

抗坏血酸及壳聚糖对大豆富硒作用的影响

黄延盛¹, 宁正祥¹, 吴小勇²

(1. 华南理工大学轻工与食品学院, 广东广州 510641) (2. 广东药学院食品科学学院, 广东中山 528458)

摘要: 本文通过比较经不同浸泡处理后, 富硒大豆的萌发率、芽长、总硒含量等; 研究了浸泡温度, 浸泡时间, 及浸泡液中亚硒酸钠浓度、抗坏血酸、壳聚糖等对大豆富硒作用的影响。通过碱提酸沉法提取得到富硒大豆蛋白, 采用氢化物原子荧光光谱法测定其硒含量。结果表明, 大豆富硒的最佳工艺条件为: 浸泡温度为 30℃, 浸泡时间为 8h, 浸泡液中亚硒酸钠浓度为 60 μg/mL 左右。在浸泡液中添加 0.08% (m/V) 的抗坏血酸对大豆的萌发和生长有利, 但会影响大豆对无机硒的吸收和转化; 若在浸泡液中同时添加 0.1% (m/V) 的壳聚糖, 则可以克服上述不利影响, 提高大豆对无机硒的吸收和转化。

关键词: 抗坏血酸; 壳聚糖; 大豆; 富硒

文章编号: 1673-9078(2013)6-1273-1276

Influence of Ascorbic Acid and Chitosan on Selenium Enrichment of Soybean

HUANG Yan-sheng¹, NING Zheng-xiang¹, WU Xiao-yong²

(1. School of Light Industry and Food Sciences, South China University of Technology, Guang zhou 510641, China)

(2. School of Food Science, Guangdong Pharmaceutical University, Zhong Shan 528458, China)

Abstract: In order to improve the selenium enrichment effect of soybean, the influence of soaking condition, ascorbic acid and chitosan on the sprouting rate and sprout length of the selenium enrichment soybean were investigated in this study. Results indicated that the ascorbic acid will improve the germination and growth of soybean seeds, and will disadvantage to the selenium enrichment of soybean, but after adding chitosan to the soaking solution, the negative influence of the ascorbic acid will extinction. The best formula of soaking solution contained 60 μg/mL Na₂SeO₃, 0.08% ascorbic acid and 0.1% chitosan. The best soaking time and temperature were 8 h and 30 °C, respectively. After processing, total selenium content and the isolated protein of the selenium-enriched soybean reached 27.31 μg/g and 31.95 μg/g, respectively.

Key words: ascorbic acid; chitosan; soybean; selenium enrichment

硒是人体必需的微量元素之一, 在人体发挥抗氧化、增强免疫能力等多种重要的生物学功能^[1-2]。上世纪 90 年代初, 在我国进行的基于临床的流行病学研究结果也表明, 每天补充 50~200 μg 的硒, 可以降低肝癌及食道癌的风险^[3]。无机硒的生物利用率较低, 且对人体有一定的毒副作用, 安全性差; 因此, 补硒首选有机硒。有机硒存在于一些天然的富硒农产品中, 但含量不高。目前市场上有机硒含量较高的产品主要是富硒酵母, 但由于酵母本身的一些特性, 其在食品中的应用受到一定限制; 有必要开发其他富含有机硒的产品。大豆富含蛋白质、不饱和脂肪酸及其他对人体健康有益的成分(如大豆异黄酮、膳食纤维等), 且可以加工成多种食品; 因此, 利用大豆在萌发过程中的生物转化能力, 制备富含有机硒的富硒大豆, 然后以富硒大豆为原料制备其他富含有机硒的产品(如富硒大豆蛋白等), 具有广阔的应用前景, 相关研究也不

少^[4-5]。本文在研究浸泡条件对富硒大豆萌发和生长状况的影响的基础上, 进一步研究了在浸泡液中添加抗坏血酸和壳聚糖对大豆富硒作用的影响。本文的研究结果将为富硒大豆的工业化生产奠定基础。

1 材料与方法

1.1 原料

东北大豆, 购于市场, 选择颗粒饱满、无虫蛀、无霉烂者进行实验。

1.2 化学试剂和仪器设备

亚硒酸钠, 先导(清远)稀有金属有限公司产品, 纯度大于 99%; 硒标准, 光谱纯, A Johnson matthey company 产品; 其他化学试剂均为 AR 级。FA2004N 型电子天平, 上海精科; AFS-920 双道原子荧光光度计, 北京吉天仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 大豆富硒工艺流程

收稿日期: 2013-01-21

参照文献^[6],采用下所示的工艺流程对大豆进行富硒处理。

大豆→冲洗→浸泡→萌发

1.3.2 浸泡温度对大豆富硒作用的影响

取5份重100g的大豆,冲洗干净后分别置于500mL烧杯中,用300mL浓度为30 $\mu\text{g/mL}$ 的亚硒酸钠溶液浸泡,浸泡环境温度分别为20、25、30、35、40 $^{\circ}\text{C}$,浸泡时间均为7h;浸泡后取出,沥干水分,称重,根据浸泡前后重量的差别,计算出各自的吸水率;然后将浸泡好的大豆置于25 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温、高湿环境(恒温水浴箱)中萌发24h;再分别计算出各样品的萌发率和芽长;比较浸泡温度对大豆吸水率、萌芽率及芽长的影响,以确定对大豆富硒作用最有利的浸泡温度。

1.3.3 浸泡时间对大豆富硒作用的影响

操作方法同1.3.2,固定浸泡温度(为1.3.2得到的最佳浸泡温度)和浸泡液中亚硒酸钠的浓度(同1.3.2),改变浸泡时间(分别为5、6、7、8、9h),通过比较富硒大豆之吸水率、萌芽率、芽长及总硒含量,确定大豆富硒的最佳浸泡时间。

1.3.4 亚硒酸钠浓度对大豆富硒作用的影响

操作方法同1.3.2,在前面实验得到的最佳浸泡温度和浸泡时间条件下,只改变浸泡液中亚硒酸钠的浓度(分别为20、30、40、50、60 $\mu\text{g/mL}$),通过比较富硒大豆之吸水率、萌芽率、芽长及总硒含量,确定大豆富硒的最佳亚硒酸钠溶液浓度。

1.3.5 抗坏血酸对大豆富硒作用的影响

操作方法同1.3.2,在前面实验得到的最佳浸泡温度和浸泡时间条件下,采用浓度分别为20、30、40、50、60 $\mu\text{g/mL}$ 的亚硒酸钠+0.08%抗坏血酸混合溶液浸泡,通过比较富硒大豆之吸水率、萌芽率、芽长及总硒含量,研究抗坏血酸对大豆富硒作用的影响。

1.3.6 壳聚糖对大豆富硒作用的影响

操作方法同1.3.2,在前面实验得到的最佳浸泡温度和浸泡时间条件下,采用浓度分别为20、30、40、50、60 $\mu\text{g/mL}$ 的亚硒酸钠+0.08%抗坏血酸+0.10%壳聚糖混合溶液浸泡,通过比较富硒大豆之吸水率、萌芽率、芽长及总硒含量,研究壳聚糖对大豆富硒作用的影响。

1.3.7 大豆吸水率、萌发率、芽长的测定

大豆经过浸泡后,取出,沥干水分,称重,浸泡前后大豆重量的差别,即为大豆的吸水量,大豆吸水量与原料大豆重量的比值即为大豆的吸水率。

萌发率是指经过浸泡、萌发处理后,样品中萌发的大豆数量占样品中大豆总数的百分比。萌发率的测定方法为,从每份萌发好的大豆样品中随机取出3份

小样,每份小样的大豆总数在30~50粒之间,计数每份小样中萌发与未萌发的大豆数,即可计算该份小样的萌发率,然后用3份小样萌发率的平均值来代表整份大豆样品的萌发率。大豆是否萌发的判定标准为伸出大豆种皮的胚根长度大于1mm。

芽长的测定为,从每份萌发好的大豆样品中随机取出3份小样,每份小样的大豆总数在10~20粒之间,用直尺量出小样中每粒大豆之伸出种皮的胚根的长度(小于1mm的计为0),全部长度之和除以大豆的粒数,即为这份小样的芽长,然后用3份小样芽长的平均值来代表整份大豆样品的芽长。

1.3.8 富硒大豆蛋白的制备

采用碱提酸沉工艺提取蛋白质,通过透析的方法除去无机盐。具体操作如下:称取一定量的富硒大豆,加10倍蒸馏水匀浆,用4%的NaOH溶液将匀浆调至pH=10,搅拌20min,然后4000r/min离心10min,取上清液,用1mol/L的HCl溶液调至pH=4.6,然后4000r/min离心10min,取沉淀,用蒸馏水分散,再装入截留分子量为3500的透析袋中,置于4~6 $^{\circ}\text{C}$ 蒸馏水中透析24h,其间每6h换一次蒸馏水,以除去可能残留于蛋白质中的硒盐及其他无机盐,然后取出透析袋内沉淀,冷冻干燥,即制得富硒大豆蛋白。

1.3.9 富硒大豆总硒含量的测定

参照国标GB/T 5009.93-2003食品中硒的测定^[7],采用氢化物原子荧光光谱法。

2 结果与讨论

2.1 浸泡温度对大豆富硒作用的影响

表1 浸泡温度对富硒大豆吸水率、萌发率及芽长的影响

Table 1 Effects of soaking temperature on water absorption, germination rate and sprout length of the selenium-enriched soybean

soybean			
浸泡温度/ $^{\circ}\text{C}$	吸水率/%	萌发率/%	芽长/cm
20	115.39	75.54	0.87
25	123.83	78.37	0.98
30	129.43	84.29	1.19
35	129.56	82.53	1.15
40	127.93	77.36	1.06

浸泡温度对大豆吸水率的影响见表1。结果表明,在20~35 $^{\circ}\text{C}$ 这一温度范围内,大豆的吸水率随温度升高而升高;但当浸泡温度为40 $^{\circ}\text{C}$ 时,吸水率反而比30 $^{\circ}\text{C}$ 和35 $^{\circ}\text{C}$ 时低,说明浸泡温度过高对大豆种子的吸水有负面影响。浸泡温度过高也不利于种子的萌发和生长,表1中的数据表明,在20~30 $^{\circ}\text{C}$ 这一温度范围内,大豆的萌发率和芽长随温度升高而升高;但当

浸泡温度超过 30 °C 后,大豆的萌发率和芽长逐渐下降。萌发率和芽长是衡量大豆生长,进而衡量其富硒能力的关键指标。从本研究的结果来看,在 30 °C 时,富硒大豆的吸水率为 129.43%,与 35 °C 时的吸水率相差不多,而萌发率为 84.29%,芽长为 1.19 cm,均比其他温度要高;因此,可以确定,在本研究中大豆富硒的最佳浸泡温度为 30 °C。

2.2 浸泡时间对大豆富硒作用的影响

表 2 浸泡时间对富硒大豆吸水率、萌发率及芽长的影响

Table 2 Effect of soaking time on water absorption, germination rate, and sprout length of the selenium enriched soybean

浸泡时间 /h	吸水率 /%	萌发率 /%	芽长 /cm	总硒含量 /($\mu\text{g/g}$)
5	113.19	72.52	1.01	9.73
6	119.51	77.39	1.15	10.58
7	125.29	88.18	1.41	11.17
8	129.16	91.41	1.77	11.52
9	130.67	82.07	1.64	11.32

在确定了最佳浸泡温度后,本文研究了不同的浸泡时间对大豆富硒作用的影响,结果见表 2。由表 2 中的数据可以看出,当浸泡时间在 8 h 以内时,富硒大豆的吸水率、萌发率、芽长及总硒含量均随浸泡时间的延长而升高;但当浸泡时间超过 8 h 以后,除的吸水率略有升高外,萌发率、芽长及总硒含量反而有所下降;因此,可以确定最佳的浸泡时间为 8 h。

2.3 亚硒酸钠浓度对大豆富硒作用的影响

表 3 亚硒酸钠浓度对富硒大豆吸水率、萌发率、芽长及总硒含量的影响

Table 3 Effect of Na_2SeO_3 concentration on water absorption, germination rate, sprout length and selenium content of the selenium enriched soybean

亚硒酸钠浓度 /($\mu\text{g/mL}$)	吸水率 /%	萌发率 /%	芽长 /cm	总硒含量 /($\mu\text{g/g}$)
20	124.06	76.49	0.91	6.59
30	125.57	73.60	1.12	11.56
40	126.25	80.96	1.37	16.44
50	126.90	88.04	1.37	18.86
60	127.05	90.59	1.26	21.54

在确定了大豆富硒作用的最佳浸泡温度、浸泡时间后,本文进一步研究了浸泡液中亚硒酸钠浓度对大豆富硒作用的影响,结果见表 3。从表 3 中的数据可以看出,在 20~60 $\mu\text{g/mL}$ 的浓度范围内,除芽长外,富硒大豆的吸水率、萌发率和总硒含量都随亚硒酸钠

浓度的升高而升高,且生长状况均比较好,说明浸泡液中亚硒酸钠的浓度还可以进一步升高。

表 4 亚硒酸钠浓度对富硒大豆吸水率、萌发率及芽长的影响

Table 4 Effect of Na_2SeO_3 concentration on water absorption, germination rate and sprout length of the selenium enriched soybean

亚硒酸钠浓度 /($\mu\text{g/mL}$)	吸水率 /%	萌发率 /%	芽长 /cm
50	126.82	91.08	1.76
100	125.91	83.51	1.42
150	125.32	72.02	1.13
200	125.19	67.82	0.95
250	125.09	58.30	0.81

为探索大豆种子能够耐受的亚硒酸钠浓度的范围,本研究进一步采用浓度分别为 50、100、150、200、250 $\mu\text{g/mL}$ 的亚硒酸钠溶液浸泡大豆,进行大豆富硒实验,实验结果见表 4。结果表明,当浸泡液中亚硒酸钠浓度大于 100 $\mu\text{g/mL}$ 后,大豆的萌发和生长明显受到抑制,富硒大豆的吸水和萌发都随亚硒酸钠浓度的升高而显著下降(见表 4)。鉴于萌发率和芽长这两个指标是衡量富硒绿豆生长状况的最直观的指标,而富硒绿豆的生长状况决定了其对无机硒的吸收和转化能力;因此,结合表 3 和表 4 中的数据可以看出,浸泡液中亚硒酸钠的浓度在 60 $\mu\text{g/mL}$ 左右对大豆富硒作用最有利。

2.4 抗坏血酸和壳聚糖对大豆富硒作用的影响

吴小勇等的研究发现,富硒处理会抑制萌发绿豆种子中抗坏血酸的合成^[8]。他们研究还发现,在亚硒酸钠浸泡液中添加一定浓度的抗坏血酸,富硒绿豆种子的萌发和生长均得到改善,但富硒量却显著下降;而在浸泡液中添加一定量的壳聚糖又能克服抗坏血酸带来的负面影响,提高富硒绿豆的硒含量。本文进一步研究了抗坏血酸和壳聚糖对大豆富硒作用的影响,结果见图 1 和图 2。由图 1 可以看出,在相同亚硒酸钠浓度的条件下,添加了抗坏血酸浸泡的富硒大豆吸水率、萌芽率及芽长都比未添加抗坏血酸的对照样高;说明浸泡液中的抗坏血酸对富硒大豆的萌发和生长有促进作用。图 2 结果显示,在相同亚硒酸钠浓度的条件下,添加了抗坏血酸浸泡的富硒大豆,其总硒含量明显比未添加抗坏血酸的对照样低;说明浸泡液中的抗坏血酸不利于大豆对浸泡液中无机硒的吸收。

壳聚糖是良好的种衣剂材料,用其处理种子,可提高种子的发芽率,增强幼苗的抗病能力,促进作物生长^[9-10]。本文研究壳聚糖对大豆富硒作用的影响,

结果见图 1 和图 2。

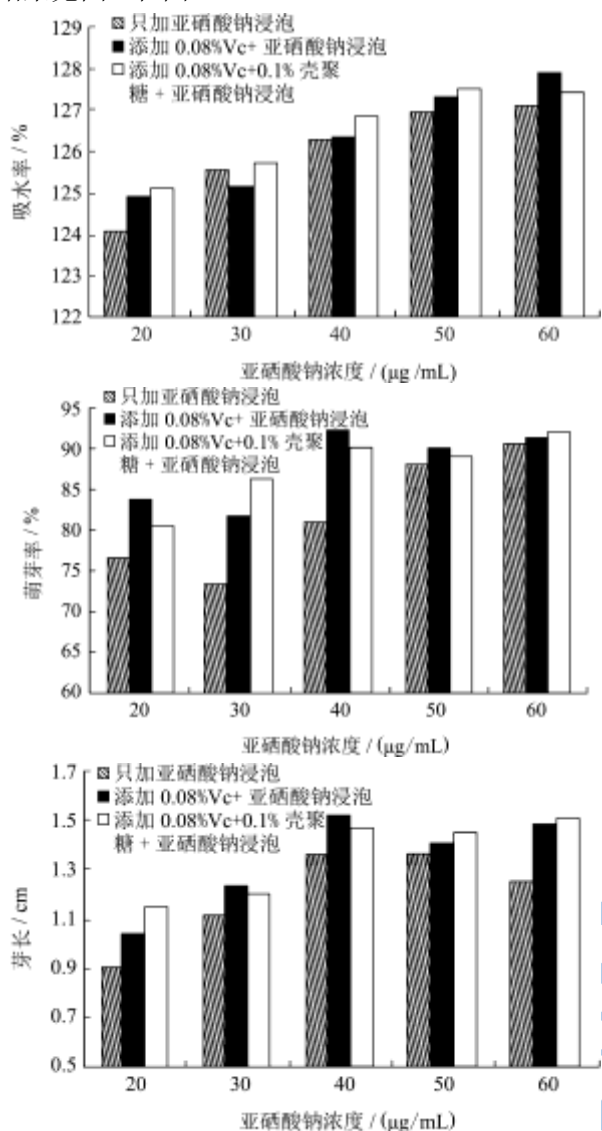


图 1 抗坏血酸和壳聚糖对大豆吸水率、萌芽率及芽长的影响
Fig.1 Effects of ascorbic acid and chitosan on water absorption, germination rate, and sprout length of the selenium enriched soybean

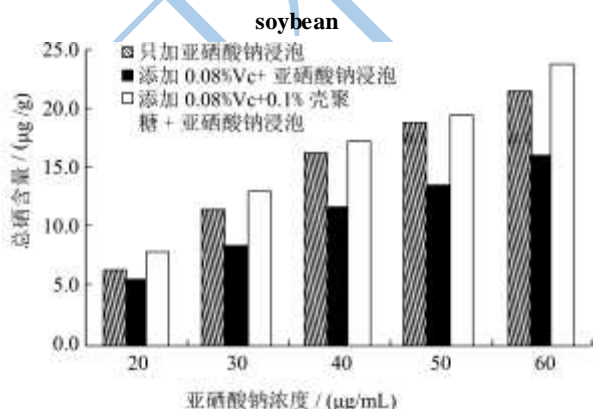


图 2 抗坏血酸和壳聚糖对大豆富硒含量的影响

Fig.2 Effect of ascorbic acid and chitosan on selenium content of the selenium enriched soybean

从图 1 和图 2 可以看出，在相同亚硒酸钠浓度条

件下，同时添加了壳聚糖和抗坏血酸浸泡的样品，比只添加抗坏血酸浸泡的样品和两者均不添加的样品的吸水率、萌芽率、芽长及总硒含量都要高；说明同时添加壳聚糖和抗坏血酸，在保证大豆较好的发芽生长的同时也促进了大豆对硒的吸收和转化，其具体作用机制值得进一步研究。

2.5 富硒大豆蛋白的提取及硒含量的测定

表 5 富硒大豆蛋白提取与硒含量测定结果

Table 5 Protein content and selenium content of the selenium enriched soybean

试验号	总硒含量 / (µg/g)	蛋白质的硒含量 / (µg/g)
1	17.62	19.67
2	23.35	25.81
3	26.01	29.90
4	22.46	26.58
5	27.31	31.95
6	19.15	20.11
7	25.81	29.03
8	18.80	21.19
9	24.13	26.28

本研究对 9 个富硒大豆样品进行了蛋白质提取及蛋白硒含量测定，结果见表 5。从表 5 中的数据可知，9 个富硒大豆样品中，总硒含量最高的为 27.31 µg/g，其相应的蛋白质中的硒含量高达 31.95 µg/g。况冲等以黄豆芽为富硒载体，制备出富硒黄豆芽并分离出富硒量为 21.23 µg/g 的富硒大豆蛋白^[11]，其硒含量稍低于本研究制备得到的富硒大豆蛋白。

3 结论

本文研究了浸泡温度，浸泡时间，及浸泡液中亚硒酸钠浓度、抗坏血酸、壳聚糖等对大豆富硒作用的影响。结果表明，大豆富硒的最佳工艺条件为：浸泡温度为 30 °C，浸泡时间为 8 h，浸泡液中亚硒酸钠浓度为 60 µg/mL 左右。在浸泡液中添加 0.08% (m/V) 的抗坏血酸对大豆的萌发和生长有利，但会影响大豆对无机硒的吸收和转化；若在浸泡液中同时添加 0.1% (m/V) 的壳聚糖，则可以克服上述不利影响，提高大豆对无机硒的吸收和转化。本文还通过碱提酸沉法从富硒大豆中提得富硒大豆蛋白，并采用氢化物原子荧光光谱法测得其硒含量为 31.95 µg/g；蛋白硒占富硒大豆总硒的 50% 左右。本文的研究结果将为富硒大豆及富硒大豆蛋白的工业化生产奠定基础。

参考文献

- [1] 肖颜颜,王晓洁,戴小曼,等.富硒大麦苗对小鼠免疫功能的调节[J].食品科学,2009,30(23):401-405
- [2] 廖明,吴蕴棠,孙忠,等.硒对氧化损伤大鼠肝细胞凋亡的影响[J].营养学报,2010,32(5):466-469
- [3] John Weldon Finley. Increased intakes of selenium-enriched foods may benefit human health [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2007, 87(10): 1620-1629
- [4] 樊翠,张红,杨润强,等.大豆发芽期间硒富集能力[J].食品科学,2011,32(20):17-20
- [5] 宋娇娇,张红,杨润强,等.富硒大豆芽不同部位与大分子中硒的分布[J].江南大学学报(自然科学版),2011,10(3): 323-327
- [6] 吴小勇,王志,王秀霞,等.绿豆富硒工艺研究[J].食品工业科技,2008,29(2):197-198,299
- [7] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会. GB/T 5009.93-2003,食品中硒的测定[S].北京:中国标准出版社,2004,661-668
- [8] 吴小勇,黄琳,黄芳,等.富硒处理对萌发绿豆中几种营养成分变化的影响[J].现代食品科学,2009,25(3):245-248
- [9] 李习宾,郭素娟.壳聚糖成膜剂包衣性能及对油松种子萌发的影响[J].种子,2012,31(4):15-19
- [10] 李习宾,郭素娟.壳聚糖成膜剂包衣性能及对油松种子萌发的影响[J].种子,2012,31(4):15-19
- [11] 况冲,郭晓玲,张永忠,等.富硒大豆蛋白的研制[J].食品工业科技,2008,29(6):192-194