

富硒双孢蘑菇硒形态分布及其营养品质 and 抗氧化特性

施 怡¹, 胡兴锁², 潘亚璐³, 夏 季¹, 胡秋辉^{1,3}, 方 勇^{1,*}

(1.南京财经大学食品科学与工程学院, 江苏省现代粮食流通与安全协同创新中心, 江苏高校粮油质量安全控制及深加工重点实验室, 江苏 南京 210023; 2.南京市六合农业局, 江苏 南京 211500; 3.南京农业大学食品科技学院, 江苏 南京 210095)

摘 要: 为了研究硒对双孢蘑菇子实体硒形态分布、营养品质和抗氧化酶活性的影响, 通过在栽培实验中添加不同用量 Na_2SeO_3 的方式培养双孢蘑菇。采用原子荧光光谱法测定富硒双孢蘑菇子实体中的硒含量, 分析硒在子实体中的分布情况, 并以普通双孢蘑菇为对照, 对富硒双孢蘑菇的主要营养成分及抗氧化酶活性进行测定。结果表明, 双孢蘑菇子实体中的硒含量与培养料中硒用量呈正相关, 蛋白硒含量占有机硒含量的比例约为77%~87%, 蛋白质是双孢蘑菇的主要硒载体。硒用量为40 mg/kg时, 可溶性蛋白和总糖含量较对照组显著增加; 硒用量较高时, 可溶性蛋白和总糖含量较对照组显著降低。随着硒用量的增加, 总氨基酸含量和丙二醛含量增加, 超氧化物歧化酶活性增强, 而过氧化氢酶活性较低。本实验研究表明, 适宜的硒用量可以提高双孢蘑菇子实体中硒含量, 有助于改善其营养品质和生理特性。

关键词: 双孢蘑菇; 硒; 形态分布; 营养品质; 抗氧化酶活性

Selenium Speciation Distribution, Nutritional Quality and Antioxidant Activity of Se-Enriched *Agaricus bisporus*

SHI Yi¹, HU Xingsuo², PAN Yalu³, XIA Ji¹, HU Qihui^{1,3}, FANG Yong^{1,*}

(1. Key Laboratory of Grains and Oils Quality Control and Processing, Collaborative Innovation Center for Modern Grain Circulation and Safety, College of Food Science and Engineering, Nanjing University of Finance and Economics, Nanjing 210023, China;
2. Luhe Agricultural Bureau of Nanjing, Nanjing 211500, China;
3. College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The objective of this study was to determine the selenium speciation distribution, nutritional quality and antioxidant enzyme activity of *Agaricus bisporus* growing on mushroom beds with different amounts of selenium salt (Na_2SeO_3). The selenium content and speciation distribution were analyzed by atomic fluorescence spectrometry (AFS). The soluble protein, total sugar and malondialdehyde (MDA) contents as well as the activities of superoxide dismutase (SOD) and hydrogen peroxidase (CAT) were measured using non-Se-enriched *A. bisporus* as the control. Results showed that the addition of Na_2SeO_3 led to a significant ($P < 0.05$) increase in selenium content in the fruit bodies of *A. bisporus*. Protein-bound selenium accounted for 77%–87% of the total organic selenium, demonstrating protein to be the main carrier of organic selenium. The addition of 40 mg/kg selenium to the compost resulted in an increase in the contents of soluble protein and total sugar compared to the control group, whereas a significant decrease in the two parameters was observed at higher concentration of selenium. With the increase in added selenium concentration, the contents of free amino acid and MDA and SOD activity were increased while CAT activity was reduced. These results showed that the optimal range of selenium concentration could enhance the selenium content of *A. bisporus*, thereby improving the nutritional quality and physiological properties.

Key words: *Agaricus bisporus*; selenium; speciation distribution; nutrient quality; antioxidant enzyme activities

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201709016

中图分类号: TS201.1

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2017) 09-0099-07

收稿日期: 2016-10-10

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(201303106); 江苏高校优势学科建设工程资助项目

作者简介: 施怡(1992—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品营养与安全。E-mail: shiyi9205@163.com

*通信作者: 方勇(1982—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为食品营养与安全。E-mail: fangyong10@njue.edu.com

引文格式:

施怡, 胡兴锁, 潘亚璐, 等. 富硒双孢蘑菇硒形态分布及其营养品质和抗氧化特性[J]. 食品科学, 2017, 38(9): 99-105.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201709016. <http://www.spkx.net.cn>

SHI Yi, HU Xingsuo, PAN Yalu, et al. Selenium speciation distribution, nutritional quality and antioxidant activity of Se-enriched *Agaricus bisporus*[J]. Food Science, 2017, 38(9): 99-105. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201709016. <http://www.spkx.net.cn>

双孢蘑菇 (*Agaricus bisporus*), 别名白蘑菇、洋蘑菇, 属伞菌目伞菌科蘑菇属^[1], 是目前世界上栽培规模和产量最大的一种食用菌^[2]。其味道鲜美、营养丰富, 含有多对机体有益的活性物质。双孢蘑菇含有多种氨基酸、核苷酸、维生素等, 富含的酪氨酸具有降血压的作用^[1,3], 可调节机体免疫功能, 抗氧化、抗衰老及抗肿瘤等生理功能^[4]。硒 (selenium, Se) 是人体生长发育所必需的微量元素之一, 是体内抗氧化含硒酶和一些硒蛋白的重要组成部分, 具有抗氧化、抗肿瘤、拮抗有害重金属和预防多种疾病等生物学功能^[5-6]。硒元素缺乏会引起克山病、癌症、高血压和免疫系统功能紊乱等疾病^[7]。由于人体无法自身合成硒元素, 因此需从日常膳食中摄取^[8]。然而, 硒元素在地壳中分布零散且含量极不均匀, 土壤中的硒大多以矿物晶格的形态存在, 难以被作物吸收利用^[9-10]。我国是缺硒情况较为严重的国家, 大约有72%的地区是不同程度的缺硒区^[11], 人均硒摄入量低于中国营养学会推荐的最低摄入量。因此在安全和适宜的范围内, 寻找安全高效、无毒副作用的有机硒农产品, 从源头调控硒营养来改善和满足人体硒元素缺乏的现象已成为必然趋势。

实践证明, 食用菌富硒能力强, 作为富集硒元素的载体因其栽培面积广, 操作简便, 富集效果明显, 在我国正被广泛应用, 具有良好的开发和应用前景^[12]。研究表明^[13-15], 富硒食用菌主要有以下几点特定: 一是硒形态改变, 通过菌丝细胞内物质代谢的转化, 能将无机硒转变为利于人体吸收的有机硒多糖和硒蛋白等, 吸收利用率更高; 二是较普通食用菌相比, 营养成分发生改变; 三是合适的硒用量可促进食用菌的增产。

本研究选取栽培范围较广、营养丰富的双孢蘑菇子实体作为实验对象, 通过在双孢蘑菇子实体栽培实验中添加 Na_2SeO_3 , 考察富硒双孢蘑菇子实体中硒含量、硒分布及不同硒用量对子实体可溶性蛋白、总糖、氨基酸含量和抗氧化酶活性的影响, 以期对双孢蘑菇的富硒栽培提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

实验双孢蘑菇菌种为AS2796, 由南京润生菇业科技有限公司所属南京市食用菌工程技术研究中心提供。实

验区位于江苏省南京市高淳县东坝镇游子山村双孢蘑菇栽培实验区。

硒标液 (1 000 $\mu\text{g/mL}$) 国家有色金属及电子材料分析测试中心; HNO_3 (优级纯)、 H_2SO_4 (分析纯)、 KBH_4 (分析纯)、环己烷 (分析纯) 国药集团化学试剂有限公司; Na_2SeO_3 (分析纯) 上海金山区兴塔美兴化工厂; 双孢蘑菇合成培养料 南京润生菇业科技有限公司; 二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 法微量蛋白检测试剂盒、总游离氨基酸 (total amino acid, T-AA) 测定试剂盒、丙二醛 (malonic dialdehyde, MDA) 测定试剂盒、总超氧化物歧化酶 (total superoxide dismutase, T-SOD) 试剂盒 (羟胺法)、SOD测定试剂盒、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 测定试剂盒 南京建成生物工程研究所。

1.2 仪器与设备

CEM MARS高通量密闭微波消解系统 美国CEM公司; HWS-250智能恒温恒湿箱 宁波海曙赛福实验仪器厂; DGG-9053A型电热恒温鼓风干燥箱 上海森信实验仪器有限公司; AFS-3100双道原子荧光光度计 北京科创海光仪器有限公司; AL1043电子天平 瑞士梅特勒-托利多仪器有限公司; HR2839飞利浦二合一搅拌机 飞利浦家庭电器有限公司; DHZ-C大容量恒温振荡器 江苏太仓市实验设备厂; MUL9000超纯水制备系统 南京总馨纯水设备有限公司; 722S可见分光光度计 上海精密科学仪器有限公司; FD-1C真空冷冻干燥机 西班牙Telstar公司。

1.3 方法

1.3.1 富硒双孢蘑菇的培养

实验中所用培养料为合成培养料, 配方由南京润生菇业科技有限公司提供, 具体为: 每100 m^2 栽培面积使用稻草4 000 kg、尿素20 kg、碳铵15 kg、过磷酸钙50 kg、石灰75 kg、石膏100 kg。培养料发酵结束后对其进行硒的预处理。按47.6 kg/m^2 培养料计算, 每个实验小区需要66.7 kg培养料, 重复3次共需200.0 kg湿料。根据含水率60%换算成每个处理需干料总质量80 kg, 然后按处理用量比例喷施预先配制好的 Na_2SeO_3 溶液。实验以普通双孢蘑菇作为对照组 (CK), 培养料中不加 Na_2SeO_3 。硒用量设置为0 (CK)、20 (W)、40 (X)、80 (Y)、160 mg/kg (Z)。菇

床结构为(20.5 m×1.4 m)/每层(共3层),实验面积为1.4 m×1.0 m。为防止交叉影响,处理组间设置1.5 m×1.0 m的缓冲区,并用防水薄膜材料隔离。

样品采集与处理:双孢蘑菇成熟后,采集长势相近的双孢蘑菇样本,样品处理分为两组,新鲜样品用于营养成分及抗氧化活性测定,剩余样品冻干后用于硒元素测定。

表1 菇床硒用量梯度值设定

Table 1 Se concentration gradients added in mushroom beds

菇床	Se用量梯度值				
上层	W ₁	Y ₁	X ₁	CK ₁	Z ₁
中层	Y ₂	Z ₂	CK ₂	W ₂	X ₂
下层	Z ₃	CK ₃	X ₃	Y ₃	W ₃

注:下角标1、2、3分别表示菇床上、中、下层。

1.3.2 硒形态分布检测

1.3.2.1 硒元素检测

硒元素(Se)测定参照GB 5009.93—2010《食品中硒的测定》^[16]。采用微波消解与原子荧光光谱法联用测定硒含量。精确称取0.200 0 g的待测样品加入消化管,每样加入10 mL浓硝酸,置于微波消解仪中充分消解。微波消解程序的参数设定参照表2。

表2 微波消解程序参数设定

Table 2 Parameters of microwave digestion procedure

步骤	功率		升温 时间/min	温度/℃	保持 时间/min
	最大值/W	百分比/%			
1	800	100	5	120	1
2	800	100	5	160	5
3	800	100	5	180	10

1.3.2.2 无机硒和有机硒的分离测定

无机硒样液的提取一般采用水提法^[17]。称取样品0.1 g于150 mL锥形瓶中,加入40 mL蒸馏水,加热至近沸腾,保持10 min,冷却后转入50 mL容量瓶中定容。过滤后取5 mL滤液转入分液漏斗,加10 mL环己烷充分混匀,水相移入消化管,加入5 mL浓硝酸消解,过夜后赶酸定容,在双道原子荧光光度计上测定并由式(1)计算得到无机硒组分的含量。有机硒含量为总硒含量与无机硒含量的差值。硒富集率由式(2)计算,有机化率由式(3)计算。

$$x=ay+b \quad (1)$$

式中: x 为荧光值; y 为硒含量/(mg/kg); a 、 b 为常数。

$$\text{富集率}/\% = \frac{\text{子实体硒含量}/(\text{mg/kg})}{\text{培养料硒含量}/(\text{mg/kg})} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{有机化率}/\% = \frac{\text{有机硒含量}/(\text{mg/kg})}{\text{总硒含量}/(\text{mg/kg})} \times 100 \quad (3)$$

1.3.2.3 蛋白硒的分离与测定

参考文献[18]方法,准确称取冻干样品2.0 g,加入60 mL Tris-HCl(pH 8,浓度为10 μmol/L)浸提液浸提8 h,过滤后4 000 r/min离心15 min,上清液即为可溶性蛋白粗提液。在蛋白粗提液中缓慢加入硫酸铵(1:1, m/V)至50%饱和度,边加入边搅拌,待硫酸铵完全溶解后置于4℃冰箱中静置12 h。取出后4 000 r/min离心15 min,取沉淀用少量Tris-HCl溶解得到蛋白A。上清液中继续加入硫酸铵至75%饱和度,重复上述操作,得到蛋白B,再继续加入硫酸铵至100%饱和度得到蛋白C,合并蛋白并转移至透析袋中,用双蒸水透析至10% BaCl₂呈阴性,旋转蒸发浓缩后冷冻干燥,得到粗蛋白。按照上述方法,取0.1 g粗蛋白样品,采用双道原子荧光光度计测定硒含量。

1.3.2.4 多糖硒的分离与测定

参考文献[19]的方法,准确称取冻干样品2.0 g至150 mL锥形瓶中,加入100 mL蒸馏水,用带孔保鲜膜封口,90℃水浴提取4 h,抽滤后得到滤液A,滤渣按上述方法反复提取2次,得到滤液B和C,合并滤液得到水溶性多糖。滤渣加入20 mL 0.1 mol/L NaOH溶液,重复上述操作浸提2次,得到碱溶性多糖。水溶性多糖和碱溶性多糖分别用Sevag试剂去除蛋白质,加入工业乙醇(1:3, m/V),4℃条件下静置过夜,3 000 r/min离心20 min,沉淀冷冻干燥。按照上述方法,取0.1 g多糖,采用双道原子荧光光度计测定硒的含量。

1.3.3 营养成分分析

取新鲜样品,洗净、擦干并剪碎、混合后准确称取1.0 g,加入10 mL蒸馏水研磨成10%的匀浆,再用蒸馏水稀释至100 mL,5 000 r/min离心15 min,为1%的组织匀浆,取上清液备用。

1.3.3.1 可溶性蛋白含量的测定

采用考马斯亮蓝G-250(Bradford)法测定蛋白质(取1%组织匀浆)的含量,参照BCA蛋白检测试剂盒说明书进行,蛋白质质量浓度由式(4)计算。可溶性蛋白含量根据样品初始质量进行换算,单位为mg/g。

$$\text{蛋白质质量浓度}/(\text{g/L}) = \frac{\text{测定管OD值}-\text{空白管OD值}}{\text{标准管OD值}-\text{空白管OD值}} \times \text{标准质量浓度} \quad (4)$$

1.3.3.2 总游离氨基酸含量的测定

茚三酮比色法测定,具体过程参照总游离氨基酸测定试剂盒说明书。

1.3.3.3 总糖含量的测定

采用硫酸-苯酚法^[20]测定。吸取1%组织匀浆0.5 mL于试管中,依次加入蒸馏水1.5 mL,9%苯酚1.0 mL,浓硫酸5.0 mL,混匀后室温条件下静置30 min,然后用1 cm光径比色皿在485 nm波长处测定吸光度,根据样品吸光度在标准曲线上计算得到相应的蔗糖当量,总糖含量由式(5)计算。

$$\text{总糖含量}/(\text{mg/g}) = \frac{C \times V_T}{V_S \times m_F \times 1000} \quad (5)$$

式中: C 为蔗糖当量/ μg ; V_T 为样品稀释总体积/ mL ; V_S 为测定时样品加样量/ mL ; m_F 为样品鲜质量/ g 。

1.3.4 抗氧化指标的测定

1.3.4.1 MDA含量的测定

样品前处理: 称取新鲜双孢蘑菇子实体1.0 g, 加入10 mL预冷的0.05 mol/L、pH 7.8的磷酸缓冲液, 冰浴中研磨, 最终得10 mL匀浆, 3 000 r/min离心1 min, 取粗提液13 000 r/min、4 °C条件下离心20 min, 取上清液待测。MDA含量测定具体过程参照MDA测定试剂盒说明书进行。

1.3.4.2 SOD活力的测定

SOD活力测定具体方法参照SOD测定试剂盒说明书进行。

1.3.4.3 CAT活力的测定

CAT活力测定具体方法参照CAT测定试剂盒说明书进行。

1.4 统计方法

所用数据均采用分析统计软件SPSS 18.0和Excel 2003软件进行方差分析和最小显著性差异检验。 $P < 0.05$ 表示显著差异, $P < 0.01$ 表示极显著差异。

2 结果与分析

2.1 硒对双孢蘑菇子实体中的总硒及有机硒含量的影响

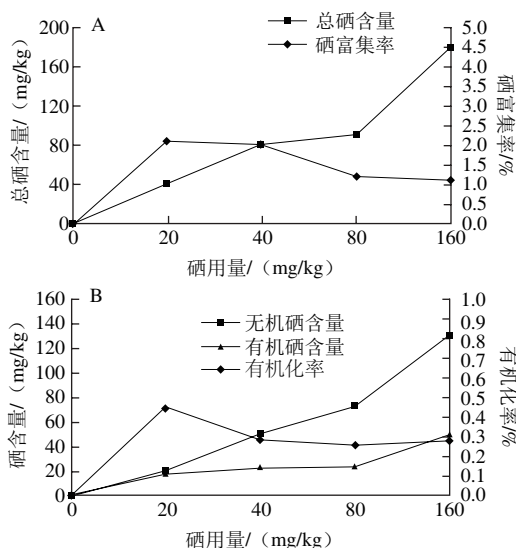


图1 不同用量硒处理对双孢蘑菇子实体总硒含量和硒富集率(A)、有机硒和无机硒含量的影响(B)

Fig. 1 Effect of different dosages of Se on the total Se content and accumulation rate (A), and organic Se and inorganic Se contents (B) in fruit bodies of *Agaricus bisporus*

培养料是双孢蘑菇生长过程中营养供给的主要来源。图1A表明, 富硒双孢蘑菇子实体中硒含量随硒用量的升高而增加, 但其富集率随硒用量的升高而先升高再

降低, 可能由于培养料中成分较为复杂, 一部分亚硒酸盐吸附在培养料上或被还原成单质硒, 不易被吸收。生产时需根据具体硒用量要求来选择合适的培养料, 以达到最佳的富硒效果和最高的硒利用率。

有机化率反映的是硒添加的利用率, 硒用量过高时不但无法被吸收利用, 还会造成硒的浪费、破坏双孢蘑菇子实体的抗氧化酶系和代谢酶系, 进而抑制其生长。图1B表明, 子实体的有机硒和无机硒含量随硒用量的升高而升高, 但其有机化率在硒用量20 mg/kg之后逐步下降, 低用量硒的有机化率要高于高用量硒。说明高硒用量处理下, 过多的硒进入子实体内无法与足够的硒载体相结合, 无机硒化合物难以转化为有机硒。此外, 非结合硒会改变原有的细胞液环境, 阻隔细胞膜上的离子通道, 造成相应酶活性的降低, 进而抑制了蛋白、糖类和氨基酸的代谢, 使有机化程度越来越低^[21]。

2.2 不同硒用量双孢蘑菇子实体中有机硒组成

一般情况下, 双孢蘑菇子实体含水率为90%~92%, 在8%~10%的灰分中, 蛋白质约占20%, 多糖占3%左右, 双孢蘑菇的物质构成是硒在双孢蘑菇中分布的决定性因素。图2结果表明, 随着硒用量的升高, 子实体中蛋白硒含量也随之升高, 而多糖硒含量的变化不明显。结合图1B结果可知, 蛋白硒含量占有机硒含量的比例约为77%~87%, 说明蛋白硒是有机硒中最主要的有机载体, 而多糖占子实体的比重相对于蛋白质小, 并非硒的主要结构载体。

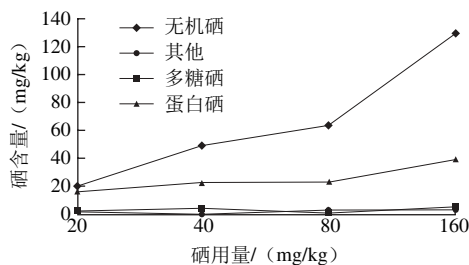
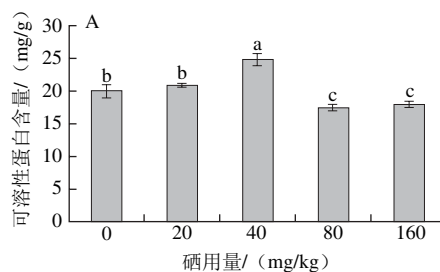
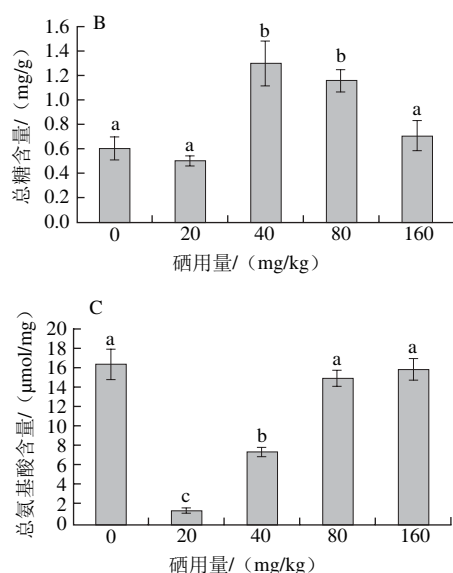


图2 不同用量硒处理对双孢蘑菇子实体中硒组成的影响
Fig. 2 Effect of different dosages of Se on Se speciation in Se-accumulated fruit bodies of *Agaricus bisporus*

2.3 不同硒处理对双孢蘑菇子实体营养成分含量的影响





不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

图3 不同用量硒处理对双孢蘑菇子实体可溶性蛋白(A)、总糖(B)、总氨基酸(C)含量的影响

Fig. 3 Effect of different dosages of Se on the contents of soluble proteins (A), soluble polysaccharides (B), total amino acids (C) in fruit bodies of *Agaricus bisporus*

图3A表明,当硒用量在较低范围内(0~40 mg/kg),双孢蘑菇子实体的可溶性蛋白含量呈增加趋势;硒用量为40 mg/kg时,可溶性蛋白含量最大;高于80 mg/kg时,可溶性蛋白质含量与对照组相比显著下降($P < 0.05$)。硒对蛋白质含量的影响主要是由于硒取代了蛋氨酸和半胱氨酸中的硫。硒与硫原子大小和离子化性质之间的差异使蛋白质三级结构发生变化,对一些重要的蛋白质反应和合成造成影响^[22]。在生物体内,硒主要以硒代氨基酸的形式存在于蛋白质中,同时也是硒蛋白P与谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx)的重要组成部分^[23]。Xia Yiming等^[24]研究表明,机体合成硒蛋白P需要摄入较合成正常水平的GPx更多的硒,可以推测出额外摄入的硒一部分用于合成硒蛋白,因此较低用量的硒处理会使子实体蛋白质含量升高。但是,随硒用量的升高,过多的硒会诱导脂质过氧化,进而导致蛋白质的修饰^[25],使蛋白结构、功能失常和降解,破坏细胞内的生物酶系,阻碍蛋白质的合成,蛋白质水平下降。

由图3B可知,双孢蘑菇子实体总糖含量随着硒用量的升高呈现先上升后下降的趋势。当硒用量为40 mg/kg和80 mg/kg时,可溶性总糖显著高于对照组($P < 0.05$),40 mg/kg时总糖含量最大。20 mg/kg和160 mg/kg处理组与对照组无显著差异($P > 0.05$)。过高的硒用量会诱导脂质过氧化反应,产生活性氧自由基进而阻碍糖类的合成。

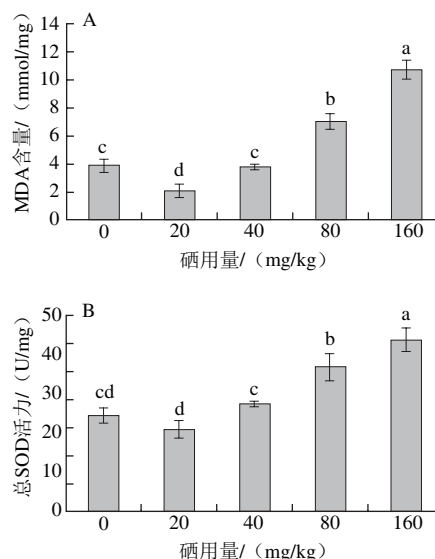
图3C结果表明,硒用量为20 mg/kg和40 mg/kg时,子实体中总游离氨基酸含量较对照组相比显著下降

($P < 0.05$),而硒用量为80 mg/kg和160 mg/kg时,氨基酸含量与对照组无显著性差异($P < 0.05$)。硒用量为20 mg/kg时,子实体的氨基酸含量最少,可能是由于硒与氨基酸大量结合,二者相互作用形成的多肽缺少游离的 α -氨基或 α -羧基,造成茚三酮显色法的测定值较低。硒用量为40 mg/kg时,子实体中氨基酸总量较前一处理组有所提高但仍低于对照组,这是因为其自身代谢增强,氨基酸的吸收同化速率提高。对于80 mg/kg和160 mg/kg处理组,可能是因为子实体代谢能力下降,糖类、蛋白质含量降低,氨基酸与糖类、蛋白质之间的转化受到阻碍。

由图3可以看出,20 mg/kg组与对照组相比,总游离氨基酸含量显著降低($P < 0.05$),可溶性蛋白质含量没有显著性差异,说明硒与部分游离氨基酸结合且不能完全地转化为可溶性蛋白;40 mg/kg组的结果表明硒一定程度上加强了子实体的自身代谢情况;80、160 mg/kg组的结果表明,较高用量的硒会在一定程度上抑制蛋白质、糖类和氨基酸之间的相互转化。80 mg/kg组的可溶性蛋白含量较40 mg/kg组显著下降而总糖含量未显著减少,而160 mg/kg组可溶性蛋白和总糖的含量较40 mg/kg组均有所下降,这是由于糖转化为氨基酸所需要的氨基转化作用较蛋白质直接水解成氨基酸的过程复杂。由此,可以推断出高用量硒对营养物质的抑制作用主要体现在对蛋白质合成所需相关酶的抑制上,其次是对糖类合成的抑制。

2.4 不同硒处理对双孢蘑菇子实体活性物质的影响

MDA是生物体内自由基作用于脂质发生过氧化反应最重要的产物之一,其产生会加剧细胞膜的损伤,因此可以通过MDA了解膜的脂质过氧化程度,间接说明机体内抗氧化酶系的活性^[26]。由图4A可知,20 mg/kg硒处理可显著抑制子实体的脂质过氧化($P < 0.05$),而随着硒用量的提高,硒诱导脂质过氧化产生超氧自由基,MDA含量随硒用量的升高而升高($P < 0.05$)。



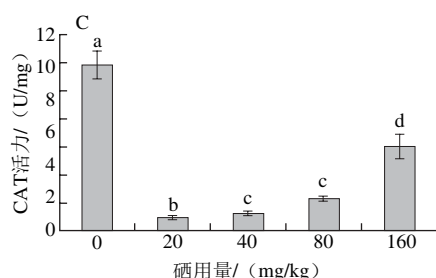


图4 不同硒处理对双孢蘑菇子实体MDA含量(A)、SOD活力(B)、CAT活力(C)的影响

Fig. 4 Effect of different concentrations of Se on MDA content (A), SOD activity (B) and CAT activity (C) in fruit bodies of *Agaricus bisporus*

SOD能清除超氧阴离子自由基,保护生物体免受活性氧伤害,其活性高低反映了植物对氧化损伤的修复能力^[27]。由图4B可知,子实体SOD活力随硒用量的升高而增强,20 mg/kg和40 mg/kg处理组与对照组无显著性差异($P>0.05$)。活性氧自由基底物的减少一定程度上抑制了SOD的活力;硒用量40 mg/kg时,硒表现出诱导脂质过氧化的特性,产生超氧自由基诱导SOD活力的增强;随着硒用量的升高,硒的诱导性质增强,SOD活力分别为对照组的155.4%和180.6%,此时高底物浓度与高酶活性并存。

CAT可以催化过氧化氢分解为分子氧和水,有效清除体内活性氧^[28]。由图4C可知,硒用量为20、40 mg/kg和80 mg/kg时,CAT活力为对照组水平的8%~18%,存在显著性差异($P<0.05$);硒用量为160 mg/kg时,CAT活力较前几个处理组有显著提高,可能是由于脂质过氧化反应的增强以及 H_2O_2 底物的积累诱导了CAT活力的增加。

由图4可以看出,SOD活力和MDA含量的变化趋势基本一致,而CAT活力基本保持在较低的水平。机体内存在某一硒用量的平衡点(20~40 mg/kg)可使得体内自由基的产生和抗氧化酶系的清除能力相当,此时硒表现出最佳的生物效应。根据自身抗氧化酶系平衡理论,适量的硒用量(20 mg/kg)能够显著提高双孢蘑菇子实体的抗氧化能力,但不能提高所有抗氧化酶的活性,这是由机体自身平衡以及竞争性抑制所决定的。在没有硒添加的情况下,机体自由基的清除主要依靠SOD和CAT;Prabhakar等^[29]研究得出,20~40 mg/kg用量硒处理后,GSH-Px活性增强,同时竞争性抑制SOD和CAT,此时硒表现出自由基清除剂的效应,MDA水平较低。随着硒用量的升高,硒诱导脂质过氧化反应增强,细胞超氧自由基的产生与抗氧化酶的高活性并存,SOD活性随底物浓度的增加而增强。CAT活性的提高具有延时性,由于存在竞争性抑制,只有当 H_2O_2 底物的浓度增加超过其他催化酶的清除能力时,CAT活性才显著增强。

3 结论

本实验通过在双孢蘑菇子实体的富硒栽培培养料中加入 Na_2SeO_3 ,可以显著提高双孢蘑菇子实体中的硒含量。硒用量为40 mg/kg时,双孢蘑菇表现出良好的营养品质和生理特性,且此用量可显著提高双孢蘑菇子实体可溶性蛋白质含量、总糖含量和SOD活性,但对总氨基酸含量影响并不显著,且此用量时CAT活性较低。综上所述,富硒双孢蘑菇可作为膳食中优良的富硒载体,以满足人体对硒的日常需求。

参考文献:

- [1] 陈家友,李可凡,王尚堃.双孢蘑菇模式化栽培技术研究进展[J].江西农业学报,2011,23(4):105-110. DOI:10.3969/j.issn.1001-8581.2011.04.033.
- [2] 张桂香,杨建杰,耿新军,等.6种药剂处理覆土对双孢蘑菇品质的影响[J].中国食用菌,2009,28(4):28-31. DOI:10.3969/j.issn.1003-8310.2009.04.011.
- [3] 李梅,颜敏华,吴小华,等.双孢蘑菇贮藏保鲜技术[J].农产品加工(学刊),2010(2):73-74. DOI:10.3969/j.issn.1003-8310.2009.04.011.
- [4] OKE F, ASLIM B. Protective effect of two edible mushrooms against oxidative cell damage and their phenolic composition[J]. Food Chemistry, 2011, 128(3): 613-619. DOI:10.1016/j.foodchem.2011.03.036.
- [5] TSAI C F, OU B R, LIANG Y C, et al. Growth inhibition and antioxidative status induced by selenium-enriched broccoli extract and selenocompounds in DNA mismatch repair-deficient human colon cancer cells[J]. Food Chemistry, 2013, 139(1): 267-273. DOI:10.1016/j.foodchem.2013.02.001.
- [6] EL-DEMERDASH F M. Antioxidant effect of vitamin E and selenium on lipid peroxidation, enzyme activities and biochemical parameters in rats exposed to aluminium[J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2004, 18(1): 113-121. DOI:10.1016/j.jtemb.2004.04.001.
- [7] HOU J, WANG T, LIU M F, et al. Suboptimal selenium supply: a continuing problem in Keshan disease areas in Heilongjiang province[J]. Biological Trace Element Research, 2011, 143(3): 1255-1263. DOI:10.1007/s12011-011-8961-9.
- [8] 李军,张忠诚.微量元素硒与人体健康[J].微量元素与健康研究,2011,28(5):59-63.
- [9] 李玲飞,蔡松伟,吴根福.富硒食用菌及其保健功效[J].食药菌,2011,19(6):38-43. DOI:10.14083/j.issn.1001-4942.2012.07.039.
- [10] 刘培棣.硒资源及其综合利用(文集)[M].北京:中国科学技术出版社,1993:165-176.
- [11] GAO J, LIU Y, HUANG Y, et al. Daily selenium intake in a moderate selenium deficiency area of Suzhou, China[J]. Food Chemistry, 2011, 126(3): 1088-1093. DOI:10.1016/j.foodchem.2010.11.137.
- [12] 黄春燕,张柏松,万鲁长,等.食用菌富硒培养研究进展[J].山东农业科学,2012,4(7):81-87. DOI:10.14083/j.issn.1001-4942.2012.07.039.
- [13] 王新风.富硒食用菌栽培技术[J].中国食用菌,2002,21(3):13-15. DOI:10.3969/j.issn.1003-8310.2002.03.006.
- [14] 梁英,高彦斌,陈丽红,等.香菇富硒栽培的研究[J].食用菌,2000(1):5-7.
- [15] 梁英,杨宏志.黑木耳富硒栽培研究[J].食用菌学报,2000,7(4):34-37. DOI:10.16488/j.enki.1005-9873.2000.04.008.
- [16] 卫生部.食品中硒的测定:GB 5009.93—2010[S].北京:中国标准出版社,2010:1-5.

- [17] 王梅, 张红香, 邹志辉, 等. 原子荧光光谱法测定富硒螺旋藻片中不同形态、价态的硒[J]. 食品科学, 2011, 32(6): 179-182.
- [18] 孙中涛, 王汉忠, 孙凤鸣, 等. 硒在香菇体内的生物转化及硒蛋白的生物活性[J]. 食品与发酵工业, 2003, 2(8): 57-60. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts/2003.08.013.
- [19] 乔德亮, 陈乃富, 张莉, 等. 双孢蘑菇子实体多糖提取条件优化及部分特性研究[J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(2): 195-199. DOI:10.13995/j.cnki.11-1802/ts.2011.02.201.
- [20] 范传颖, 陶正明, 吴志刚. 苯酚硫酸法与蒽酮硫酸法测定铁皮石斛中多糖含量的比较[J]. 浙江农业科学, 2013(7): 799-801. DOI:10.16178/j.issn.0528-9017.2013.07.039.
- [21] 黄开勋, 徐碧辉. 硒的化学、生物化学及其在生命科学中的应用[M]. 2版. 武汉: 华中科技大学出版社, 2009: 145-163.
- [22] 张艳玲, 潘根兴. 叶面喷施硒肥对低硒土壤中大豆不同蛋白质组分及其硒分布的影响[J]. 南京农业大学学报, 2003, 26(1): 37-40.
- [23] BURK R F, HILL K E. Selenoprotein P: an extracellular protein with unique physical characteristics and a role in selenium homeostasis[J]. Annual Review of Nutrition, 2005, 25: 215-235. DOI:10.1146/annurev.nutr.24.012003.132120.
- [24] XIA Yiming, HILL K E, BYME D W, et al. Effectiveness of selenium supplements in a low-selenium area of China[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2005, 81(4): 829-834.
- [25] 张梦如, 杨玉梅, 成蕴秀, 等. 植物活性氧的产生及其作用和危害[J]. 西北植物学报, 2014, 34(9): 1916-1926. DOI:10.7606/j.issn.1000-4025.2014.09.1916.
- [26] 张明中. 番茄施硒的生理和品质效应及分子调控研究[D]. 重庆: 西南大学, 2014: 50-51.
- [27] 唐玉巧. 大豆中硒的生理生化及其含硒蛋白的初步分离[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2005: 23-25.
- [28] 田春丽. 硒与锌对紫花苜蓿生长品质的调控作用及其机理[D]. 郑州: 河南农业大学, 2014: 53.
- [29] PRABHAKAR R, VREVEN T, MOROKUMA K, et al. Elucidation of the mechanism of selenoprotein glutathione peroxidase (GPx)-catalyzed hydrogen peroxide reduction by two glutathione molecules: a density functional study[J]. Biochemistry, 2005, 44(35): 11864-11871. DOI:10.1021/bi050815q.