

大豆在萌发过程中的铁锌营养强化

余赛西, 胡广林, 李凯, 刘金芳, 唐琦

(热带生物资源教育部重点实验室, 海南大学材料与化工学院, 海南海口 570228)

摘要: 研究在大豆萌发过程中添加食品营养强化剂对微量元素和营养物质的影响。分别用不同浓度的硫酸亚铁 (FeSO_4 , 0~56 μg Fe/mL)、硫酸锌 (ZnSO_4 , 0~100 μg Zn/mL)及其混合溶液 ($\text{FeSO}_4+\text{ZnSO}_4$) 进行浸种和强化处理, 用火焰原子吸收分光光度法 (FAAS) 测量铁(Fe)、锌 (Zn)、铜(Cu)、锰 (Mn) 四种微量元素的变化。结果表明, 三种强化方式均能不同程度提高大豆萌发后的铁、锌含量, 对铜元素的影响无显著性差异 ($p>0.05$)。大豆在适当强化剂浓度下中铁含量最高可提升 450.59% ($\text{FeSO}_4+\text{ZnSO}_4$, 16.8~33.6 μg Fe/mL, 30~60 μg Zn/mL)、203.74% (FeSO_4 , 16.8~33.6 μg Fe/mL)。在铁强化大豆的过程中添加 ZnSO_4 能够促进大豆对铁的富集能力, 在锌强化大豆的过程中添加 FeSO_4 能降低大豆对锌的富集能力。铁锌强化剂浓度为 16.8~33.6 μg Fe/mL, 30~60 μg Zn/mL 时大豆铁蛋白有所提升。39.2 μg Fe/mL FeSO_4 和 70 μg Zn/mL ZnSO_4 强化时大豆抗氧化活性最强。实验结果表明, 铁锌强化能够提高大豆中铁含量, 促进铁的吸收和铁蛋白的合成。

关键词: 大豆; 营养强化; 铁; 锌; 铁蛋白

文章篇号: 1673-9078(2018)02-141-148

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.2.023

Biofortification of Iron and Zinc in Soybean during Germination

YU Sai-xi, HU Guang-lin, LI Kai, LIU Jin-fang, TANG Qi

(Key Laboratory of Tropical Biological Resources of Ministry of Education, College of Materials and Chemical Engineering, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: The effects of iron and zinc biofortification on mineral elements and nutrient substance in soybean sprouts during germination were investigated. Soybean seeds were soaked and cultured with different concentrations of ferric sulfate (0~56 μg Fe/mL), zinc sulfate (0~100 μg Zn/mL), and mixture solution, respectively. Four mineral elements were measured by Flame atomic absorption spectrometry(FAAS). The results showed that all the methods could increase the content of iron and zinc after soybean germination, and there was no significant difference in the effect of copper content ($p > 0.05$). The results of this study showed that iron content in sprouted soybean seeds increased significantly ($p < 0.05$) as the internal Fe concentrations increased by 450.59% ($\text{FeSO}_4+\text{ZnSO}_4$, 16.8~33.6 μg Fe/mL, 30~60 μg Zn/mL) and 203.74% (FeSO_4 , 16.8~33.6 μg Fe/mL), respectively. The addition of ZnSO_4 during iron biofortification could promote the iron accumulation of soybean sprouts, while FeSO_4 had a negative impact on zinc accumulation of soybean sprouts during zinc biofortification. Ferritin content increased during culturing in doses of 16.8~33.6 μg /mL of FeSO_4 with 30~60 μg /mL of ZnSO_4 . The antioxidant activity of soybean was the strongest during culturing in doses of 39.2 μg Fe/mL FeSO_4 and 70 μg Zn/mL ZnSO_4 . In conclusion, we demonstrated that iron and zinc fortification during the germination process had a positive effect on iron and ferritin accumulation of soybean sprouts.

Key words: soybean; biofortification; iron; zinc; ferritin

大豆含有丰富的矿物质元素和营养物质, 在我国消费量也较大, 而且豆类及制品在膳食中经常搭配使用, 是人体内微量元素很重要的膳食来源。采用常规食品加工方法对微量元素即营养物质的损失较大, 找到合适的途径增加谷物及豆类中微量元素的营养价值, 就能够在改善微量元素缺乏性营养不良状况(隐性饥饿)方面发挥重要作用。

收稿日期: 2017-09-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31460390)

作者简介: 余赛西(1993-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 膳食与营养组

通讯作者: 胡广林(1967-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 膳食与营养

萌发是有利于豆类^[1]营养价值改善的一种处理方式, 王莘^[2]将大豆、绿豆和黑豆 3 种豆类萌发期的微量元素进行分析, 发现其在萌发期矿物质元素含量除钾以外, 其他均高于未萌发种子, 当芽萌发到 3.0 cm 时, 含量达到最大值。在豆类萌发过程中添加营养添加剂进行生物强化, 能够提高豆类营养物质的含量。Zielińskadawidziak 等^[3]用等浓度梯度的 FeSO_4 强化大豆, 发现大豆中脂质、维生素 E、 β -胡萝卜素有显著提升。Barrameda-Medina 等^[4]在水培过程中用 ZnSO_4 强化甘蓝, 发现其可食部分锌、总氨基酸、多酚含量和多种合成酶活性的提升。

铁和锌是世界范围内最盛行的人类微量营养素缺乏中的两个矿质元素。对于植物,铁元素是参与生物固氮,植物激素合成、DNA合成等的辅因子,铁的缺乏会对植物的生理学产生影响,造成营养缺失^[5]。Zou等^[6]用 $ZnSO_4$ 对大豆进行浸种和强化,锌在大豆可食部分的含量和生物利用率显著提高。Manvesh^[7]用铁强化后的珍珠粟喂食大鼠,发现有贫血症的大鼠体内铁含量升高,用铁和维生素A同时强化后的珍珠粟投喂,铁的生物利用率显著提高。目前对于豆类的营养强化多使用单一强化剂,对于豆类在萌发过程中进行铁和锌同时强化的少有报道。Guillénmolina等^[8]将Fe-EDDHA与Zn-EDTA以不同比例混合,作为营养强化剂强化鹰嘴豆,发现不同比例的营养强化剂对其产量、微量元素含量和抗氧化活性无显著差异。铁锌强化对于同时缺铁和锌,或缺其中之一的豆类和人群有重要意义。以大豆种子铁蛋白为代表的植物铁蛋白被认为是未来的一种新型天然的功能性补铁因子^[9],吸收较稳定,不受植酸、单宁等抗营养因子的影响,在食品加热(煮沸)过程中保持稳定的 α 螺旋结构(一部分在80℃开始变性)^[10]。将铁蛋白含量纳入大豆生长评价指标能够更加直观地描述其营养价值。

本实验通过用铁锌营养强化剂对大豆进行浸种和萌发,研究不同强化剂对大豆微量元素和营养物质的影响,为大豆成为人体补铁补锌的膳食来源并为其进一步在食品领域的应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验原料

‘中黄24号’,当年产。购于中国农业科学院作物科学研究所。

1.2 试验试剂

硫酸亚铁($FeSO_4 \cdot 7H_2O$),硫酸锌($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$),浓硝酸,浓硫酸,次氯酸钠($NaClO$),过氧化氢(H_2O_2),高锰酸钾($KMnO_4$),过硫酸钾($K_2S_2O_8$),硫氰酸钾($KSCN$),DPPH(Macklin),甲醇。试验中所用其余化学试剂均为国产分析纯;实验用水为超纯水,电阻率18.2 M Ω ·cm。

1.3 主要仪器设备

人工气候箱(南京实验仪器厂HSR025),离心机(Sigma 3-30K),恒温振荡器(江苏国华THZ-82),超声波清洗仪(南京先欧仪器制造有限公司XO-5200DTS),鼓风干燥箱,分析天平,火焰原子吸

收分光光度计(北京普析TAS-990),紫外可见分光光度计(上海佑科仪器仪表有限公司752N)。

1.4 试验方法

1.4.1 大豆的萌发

1.4.1.1 选种

选取优质的大豆种子,要求籽粒饱满,色泽淡黄,无破损,百粒重约30g。

1.4.1.2 消毒

称取15g大豆干种子,用超纯水清洗表面灰尘和细菌,置于1%NaClO中浸泡15min。消毒结束后用超纯水将大豆表面清洗干净。

1.4.1.3 浸泡

将消毒后的大豆种子置于超纯水中,置于25℃人工气候箱中避光浸泡10h。

1.4.1.4 萌发

浸泡后的大豆转移至敞口培养盒中,培养盒底部带有排水孔和两层定性滤纸,将培养盒置于25℃人工气候箱中避光培养5d,每日用超纯水喷洒,使大豆表面保持湿润。

1.4.2 大豆的铁强化

配制质量浓度分别为0、5.6、11.2、16.8、22.4、28、33.6、39.2、44.8、50.4、56 μ g/mL的 $FeSO_4$ 营养强化剂,将大豆种子选种消毒(与1.4.1一致)后,分别用以上浓度的铁营养剂将大豆种子进行浸泡和萌发。

1.4.3 大豆的锌强化

配制质量浓度分别为10、20、30、50、60、70、80、90、100 μ g/mL的 $ZnSO_4$ 营养强化剂,强化方式与1.4.2一致。

1.4.4 大豆的铁锌强化

配制铁:锌浓度分别为5.6:10、11.2:20、16.8:30、22.4:40、28:50、33.6:60、39.2:70、44.8:80、50.4:90、56:100的营养强化剂,强化方式与1.4.2一致。

1.4.5 样品的制备

大豆萌发处理5d后,置于60℃恒温干燥24h,玛瑙研钵研磨成粉,过60目(0.25mm)标准筛,装入样品袋,-4℃冷藏,待测。设置大豆未萌发干样为空白组,超纯水萌发大豆为对照组,1.4.2、1.4.3、1.4.4处理后的大豆干样分别编号为实验a组、实验b组、实验ab组。

1.4.6 铁锌元素的分析测定

称取样品0.3g加入消化罐,加入浓硝酸2mL过夜,进行预硝化,再加入8mL H_2O_2 ,置于150℃下3h,用5%硝酸定容至50mL,火焰原子吸收分光光度

测定铁锌含量。

1.4.7 富集系数的分析

富集系数 (Concentration Factor, CF)^[11]用来描述强化大豆对铁、锌的富集能力。在此实验中定义为的微量元素 (铁、锌) 在大豆中的富集量与培养液中相应微量元素 (铁、锌) 含量的比值。公式如下:

$$CF = \frac{\text{强化大豆富集量}(\mu\text{g/g}, m_d)}{\text{培养液质量浓度}(\mu\text{g/mL})}$$

1.4.8 铁蛋白的测定

提取参照 Niedzielski^[12]的方法, 称取样品 0.5 g, 加入 5 mL 2 mol/L 的盐酸, 80 °C 振荡提取 60 min, 过滤后将上清液合并, 定容至 50 mL。

铁标准溶液制备: 0.4979 g FeSO₄·7H₂O 溶于水, 加入 5 mL 浓硫酸, 加热至微热, 用 2% KMnO₄ 滴至最后一滴不褪色, 定容至 1000 mL, 为 100 μg/mL 铁贮备液, 稀释至 10 μg/mL。加入上述铁标液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL, 定容至 25 mL, 470 nm 下分光光度计测其吸光度绘制标准曲线。

无机铁 (Fe³⁺) 测定: 取 1 mL 提取液于 10 mL 比色管, 加入 500 μL 浓硫酸, 2 mL、2% KSCN, 200 μL、20% K₂S₂O₈, 定容至总体积为 5 mL, 反应 10 min, 470 nm 下测其吸光度。

铁蛋白的计算公式^[3]如下:

铁蛋白(以 Fe 含量计, ng/mg)=总铁-无机铁

参考 Xia^[13]的方法, 取样品 1 g, 用 10 mL 体积分数为 70% 的甲醇溶液超声提取 1 h, 14000 g 下离心 30 min, 过滤, 上清液合并, 甲醇定容至 50 mL。提取过程温度为 4 °C。

测定时参照叶汉侠^[14]的方法, 提取液 8 mL 加入 10 mL 比色管, 加入 2 mL 甲醇作为对照组, 加入 2 mL DPPH 为实验组, 2 mL DPPH 与 8 mL 甲醇作为空白组, 避光条件下反应 30 min, 517 nm 下测吸光度。

1.4.9 数据分析

所有样品的测试重复 3 次; 测试结果以平均值±标准偏差表示结果用采用 SPSS 22.0 和 Origin 9.0 进行数据分析, 并使用 SPSS 22.0 统计软件进行差异显著性分析 (Duncan 多重比较, p=0.05)。

2 结果与分析讨论

2.1 铁、锌营养剂对大豆中铁锌含量的影响

如图 1 所示, 大豆未萌发种子中的铁锌含量分别为 50.25、46.23 μg/g。萌发过程提高了大豆中铁、锌含量, 分别提高了 59.23%、66.47%, 3 种营养强化剂的添加均提高了大豆萌发后铁、锌含量。

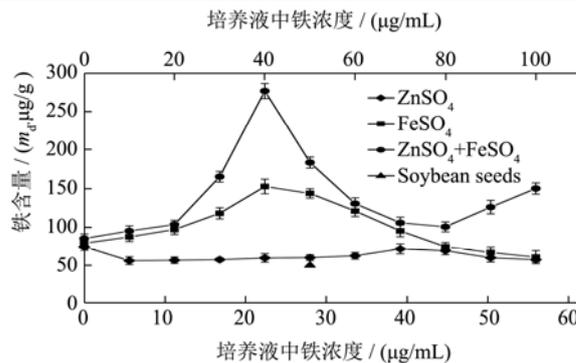


图 1 不同浓度铁锌营养强化下大豆及其干种子的铁含量

Fig.1 Total iron content (μg/g dry matter) in seeds and sprouted soybean seeds germinated in different concentrations of FeSO₄ and ZnSO₄

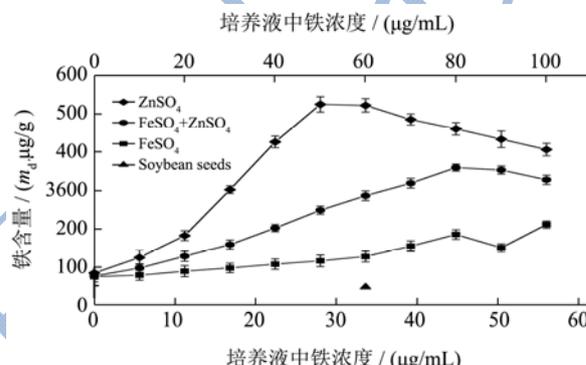


图 2 不同浓度铁锌营养强化下大豆及其干种子的锌含量

Fig.2 Total zinc content (μg/g dry matter) in seeds and sprouted soybean seeds germinated in different concentrations of FeSO₄ and ZnSO₄

如图 1a 所示, 对大豆萌发过程中铁含量的促进作用由大到小分别为实验 ab 组>实验 a 组>对照组。对大豆萌发过程中锌含量的促进作用由大到小分别为实验 b 组>实验 ab 组>实验 a 组>对照组。

FeSO₄ 作为营养强化剂能显著提高大豆中铁含量, 在营养剂中铁浓度在 16.8~33.6 μg/mL 时大豆中铁含量达到最高, 为 152.63 μg/g, 比空白组增加了 203.74%, 比对照组增加了 92.79%, 大量研究表明铁的添加能够改善植物缺铁现状^[15], 并能增加植物干重^[16]。之后铁含量开始下降, 萌发中的大豆对铁离子的吸收受到阻碍, 说明高浓度的铁离子使萌发过程受到抑制, 但萌发仍继续进行^[3]。

当 FeSO₄ 中铁浓度达到 44.8 μg/mL, 实验 a 组的铁含量开始低于对照组。如图 1b 所示, FeSO₄ 能够很大程度降低大豆中锌的吸收。相同锌浓度下添加铁离子后, 实验 ab 组大豆中锌含量比实验 b 组降低 18.65%~52.96%。祝美云等^[17]用浓度为 600 μg/g 的 FeSO₄、ZnSO₄ 培养苜蓿, 研究发现过量的铁可降低苜蓿中锌的吸收和利用, 与本实验结果表现一致。

Kaya 等^[18]先后用培养液加 Zn²⁺、叶面喷洒 Fe-EDTA 的方法处理番茄,发现铁的添加能够缓解植物由于高浓度的锌产生的锌中毒现象,说明铁的添加能够抑制植物对锌的吸收。

章艺等^[19]研究铁胁迫下大豆叶肉细胞超微结构的变化,发现在 50 μg/g Fe 处理下,大豆叶绿体严重膨胀,外膜破损,线粒体空泡化,说明过量的铁对大豆叶肉细胞内膜系统结构造成损害。推测本实验中锌减少的另一个原因是铁已过量,对大豆细胞造成铁中毒,呼吸作用及其他生理功能受损,导致对锌的吸收受影响。

ZnSO₄ 作为营养强化剂能够提升大豆中的锌含量,如图 2 所示,在营养剂中锌浓度在 40~70 μg/mL 时大豆中锌含量达到最高,为 523.00 μg/g,是空白组的 11.3 倍,对照组的 6.7 倍。如图 1,锌离子与铁离子对大豆种子的萌发均具有低浓度下的刺激效应和高浓度下的抑制效应^[16],营养强化剂中锌浓度在 70~100 μg/mL,大豆中锌含量随浓度升高而降低。如图 1a 所示,实验 ab 组铁含量显著高于实验 a 组,说明 ZnSO₄ 的添加能够促进铁强化大豆对铁的吸收。同时实验 b 组中铁含量无明显变化,说明其单独作用时,对大豆的铁吸收无显著影响。

如图 1 所示,FeSO₄ 与 ZnSO₄ 同时强化能够显著提高大豆中的铁含量,锌的添加对大豆铁含量达到最高值时对应的铁浓度范围无影响,最高可达到 276.67 μg/g,比空白组高 450.59%,比实验 a 组达到的最高铁含量高 81.27%,之后大豆中铁含量开始下降,在强化铁含量为 44.80 μg/mL 时达到最低点,再次线性上升,由于实验 a 组和实验 ab 组在同一范围的铁浓度下曲线趋势一致,推测是由于铁浓度过高引发铁中毒,植物细胞膜破裂,铁离子外泄导致浓度直线上升。

图 1 所示,FeSO₄ 的添加对大豆锌的吸收有抑制作用,能够降低铁强化大豆中锌含量的 19.22%~57.78%。如图 2,ZnSO₄ 的添加能够促进铁的吸收,提高了大豆中铁含量的 6.70%~81.27%,由于实验 ab 组营养强化剂的盐浓度均高于实验 a、b 组,也可能导致细胞膜提前破裂,铁离子外泄。Verma^[20]等用不同浓度的 ZnSO₄ 和 FeSO₄ 同时处理水稻,发现锌的添加不仅能降低稻谷本身谷粒和叶面中的铁,也能在铁强化稻谷时抑制铁的吸收。

2.2 铁、锌营养剂对大豆萌发铁锌富集的影响

如图 3、4 所示,实验组的铁、锌富集系数随着营养强化剂的浓度的升高呈现降低趋势,说明高浓度的营养强化剂会降低对元素的富集能力。如图 3 所示,

实验 ab 组对铁的富集能力较强,富集系数为 2.23~16.99,实验 a 组对铁的富集系数为 1.09~15.63。说明锌离子的加入能够提升大豆对铁元素的富集能力。实验 a 组中铁浓度为 56 μg/mL 大豆铁富集系数为 1.09,表明大豆对铁元素有极弱富集用。如图 4 所示,实验 b 组对锌的富集能力高于实验 ab 组,富集系数为 3.26~9.56,实验 ab 组对锌的富集系数为 1.65~7.73,说明铁离子添加对大豆锌吸收富集能力有抑制作用。

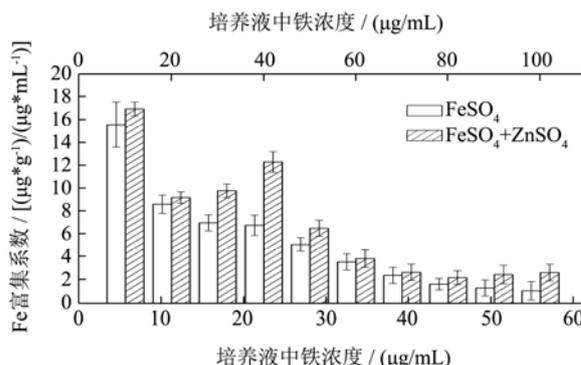


图 3 不同浓度铁锌营养强化下大豆对铁的富集系数

Fig.3 Concentration coefficient of Fe within sprouted soybean seeds germinated in different concentrations of FeSO₄ and ZnSO₄

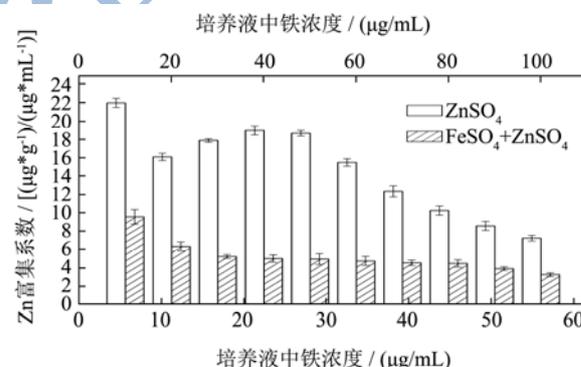


图 3 不同浓度铁锌营养强化下大豆对锌的富集系数

Fig.4 Concentration coefficient of Zn within sprouted soybean seeds germinated in different concentrations of FeSO₄ and ZnSO₄

2.3 铁、锌营养剂对大豆铁蛋白的影响

如图 5 所示,大豆干种子的铁蛋白含量为 40.01 ng/mg (以 Fe 计)。在萌发过程中铁蛋白降低了约 10.37%,降解用于种子萌发和幼苗早期生长^[21]。3 种营养强化剂对大豆萌发过程中铁蛋白的含量影响差异较大。在营养剂中铁浓度在 16.8~33.6 μg/mL 时实验 a、ab 组大豆中铁蛋白含量达到最高,分别为 101.63、234.57 ng/mg,与图 1 中大豆铁含量达到最高的浓度范围对应一致,细胞质内铁离子的升高会引起铁蛋白的积累^[3]。

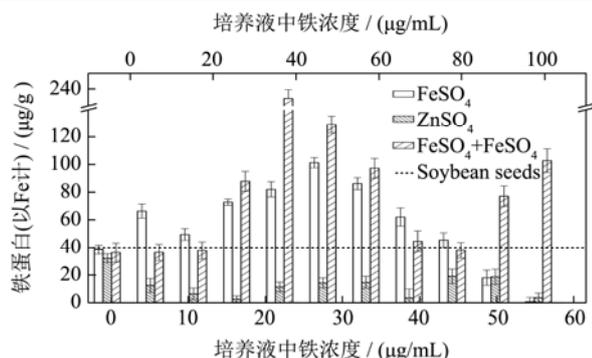


图5 不同浓度铁锌营养强化下大豆及其干种子的铁蛋白含量
Fig.5 Ferritin content (Fe, µg/mg dry matter) in seeds and sprouted soybean seeds germinated in different concentrations of FeSO₄ and ZnSO₄

实验 a、ab 组铁蛋白的下降是高浓度的铁离子对大豆生理造成损伤的标志。外源铁离子的升高让植物铁蛋白含量降低，暗示铁平衡被破坏，植物发生氧化应激^[22]。实验 b 组的铁蛋白含量均低于大豆干样，铁蛋白含量为 2.56~22.03 ng/mg，表明 ZnSO₄ 对大豆铁蛋白的积累有抑制作用。

目前对于铁蛋白的表达很多机理都未明确^[23]，植物对于过量的铁表达铁蛋白的机制有多种推测，其中 Briat^[5]猜想，铁蛋白的积累是保护植物体中活性氧，结合自由铁离子的一种储存方式。实验 a、ab 组有外源铁离子加入，大豆吸收后可能一部分结合活性氧生成铁蛋白储存。实验 b 组无铁离子的添加，但环境中盐浓度高于对照组，对大豆生长造成盐胁迫，造成酶活性降低等生理损伤，抑制铁蛋白的合成^[23]。

2.4 铁、锌营养剂对大豆抗氧化活性的影响

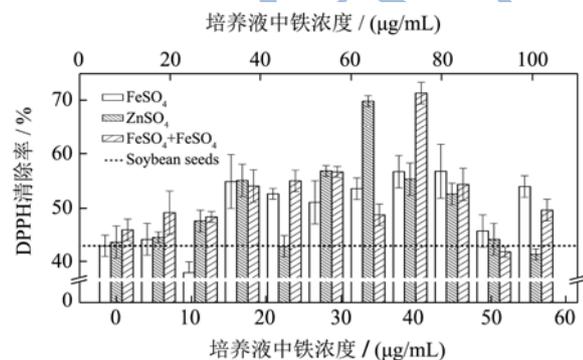


图6 不同浓度铁锌营养强化下大豆及其干种子的抗氧化活性
Fig.6 Antioxidant activity of seeds and sprouted soybean seeds germinated in different concentrations of FeSO₄ and ZnSO₄

如图 6 所示，大豆的抗氧化活性在本实验中用甲醇提取物对 DPPH 的清除率表示，三组实验组的 DPPH 清除率均高于大豆干样，与对照组并无显著大小关系，整体呈现低浓度促进高浓度抑制的规律。实

验组 DPPH 清除率最高可以达到 56.82%、69.88%和 71.36%。推测由于培养液中铁离子的升高导致大豆内铁蛋白的增加，抑制细胞内活性氧的产生^[3]，抗氧化活性升高。在铁、锌有毒金属的高浓度环境下，大豆细胞内发生氧化应激，代谢产生大量活性氧和自由基，抗氧化活性降低。

2.5 铁、锌营养剂对大豆微量元素的影响

如表 1 所示，在低浓度水平下(5.6~11.2 µg Fe/mL, 10~20 µg Zn/mL)，对于大豆铁含量，实验 a 组与实验 ab 组营养剂类型上无显著差异 ($p>0.05$)，分别将大豆中铁元素含量提高了 93.03%、105.97% (对比空白组，下同)，但与实验 b 组差异性显著 ($p<0.05$)。在浓度范围较高的水平下 (16.8~28.0 µg Fe/mL, 30~50 µg Zn/mL)，3 种营养强化剂对大豆铁含量的提升程度表现显著性差异 ($p<0.05$)，且促进作用由高到低分别是实验 ab 组>实验 a 组>实验 b 组，最高提升了 449.25%。在更高浓度水平下 (33.6~39.2 µg Fe/mL, 60~70 µg Zn/mL)，锌的添加对于大豆铁强化不形成显著性影响 ($p>0.05$)。

在最高浓度范围水平下 (44.8~56.0 µg Fe/mL, 80~100 µg Zn/mL) 实验 a 组与 b 组无显著性差异 ($p>0.05$)，二者与实验 ab 组差异性显著 ($p<0.05$)，此时很可能由于细胞膜破裂导致的含量上升。所以 3 种营养强化剂在不同浓度呈现的显著性差异不同。

如表 2 所示，在低浓度水平下 (5.6 µg Fe/mL, 10 µg Zn/mL)，实验 a 组与实验 ab 组对大豆锌含量有显著性差异 ($p<0.05$)，分别提高了大豆锌含量的 165.72%和 66.77%。在较高浓度范围水平时 (11.2~56.0 µg Fe/mL, 20~100 µg Zn/mL)，3 种营养强化剂之间呈现显著性差异 ($p<0.05$)，由大到小分别为实验 b 组、ab 组、a 组。

如表 3 所示，3 种营养强化剂对大豆中铜含量的无明显影响。当强化剂中铁浓度为 22.4 µg/mL 时，大豆中铜含量较高，实验 a 组、ab 组分别达到 13.25、13.00 µg/g。Fasael^[24]等用含有 0、5、10 mg Zn/kg ZnSO₄ 和 1、5、10 mg Fe/kg Fe-EDDHA 的土壤栽培鹰嘴豆，发现锌的添加对鹰嘴豆芽中的铜含量无显著影响。

表 4 中所示，实验 a 组与实验 b 组在低浓度水平 (5.6~11.2 µg Fe/mL, 10~20 µg Zn/mL) 无显著性差异 ($p>0.05$)。较高浓度水平下 (16.8~56.0 µg Fe/mL, 30~100 µg Zn/mL) 3 种营养强化剂呈现显著性差异 ($p<0.05$)。

对大豆中锰含量的抑制作用有大到小分别是实验 ab 组>实验 b 组。实验 ab 组对锰含量的抑制作用能够

降低 91.32%，实验 b 组中的大豆锰含量范围为 14.67~19.33 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，实验 a 组对大豆中锰含量的提升范围为 8.56%~42.77%。Fasaei 等^[24]发现铁强化鹰嘴豆会导致豆芽营养失衡，对锰的吸收降低。

铁、锌和锰在植物内吸收和转载体上存在竞争

关系，如小麦对铁和锰的需求高于锌^[17]，以上 3 种方法对铁、锌、铜、锰四种微量元素的影响，是由于大豆内各微量元素之间的协同拮抗作用，与生物酶等活性物质相互作用的结果。

表 1 不同浓度铁锌营养强化下大豆及其干种子的铁含量

Table 1 Total iron content ($\mu\text{g}/\text{g}$ dry matter) in seeds and sprouted soybean seeds germinated in different concentrations of FeSO_4 and ZnSO_4

	营养剂浓度/ $(\mu\text{g}/\text{mL})$		铁含量/ $(\mu\text{g}/\text{g})$		
	Fe	Zn	FeSO_4 (a)	ZnSO_4 (b)	$\text{FeSO}_4+\text{ZnSO}_4$ (ab)
空白组	-	-	50.25±2.03 ^h	50.25±2.03 ^e	50.25±2.03 ^h
对照组	-	-	79.68±4.17 ^{de}	79.68±4.17 ^a	79.68±4.17 ^e
实验组	5.6	10	87.50±5.97 ^{AcD}	56.32±5.10 ^{Bde}	95.17±6.55 ^{Af}
	11.2	20	97.00±6.32 ^{Ac}	56.86±4.23 ^{Bde}	103.50±5.44 ^{Af}
	16.8	30	118.00±7.20 ^{Bb}	56.67±2.26 ^{Cde}	165.23±6.89 ^{Ac}
	22.4	40	152.63±9.38 ^{Ba}	59.83±5.53 ^{Cd}	276.67±9.86 ^{Aa}
	28.0	50	143.67±6.12 ^{Ba}	60.33±3.68 ^{Cd}	183.50±7.13 ^{Ab}
	33.6	60	120.95±7.09 ^{Ab}	62.67±4.36 ^{Bcd}	130.50±7.54 ^{Ae}
	39.2	70	95.23±7.56 ^{Ac}	71.83±6.55 ^{Bb}	105.67±7.29 ^{Af}
	44.8	80	74.67±5.67 ^{BeF}	69.33±5.24 ^{Bbc}	100.05±6.36 ^{Af}
	50.4	90	67.00±5.32 ^{Bfg}	60.21±5.56 ^{Bd}	126.00±8.64 ^{Ae}
	56.0	100	60.96±4.55 ^{Bgh}	57.63±3.22 ^{Bde}	150.00±7.25 ^{Ad}

注：同一行不同营养强化剂类型的差异显著性用大写字母表示，同一列相同营养强化剂不同浓度的差异显著性用小写字母表示；显著性水平为 $p<0.05$ 。

表 2 不同浓度铁锌营养强化下大豆及其干种子的锌含量

Table 2 Total zinc content ($\mu\text{g}/\text{g}$ dry matter) in seeds and sprouted soybean seeds germinated in different concentrations of FeSO_4 and ZnSO_4

	营养剂浓度/ $(\mu\text{g}/\text{mL})$		锌含量/ $(\mu\text{g}/\text{g})$		
	Fe	Zn	FeSO_4 (a)	ZnSO_4 (b)	$\text{FeSO}_4+\text{ZnSO}_4$ (ab)
空白组	-	-	46.32±1.23 ⁱ	46.32±1.23 ⁱ	46.32±1.23 ^j
对照组	-	-	77.11±3.65 ^h	77.11±3.65 ^h	77.11±3.65 ⁱ
实验组	5.6	10	77.25±12.97 ^{Bh}	123.08±18.50 ^{Ag}	95.63±11.10 ^{ABh}
	11.2	20	87.55±9.32 ^{Cgh}	180.17±12.96 ^{Af}	126.56±13.23 ^{Bg}
	16.8	30	96.00±9.20 ^{Cfg}	300.42±9.78 ^{Ae}	156.67±12.26 ^{Bf}
	22.4	40	105.92±10.38 ^{Cef}	425.13±15.26 ^{AcD}	200.00±9.53 ^{Be}
	28.0	50	114.50±11.12 ^{Cde}	523.00±20.04 ^{Aa}	246.98±10.68 ^{Bd}
	33.6	60	125.75±11.09 ^{Cd}	520.32±17.26 ^{Aa}	284.62±12.36 ^{Bc}
	39.2	70	152.75±13.56 ^{Cc}	483.59±14.20 ^{Ab}	317.17±12.55 ^{Bb}
	44.8	80	183.25±12.67 ^{Cb}	459.26±16.24 ^{Ab}	358.00±9.24 ^{Ba}
	50.4	90	148.42±10.32 ^{Cc}	432.17±21.62 ^{Ac}	351.58±10.56 ^{Ba}
	56.0	100	209.25±9.55 ^{Ca}	405.16±16.33 ^{Ad}	326.12±12.22 ^{Bb}

注：同一行不同营养强化剂类型的差异显著性用大写字母表示，同一列相同营养强化剂不同浓度的差异显著性用小写字母表示；显著性水平为 $p<0.05$ 。

表3 不同浓度铁锌营养强化下大豆及其干种子的铜含量

Table 3 Total copper content ($\mu\text{g/g}$ dry matter) in seeds and sprouted soybean seeds germinated in different concentrations of FeSO_4 and ZnSO_4

	营养剂浓度/ $(\mu\text{g/mL})$		铜含量/ $(\mu\text{g/g})$		
	Fe	Zn	FeSO_4 (a)	ZnSO_4 (b)	$\text{FeSO}_4+\text{ZnSO}_4$ (ab)
空白组	-	-	$10.62\pm 0.59^{\text{cd}}$	$10.62\pm 0.59^{\text{ab}}$	$10.62\pm 0.59^{\text{bc}}$
对照组	-	-	$11.17\pm 1.30^{\text{bc}}$	$11.17\pm 1.30^{\text{a}}$	$11.17\pm 1.30^{\text{abc}}$
实验组	5.6	10	$11.17\pm 1.56^{\text{Abc}}$	$10.46\pm 0.42^{\text{Aab}}$	$11.17\pm 1.63^{\text{Aabc}}$
	11.2	20	$11.17\pm 2.03^{\text{Abc}}$	$11.17\pm 0.85^{\text{Aa}}$	$9.17\pm 0.12^{\text{Ac}}$
	16.8	30	$13.00\pm 1.08^{\text{Aab}}$	$9.33\pm 0.63^{\text{Bbc}}$	$9.17\pm 1.96^{\text{Bc}}$
	22.4	40	$13.25\pm 0.52^{\text{Aa}}$	$9.46\pm 0.53^{\text{Bbc}}$	$13.00\pm 1.02^{\text{Aa}}$
	28.0	50	$11.17\pm 0.48^{\text{Bbc}}$	$10.85\pm 0.41^{\text{Ba}}$	$12.36\pm 0.58^{\text{Aab}}$
	33.6	60	$9.21\pm 0.06^{\text{Ad}}$	$9.33\pm 0.25^{\text{Abc}}$	$11.17\pm 2.56^{\text{Aabc}}$
	39.2	70	$10.45\pm 0.08^{\text{ABcd}}$	$9.33\pm 0.21^{\text{Bbc}}$	$11.16\pm 1.03^{\text{Aabc}}$
	44.8	80	$11.04\pm 0.84^{\text{Ac}}$	$10.46\pm 0.28^{\text{Aab}}$	$11.13\pm 1.42^{\text{Aabc}}$
	50.4	90	$11.17\pm 0.25^{\text{Abc}}$	$9.16\pm 0.37^{\text{Bc}}$	$11.15\pm 0.65^{\text{Aabc}}$
	56.0	100	$9.16\pm 0.65^{\text{Bd}}$	$10.23\pm 0.78^{\text{ABabc}}$	$11.17\pm 0.79^{\text{Aabc}}$

注: 同一行不同营养强化剂类型的差异显著性用大写字母表示, 同一列相同营养强化剂不同浓度的差异显著性用小写字母表示; 显著性水平为 $p<0.05$ 。

表4 不同浓度铁锌营养强化下大豆及其干种子的锰含量

Table 4 Total manganese content ($\mu\text{g/g}$ dry matter) in seeds and sprouted soybean seeds germinated in different concentrations FeSO_4 and ZnSO_4

	营养剂浓度/ $(\mu\text{g/mL})$		锰含量/ $(\mu\text{g/g})$		
	Fe	Zn	FeSO_4 (a)	ZnSO_4 (b)	$\text{FeSO}_4+\text{ZnSO}_4$ (ab)
空白组	-	-	$17.28\pm 1.05^{\text{d}}$	$17.28\pm 1.05^{\text{c}}$	$17.28\pm 1.05^{\text{a}}$
对照组	-	-	$3.12\pm 0.14^{\text{e}}$	$3.12\pm 0.14^{\text{f}}$	$3.12\pm 0.14^{\text{f}}$
实验组	5.6	10	$18.83\pm 1.39^{\text{AcD}}$	$18.23\pm 0.46^{\text{Aabc}}$	$1.50\pm 0.06^{\text{Bg}}$
	11.2	20	$19.67\pm 1.52^{\text{Abc}}$	$19.05\pm 0.28^{\text{Aab}}$	$2.17\pm 0.43^{\text{Bg}}$
	16.8	30	$24.67\pm 1.20^{\text{Aa}}$	$19.33\pm 0.76^{\text{Ba}}$	$2.17\pm 0.09^{\text{Cg}}$
	22.4	40	$24.31\pm 1.16^{\text{Aa}}$	$14.67\pm 0.95^{\text{Be}}$	$7.67\pm 0.15^{\text{Cb}}$
	28.0	50	$19.67\pm 0.95^{\text{Abc}}$	$15.06\pm 0.54^{\text{Be}}$	$4.50\pm 0.35^{\text{Ce}}$
	33.6	60	$18.76\pm 0.54^{\text{AcD}}$	$15.62\pm 0.35^{\text{Bde}}$	$3.83\pm 0.34^{\text{Ce}}$
	39.2	70	$19.52\pm 0.34^{\text{Abc}}$	$14.67\pm 1.05^{\text{Be}}$	$4.50\pm 0.31^{\text{Ce}}$
	44.8	80	$19.33\pm 0.46^{\text{Abc}}$	$17.00\pm 1.69^{\text{Bcd}}$	$5.33\pm 0.43^{\text{Cd}}$
	50.4	90	$20.50\pm 0.89^{\text{Abc}}$	$17.42\pm 1.05^{\text{Bbc}}$	$4.50\pm 0.03^{\text{Be}}$
	56.0	100	$20.65\pm 0.57^{\text{Ab}}$	$17.58\pm 1.24^{\text{Bbc}}$	$6.17\pm 0.51^{\text{Cc}}$

注: 同一行不同营养强化剂类型的差异显著性用大写字母表示, 同一列相同营养强化剂不同浓度的差异显著性用小写字母表示; 显著性水平为 $p<0.05$ 。

3 结论

研究表明, FeSO_4 与 ZnSO_4 联合作为铁锌营养强化剂能够提升大豆中的铁、锌含量。相同的铁、锌浓度下, 大豆铁含量由高到低的强化方法为 $\text{FeSO}_4+\text{ZnSO}_4$, FeSO_4 , ZnSO_4 , 锌含量由高到低的强化方法为 ZnSO_4 , $\text{FeSO}_4+\text{ZnSO}_4$, FeSO_4 。 FeSO_4 的添

加对大豆锌的吸收有抑制作用, 能够降低铁强化大豆中锌含量的 19.22%~57.78%。 ZnSO_4 能够促进铁的吸收, 提高了大豆中铁含量的 6.70%~81.27%, 在一定浓度范围 (30~60 $\mu\text{g Zn/mL}$) 内提升大豆铁蛋白的含量。 ZnSO_4 单独作用于大豆时, 对大豆的铁吸收无显著影响, 且抑制铁蛋白的合成。 3 种营养强化剂对大豆萌发过程中铜元素无显著影响, FeSO_4 能够提升大豆中

锰含量, FeSO₄ 与 ZnSO₄ 同时添加时, 锰元素含量降低。3 种营养强化剂对大豆萌发后抗氧化活性的影响并无显著差异 ($p>0.05$)。本实验表明, 5.6~56 $\mu\text{g Fe/mL}$, 10~100 $\mu\text{g Zn/mL}$ 的铁锌营养强化剂浓度能够提高大豆萌发过程中的铁、锌含量, 铁、锌互相作用影响大豆对其余微量元素的吸收及其抗氧化活性。

参考文献

- [1] Benítez V, Cantera S, Aguilera Y, et al. Impact of germination on starch, dietary fiber and physicochemical properties in non-conventional legumes [J]. Food Research International, 2013, 50(1): 64-69
- [2] 王莘,王艳梅,董浩.豆类萌发期矿物质元素和糖类含量变化的研究[J].扬州大学学报(农业与生命科学版),2003, 24(2):72-74
WANG Xin, WANG Yan-mei, DONG Hao. Studies on the change of mineral element and total sugar in legumes during sprouting period [J]. Journal of Yangzhou University (Agricultural and Life Sciences Edition), 2003, 24(2): 72-74
- [3] Zielińskadawidziak M, Siger A. Effect of elevated accumulation of iron in ferritin on the antioxidants content in soybean sprouts [J]. European Food Research & Technology, 2012, 234(6): 1005-1012
- [4] Barrameda-Medina Y, Blasco B, Lentini M, et al. Zinc biofortification improves phytochemicals and amino-acidic profile in Brassica oleracea cv. Bronco [J]. Plant Science, 2017, 258: 45-51
- [5] Briat J F, Lobréaux S, Grignon N, et al. Regulation of plant ferritin synthesis: how and why [J]. Cellular & Molecular Life Sciences Cmls, 1999, 56(1-2): 155-166
- [6] Zou T, Xu N, Hu G, et al. Biofortification of soybean sprouts with zinc and bioaccessibility of zinc in the sprouts [J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2015, 94(14): 3053-3060
- [7] † M K S, Sharma V, Goyal A, et al. In vivo assessment of iron bioavailability from fortified pearl millet based weaning food [J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2016, 96: 4410-4415
- [8] Guillénmolina M, Márquezquiroz C, Cruzlázar E D L, et al. Biofortificación de frijol caupí (*Vigna unguiculata L. Walp*) con hierro y zinc [J]. Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas, 2016: 3427-3438
- [9] 吕晨艳.大豆铁蛋白吸收铁的途径及体外细胞吸收研究[D].北京:中国农业大学,2015
LV Chen-yan.The pathway of iron deposition in soybean seed ferritin and research on ferritin uptake by Caco-2 cells in vitro [D]. Beijing: China Agricultural University, 2015
- [10] Masuda T. Soybean ferritin forms an iron-containing oligomer in tofu even after heat treatment [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2015
- [11] Felizeter S, Mclachlan M S, De V P. Root uptake and translocation of perfluorinated alkyl acids by three hydroponically grown crops [J]. J Agric. Food. Chem., 2014, 62(15): 3334-3342
- [12] Niedzielski P, Zielinska-Dawidziak M, Kozak L, et al. Determination of iron species in samples of iron-fortified food [J]. Food Analytical Methods, 2014, 7(10): 2023-2032
- [13] Xia Q, Wang L, Xu C, et al. Effects of germination and high hydrostatic pressure processing on mineral elements, amino acids and antioxidants *in vitro* bioaccessibility, as well as starch digestibility in brown rice (*Oryza sativa L.*) [J]. Food Chemistry, 2017, 214: 533-542
- [14] 叶汉侠,王甫才.18 种中草药抗氧化活性的比较研究[J].浙江万里学院学报,2004,17(5):111-113
YE Han-xia, WANG Fu-cai. Comparative study of antioxidant activities of some medicinal herbs [J]. Journal of Zhejiang Wanli University, 2004, 17(5): 111-113
- [15] Vasconcelos M W, Gruissem W, Bhullar N K. Iron biofortification in the 21st century: setting realistic targets, overcoming obstacles, and new strategies for healthy nutrition [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2017, 44: 8-15
- [16] Qu Y N, Zhou Q, Yu B J. Effects of Zn²⁺ and niflumic acid on photosynthesis in Glycine soja and Glycine max seedlings under NaCl stress [J]. Environmental & Experimental Botany, 2009, 65(3): 304-309
- [17] 祝美云,王艳萍,王成章,等.用 HPLC 法测定富铁锌苜蓿芽氨基酸的含量[J].食品科学,2007,28(8):438-441
ZHU Mei-yun, WANG Yan-ping, WANG Cheng-zhang, et al. Determination of amino acids content in alfalfa sprouts bud enriched iron and zinc with HPLC method [J]. Food Science, 2007, 28(8): 438-441
- [18] Kaya C, Higgs D, Burton A. Foliar application of iron as a remedy for zinc toxic tomato plants [J]. Journal of Plant Nutrition, 1999, 22(12): 1829-1837
- [19] 章艺,刘鹏,史锋,等.过量 Fe²⁺对大豆叶肉细胞超微结构的影响[J].植物营养与肥料学报,2005,11(1):87-91
ZHANG Yi, LIU Peng, SHI Feng, et al. Effect of excessive Fe²⁺ on leaf cells ultrastructure of soybean [J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2005, 11(1): 87-91

- [20] Verma T S, Tripathi B R. Zinc and iron interaction in submerged paddy [J]. *Plant & Soil*, 1983, 72(1): 107-116
- [21] 李淑艳. 萌发过程大豆蛋白质动态变化及营养价值的研究 [D]. 北京: 北京林业大学, 2009
LI Shu-yan. Dynamic analysis on soybean seed protein and nutrition during germination [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2009
- [22] Ravet K, Touraine B, Boucherez J, et al. Ferritins control interaction between iron homeostasis and oxidative stress in Arabidopsis [J]. *Plant Journal for Cell & Molecular Biology*, 2009, 57(3): 400-412
- [23] Briat J F, Duc C, Ravet K, et al. Ferritins and iron storage in plants [J]. *Biochimica Et Biophysica Acta*, 2010, 1800(8): 806-814
- [24] Fasaei R G. The influence of iron chelate and zinc sulfate on the growth and nutrient composition of chickpea grown on a calcareous soil [J]. *Iran Agricultural Research*, 2015, 34(2): 35-40

现代食品科技