

# 富硒平菇粉的抗癌活性评价及富硒代糖面包的研制

余嘉莲, 丁静华, 罗晓琪, 李国坤, 董嘉华, 黄永莹, 陈晓熠\*

(广州医科大学公共卫生学院, 广东广州 511436)

**摘要:** 该研究采用不同总硒浓度的富硒平菇粉联合 5-FU 处理肝癌细胞 HepG2, 应用 CCK-8 法、流式细胞术双染法探讨富硒平菇粉联合 5-FU 的抑癌效果, 并以富硒平菇粉为原料研制一款富硒代糖面包, 为富硒功能食品研发提供参考依据。结果表明, 富硒平菇粉对肝癌细胞 HepG2 增殖有抑制作用, 抑制率范围为 13.89%~27.39%; 不同总硒浓度的富硒平菇粉联合 5-FU 干预 HepG2 肝癌细胞 36 h 后, 凋亡细胞数量呈硒作用浓度依赖性增高 ( $p<0.05$ ); 总凋亡率分别是 26.36%~49.72%, 且凋亡率高于 5-FU 组 ( $p<0.05$ )。富硒代糖面包的最佳加工工艺配方为: 200 g 面粉中富硒平菇粉添加量为 0.06 g, 复配代糖添加量为 25 g, 烘烤温度为上下火 175 °C, 烘烤时间为 20 min, 总硒含量为  $(0.17\pm 0.01)$  mg/kg。综上所述, 采用不同总硒浓度的富硒平菇粉联合 5-FU 处理肝癌细胞 HepG2, 发现富硒平菇粉联合 5-FU 可抑制 HepG2 肝癌细胞生长, 起到增效解毒的作用, 并成功研制出富硒代糖面包的最佳工艺, 具有较好的研究和应用价值。

**关键词:** 富硒平菇; 5-FU; 肝癌; 复配代糖; 面包

文章编号: 1673-9078(2023)01-177-184

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.1.0220

## Anticancer Activity Evaluation of Selenium-enriched *Pleurotus ostreatus* Fungus Powder and Development of Selenium-enriched Sugar Substitute Bread

YU Jialian, DING Jinghua, LUO Xiaoqi, LI Guokun, DONG Jiahua, HUANG Yongying, CHEN Xiaoyi\*

(School of Public Health, Guangzhou Medical University, Guangzhou 511436, China)

**Abstract:** Selenium (Se)-enriched *Pleurotus ostreatus* fungus powder with different total Se concentrations was used in combination with 5-FU to treat HepG2 hepatocellular carcinoma cells. The CCK-8 and flow cytometry double staining methods were applied to investigate the tumor suppressive effect of Se-enriched *P. ostreatus* fungus powder combined with 5-FU. The Se-enriched *P. ostreatus* fungus powder was then used as the raw material to develop a Se-enriched sugar substitute bread, providing scientific evidence for the development of Se-enriched functional foods. The results demonstrate that the Se-enriched *P. ostreatus* fungus powder had an inhibitory effect on the proliferation of HepG2 hepatocellular carcinoma cells, with the inhibition rate ranging from 13.89% to 27.39%. The number of apoptotic cells in HepG2 hepatocellular carcinoma increased in a concentration-dependent manner after treatment with different total Se concentrations of Se-rich *P. ostreatus* fungus powder combined with 5-FU for 36 h ( $p<0.05$ ). The total apoptosis rates were 26.36%~49.72%, respectively, and the apoptosis rates were higher than those in the 5-FU group ( $p<0.05$ ). The optimal processing formula of Se-enriched sugar-substitute bread was as follows: 0.06 g Se-enriched *P. ostreatus* fungus powder was added to 200 g flour with 25 g compound sugar substitute and baked at 175 °C for 20 min; the total Se content was  $0.174\pm 0.011$  mg/kg. In conclusion, when HepG2 hepatoma cells were treated with Se-enriched *P. ostreatus* fungus powder at different total Se concentrations combined with 5-FU, HepG2 hepatoma cell growth was inhibited, increasing the efficiency of detoxification. The optimal

引文格式:

余嘉莲, 丁静华, 罗晓琪, 等. 富硒平菇粉的抗癌活性评价及富硒代糖面包的研制[J]. 现代食品科技, 2023, 39(1): 177-184

YU Jialian, DING Jinghua, LUO Xiaoqi, et al. Anticancer activity evaluation of selenium-enriched *Pleurotus ostreatus* fungus powder and development of selenium-enriched sugar substitute bread [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(1): 177-184

收稿日期: 2022-03-02

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81773428)

作者简介: 余嘉莲 (1991-), 女, 硕士, 研究方向: 营养与食品卫生学, E-mail: 364303214@qq.com;

通讯作者: 陈晓熠 (1965-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 营养与食品卫生学, E-mail: wwchenxy1@163.com

processing formula of Se-enriched sugar substitute bread, which has various research and application values, was also developed.

**Key words:** selenium-enriched *Pleurotus ostreatus* fungus; 5-FU; liver cancer; compound sugar substitute; bread

肝癌是一种威胁人类生命健康安全的恶性肿瘤, 发病率在我国居第五位, 死亡率居第二位, 已成为肿瘤发病和死亡的主要负担<sup>[1]</sup>。5-氟尿嘧啶(5-FU)是目前常用于肝癌的一种化疗药物, 虽然治疗效果明显, 但毒副作用较大, 如何有效进行早期预防和提高肝癌临床治疗效果是目前亟待解决的问题。研究表明, 将具有抗癌活性的天然活性产物或药食同源物质与化疗药物联用治疗癌症时, 可起到增效解毒的作用<sup>[2]</sup>。

硒是人和哺乳动物必需的微量元素之一, 具有抗氧化、抗炎症、抗肿瘤等生物学作用, 以无机亚硒酸盐或有机硒酸盐的形式存在于植物和其他有机食物中。有机硒多以硒代蛋氨酸、硒蛋白等有机硒化合物形式参与机体生命活动, 无机硒则大多被机体直接代谢消耗掉, 并对人体有一定的毒害作用, 而食用菌是一种良好的硒生物转化载体, 能够将无机硒转化为安全有效的有机硒, 且研究表明, 食用菌中硒含量增加后会一定程度强化食用菌的生物功能<sup>[3]</sup>。平菇是我国当前栽培产量最高的四大食用菌种之一, 具有抗肿瘤、降血糖、抗氧化等药理活性, 采用平菇作为有机硒富集的微生物载体, 能够有效地提高平菇中有机硒的含量, 且富硒平菇较其他富硒保健品具有成本低, 生产工艺简单的优势, 与金针菇这类较平价的菇相比, 其耐硒能力更强<sup>[4,5]</sup>, 具有更广阔的应用前景。但目前关于富硒平菇粉与化疗药物联合干预肝癌的研究鲜见报道。本研究利用富硒平菇粉联合 5-FU 干预 HepG2 肝癌细胞, 初步探讨富硒平菇粉联合 5-FU 的抑癌效果。

面包是以小麦粉为基本原料制成的面制品, 具有生产简单, 方便携带, 储存时间长等优点, 在日常生活中颇受人们的喜爱。目前市场上富硒面包常通过富硒酵母粉和富硒面粉制作而成, 由于酵母粉和面粉是面包制作的主要原料, 其添加量的多少不仅会影响面包的工艺, 也使富硒面包中硒的含量较难控制, 众所周知, 硒的缺乏和过量对健康都有一定的影响, 因此, 本研究以富硒平菇粉为原料研制一种能够控制硒含量且不影响制作工艺的富硒代糖面包, 为富硒功能食品研发提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

#### 1.1.1 材料

富硒平菇粉, 硒含量 310  $\mu\text{g/g}$ , 其中有机硒含量占 99.8%, 广州莱品健康科技有限公司; 人肝癌细胞株 HepG2, 实验室现存; 人正常肝细胞株 L02, 实验室现存; 5-FU 注射液, 上海旭东海普药业有限公司; DMEM 培养基、RPMI 1640 培养基、青-链霉素溶液、胎牛血清、PBS 缓冲液、胰蛋白酶, 美国 Gibco 公司; CCK-8 试剂, 北京鼎国昌盛生物科技有限公司; FITC Annexin V Apoptosis Detection Kit with PI 试剂盒, 七海生物科技有限公司; 高筋小麦粉, 河南新良粮油加工有限责任公司; 复配代糖, 广州莱品健康科技有限公司; 高活性干酵母, 安琪酵母股份有限公司; 食盐、鸡蛋、玉米油, 市售; 牛奶: 市售纯牛奶。

#### 1.1.2 仪器

电子天平, 普利赛斯科学仪器有限公司; 二氧化碳培养箱, 美国 Nuair; 全自动酶标仪, 赛默飞世尔科技公司; 双目显微镜, 日本 Nikon 公司; BD AccuriC6 流式细胞仪, 美国 BD 公司; CS-B7A 厨师机, 大草原厨师机有限公司; ACL-6 电烤箱: 广东美的厨房电器制造有限公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 富硒平菇粉的抗癌活性研究方法

(1) CCK-8 法测定富硒平菇粉及 5-FU 对 HepG2 细胞的增殖抑制作用

实验组加入由富硒平菇粉母液与基础培养基配制的培养液, 使培养液总硒含量分别为 0.1、0.2、0.4、0.8、1.6、3.2  $\mu\text{g/L}$ 、对照组为 5-FU (80  $\mu\text{g/mL}$ )、空白组 (0  $\mu\text{g/L}$ )、调零孔 (含基础培养基), 每个浓度设 5 个复孔, 各孔上清液终体积均为 100  $\mu\text{L}$ 。利用酶标仪测定各孔吸光值 (OD 值), 按下列公式计算细胞增殖抑制率 (IR, %):

$$IR = \frac{OD_{\text{对照孔}} - OD_{\text{实验孔}}}{OD_{\text{对照孔}}} \times 100\%$$

(2) Annexin V/PI 双染法检测富硒平菇粉联合 5-FU 对 HepG2 细胞凋亡的影响

将肝癌细胞 HepG2 按照每孔  $2.5 \times 10^5$  个接种至 6 孔板中, 加入完全培养基培养, 待细胞完全贴壁, 进入对数生长期时, 吸出旧培养基, 根据实验分组分别进行不同浓度药物处理, 经处理后加入 5  $\mu\text{L}$  FITC-Annexin V、10  $\mu\text{L}$  PI, 反应结束后上机进行流式分析。

## 1.2.2 富硒代糖面包研发方法

## (1) 感官评价标准

按照国标 GB/T 20981-2007《面包》对富硒面包进行感官评价<sup>[6]</sup>。由 10 人组成感官品评小组对面包根据评分标准进行评分, 并取平均值作为面包的总分。

表 1 感官评分标准

Table 1 Sensory scoring criteria

指标	总分/分	评分标准	评分范围/分
组织形态	20	松软细腻, 气孔细密、分布均匀	16~20
		较松软, 有掉渣现象	10~16
		粗糙, 掉渣	<10
弹性	20	有一定弹性	16~20
		略有弹性	10~16
		无弹性, 伴有皴裂	<10
风味	20	有浓郁的麦香, 咸甜适中	16~20
		焦香味较淡	10~16
		有异味	<10
色泽	20	表皮呈金黄色	16~20
		表皮呈黄褐色	10~16
		表皮呈白色	<10
口感	20	松软, 细腻	16~20
		较松软, 口感尚好	10~16
		硬, 口感粗糙	<10
总分	100	-	0~100

## (2) 富硒代糖面包单因素试验

分别探究表 2 所示各因素对面包品质的影响, 考察各因素对富硒代糖面包品质的影响, 通过单因素试验, 以感官评分为指标, 确定各因素的最适添加范围。

表 2 单因素水平设计

Table 2 Single factor design

因素	水平
富硒平菇粉添加量/g	0.04、0.06、0.08、0.10、0.12
代糖添加量/g	20、25、30、35、40
烘烤温度/°C	160、165、170、175、180
烘烤时间/min	20、25、30、35、40

## (3) 富硒代糖面包正交试验

根据单因素试验结果设计四因素三水平正交设计试验, 考察富硒平菇粉添加量(A)、代糖添加量(B)、烘烤温度(C)和烘烤时间(D)对富硒代糖面包制作工艺的影响。实验设计如表 3。

## (4) 富硒代糖面包的总硒含量测定

根据 GB5009.268-2016《食品安全国家标准-食品中多元素的测定》第一法电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)测定面包总硒含量。

表 3 富硒代糖面包正交试验因素水平

Table 3 Factor levels of orthogonal test

水平	因素			
	富硒平菇粉添加量(A)/g	复配代糖添加量(B)/g	烘烤温度(C)/°C	烘烤时间(D)/min
1	0.04	20	165	20
2	0.06	25	170	25
3	0.08	30	175	30

## 1.3 实验数据的统计与分析

运用 SPSS 17.0 统计软件对资料进行统计分析。计量资料正态分布数据以均值±标准差( $\bar{x} \pm s$ )进行统计描述, 多组数据的组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 各组间多重比较采用 Bonferroni 检验; 检验水准  $\alpha$  (双侧) 设为 0.05。

## 2 结果与讨论

## 2.1 富硒平菇粉的抗癌活性

## 2.1.1 富硒平菇粉对肝癌细胞 HepG2 的增殖抑制作用

表 4 富硒平菇粉干预 HepG2 细胞的增殖抑制率

Table 4 Inhibition rate of proliferation of HepG2 cells by selenium-enriched *Pleurotus ostreatus* powder (%),  $\bar{x} \pm s$ , n=3

Se 浓度/( $\mu\text{g/L}$ )	36 h	48 h
0.0	0.00±0.00	0.00±0.00
0.1	5.23±1.02*	13.89±1.36*
0.2	8.85±1.65*	16.02±1.25*
0.4	10.65±1.24*	19.65±1.32*
0.8	14.91±1.32*	21.8±1.42*
1.6	18.83±1.26*	25.71±1.30*
3.2	23.35±1.18*	27.39±1.26*

注: 与空白组相比, \* $p < 0.05$ 。

利用不同总硒浓度的富硒平菇粉处理肝癌细胞 HepG2, 通过 CCK-8 法检测细胞生长情况, 结果如表 4 所示, 富硒平菇粉对肝癌细胞 HepG2 增殖有抑制作用, 抑制率范围为 13.89%~27.39%, 此时随着总硒浓度的增加, 对细胞的抑制作用越强。同样地, 赵晶等<sup>[7]</sup>的研究也表示, 富硒食用菌富硒灵芝孢子粉对肝癌细胞 HepG2 有较为明显的抑制作用, 且其抑制作用随着浓度的增加而增加。

## 2.1.2 富硒平菇粉联合 5-FU 可抑制肝癌细胞 HepG2 的增殖

经 CCK-8 法检测结果显示, 在不同总硒浓度的富硒平菇粉联合 5-FU 作用于 HepG2 细胞 24 h 后, 细胞

抑制率范围为 16.76%~23.70%；在作用 36 h 后细胞抑制率范围为 39.67%~49.46%；在作用 48 h 后细胞抑制率范围为 70.67%~73.56%。5-FU 及 5-FU 联合不同浓度富硒平菇粉在作用于 HepG2 细胞 24 h、36 h、48 h 后，与空白组相比均有显著抑制作用，具有统计学差异 ( $p < 0.05$ )，且随含硒浓度增加，对细胞的生长抑制作用越强。当总硒浓度分别为 0.8、1.6、3.2  $\mu\text{g/L}$  的富硒平菇粉联合 5-FU 作用于 HepG2 细胞 24 h 和 36 h 时，抑制率均明显高于 5-FU 干预组 ( $p < 0.05$ )，48 h 时则无明显差异 ( $p > 0.05$ )。

且结合表 4 和表 5 的结果显示，当总硒浓度为 3.2  $\mu\text{g/L}$  的富硒平菇粉联合 5-FU 作用于 HepG2 细胞比总硒浓度为 3.2  $\mu\text{g/L}$  的富硒平菇粉单独作用于 HepG2 细胞和 5FU 单独作用于 HepG2 细胞的抑制率都要高，可推测富硒平菇粉联合 5FU 可能会增强肝癌治疗效果。5-氟尿嘧啶 (5-FU) 是常见的治疗肝癌的化疗药物，虽然有一定疗效，但会出现胃肠道反应、

脱发以及骨髓抑制等<sup>[8]</sup>毒副作用，有研究表明，将具有抗癌活性的天然活性产物或药食同源物质与化疗药物联用于治疗癌症，可起到增效解毒的作用，如柚皮素联合 5-FU 可抑制大肠癌 LoVo 细胞增殖，促进细胞凋亡，且较单独用药时的作用效果更为显著，具有良好的协同增效作用<sup>[9]</sup>，这一结论与本文研究结果相似。

### 2.1.3 富硒平菇粉可缓解 5-FU 对正常肝细胞 L02 的损伤

由表 6 可知，当总硒浓度为 0.4  $\mu\text{g/L}$  以上时的富硒平菇粉联合 5-FU 作用于 L02 正常肝细胞 36 h 和 48 h 后，抑制率均显著低于 5-FU 干预组 ( $p < 0.05$ )，表明富硒平菇粉可在一定程度上缓解 5-FU 对 L02 细胞的抑制作用，这可能与富硒平菇粉中含有的硒多糖有关。有研究表明<sup>[10]</sup>，硒多糖能诱导癌细胞凋亡，抑制肿瘤细胞的增殖或直接杀死癌细胞，同时可以提高正常细胞的活力，维持细胞的正常活性。

表 5 不同硒浓度富硒平菇粉联合 5-FU 干预 HepG2 细胞不同时间后的抑制情况

Table 5 Inhibition of HepG2 at different concentrations of selenium-enriched *Pleurotus ostreatus* powder combined and 5-FU treatment

组别	$(\bar{x} \pm s, n=3)$					
	24 h		36 h		48 h	
	OD 值	抑制率/%	OD 值	抑制率/%	OD 值	抑制率/%
空白组	1.73 $\pm$ 0.04	0.00	1.84 $\pm$ 0.01	0.00	2.08 $\pm$ 0.06	0.00
5-FU (80 $\mu\text{g/mL}$ )	1.46 $\pm$ 0.01*	15.60	1.16 $\pm$ 0.02*	36.96	0.64 $\pm$ 0.01*	69.23
Se(0.1 $\mu\text{g/L}$ )+5-FU	1.44 $\pm$ 0.01*	16.76	1.11 $\pm$ 0.02*	39.67	0.61 $\pm$ 0.01*	70.67
Se(0.2 $\mu\text{g/L}$ )+5-FU	1.39 $\pm$ 0.03*	19.65	1.10 $\pm$ 0.01*	40.22	0.61 $\pm$ 0.03*	70.89
Se(0.4 $\mu\text{g/L}$ )+5-FU	1.36 $\pm$ 0.02*	21.39	1.07 $\pm$ 0.03*	41.85	0.60 $\pm$ 0.01*	71.15
Se(0.8 $\mu\text{g/L}$ )+5-FU	1.34 $\pm$ 0.01* <sup>#</sup>	22.54	1.03 $\pm$ 0.03* <sup>#</sup>	44.02	0.59 $\pm$ 0.01*	71.63
Se(1.6 $\mu\text{g/L}$ )+5-FU	1.33 $\pm$ 0.04* <sup>#</sup>	23.12	0.98 $\pm$ 0.05* <sup>#</sup>	46.74	0.58 $\pm$ 0.01*	72.12
Se(3.2 $\mu\text{g/L}$ )+5-FU	1.32 $\pm$ 0.03* <sup>#</sup>	23.70	0.93 $\pm$ 0.01* <sup>#</sup>	49.46	0.55 $\pm$ 0.01*	73.56

注：与空白组比较\* $p < 0.05$ ；与 5-FU 组比较# $p < 0.05$ 。

表 6 不同硒浓度富硒平菇粉联合 5-FU 干预 L02 细胞 36 h、48 h 后的抑制情况

Table 6 Inhibition of L02 at different concentrations of selenium-enriched *Pleurotus ostreatus* powder combined and 5-FU treatment

组别	$(\bar{x} \pm s, n=3)$			
	36 h		48 h	
	OD 值	抑制率/%	OD 值	抑制率/%
空白组	1.54 $\pm$ 0.02	0	2.30 $\pm$ 0.10	0
5-FU (80 $\mu\text{g/mL}$ )	0.89 $\pm$ 0.01*	42.56	0.73 $\pm$ 0.04*	68.26
Se (0.1 $\mu\text{g/L}$ )+5-FU	1.04 $\pm$ 0.03*	32.82	0.77 $\pm$ 0.02*	66.52
Se (0.2 $\mu\text{g/L}$ )+5-FU	1.06 $\pm$ 0.02*	31.20	0.85 $\pm$ 0.02*	63.04
Se (0.4 $\mu\text{g/L}$ )+5-FU	1.10 $\pm$ 0.01* <sup>#</sup>	28.87	0.89 $\pm$ 0.01* <sup>#</sup>	61.30
Se (0.8 $\mu\text{g/L}$ )+5-FU	1.15 $\pm$ 0.02* <sup>#</sup>	25.56	0.91 $\pm$ 0.03* <sup>#</sup>	60.43
Se (1.6 $\mu\text{g/L}$ )+5-FU	1.16 $\pm$ 0.01* <sup>#</sup>	24.98	0.93 $\pm$ 0.02* <sup>#</sup>	59.57
Se (3.2 $\mu\text{g/L}$ )+5-FU	1.16 $\pm$ 0.02* <sup>#</sup>	24.59	1.02 $\pm$ 0.02* <sup>#</sup>	55.65

注：与空白组比较\* $p < 0.05$ ；与 5-FU 组比较# $p < 0.05$ 。

### 2.1.4 富硒平菇粉联合 5-FU 促进肝癌细胞 HepG2 的凋亡

流式细胞仪检测不同总硒浓度的富硒平菇粉联合 5-FU 干预 HepG2 肝癌细胞 36 h 后, 分析其凋亡率发现: 空白组、5-FU+Se(0.8 μg/L)、5-FU+Se(1.6 μg/L)、5-FU+Se(3.2 μg/L) 组的早期凋亡率分别是 1.21%、22.1%、30.2% 和 43.2%, 呈浓度依赖性增高( $p < 0.05$ )。总凋亡率分别是 9.96%、26.36%、35.53%、49.72%,

表 7 不同硒浓度富硒平菇粉联合 5-FU 干预 HepG2 细胞 36 h 后的凋亡率

Table 7 Apoptosis rate of HepG2 at different concentrations of selenium-enriched *Pleurotus ostreatus* powder combined with 5-FU

treatment after 36 h ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )			
组别	早期凋亡率/%	晚期凋亡率/%	总凋亡率/%
空白组	1.21 ± 0.11	8.75 ± 0.80	9.96 ± 0.82
5-FU	21.3 ± 0.53*	5.03 ± 0.46*	26.01 ± 0.35*
Se (0.8 μg/L)+5-FU	22.1 ± 0.87*	4.36 ± 0.31*	26.46 ± 0.55*
Se (1.6 μg/L)+5-FU	30.2 ± 0.82*#	5.33 ± 0.25*	35.53 ± 0.90*#
Se (3.2 μg/L)+5-FU	43.2 ± 0.85*#	6.52 ± 0.20*	49.72 ± 0.91*#

注: 与空白组比较 \* $p < 0.05$ ; 与 5-FU 组比较 # $p < 0.05$ 。

### 2.2 富硒代糖面包的工艺研究

面包是以小麦粉为基本原料制成的面制品, 具有生产简单, 方便携带, 储存时间长等优点, 在日常生活中颇受人们的喜爱。硒是人和哺乳动物必需的微量元素之一, 可直接或间接地清除体内氧自由基, 具有抗氧化、抗炎症、抗肿瘤等生物学作用。我国成年人的硒每日摄入量在 20~30 μg, 摄入量严重不足<sup>[13]</sup>, 但硒不能在人体内合成, 必须由人体摄入。平菇已被人证实拥有较高的富硒能力<sup>[14]</sup>, 且富含大量的有机硒<sup>[15]</sup>, 因此, 富硒平菇粉可以作为富硒产品的中间载体, 由富硒平菇粉制作而成的富硒面包也为硒的补充提供了一种良好的途径。

#### 2.2.1 富硒平菇粉添加量对感官评价的影响

富硒平菇粉用量对感官评分的影响见图 1。

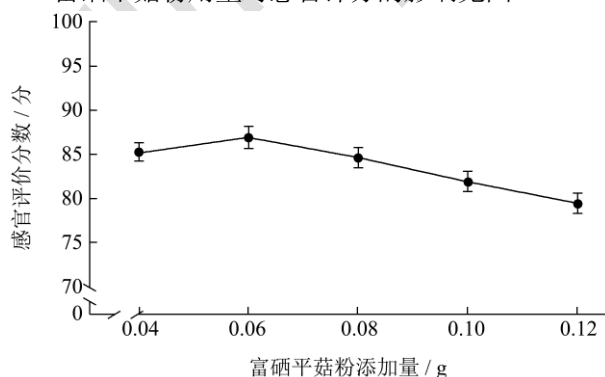


图 1 富硒平菇粉添加量对感官评分的影响

Fig.1 Effect of selenium-enriched *Pleurotus ostreatus* powder on sensory score

也呈明显浓度依赖性增高 ( $p < 0.05$ )。目前已有研究表明缺硒是引发原发性肝癌的危险因素<sup>[11]</sup>, 且多项前期研究表明富硒食用菌具有抗癌活性, 如富硒冬虫夏草可以诱导卵巢癌细胞 (SKOV-3) 凋亡, 影响肺癌细胞 (H1299) 和肝癌细胞 (HepG2) 活力<sup>[12]</sup>, 本文用富硒平菇粉联合 5-FU 干预 HepG2 肝癌细胞结果说明, 5-FU 联合富硒平菇粉时肝癌细胞的凋亡率高于单独 5-FU 组, 说明 5-FU 能够促进肝癌细胞的凋亡。

如图 1 所示, 当富硒平菇粉添加量为 0.06 g 时, 面包口感细嫩绵软, 且烘烤面包香气明显, 更具有独特的平菇菌类风味。添加量较大时会影响面团品质, 这与李波<sup>[16]</sup>的结果相近。根据感官评价分数, 选取富硒平菇粉添加量 0.04 g、0.06 g、0.08 g 进一步进行正交试验。

#### 2.2.2 复配代糖添加量对感官评价的影响

固定富硒平菇粉添加量为 0.06 g, 烘烤温度为上下火 170 °C, 烘烤时间为 30 min, 分别添加 20、25、30、35、40 g 复配代糖, 探究复配代糖添加量对面包感官评价的影响。

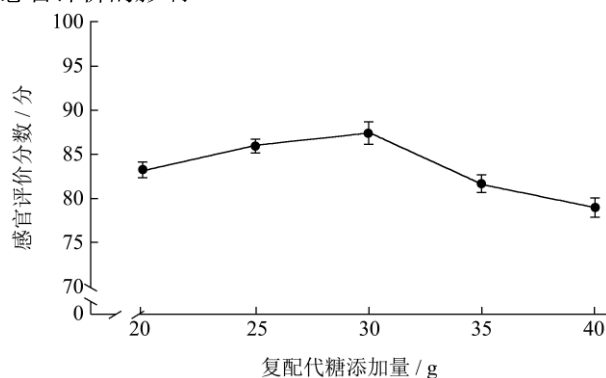


图 2 复配代糖添加量对感官评分的影响

Fig.2 Effect of compound sugar substitute on sensory score

如图 2 所示, 复配代替添加量在 30 g 时分数最高。当添加量不超过 30 g 时, 随着复配代糖添加量的增加, 富硒代糖面包感官评价分数增加, 但当添加量超过 30 g 时, 面包表皮颜色变暗淡, 滋味过甜, 影响面包口感, 因此感官评价分数下降。这与朱海霞<sup>[17]</sup>、罗登

林<sup>[18]</sup>的结果相近。因此,选取复配代糖添加量 20 g、25 g、30 g 作为正交试验水平。

### 2.2.3 烘烤温度对感官评价的影响

固定富硒平菇粉添加量为 0.06 g, 复配代糖添加量为 30 g, 烘烤时间为 30 min, 分别设定烘烤温度为 160℃、165℃、170℃、175℃、180℃。探究烘烤温度对面包感官评价的影响:

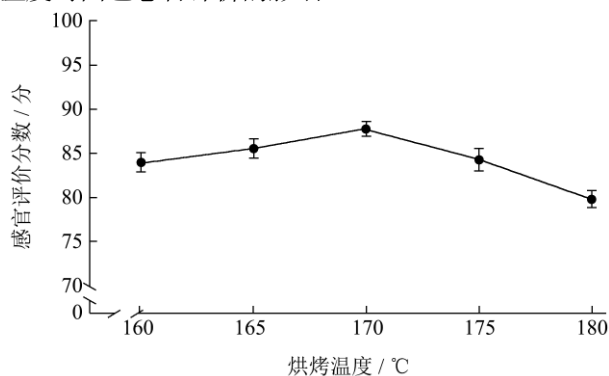


图3 烘烤温度对感官评分的影响

Fig.3 Effect of baking temperature on sensory score

如图3所示,烘烤温度在170℃时分数最高。当烘烤温度在170℃以下时,面包的颜色从奶白色到金黄色,面包香气愈来愈浓郁,面包柔软度适中;当烘烤温度超过170℃时,富硒代糖面包变为焦黄色,底部变黑,出现焦糊味,品质水平锐减明显。这与黄慧福<sup>[19]</sup>的结果相近。根据感官评价分数,选取烘烤温度165℃、170℃、175℃进一步进行正交试验。

### 2.2.4 烘烤时间对感官评价的影响

如图4所示,烘烤时间在30min时分数最高。当烘烤时间在30min以下时,面包的颜色均匀,蓬松度好,口感松软;当烘烤时间超过30min时,富硒代糖面包表面色泽变深,表皮变硬,口感变粗糙,品质水平急剧下降,这与赵敏<sup>[20]</sup>的研究结果相近。根据感官评价分数,选取烘烤时间20min、25min、30min进一步进行正交试验。

由单因素试验结果可见,上述四个因素对面包的感官评分都有影响,均纳入正交设计试验。

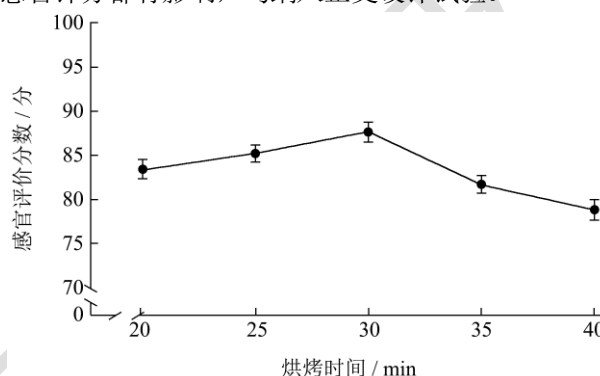


图4 烘烤时间对感官评分的影响

Fig.4 Effect of baking time on sensory score

### 2.2.5 富硒代糖面包制作工艺正交试验结果与分析

正交试验水平与因素见表8。

表8 富硒代糖面包制作工艺正交试验

Table 8 Factor levels of orthogonal test

实验组	富硒平菇粉添加量(A)/g	复配代糖添加量(B)/g	烘烤温度(C)/°C	烘烤时间(D)/min	综合评分
1	0.04	20.00	165.00	20.00	87.20
2	0.04	25.00	170.00	25.00	86.70
3	0.04	30.00	175.00	30.00	83.60
4	0.06	20.00	170.00	30.00	81.50
5	0.06	25.00	175.00	20.00	91.40
6	0.06	30.00	165.00	25.00	86.70
7	0.08	20.00	175.00	25.00	84.80
8	0.08	25.00	165.00	30.00	84.30
9	0.08	30.00	170.00	20.00	85.50
K1	257.50	253.50	258.20	264.10	
K2	259.60	262.40	253.70	258.20	
K3	254.60	255.80	259.80	249.40	
k1	85.83	84.50	86.07	88.03	
k2	86.53	87.47	84.57	86.07	
k3	84.87	85.27	86.60	83.13	
R	1.67	2.97	2.03	4.90	

由表 8 可知,以感官评价得分为指标,通过极差分析各因素对感官评价的影响,得出烘烤时间对面包品质的影响最大,其次是复配代糖添加量,烘烤温度次之,富硒菇粉添加量的影响最小,通过 K 值对比得出 A2B2C3D1 为各因素的最优水平组合,且其感官评价综合评分为 91.4,高于其他试验组感官评价分数,确定最优配方为:富硒菇粉添加量为 0.06 g,复配代糖添加量为 25 g,烘烤温度为上下火 175 °C,烘烤时间为 20 min。以最佳工艺制作的富硒代糖面包细嫩绵软,气孔均匀,表皮有光泽,呈金黄色,有浓郁的烘烤面包香气,松软适口,易咀嚼,且无正常视力可见外来异物。

根据表 8 可知,通过极差分析各因素对感官评价的影响,结果显示富硒平菇粉添加量的大小对面包的工艺影响不大,说明该方法所制作的富硒面包可以控制硒的含量且不影响制作工艺。

### 2.2.6 富硒代糖面包和普通蔗糖面包中总硒含量的检测

对富硒代糖面包进行硒元素的测定,检测结果如表 9 所示。

表 9 富硒代糖面包与普通面包总硒含量检测结果

Table 9 Test results of total selenium content in selenium enriched sugar substitute bread and ordinary bread

(x̄±sd, n=3)		
面包种类	富硒代糖面包	普通蔗糖面包
硒含量/(mg/kg)	0.17±0.01*	0.02±0.00

注:与普通蔗糖面包相比,\* $p<0.05$ 。

由表 9 可看出,富硒代糖面包中硒含量为 0.174 mg/kg,满足 GB 14880-2012《食品营养强化剂使用标准》中对富硒食品总硒含量的要求,远高于同配方但未添加富硒平菇及复配代糖的普通蔗糖面包( $p<0.05$ )。

目前市场上富硒面包主要是通过添加富硒酵母粉、富硒面粉和富硒添加原料三种方法制作的,不同方法制作的面包硒的含量参差不齐,说明富硒面包存在较难把控硒的含量的问题。刘小阳<sup>[21]</sup>用富硒酵母研发的一款亚健康人群保健食品富硒面包中,检测到的面包中硒的含量 0.478 6 mg/kg,而《食品营养强化剂使用标准》中对面包中总硒含量的要求为 0.14 mg/kg~0.28 mg/kg,这款面包中硒的含量超出标准要求最大量的 2 倍之多。同样地,在汪雪雁等<sup>[22]</sup>和顾宗珠<sup>[23]</sup>研发的富硒面包中检测出硒的含量分别为 0.492 1 mg/kg、0.518 7 mg/kg,远远超出了营养强化食品中硒的含量。而在韦金娜<sup>[24]</sup>等人用富硒高筋粉在不同的发酵工艺下探讨火龙果富硒面包的品质,结果

指出普通中种法硒的含量下降较慢,值得注意的是无论是哪种方法,其最高硒含量也仅 0.14 mg/kg,刚好达到营养强化食品的标准。而本研究所制作的富硒代糖面包中硒的总含量为 0.174 mg/kg,不仅满足《食品营养强化剂使用标准》,且表 8 结果可知,富硒平菇粉添加量的大小对面包的工艺影响不大,因此,该方法所制作的富硒面包比其他方法所制的富硒面包能较好的控制硒的含量,从而保证硒的合理的摄入,维持机体健康。

### 3 结论

富硒平菇粉联合化疗药物 5FU 可提高对 HepG2 肝癌细胞抑制率,降低 5FU 对正常细胞的毒害作用,可能会增强肝癌治疗效果,这一结论为临床应用提供了十分有价值的参考。

成功以富硒平菇粉为原料研制了一款风味宜人的富硒代糖面包,确定最优配方为:富硒菇粉添加量为 0.06 g,复配代糖添加量为 25 g,烘烤温度为上下火 175 °C,烘烤时间为 20 min,该研究结论使富硒代糖面包在营养与健康领域的应用提供了基础。

### 参考文献

- [1] P-Rayman Margaret. Selenium and human health [J]. The Lancet, 2012, 379(9822)
- [2] 刘玲,卓滋泽,马文军.硒与肿瘤的关系研究进展[J].环境与健康杂志,2013,30(9):844-848
- [3] L Zhao, Zhao G, Zhao Z, et al. Selenium distribution in a Se-enriched mushroom species of the genus *Ganoderma* [J]. J Agric Food Chem, 2004, 52(12): 3954-3959
- [4] 王伟.富硒平菇的研究[D].合肥:安徽农业大学,2010
- [5] 林琳,谢必峰,施巧琴,等.富硒金针菇的深层培养及其特性[J].中国食用菌,1997,2:36-38
- [6] GB/T20981-2007,面包[S]
- [7] 赵晶,邱楚英,李静芬,等.高破壁富硒灵芝孢子粉对人肝癌细胞 HepG2 的抑制作用[J].广州中医药大学学报,2014, 31(1): 75-78,166-167
- [8] T Miyazaki, Sohda M, Tanaka N, et al. Phase I/II study of docetaxel, cisplatin, and 5-fluorouracil combination chemoradiotherapy in patients with advanced esophageal cancer [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2015, 75(3): 449-455
- [9] 周跃.柚皮素联合 5-FU 对大肠癌侵袭和凋亡的影响及机制研究[D].咸宁:湖北科技学院,2020
- [10] Kaleta B, Górski A, Zagoédèon R, et al. Selenium-containing polysaccharides from *Lentinula edodes*-Biological activity [J].

- Carbohydrate Polymers, 2019, 223: 115078
- [11] 杜明,胡小松,王聪,等.富硒灵芝硒蛋白(Se-GL-P)生化性质的初步分析[J].生物化学与生物物理进展,2007,3:299-305
- [12] M Zhong, Wang L-H, Ma H, et al. Effect of selenium-protein polysaccharide extracted from Se-rich *Cordyceps militaris* on tumor-bearing mice [J]. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*, 2008, 33(18): 2120-2123
- [13] 段亮亮.硒的生理功能和富硒保健食品开发[J].现代食品, 2018,1:42-45
- [14] 杨成龙.平菇深层培养富集硒初步研究[J].福建轻纺,1999,8: 1-4,8
- [15] 彭炜.富硒平菇中硒蛋白的提取及特膳食品的开发[D].贵阳:贵州大学,2016
- [16] 李波,聂远洋,常站站,等.添加平菇粉对面条品质特性的影响[J].中国食用菌,2018,37(6):64-67
- [17] 朱海霞,程丽丽,丁娅娜.无糖面包的研制[J].农产品加工(学刊),2013,16:38-40
- [18] 罗登林,赵影,徐宝成,等.天然菊粉对面团发酵流变学和面包品质的影响[J].食品科学,2018,39(6):26-31
- [19] 黄慧福,黄娇.芥菜面包的研制[J].粮油食品科技,2017,25(3): 33-36
- [20] 赵敏.欧式杂粮面包的工艺研究[J].现代食品,2018,19: 162-163,176
- [21] 刘小阳.亚健康人群保健食品富硒面包的研制[J].池州学院学报,2016,6:37-40
- [22] 汪雪雁,张钦发.营养富硒发酵面包的研制[J].粮食与油脂, 2015,8:25-27
- [23] 顾宗珠.富硒面包的研制[J].粮油加工与食品机械,2003, 7:57-58,60
- [24] 韦金娜,龙琳,朱宝生,等.不同发酵工艺对火龙果富硒面包品质的影响[J].农产品加工,2020,6:29-33,38