn dissolution amount. Aiming the Zn biofortification of brown rice, the effective method is applying foliar application alditol chelated Zn fertilizer in two times at a total rate of 5.10 kg/hm².

Key words: Zn biofortification; brown rice; phytic acid to Zn molar ratio; bioavailability; Zn existing fraction; gastrointestinal dissolution amount of Zn

锌是植物生长发育过程中不可缺少的元素, 常以离子形态存在, 是多种酶的重要组成部分。缺锌会抑制叶片生长, 导致植物生长缓慢^[1-3]。锌作为人体必需微量元素, 参与人体内多种蛋白质、核酸和

酶的构成, 对人体生长发育及幼儿智力发育具有重要作用^[4]。近期研究表明锌缺乏会导致新型冠状病毒肺炎 (corona virus disease 2019, COVID-19) 患者出现多种并发症, 增加患者死亡率^[5]。世界卫生组织资

料显示, 全球 17% 以上人口面临锌缺乏问题, 发展中国家居民锌缺乏现象尤为普遍, 我国约有 1 亿人口受到锌缺乏的影响^[6]。为解决锌元素摄入不足导致的“隐性饥饿”问题, 生产并食用富含锌的农副产品是最直接有效的措施。水稻是我国重要的粮食作物之一, 全国大约有三分之二的居民以稻米作为主食^[7], 而稻米在粮食作物中其锌含量最低^[8], 长期食用稻米人群存在锌缺乏风险^[9]。因此, 对水稻进行锌生物强化, 提高水稻籽粒中的锌含量, 可显著改善“隐性饥饿”问题。而不同碾米程度会导致加工过程中锌不同程度的流失, 随着稻米加工精度的提高, 大米中保留的锌含量会显著降低^[10], 而糙米相较于精米则更好的保留了稻谷的营养价值^[11], 因此提高糙米锌含量对人体锌营养健康具有重要意义。

锌生物强化可显著提高水稻糙米锌含量, 但人体缺锌不仅与谷物籽粒中锌含量低有关, 也与锌生物有效性低有关。植酸/锌摩尔比常被用于评价谷物籽粒中锌的生物有效性, 当植酸/锌摩尔比高于 15 时, 谷物籽粒中锌生物有效性低, 抑制人体对锌的吸收与利用; 且当植酸/锌摩尔比高于 10 时, 能够引起锌的缺乏^[12-13]。研究发现稻米锌生物有效性与稻米植酸含量呈负相关^[14], 但报道多关注于不同水稻品种间稻米植酸含量或植酸/锌摩尔比的差异, 针对锌生物强化糙米锌生物有效性的研究较少。

稻米中锌的赋存形态能够直接体现稻米中锌的营养品质。许嘉琳等^[15]通过逐步提取法, 对农作物体内重金属元素形态进行提取, 并划分为乙醇提取态、水提取态、氯化钠提取态、醋酸提取态、盐酸可提取态及残渣态等 6 种提取形态, 并围绕此提取法对长柔毛委陵菜^[16]、皖景天^[17]、再力花^[18]和茶叶^[19]等植物中锌结合态进行提取, 发现在锌超积累植物长柔毛委陵菜中, 锌以盐溶态和水溶态为主导形态, 且不同部位占比不同^[16]。锌富集植物皖景天在高锌浓度 (800 $\mu\text{mol/L}$ Zn) 处理下, 皖景天茎和叶片中水溶态锌占比增加, 盐溶态锌占比减少^[17]。而非超富集植物再力花在高锌浓度处理下, 根部醇溶态锌占比从对照组的 59.81% 下降至 36.3%, 水溶态锌占比由对照组的不足 10% 逐步提高至 36.3%。在不同锌处理下, 再力花根部锌赋存形态以醇溶态和水溶态为主^[18]。王威威等^[20]从锌与蛋白质结合的角度将植物体内锌赋存形态进行分类, 划分为无机锌、水溶性清蛋白锌、盐溶性球蛋白锌、碱溶性谷蛋白锌和难溶性复合蛋白锌 5 种形态。潘斐等^[21]通过该提取方法对锌生物营养强化大蒜不同组织的锌赋存形态进行

分析, 发现施锌后大蒜蒜叶中水溶态锌占比由对照组的 9% 降低至 4%, 而蒜薹中盐溶态锌占比降低至 24%。目前对稻米锌赋存形态的研究较少。

植酸/锌摩尔比提供了锌生物有效性的粗略指标, 锌的生物有效性与食物中锌的赋存形态有着密切的联系, 而生物可给性 (bioaccessibility) 更能体现食材中营养物质真实的生物可利用度。生物可给性是指食物经消化系统消化后, 能够溶解于消化液中的营养物质, 这部分营养物质游离于消化液中, 可供小肠绒毛内的毛细血管吸收后进入血液, 被人体吸收利用^[22]。生物可给性的评估方法有人体或动物试验和 *in vitro* 体外消化方法, 其中, *in vitro* 体外消化方法因具有操作简单、耗时少、重复性好的优点而被广泛使用, Sun 等^[22]搭建的人工胃肠模拟系统 (SHIME system) 成为研究者评估土壤或食物中的重金属及微量元素生物可给性的主要方法^[21, 23-25]。陶雪莹^[26]通过人工胃肠模拟研究发现, 叶面喷施锌肥可显著提高油菜地上部在胃和肠阶段锌的可给态含量, 且高浓度处理效果最佳, 而针对稻米锌生物可给性的研究较少^[27]。

本研究以锌生物强化后的水稻糙米为供试材料, 重点研究锌生物强化对糙米锌含量、植酸含量、植酸/锌摩尔比、锌赋存形态的影响, 同时利用 *in vitro* 人工胃肠模拟法评估锌生物强化对糙米锌生物可给性的影响, 为糙米锌营养评价提供理论参考依据, 为改善“隐性饥饿”问题提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

本试验于江苏省常州市溧阳水稻种植区进行, 溧阳市地处江苏省南部, 属亚热带季风气候, 雨水丰盈, 光照充足。试验区采用水稻-油菜轮作的栽培模式, 其土壤理化性质如下: 土壤 pH 7.16, 土壤有机质 37.5 g/kg, 土壤碱解氮 170.0 mg/kg, 土壤有效磷 39.5 mg/kg, 土壤速效钾 132.0 mg/kg, 土壤总锌 76.1 mg/kg, 土壤有效锌 4.9 mg/kg。

1.2 试验设计

锌强化试验于 2021 年 5 月至 2021 年 11 月在江苏省常州市溧阳市南渡镇试验田中进行, 供试品种为中熟晚粳稻‘南粳 46’, 是江苏省优质食味稻米; 锌肥由南京恒宝田功能农业产业研究院提供, 产品编码为 FAST-21BF-006, 锌为糖醇螯合锌, 锌含量为 170 g/L。

2021 年 5 月 15 日育秧, 6 月 9 日移栽, 秧龄 25 天。插秧前施用复合肥 ($N : P_2O_5 : K_2O = 22 : 12 : 8$) 600 kg/hm^2 作为基肥, 6 月 21 日施用复合肥 ($N : P_2O_5 : K_2O = 30 : 0 : 5$) 150 kg/hm^2 作为分蘖肥, 8 月 20 日施用复合肥 ($N : P_2O_5 : K_2O = 16 : 0 : 16$) 262.5 kg/hm^2 作为穗肥。锌肥于水稻灌浆期以无人机叶面喷施的方式施用, 共设置 4 个处理, 分别为 Zn1 (2.55 kg/hm^2)、Zn2 (5.10 kg/hm^2)、Zn3 (5.10 kg/hm^2 , 分两次等量喷施, 间隔 7 天, 每次施锌量为 2.55 kg/hm^2)、Zn4 (10.20 kg/hm^2 , 分两次等量喷施, 间隔 7 天, 每次施锌量为 5.10 kg/hm^2), Zn1 和 Zn2 锌肥喷施 1 次, 水肥配比为 9 : 1, 并设置一对照组 (CK), 除不施用锌肥外, 其余操作处理均与施肥处理相同。试验小区随机排列, 小区面积为 100 m^2 , 每个处理重复 3 次, 各小区间设置宽 1 m 的种植保护行, 田间管理同大田常规操作。

在水稻成熟期, 采用五点取样法进行采样, 每个点分别取成熟穗 10 个, 共计 50 个成熟穗作为 1 个混合样, 每个小区采集 3 个平行样。样品清洗、干燥后脱粒去壳, 糙米用不锈钢粉碎机粉碎, 过 0.15 mm 筛, 密封, 保存备用。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 锌含量的测定 锌含量测定参照《食品安全国家标准 食品中锌的测定》^[28], 采用 $HNO_3 : HClO_4$ (4 : 1) 混酸在电热板上消解, 使用电感耦合等离子体质谱仪 (ICP-MS) 测定。样品检测过程中以植物标样 GBW07603 (GSV-2) 进行质量控制, 相对标准偏差均小于 5%, 方法回收率 98.7%, 每个样品重复 3 次。

1.3.2 植酸含量的测定 植酸含量的测定参照 Fei 等^[29]的方法并略作改进。具体步骤为: 称取样品 0.3 g , 加入 $10 \text{ mL } 0.2 \text{ mol/L HCl}$, 室温下振荡提取 2.0 h , 离心后取上清液 2.5 mL , 加入 $2 \text{ mL } 0.2\%$ 水合 $FeCl_3$ 溶液, 沸水浴加热, 冷却离心后弃去上清液, 用 $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ 去离子水冲洗 2 次, 加入 $3 \text{ mL } 1.5 \text{ mol/L NaOH}$ 溶液, 充分震荡, 离心后弃去上清液, 加入 $3 \text{ mL } 0.5 \text{ mol/L HCl}$ 溶液, 形成 $FeCl_3$ 溶液, 用电感耦合等离子体质谱仪 (ICP-MS) 测定铁元素的含量, 每个样品重复 3 次。

植酸含量 (g/kg) = 铁浓度 (mg/L) $\times (660/55.8)/4.2 \times (25/1000 \times 10/2.5)/\text{样品质量 (g)}$ 。

1.3.3 糙米锌赋存形态的测定 按照王威威等^[20]的方法, 将糙米中的锌分为水溶态、盐溶态、碱溶态及复合态, 不同锌赋存形态的测定采用植物生化分

离方法分离 (稍作修改), 每个样品重复 3 次, 具体分离步骤如下:

1) 准确称取样品 1.000 g , 置于 50 mL 离心管, 加入 $15 \text{ mL } 18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ 超纯水, 室温下震荡提取 30 min 后 5000 r/min 离心 10 min , 倾出上清液, 重复两次震荡分离操作, 上清液中的锌为水溶态锌 (主要为无机锌和水溶性清蛋白锌);

2) 将步骤 1) 的残渣以同样的方法用质量分数 10% 的 $NaCl$ 提取液震荡提取, 上清液中的锌为盐溶态锌 (主要为盐溶性球蛋白锌);

3) 将步骤 2) 的残渣以同样的方法用质量分数 0.2% 的 $NaOH$ 提取液震荡提取, 上清液中的锌为碱溶态锌 (主要为碱溶性谷蛋白锌), 残渣态中的锌为复合态锌 (主要为难溶性复合蛋白锌)。各赋存形态的锌含量检测方法同 1.3.1 中锌含量的检测。

1.3.4 糙米锌生物可给性的测定 采用静态胃肠模型 (SHIME 法)^[22], 略作改进, 每个样品重复 3 次, 具体操作如下:

胃液配制: 称取 0.75 g NaCl 、 1.25 g KHCO_3 、 0.25 g 胃蛋白酶溶解于纯水中, 并定容至 250 mL 。

肠液配制: 称取 0.225 g 胰酶、 1.5 g 胆盐、 0.225 g $NaHCO_3$ 溶解于纯水中, 并定容至 250 mL 。

胃消化过程: 准确称取 1.0 g 样品和 10 mL 胃液置于离心管中, 用玻璃棒搅匀。于 37°C 恒温条件下震荡, 总反应时间为 2 h , 后用注射器抽取 5 mL 混合液, 5000 r/min 离心 10 min 后取上清液过 $0.45 \mu\text{m}$ 水系膜, 4°C 保存, 用于胃消化液锌含量的检测。

肠消化过程: 胃阶段结束后, 用 $NaOH$ 调节 pH 至中性后加入 5 mL 肠液, 继续于 37°C 恒温条件下震荡, 总反应时间为 4.0 h , 后用注射器抽取 5 mL 混合液, 5000 r/min 离心 10 min 后取上清液过 $0.45 \mu\text{m}$ 水系膜, 4°C 保存, 用于肠消化液锌含量的检测。

用植酸/锌摩尔比指示糙米锌的生物有效性, 植酸/锌摩尔比越低, 锌的生物有效性越高。植酸摩尔数为植酸含量 (g/kg) 除以其分子量 660, Zn 摩尔量为锌含量 (mg/kg) 除以 65 再乘以 1000。

样品锌加入量 = 称样量 $\times$ 样品锌含量;

胃 (肠) 阶段锌溶出量 = 胃 (肠) 消化液锌含量 $\times$ 胃 (肠) 消化液体积;

锌生物可给性 = 胃 (肠) 阶段锌溶出量 / 样品锌加入量。

1.4 数据分析

采用 SPSS 进行试验数据统计与分析, 用 Excel 进行表格绘制, 用 Origin (2021) 进行绘图。

2 结果与分析

2.1 锌生物强化对糙米锌含量及锌生物有效性的影响

图1表明, 锌生物强化可显著提高糙米锌含量 ($P < 0.05$)。对照组中糙米锌含量为 22.82 mg/kg, 当施 Zn 量分别为 2.55、5.10、10.20 kg/hm² 时, 糙米锌含量分别显著上升至 28.28 和 31.38 和 42.86 mg/kg, 与 CK 相比, Zn1、Zn2、Zn3 和 Zn4 处理的增幅分别为 23.93%、37.51%、82.38% 和 87.81%; 分 2 次施用 (总施 Zn 5.10 kg/hm²) 的糙米锌含量为 41.65 mg/kg, 较等量锌肥一次性施用处理提高 32.73%。

图2显示, 锌生物强化对糙米植酸含量无显著影响, 糙米植酸含量范围为 11.10~13.13 g/kg, 但糙米植酸/锌摩尔比随锌肥施用量增加而下降。CK 的糙米植酸/锌摩尔比值为 48.49, Zn1、Zn2 处理糙米植酸/锌摩尔比降低不显著, 而 Zn3、Zn4 处理显著降低。表明适量锌肥分两次施用 (总施 Zn 5.10 kg/hm²) 或高量锌肥分两次施用 (总施 Zn 10.20 kg/hm²) 可显著提高糙米锌含量, 降低植酸/锌摩尔比。

2.2 锌生物强化对水稻糙米不同赋存形态锌含量的影响

由图3可知, 施锌不同程度地提高了水稻糙米中水溶态锌、盐溶态锌、碱溶态锌和复合态锌含量。CK 组水稻糙米中水溶态、盐溶态、碱溶态、复

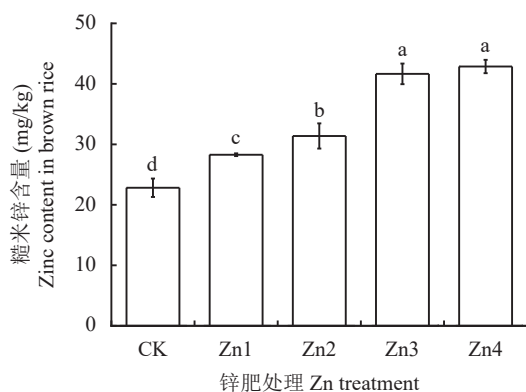


图1 不同锌生物强化处理糙米锌含量

Fig. 1 Zinc contents in brown rice under different zinc fertilizer treatments

注: CK、Zn1、Zn2 处理为 1 次喷施锌肥 0、2.55、5.10 kg/hm², Zn3、Zn4 为等分 2 次喷施锌肥 5.10、10.20 kg/hm²。柱上不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: CK, Zn1 and Zn2 treatments are one foliar application of zinc fertilizer at rate of 0, 2.55, and 5.10 kg/hm², and Zn3 and Zn4 treatments are two foliar application at total rate of 5.10 and 10.20 kg/hm². Different lowercase letters above the bars indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

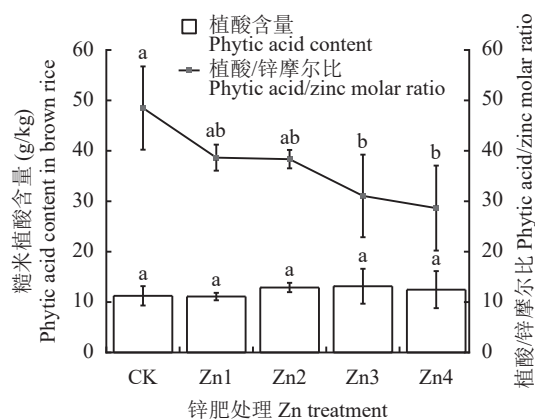


图2 不同锌生物强化处理糙米植酸含量及植酸/锌摩尔比

Fig. 2 Phytic acid content and the phytic acid/zinc molar ratio of brown rice under different zinc fertilizer treatments

注: CK、Zn1、Zn2 处理为 1 次喷施锌肥 0、2.55、5.10 kg/hm², Zn3、Zn4 为等分 2 次喷施锌肥 5.10、10.20 kg/hm²。图中不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: CK, Zn1 and Zn2 treatments are one foliar application of zinc fertilizer at rate of 0, 2.55, and 5.10 kg/hm², and Zn3 and Zn4 treatments are two foliar application at total rate of 5.10 and 10.20 kg/hm². Different lowercase letters in the figure indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

合态锌含量分别为 9.96、7.51、2.66、2.70 mg/kg。与 CK 相比, Zn1 处理 4 种形态锌含量增加均未达到显著水平; Zn2 处理显著提高了盐溶态和碱溶态锌含量; Zn3 处理提高了所有形态锌含量, Zn4 处理提高了除水溶态锌外的其他三类锌含量。

图4表明, CK 糙米中的水溶态锌为主要存在形态, 占比为 44%, 其次为盐溶态, 占比为 33%, 复合态和碱溶态大致相同, 占比均为 17%。随着锌肥用量的增加, 糙米中水溶态锌占比逐步降低, Zn1、Zn2、Zn4 处理的水溶态锌占比分别为 42%、35% 和 29%, Zn3 处理也降到 34%, Zn3 和 Zn4 处理下与 CK 差异显著; 而盐溶态锌占比呈相反趋势, Zn1、Zn2、Zn3、Zn4 处理分别为 34%、42%、43%、45%, 其中 Zn4 处理下与 CK 差异显著; 碱溶态锌和复合态锌占比没有明显变化趋势, 与 CK 没有显著差异。表明施锌主要降低了糙米中水溶态锌占比而提高了盐溶态锌的占比。

2.3 锌生物强化对水稻糙米中锌生物可给性的影响

由图5可知, 在模拟人体消化过程中, CK 水稻糙米中的锌在胃阶段的溶出量为 14.66 mg/kg, 胃肠阶段总溶出量为 19.52 mg/kg, Zn1、Zn2 处理两个阶段的 Zn 溶出量近似, 在胃肠阶段的溶出量分别为 24.15、23.14 mg/kg, 均显著高于 CK。Zn3 处理胃阶段和胃肠阶段的溶出量分别为 28.74 和 30.62

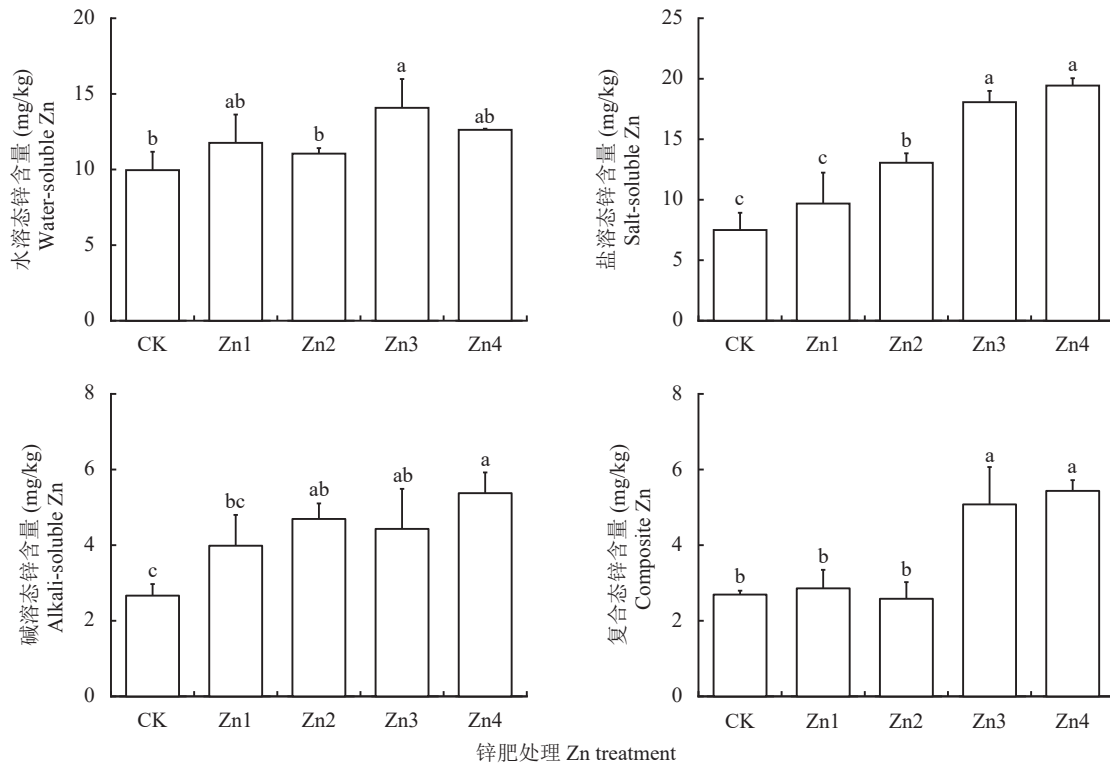


图3 生物强化糙米中各赋存形态锌含量

Fig. 3 Concentrations of zinc fractions in biofortified brown rice

注: CK、Zn1、Zn2 处理为 1 次喷施锌肥 0、2.55、5.10 kg/hm², Zn3、Zn4 为等分 2 次喷施锌肥 5.10、10.20 kg/hm²。柱上不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: CK, Zn1 and Zn2 treatments are one foliar application of zinc fertilizer at rate of 0, 2.55, and 5.10 kg/hm², and Zn3 and Zn4 treatments are two foliar application at total rate of 5.10 and 10.20 kg/hm². Different lowercase letters above the bars indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

mg/kg, 较 Zn2 处理分别显著提高了 9.53 和 7.48 mg/kg。Zn4 处理的溶出量达到最大值, 分别为 30.39 和 32.55 mg/kg, 但与 Zn3 处理无显著差异。CK 水稻糙米中的锌生物可给性为 85.53%, Zn1、Zn4 处理的生物可给性与 CK 相当, Zn2、Zn3 则显著降低了生物可给性。

从糙米锌胃阶段和胃肠阶段的溶出量及锌生物可给性与糙米锌含量、植酸/锌摩尔比及各锌赋存形态占比的相关关系 (表 1) 可知, 糙米锌在胃阶段溶出量与水溶态锌占比显著负相关; 糙米锌在胃肠阶段溶出量与糙米锌含量极显著相关, 与糙米水溶态锌占比极显著负相关; 糙米锌生物可给性与糙米锌含量显著负相关, 与植酸/锌摩尔比极显著相关。

2.4 水稻糙米中生物强化锌的生物可给性的多重评估

采用 3 种锌营养品质评价方法对糙米生物强化锌的营养品质进行比较 (图 6), 发现锌生物强化后糙米植酸/锌摩尔比降低, 糙米锌生物有效性提高。

而糙米中易被胃肠吸收利用的非复合态锌含量 (水溶态锌、盐溶态锌和碱溶态锌含量的总和) 由 CK 的 20.13 mg/kg 提高至 Zn4 处理的 37.43 mg/kg, 因此锌生物强化后糙米中能够被人体吸收利用的锌含量提高, 糙米锌更易被人体消化吸收。同时还发现糙米锌在胃阶段和胃肠阶段锌的溶出量提高, 可供小肠绒毛内的毛细血管吸收锌的量提高, 3 种评价方法结果具有一致性。

3 讨论

叶面喷施锌肥被认为是提高作物籽粒锌含量最直接有效的办法^[30]。梅清清等^[31]研究发现, 叶面喷施螯合态锌肥能够显著提高糙米锌含量。冯绪猛等^[32]研究表明, 开花期叶面喷施锌肥可显著提高水稻籽粒锌含量, 且效果显著优于孕穗期叶面喷施锌肥。本研究发现, 灌浆期叶面喷施锌肥能够显著提高糙米锌含量, 与上述研究结果一致。其中, 当锌肥施用量相同条件下, 多次等量喷施可以显著提高糙米锌

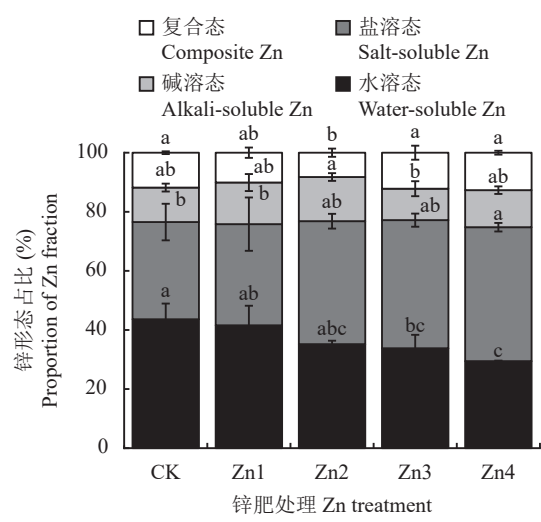


图 4 锌生物强化糙米中不同锌赋存形态占比
Fig. 4 Proportion of Zn fractions in brown rice under different Zn biofortification treatments

注: CK、Zn1、Zn2 处理为 1 次喷施锌肥 0、2.55、5.10 kg/hm², Zn3、Zn4 为等分 2 次喷施锌肥 5.10、10.20 kg/hm²。柱上不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。
Note: CK, Zn1 and Zn2 treatments are one foliar application of zinc fertilizer at rate of 0, 2.55, and 5.10 kg/hm², and Zn3 and Zn4 treatments are two foliar application at total rate of 5.10 and 10.20 kg/hm². Different lowercase letters above the bars indicate significant difference among treatments ($P<0.05$).

含量, 在锌肥施用量相同 (施锌 5.10 kg/hm²) 条件下, 分 2 次等量施用处理下 (Zn3) 糙米锌含量为 41.65 mg/kg, 较一次性施用处理 (Zn2) 提高 32.73%, 与张欣等^[13]、Boonchuay 等^[33]的研究结果一致。我国成人每日推荐膳食锌摄入量为 12.5 mg/d^[34], 根据中国居民膳食指南推荐, 每人每日推荐食用 200~300 g 谷类^[35]。为达到每日推荐膳食锌摄入量, 大米锌含量应在 41.67~62.5 mg/kg 范围内, 同样现行国家标准《食品安全国家标准 预包装食品营养标签通则》^[36]中指出富锌食品的锌含量应大于 45 mg/kg。本试验

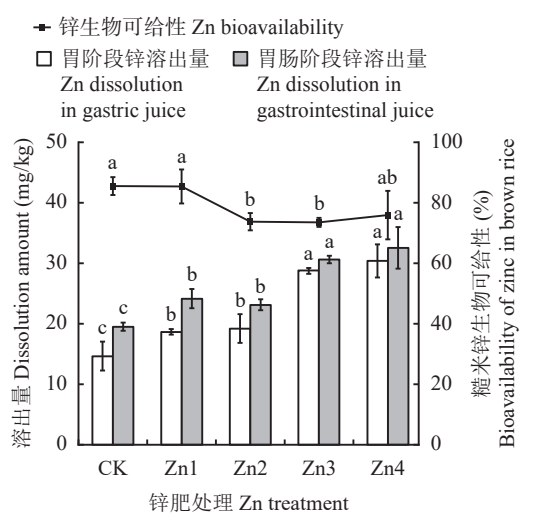


图 5 锌生物强化糙米中锌在消化阶段溶出量及生物可给性
Fig. 5 Gastric and gastrointestinal dissolution of brown rice Zn and the resulted bioavailability under different Zn biofortification treatments

注: CK、Zn1、Zn2 处理为 1 次喷施锌肥 0、2.55、5.10 kg/hm², Zn3、Zn4 为等分 2 次喷施锌肥 5.10、10.20 kg/hm²。图中不同小写字母表示同一消化部位处理间差异显著 ($P<0.05$)。
Note: CK, Zn1 and Zn2 treatments are one foliar application of zinc fertilizer at rate of 0, 2.55, and 5.10 kg/hm², and Zn3 and Zn4 treatments are two foliar application at total rate of 5.10 and 10.20 kg/hm². Different lowercase letters in the Fig. indicate significant difference among treatments in the same digestion organ ($P<0.05$).

中经锌生物强化后糙米锌含量最大值为 42.86 mg/kg, 低于 45 mg/kg, 为此后续还应继续探索如何提高糙米锌含量^[37], 使其达到《食品安全国家标准 预包装食品营养标签通则》标准。
植酸作为植物磷的重要储存形式, 是植物中磷的储存库^[38-39], 但其作为抗营养因子能够和锌离子、铁离子、钙离子等金属离子进行螯合, 形成难溶的螯合物, 限制人体对锌等金属离子的吸收^[40], 通常用植酸与锌的摩尔比表示锌的生物有效性。前人研究

表 1 糙米锌溶出量及生物可给性与不同形态锌占比和植酸/锌摩尔比的相关性
Table 1 Correlation of Zn dissolution and bioavailability with Zn proportion of different forms and phytic acid to Zn molar ratio in brown rice

项目 Item	总锌 (mg/kg) Total Zn	不同形态锌占比 Zn proportion of different forms				植酸/锌比 PA/Zn
		水溶态 H ₂ O-Zn	盐溶态 Salt-Zn	碱溶态 Alkali-Zn	复合态 Complex-Zn	
胃溶出量 Gastric Zn dissolution	0.507	-0.528*	0.414	0.155	0.132	-0.065
胃肠溶出量 Gastrointestinal Zn dissolution	0.781**	-0.647**	0.499	-0.022	0.420	-0.163
生物可给性 Bioavailability	-0.579*	0.428	-0.508	0.195	0.091	0.673**

注: *和**分别表示相关性达到0.05和0.01显著水平。
Note: PA—Phytic acid. * and ** indicate the correlation at 0.05 and 0.01 significant levels, respectively.

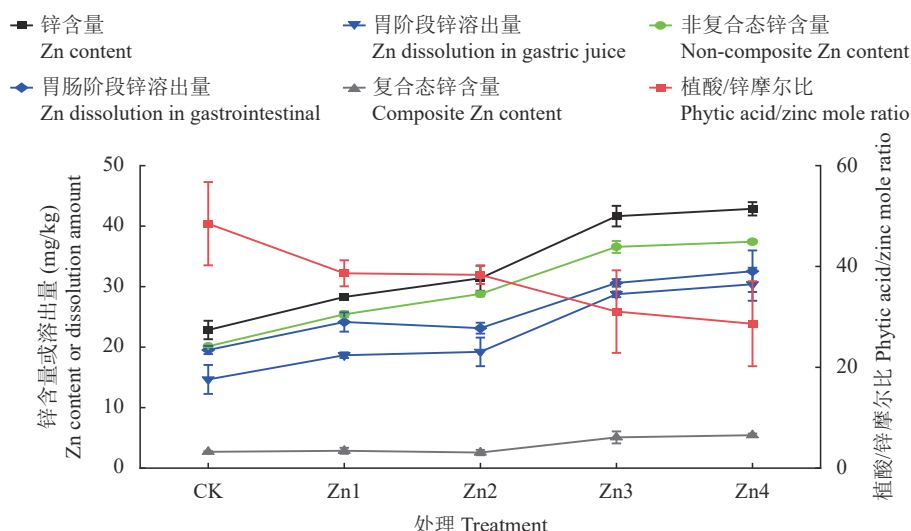


图 6 水稻糙米中锌生物有效性多重评估方法分析

Fig. 6 Analysis of multiple evaluation methods for zinc bioavailability in brown rice

注: CK、Zn1、Zn2 处理为 1 次喷施锌肥 0、2.55、5.10 kg/hm², Zn3、Zn4 为等分 2 次喷施锌肥 5.10、10.20 kg/hm²。

Note: CK, Zn1 and Zn2 treatments are one foliar application of zinc fertilizer at rate of 0, 2.55, and 5.10 kg/hm², and Zn3 and Zn4 treatments are two foliar application at total rate of 5.10 and 10.20 kg/hm².

表明^[13, 41-42], 叶面施用锌肥对水稻糙米植酸含量无显著性影响, 但也有研究表明叶面喷施 1.5 kg/hm² 纳米锌后, 水稻糙米植酸含量显著提高至 10.45 mg/kg^[43]。而本研究结果表明, 叶面施用锌肥对糙米植酸含量无显著影响, 究其原因可能是锌肥的种类及水稻供试品种不同导致叶面喷施锌肥后糙米植酸含量变化存在差异。

本试验中, 叶面施用锌肥后糙米中植酸含量变化较小, 最高增幅仅为 16.81%, 但由于施用锌肥后糙米锌含量显著增加, 故糙米植酸/锌摩尔比出现降低, 因此糙米锌生物有效性增加, 与前人^[13, 41-42]研究结果相一致。研究发现, 当植酸/锌摩尔比高于 10 时, 能够引起锌的缺乏, 而当植酸/锌摩尔比高于 15 时, 明显抑制人体对锌的吸收与利用^[12-13]。本研究中施用锌肥后, 植酸/锌摩尔比出现大幅降低, 但植酸/锌摩尔比的变化范围为 28.64~48.49, 仍高于临界值 15, 对人体从糙米中吸收锌仍具有抑制作用, 糙米锌生物有效性较低。植酸含量的降低可以显著提高幼鼠对锌的吸收^[44], 但植酸具有抗氧化、抗癌, 预防心脏病、糖尿病等作用^[45], 为此后续可进一步探究如何针对不同需求人群精准提高糙米锌生物有效性, 而不是一味的降低糙米中的植酸含量。

植物体内元素的赋存形态直接关系到元素的营养价值, 佟立涛等^[46]通过体外模拟消化实验, 发现大米中清蛋白水解度>谷蛋白水解度>球蛋白水解度, 也就是清蛋白和谷蛋白在人体内相对更容易消化,

而球蛋白较难消化。本研究利用经典植物生化分离方法将糙米中的锌分成 4 种赋存形态, 分别为水溶态锌 (主要为无机锌和水溶性清蛋白锌)、盐溶态锌 (主要为盐溶性球蛋白锌等)、碱溶态锌 (主要为碱溶性谷蛋白锌) 及复合态锌 (主要为难溶性复合蛋白锌)。水溶性清蛋白和盐溶性球蛋白作为代谢活性蛋白质, 其是由单链组成的低分子量的蛋白质, 而碱溶性谷蛋白作为多条肽链连接而成的大分子, 其相对分子质量在 19~90 Kda^[47]。因人体对不同蛋白质的消化存在差异, 本研究以其对锌生物强化的糙米中锌的营养价值进行评估。本研究发现, 锌生物强化后糙米中非复合态锌 (包括水溶态锌、盐溶态锌和碱溶态锌) 的增加量高于复合态锌的增加量, 而非复合态锌能够更好地被胃肠溶液消化而溶出, 因此锌生物强化提高了糙米锌在消化阶段的溶出量。

吴箬等^[16]研究发现, 作为 Zn 超积累植物—长柔毛委陵菜中锌主要以氯化钠提取态和水提取态为主导形态, 提高锌处理水平后, 叶片和根系中水提取态锌和氯化钠提取态锌的分配比例出现提高。本研究发现锌生物强化糙米中水溶态锌含量占总锌的比例呈下降趋势, 盐溶态锌占比呈上升趋势, 与长柔毛委陵菜叶片和根^[16]、皖景天叶部和根部^[17]和再力花根部^[18]的研究结果不同, 可能是因不同植物、不同器官对锌的吸收再分配具有不同的调节机制。水稻会将外源吸收的锌与多种氨基酸、蛋白质等物质进行结合, 形成低毒、无害的物质, 减少细胞内游离

态锌含量,调节细胞内的渗透压,从而保护植株不受锌毒害的影响,保持水稻植株的正常生长发育过程,本研究中锌强化后糙米中的锌更多的与球蛋白进行结合,造成盐溶态锌占比呈上升趋势,但具体调节机制有待进一步研究。

Arsenault 等^[48]研究发现,提高稻米总锌摄入量与可吸收锌摄入量之间的关系不是线性的,因此仅通过糙米锌含量来推断或评估糙米锌营养价值是片面的。本研究发现糙米中的锌在胃肠阶段的溶出量与糙米锌含量极显著相关,表明锌生物强化可提高糙米中的锌在胃肠阶段的溶出量,这与植酸/锌摩尔比反映糙米锌的生物有效性结果呈现出一致性,与 Wahengbam 等^[49]的研究结果一致,因此糙米锌含量越高,能够溶解于消化液中的锌越多,最终能够被人体吸收的锌相应增多。Wahengbam 等^[49]、Wei 等^[50]研究发现,锌生物强化后,糙米锌生物可给性出现降低,与本试验结果一致。本研究相关分析(表 1)表明糙米锌含量与锌生物可给性显著负相关,即糙米锌含量越高,糙米单位锌的溶出率越低,糙米锌生物可给性越低。因此,针对锌含量差距较大的糙米或农产品,锌生物可给性并不适合反映其锌生物营养品质,锌的溶出量则更贴切实际情况,体现农产品锌的营养品质。

在本研究中植酸/锌摩尔比和糙米锌胃肠阶段溶出量结果具有一致性,但 Zn4 处理下糙米植酸/锌摩尔比为 28.64,远高于前人划定的影响锌吸收的临界值^[12],而此时糙米仍具有较高的锌生物可给性(75.93%),不适合用植酸/锌摩尔比临界值 10 或 15 来判定糙米中锌生物有效性,因胃肠模拟方法更加贴合人体实际消化过程,所以糙米锌的溶出量评估方法应被认定为评价糙米锌营养品质比较科学有效的方法。

4 结论

锌生物强化可显著提高糙米总锌含量,降低植酸/锌摩尔比,提高稻米中强化锌的生物有效性。低施锌量虽然也提升了糙米的总锌含量,但不影响糙米中各赋存形态锌的比例。高施锌量,不论是一次还是分两次喷施,不仅更有效提升了糙米总锌含量,还显著降低了水溶态锌占比,增加了盐溶态锌比例,因而提高了胃肠阶段的锌溶出量。因此,以提高糙米锌含量及其生物有效性为目的的生物强化措施推荐喷施 5.10 kg/hm² 糖醇螯合态锌肥,并分两次施用。

参 考 文 献:

- [1] 薛欣月,于雪然,刘晓刚,等. 水稻锌吸收、转运、累积机理研究进展[J]. 生物技术通报, 2022, 38(4): 29–43.
Xue X Y, Yu X R, Liu X G, *et al.* Research progress on absorption, transportation and accumulation mechanism of zinc in rice[J]. Biotechnology Bulletin, 2022, 38(4): 29–43.
- [2] 卜景东. 锌缺乏对植物的影响及策略[J]. 防护林科技, 2015, 139(4): 61–62.
Bu J D. Effects of zinc deficiency on plants and strategies[J]. Protection Forest Science and Technology, 2015, 139(4): 61–62.
- [3] 张丽婷, 王志强, 马兴立, 等. 植物中锌转运蛋白的研究进展[J]. 贵州农业科学, 2014, 42(8): 55–60.
Zhang L T, Wang Z Q, Ma X L, *et al.* Research progress of zinc transporter in plant[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2014, 42(8): 55–60.
- [4] 颜世铭, 李增禧, 熊丽萍. 微量元素医学精要 I. 微量元素的生理作用和体内平衡[J]. 广东微量元素科学, 2002, 9(9): 1–48.
Yan S M, Li Z X, Xiong L P. Essentials of trace element medicine I. Physiological role and balance of trace elements in human body[J]. Guangdong Trace Elements Science, 2002, 9(9): 1–48.
- [5] Jothimani D, Kailasam E, Danielraj S, *et al.* COVID-19: Poor outcomes in patients with zinc deficiency[J]. *International Journal of Infectious Diseases*, 2020, 100: 343–349.
- [6] Ma G, Jin Y, Li Y, *et al.* Iron and zinc deficiencies in China: What is a feasible and cost-effective strategy?[J]. *Public Health Nutrition*, 2008, 11(6): 632–638.
- [7] 赵丽, 王张民, 黄阳, 等. 土壤追施锌肥对水稻植株锌累积特征影响研究[J]. 中国科学技术大学学报, 2013, 43(8): 631–638.
Zhao L, Wang Z M, Huang Y, *et al.* Zinc accumulation in paddy rice (*Oryza sativa* L.) by agronomic biofortification through soil-applied zinc fertilizers[J]. Journal of University of Science and Technology of China, 2013, 43(8): 631–638.
- [8] 韦燕燕, 王松, 顾明华, 等. 不同品种稻米中硒、锌、铁含量比较及其膳食摄入量评估[J]. 食品工业, 2020, 41(11): 217–220.
Wei Y Y, Wang S, Gu M H, *et al.* Genotypic variations in concentrations of selenium, iron and zinc in rice grain and its dietary exposure assessment[J]. The Food Industry, 2020, 41(11): 217–220.
- [9] Hotz C, McClafferty B. From harvest to health: Challenges for developing biofortified staple foods and determining their impact on micronutrient status[J]. Food and Nutrition Bulletin, 2007, 28(S2): 271–279.
- [10] 刘琦, 王张民, 潘斐, 等. 大田条件下水稻锌营养强化方法探究及效果评估[J]. 土壤, 2019, 51(1): 32–38.
Liu Q, Wang Z M, Pan F, *et al.* Effect evaluation on method of zinc biofortification for rice in paddy field[J]. Soils, 2019, 51(1): 32–38.
- [11] 吕呈蔚, 岳玉兰, 王政, 等. 糙米营养价值及加工技术研究进展[J]. 粮油食品科技, 2020, 28(6): 140–144.
Lü C W, Yue Y L, Wang Z, *et al.* Research progress on the nutritional value and processing technology of brown rice[J]. Science and Technology of Cereals, Oils and Foods, 2020, 28(6): 140–144.
- [12] 韩宗辉, 王振林. 可利用锌的摄入量与食物中植酸含量的关系[J]. 国外医学(医学地理分册), 2006, 27(1): 28–29.
Han Z H, Wang Z L. Relationship between available zinc intake and

- phytic acid content in food[J]. *Foreign Medical Sciences (Section of Medgeography)*, 2006, 27(1): 28–29.
- [13] 张欣, 户少武, 章燕柳, 等. 叶面施锌对不同水稻品种稻米锌营养的影响及其机理[J]. *农业环境科学学报*, 2019, 38(7): 1450–1458.
Zhang X, Hu S W, Zhang Y L, *et al.* Effect of foliar zinc application on zinc nutrient levels of different rice cultivars[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(7): 1450–1458.
- [14] Hemalatha S, Platel K, Srinivasan K. Zinc and iron contents and their bioaccessibility in cereals and pulses consumed in India[J]. *Food Chemistry*, 2007, 102(4): 1328–1336.
- [15] 许嘉琳, 鲍子平, 杨居荣, 等. 农作物体内铅、镉、铜的化学形态研究[J]. *应用生态学报*, 1991, 2(3): 244–248.
Xu J L, Bao Z P, Yang J R, *et al.* Chemical forms of Pb, Cd and Cu in crops[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1991, 2(3): 244–248.
- [16] 吴箐, 杜锁军, 曾晓雯, 等. 锌在长柔毛委陵菜细胞内的分布和化学形态研究[J]. *生态环境*, 2006, 15(1): 40–44.
Wu Q, Du S J, Zeng X W, *et al.* Subcellular distribution and chemical forms of Zn in *Potentilla griffithii* Hook[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2006, 15(1): 40–44.
- [17] 周守标, 徐礼生, 吴龙华, 等. 镉和锌在皖景天细胞内的分布及化学形态[J]. *应用生态学报*, 2008, 19(11): 2515–2520.
Zhou S B, Xu L S, Wu L H, *et al.* Subcellular distribution and chemical forms of Cd and Zn in *Sedum jinianum*[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(11): 2515–2520.
- [18] 李冬香, 陈清西. 锌在再力花体内的富集性及亚细胞分布和化学形态研究[J]. *中国生态农业学报*, 2013, 21(9): 1114–1118.
Li D X, Cheng Q X. Determining zinc accumulation, sub-cellular distribution and chemical forms of *Thalia dealbata* Fraser[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2013, 21(9): 1114–1118.
- [19] 刘杨. 硒锌交互对茶叶中硒、锌化学形态的影响[D]. 四川雅安: 四川农业大学硕士学位论文, 2010.
Liu Y. Effect of selenium-zinc interaction on the chemical form of selenium and zinc in tea leaves[D]. Yaan, Sichuan: MS Thesis of Sichuan Agricultural University, 2010.
- [20] 王威威, 徐瑞兴, 闫淑莲, 等. 富锌豆蛋白中锌结合态含量的研究[J]. *食品工业科技*, 2002, 23(2): 93–94.
Wang W W, Xu R X, Yan S L, *et al.* Study on the content of zinc binding state in zinc-rich bean protein[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2002, 23(2): 93–94.
- [21] 潘斐, 王张民, 刘琦, 等. 大蒜锌生物营养强化效应评估[J]. *中国科学技术大学学报*, 2015, 45(11): 953–959.
Pan F, Wang Z M, Liu Q, *et al.* Effect evaluation of zinc bio-fortification on garlic[J]. *Journal of University of Science and Technology of China*, 2015, 45(11): 953–959.
- [22] Sun G, Wiele T, Alava P, *et al.* Bioaccessibility of selenium from cooked rice as determined in a simulator of the human intestinal tract (SHIME)[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2017, 97(11): 3540–3545.
- [23] Rodriguez R R, Basta N T, Casteel S W, *et al.* An *in vitro* gastrointestinal method to estimate bioavailable arsenic in contaminated soils and solid media[J]. *Environmental Science and Technology*, 1999, 33(4): 642–649.
- [24] 陆晓奇, 王健, 朱元元, 等. 典型富硒植物中硒形态和生物可给性研究[J]. *土壤*, 2018, 50(6): 1229–1234.
Lu X Q, Wang J, Zhu Y Y, *et al.* Study on Se speciation and bioaccessibility of typical Se-enriched plants[J]. *Soils*, 2018, 50(6): 1229–1234.
- [25] Oomen A G, Rompelberg C J M, Bruil M A, *et al.* Development of an *in vitro* digestion model for estimating the bioaccessibility of soil contaminants[J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2003, 44(3): 281–287.
- [26] 陶雪莹. 喷施锌肥对油菜镉锌生物可给性的影响[D]. 北京: 中国农业科学院硕士学位论文, 2021.
Tao X Y. Effect of foliar application of zinc fertilizer on the bioaccessibility of cadmium and zinc in *Brassica Chinenesis* L.[D]. Beijing: MS Thesis of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2021.
- [27] 韦燕燕. 水稻籽粒中锌生物有效性及调控机制[D]. 浙江杭州: 浙江大学博士学位论文, 2013.
Wei Y Y. Zinc bioavailability in rice grain and regulation mechanisms [D]. Hangzhou, Zhejiang: PhD Dissertation of Zhejiang University, 2013.
- [28] GB 5009.14—2017. 食品安全国家标准 食品中锌的测定[S]. 北京: 中国标准出版社.
GB 5009.14—2017. National standard for food safety determination of zinc in foods[S]. Beijing: Standards Press of China.
- [29] Fei D, Wang J, Zhang S, *et al.* Genotypic and environmental variation in phytic acid content and its relation to protein content and malt quality in barley[J]. *Food Chemistry*, 2007, 105(2): 606–611.
- [30] Cakmak I, Kalayci M, Kaya Y, *et al.* Biofortification and localization of zinc in wheat grain[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2010, 58(16): 9092–9102.
- [31] 梅清清, 田仓, 周青云, 等. 喷施螯合态锌肥对水稻产量、锌含量和稻米品质的影响[J]. *湖北农业科学*, 2022, 61(5): 27–31.
Mei Q Q, Tian C, Zhou Q Y, *et al.* Effects of spraying zinc chelate fertilizer on the grain yield, zinc content and quality of rice[J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2022, 61(5): 27–31.
- [32] 冯绪猛, 郭九信, 王玉雯, 等. 锌肥品种与施用方法对水稻产量和锌含量的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2016, 22(5): 1329–1338.
Feng X M, Guo J X, Wang Y W, *et al.* Effects of Zn fertilizer types and application methods on grain yield and Zn concentration of rice[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2016, 22(5): 1329–1338.
- [33] Boonchuay P, Cakmak I, Rerkasem B, *et al.* Effect of different foliar zinc application at different growth stages on seed zinc concentration and its impact on seedling vigor in rice[J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2013, 59(2): 180–188.
- [34] 程义勇. 《中国居民膳食营养素参考摄入量》2013修订版简介[J]. *营养学报*, 2014, 36(4): 313–317.
Cheng Y Y. Introduction to 'Reference intake of dietary nutrients for Chinese residents', revised edition 2013[J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2014, 36(4): 313–317.
- [35] 曹清明, 王蔚婕, 张琳, 等. 中国居民平衡膳食模式的践行: 《中国居民膳食指南(2022)》解读[J]. *食品与机械*, 2022, 38(6): 22–29.
Cao Q M, Wang W J, Zhang L, *et al.* The practice of balanced diet

- model for Chinese residents interpretation of dietary guidelines for Chinese residents (2022)[J]. *Food and Machinery*, 2022, 38(6): 22–29.
- [36] GB 28050—2011. 食品安全国家标准 预包装食品营养标签通则[S]. 北京: 中国标准出版社.
- GB 28050—2011. National standard for food safety general rules for nutrition labeling of prepackaged food[S]. Beijing: Standards Press of China.
- [37] Zhang B, Wang R, Chen P, *et al.* Study on zinc accumulation, bioavailability, physicochemical and structural characteristics of brown rice combined with germination and zinc fortification[J]. *Food Research International*, 2022, 158: 111450.
- [38] 靳晓琳, 王新坤, 杨润强, 等. 高等植物体中植酸合成、代谢及其生理作用[J]. *植物生理学报*, 2014, 50(6): 711–716.
- Jin X L, Wang X K, Yang R Q, *et al.* Synthesis, metabolism and physiological functions of phytic acid in higher plants[J]. *Plant Physiology Journal*, 2014, 50(6): 711–716.
- [39] 张倩雯, 丁广大, 王效华, 等. 植物种子植酸研究进展[J]. *植物科学学报*, 2016, 34(5): 814–820.
- Zhang Q W, Ding G D, Wang X H, *et al.* Research progress on plant seed phytate[J]. *Plant Science Journal*, 2016, 34(5): 814–820.
- [40] Dberleas D, 张修全. 植酸盐在锌生物有效性及平衡调节中的作用[J]. *江西畜牧兽医杂志*, 1988, (3): 58–59.
- Dberleas D, Zhang X Q. The role of phytate in the regulation of zinc bioavailability and balance[J]. *Jiangxi Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 1988, (3): 58–59.
- [41] 周三妮, 赖上坤, 吴艳珍, 等. 大气CO₂浓度升高和叶面施锌对武运粳23稻米不同部位锌浓度和有效性的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2014, 33(9): 1686–1692.
- Zhou S N, Lai S K, Wu Y Z, *et al.* Effects of elevated CO₂ concentration and foliar Zn application on Zn concentration and bioavailability in different parts of grains of rice Wuyunjing 23[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(9): 1686–1692.
- [42] 张庆, 王娟, 景立权, 等. 叶面施用不同形态锌化合物对稻米锌浓度及有效性的影响[J]. *中国水稻科学*, 2015, 29(6): 610–618.
- Zhang Q, Wang J, Jing L Q, *et al.* Effects of foliar application of different Zn compounds on Zn concentration and bioavailability in brown rice[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2015, 29(6): 610–618.
- [43] 王锐. 纳米锌施用方式和用量对优质食味粳稻南粳9108产量和品质强化的影响[D]. 江苏扬州: 扬州大学硕士学位论文, 2022.
- Wang R. Effect of application mode and dosage of nano-zinc on yield and quality enhancement of high-quality edible japonica rice Nanjing 9108[D]. Yangzhou, Jiangsu: MS Thesis of Yangzhou University, 2022.
- [44] Lnnerdal B, Mendoza C, Brown K H, *et al.* Zinc absorption from low phytic acid genotypes of maize (*Zea mays* L.), barley (*Hordeum vulgare* L.), and rice (*Oryza sativa* L.) assessed in a suckling rat pup model[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(9): 4755–4762.
- [45] 王新坤, 仲磊, 杨润强, 等. 植物籽粒中植酸及其降解方法与产物研究进展[J]. *食品科学*, 2014, 35(3): 301–306.
- Wang X K, Zhong L, Yang R Q, *et al.* Research progress in phytic acid, degradation methods and products in plant seeds[J]. *Food Science*, 2014, 35(3): 301–306.
- [46] 佟立涛, 陈倩倩, 钱海峰, 等. 大米蛋白体外消化产物抗氧化活性的研究[J]. *现代食品科技*, 2015, 31(9): 92–97.
- Tong L T, Chen Q Q, Qian H F, *et al.* Antioxidant activity of *in vitro* rice protein digest[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2015, 31(9): 92–97.
- [47] 于国波. 水稻中四种蛋白质组分的研究进展[J]. *黑龙江科技信息*, 2009, (5): 99.
- Yu G B. Research progress of four protein components in rice[J]. *Heilongjiang Science Technology Information*, 2009, (5): 99.
- [48] Arsenault J E, Yakes E A, Hossain M B, *et al.* The current high prevalence of dietary zinc inadequacy among children and women in rural Bangladesh could be substantially ameliorated by zinc biofortification of rice[J]. *Journal of Nutrition*, 2010, 140(9): 1683–1690.
- [49] Wahengbam E D, Das A J, Green B D, *et al.* Studies on *in vitro* bioavailability and starch hydrolysis in zinc fortified ready-to-eat parboiled rice (*Komal chawal*)[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2019, 56(7): 3399–3407.
- [50] Wei Y, Shohag M, Yang X. Biofortification and bioavailability of rice grain zinc as affected by different forms of foliar zinc fertilization[J]. *PLoS ONE*, 2012, 7(9): e45428.