

黄豆发芽过程中 Zn、Co 和 Se 的富集及交互作用

张世博¹, 江程明², 李秀华¹, 余以刚³

(1. 华南理工大学化学与化工学院, 广东广州 510640) (2. 广州市食品检验所, 广东广州 511400)

(3. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 本研究以黄豆发芽为手段, 采用具有交互关联功能的均匀设计 $U_{10}(10^3)$ 表设计并实施了 Zn、Co、Se 三种人体微量元素在黄豆芽菜生长过程的生物富集实验, 评价了芽菜样品的 Zn、Co 和 Se 富集量以及有机化富集量, 研究了不同 Zn、Co、Se 外源浓度组间样品生物富集量与各元素外源浓度的回归关系, 发现了各元素外源浓度对 Zn、Co 和 Se 富集的交互作用以及 Zn、Co 和 Se 的富集规律。结果表明: 交互作用发生在芽菜生长后期 (30 h 后), $[Zn \times Co]$ 和 $[Co \times Se]$ 呈现协同作用, 外源 Se 通过双重协同作用促进芽菜吸收 Zn, $[Zn \times Se]$ 和 $[Zn \times Co \times Se]$ 呈现拮抗作用, 外源 Zn 通过双重拮抗作用抑制芽菜对 Se 的吸收; 芽菜生长前期 (30 h 前) 元素的有机转化率低, 元素的富集是以物理渗析吸收为主, 生长后期 (30 h 后) 则通过各元素外源浓度的交互作用产生有机化富集, 综合评价结果表明处理方案 3、6 和 9 对获得富 Zn、Co 和 Se 的芽菜特别有效, 特别是处理方案 3 (Zn^{2+} 、 Co^{2+} 混合液: $[Zn^{2+}] = 1200 \mu g/L$, $[Co^{2+}] = 30 \mu g/L$; Se^{4+} 溶液: $[Se^{4+}] = 180 \mu g/L$) 45 h 的样品达到了最优综合 Zn、Co 和 Se 富集: $Zn^{2+} = 8.58 mg/kg$, $Co^{2+} = 63.10 \mu g/kg$, $Se^{4+} = 48.30 \mu g/kg$, 有机化率分别为 Zn 49.50%, Co 25.94%, Se 56.25%, 三个元素的富集总量基本同时达到了 Zn、Co 和 Se 在中国膳食指南中推荐摄入量, 对于 Zn、Co 和 Se 多元富集健康蔬菜的生产实际具有直接的参考作用。

关键词: 芽菜; 必需微量元素; Zn/Co/Se; 富集; 交互作用

文章编号: 1673-9078(2020)09-71-80

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.9.1133

Enrichment and Interaction of Zinc, Cobalt and Selenium during Soybean Germination

ZHANG Shi-bo¹, JIANG Cheng-ming², LI Xiu-hua¹, YU Yi-gang³

(1. School of Chemistry and Chemical Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2. Guangzhou Institute for Food Control, Guangzhou 511400, China)

(3. School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: In this study, soybean germination was investigated by using the uniform table of $U_{10}(10^3)$ with the function of disclosing the interactive correlation of different factors. The enrichment of three human essential trace elements, Zn, Co, and Se, was carried out during the germination of soybean and growth of soybean sprouts. The amounts of enriched zinc, Co and Se and their amounts after organic enrichment were evaluated, and the regression relationships between the amounts of exogenous zinc, Co and Se after bioaccumulation and the exogenous concentrations of zinc, Co and Se in different treatments were examined. The interactions of exogenous concentrations of Zn, Co and Se with their enrichment as well as the enrichment trends of Zn, Co and Se were found. The results showed that the interactions took place in the late stage of sprout growth (after 30 h), and the interactions of $[Zn \times Co]$ and $[Co \times Se]$ were synergic. The absorption of Zn by sprouts was promoted through double synergic effects of the exogenous Se, and antagonism was found between $[Zn \times Se]$ and $[Zn \times Co \times Se]$. The absorption of Se by sprouts was inhibited through double antagonistic effects of the exogenous Zn. The organic conversion rates of the elements were low at the

引文格式:

张世博, 江程明, 李秀华, 等. 黄豆发芽过程中 Zn、Co 和 Se 的富集及交互作用[J]. 现代食品科技, 2020, 36(9): 71-80

ZHANG Shi-bo, JIANG Cheng-ming, LI Xiu-hua, et al. Enrichment and interaction of zinc, cobalt and selenium during soybean germination [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(9): 71-80

收稿日期: 2019-11-20

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFD0400805); 广东省重点领域研发计划项目 (2019B020212003)

作者简介: 张世博 (1992-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 应用化学

通讯作者: 李秀华 (1970-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 应用化学; 共同通讯作者: 余以刚 (1968-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品质量与安全

early stage of sprout growth (for the first 30 h), with the enrichment of the elements mainly via physical dialysis and absorption. In the late stage of sprout growth (after 30 h), organic enrichment took place through the interactions of exogenous concentrations of the elements. The comprehensive evaluation revealed that the 3rd, 6th and 9th treatments were particularly effective for simultaneous enrichment of Zn, Co and Se in the sprouts, especially with the 3rd treatment (Zn²⁺-Co²⁺ mixture: [Zn²⁺]=1200 µg/L, [Co²⁺]=30 µg/L; Se⁴⁺ solution: [Se⁴⁺]=180 µg/L) applied for 45 h (which led to the optimized enrichment of Zn, Co and Se: Zn²⁺=8.58 mg/kg, Co²⁺=63.10 µg/kg, Se⁴⁺=48.30 µg/kg). The organic conversion rates of Zn, Co and Se were 49.50%, 25.94%, and 56.25%, respectively. The total amounts of the three enriched elements all essentially reached their recommended intakes indicated by the Chinese dietary guidelines. The obtained results provide references for the production of healthy vegetables enriched with multiple elements like Zn, Co and Se.

Key words: sprout; essential trace elements; cobalt/zinc/selenium; enrichment; interaction

锌 (Zn)、钴 (Co) 和硒 (Se) 三种元素作为人体的必需微量元素在维持人体健康方面意义重大。Zn 元素作为人体必需微量元素, 其需求量仅次于 Fe, 是生物系统中最常见的元素之一。和 Fe 元素不同的是, Zn 元素存在 2000 多种生物酶中, 几乎涵盖生物代谢活动的各个方面, 在促进人体新陈代谢、神经发育、调节机体免疫等诸多方面意义重大。人体 Zn 摄入量不足会对机体产生多种不良影响, 如导致口角溃烂、皮肤角质化, 不利于伤口愈合^[1]。已有的研究报道肝硬化^[2]、心脏病^[3]以及视觉障碍^[4]等疾病与人体 Zn 水平偏低存在相关性。Co 元素在人体中主要以维生素 B₁₂ 和辅酶的形式发挥作用, 在已知的酶促反应中, 含 Co 辅酶对于氨基酸、蛋白质、多糖、脂肪、核酸的代谢活动均有影响。在临床使用上, Co 盐被广泛用于治疗多种贫血, 对低色素小细胞贫血效果尤为良好, 人体缺 Co 还会引起代谢性酸中毒、低血糖等病症, 婴儿期缺 Co 还可能造成神经发育迟滞等严重后果^[5]。Se 元素不仅是谷胱甘肽抗氧化酶系的重要组成部分, 在提高人体抗氧化能力、增强人体免疫功能等方面效果显著, 而且还能用于治疗克山病和大骨节病, 以及缓解重金属对机体的毒性等多种生理功能^[6]。鉴于人体对 Zn、Co、Se 三种微量元素需求较大且作用极为重要, 对于上述三种微量元素的强化应引起足够重视。

利用不同生物体的生长过程进行微量元素的富集研究已有报道, 富集手段主要集中在种子萌发^[7], 菌体培养^[8], 微生物发酵^[9]和农业大田实验^[10], 研究工作主要集中在单元素富集领域, 例如 Zn^[11]、Mo^[12]、Co^[13,14] 和 Se^[15,16] 等微量元素的单独富集。鉴于这种单变量的研究成果在解决现实问题时存在的局限性, 近年的研究逐渐转向更复杂的多元素生物富集以及考察多元素富集对生物生长状态的影响等方面, 例如, 王彩霞^[17]等人利用 Se、Zn 营养液水培蔬菜研究了 Se、Zn 配施对其产量和品质的影响, 发现了不同的 Se、Zn 配比对于蔬菜的生长状态影响巨大, 只有合适 Se、Zn 配施才能达到保证产量的同时增加蔬菜中 Se、Zn、蛋白质、Vc 和

总糖的含量; 汤璐^[18]等人则利用沙培研究了药用菊花在其他大、中、微量元素共存下 Cu、Zn、Se 配施对其有效成分黄酮和绿原酸以及富 Se 的影响, 结果表明在不同的施用剂量下三种元素对药用菊花有效成分的含量表现出明显的交互性, 其中 Cu、Se 配施表现为协同, 而 Cu、Zn 配施和 Se、Zn 配施则表现为拮抗, 对于药用菊花的 Se 含量外源其他元素没有交互作用, 只与外源 Se 浓度正相关; 张玉兰^[19]等人探索了叶面外源微肥 Se、Zn 对蒙山茶树吸收微量矿质元素的影响, 发现 Se、Zn 配施既可实现茶叶富集 Se、Zn, 又对茶树吸收土壤中微量矿质元素起到交互作用, 显著促进对 Fe 的吸收, 而降低对 Mn、Cu 的吸收。以上研究的局限性仅从最终产品的元素含量、药用成分以及产量的变化笼统阐述了外源元素的交互关系的存在, 没有研究最终产品的元素存在形式, 以及有机转化程度与外源环境以及生长周期的关系, 而且共存的复杂的环境因素^[18,19]对所得的交互关系影响还没有研究。

据此, 本文提出模拟商品黄豆芽菜的生产工艺, 采用具有高阶相互作用关系功能的均匀设计表设计了富 Zn、Co 和 Se 的芽菜的培养实验方案, 在黄豆芽菜的培植过程中施加不同的 Zn、Co、Se 营养液得到不同生长周期的富 Zn、Co 和 Se 的芽菜, 评价芽菜样品 Zn、Co 和 Se 富集量以及有机化富集量, 探究 Zn、Co、Se 三元素在黄豆发芽过程中生物富集规律和交互作用, 以期得到对实际生产具有指导意义的 Zn、Co 和 Se 富集的黄豆芽菜最佳培植工艺。相对于已有研究, 本文的种子发芽时间周期更短, 可以快速实现有益微量元素的富集, 而且排除了生长过程中复杂环境因素的影响, 有利于明确揭示外源 Zn、Co 和 Se 对黄豆发芽生物富集的交互作用以及富集规律。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

黄豆(超市购买)、Na₂SeO₃、CoSO₄·6H₂O、ZnSO₄、

HNO₃、盐酸、双氧水等均为分析纯,实验用水均采用去离子水。

1.2 主要仪器与设备

CEM MAR 6 微波消解仪,美国 CEM 公司; Agilent 7700x 电感耦合等离子体质谱,安捷伦科技(中国)有限公司; LC-10 N 台式冷冻干燥机,上海力辰邦西仪器科技有限公司; LG-MF 998 高速粉碎机,广东希贵电器有限公司; DHG-9123A 电热恒温鼓风干燥箱,上海齐欣科学仪器有限公司; TG16-WS 高速离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; BS 124S 分析天平,浙江托普仪器有限公司; KH 3200DB 数控超声波清洗器,昆山禾创超声仪器有限公司; BCD-130EB 海尔冰箱,海尔电冰箱有限公司; RE-52AA 旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂。

1.3 实验方法

1.3.1 实验方案的设计

为了探究 Zn、Co、Se 三种元素在芽菜富集过程中可能存在的高阶相互关系,本研究采用均匀设计

U₁₀ (10³) 表格^[20] (表 1) 设计了实验方案。

表 1 均匀设计表格 U₁₀ (10³)

实验处理方案	Zn (A)	Co (B)	Se (C)
1	6	7	1
2	2	8	8
3	5	3	10
4	1	5	4
5	7	1	7
6	9	6	9
7	4	10	6
8	10	4	5
9	8	9	3
10	3	2	2

注:表格来源 <http://www.math.hkbu.edu.hk/UniformDesign/>。

1.3.2 Zn、Co、Se 元素的浓度设计

本研究考虑到豆芽菜在生活中的摄入量以及微量元素摄入安全性,参照 Zn、Co、Se 三种元素在膳食营养指南中的推荐值^[21],将 Zn、Co、Se 的溶液浓度设计为表 2 所示。

表 2 处理溶液的浓度安排

Table 2 The concentration arrangement of treatment solutions

处理溶液	浓度/(μg/L)									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Zn ²⁺	0	300	600	900	1200	1500	1800	2100	2400	2700
Co ²⁺	0	15	30	45	60	75	90	105	120	135
Se ⁴⁺	0	20	40	60	80	100	120	140	160	180

注: Zn²⁺、Co²⁺混合液和 Se⁴⁺溶液交替喷施^[22]。

1.4 样品的制备

1.4.1 样品的培育

芽菜的培养条件参考徐娜^[11]等人的研究,并做了适当修改。本实验的栽培基质为纯河沙。培养期间,室内温度约为 18~25℃。具体方案如下:取挑选好的大豆种子 200 粒(约 50 g),浸泡于 150 g 去离子水中 15 h,期间每 5 h 换一次水;之后改用 Zn²⁺、Co²⁺混合溶液浸种 4 h,然后改用 Se⁴⁺溶液浸种 4 h;在黑暗条件下,将浸种好的大豆种子放入催芽盘内进行催芽,催芽时间设定为 23 h,催芽期间需喷淋 2~3 次去离子水,以盘内湿润,无大量滴水为宜,同时注意通风换气。催芽结束时下胚轴长约 5 mm。将催芽好的种子均匀散布在湿润的基质上常温培养,并用相应的溶液按时间顺序每隔 7 h 交替喷淋 Zn²⁺、Co²⁺混合溶液和 Se⁴⁺溶液,芽菜生长期间应尽量保持黑暗环境,期间每隔 15 h 采一次样品,每次采样 40 粒,直至采收完

成。豆芽样品采收后立即用清水反复冲洗,之后改用去离子水清洗,以去除豆芽表面附着的溶液残留;将清洗好的豆芽样品低温吹干表面水分,放低温冰箱冷冻,同时记录豆芽的湿重数据。空白组所有的处理步骤相同,只是处理溶液为去离子水。

1.4.2 样品的干燥处理

所得样品切片后使用冷冻干燥机干燥 48 h 至恒重,记录干重数据;之后使用高速粉碎机粉碎,所得豆芽干粉密封后置于低温冰箱中保存。

1.5 样品的消解处理

所得干粉样品均采用微波消解仪进行消解处理,消解方案参考国标 GB 5009.93-2017:取 0.20~0.50 g 样品粉末置于消解罐中,加入 5 mL 浓硝酸,1 mL 过氧化氢,摇匀后放入消解仪消化。程序设定为:0~35 min 升温至 170℃,保温 20 min。消解完成后无需赶酸,消解液转移至 50 mL 容量瓶用水定容至刻度,摇

匀待测。

1.6 样品中总 Zn、Co、Se 含量的测量

本研究所得样品中的总 Zn、Co、Se 三种元素含量,均采用 Agilent 7700x 电感耦合等离子体质谱 (ICP-MS) 进行测量。测量方法参考国标 GB 5009.268-2016; 操作条件为: 射频功率 1550 W; 等离子体气流量 15.0 L/min; 载气流量 1.03 L/min; 氦气流量 4.0 mL/min; 雾化室温度 2 °C; 样品提升率 0.30 r/s; 同心雾化器; 采样/截取锥镍锥; 采样深度 8.0 mm; 采集模式跳峰; 检测方式自动; 每峰测量点数 3; 重复次数 3; 分析模式 He 碰撞池。

样品中有机态 Co、Zn 和 Se 为所得样品中的总 Zn、Co、Se 含量减去样品中无机态 Zn、Co 和 Se 含量所得^[23]。本研究的样品中无机态 Co、Zn 和 Se 浸提方案参考陈永波^[24]等人的工作并做了适当的修改; 浸提过程如下: 取约 0.75 g 样品置于 25.0 mL 离心管中, 加入 0.20 mol/L NaH_2PO_4 溶液 15.0 mL, 保持密封状态超声提取 20 min, 在 70 °C 热浸 40 min; 之后离心分离样品混液, 上清液用等体积环己烷萃取一次, 之后水相用 0.22 μm 水相微孔滤膜过滤, 所得样品即为无机态元素提取液, 冷冻待测。所得结果为样品中无机态 Zn、Co 和 Se 含量。

1.7 样品中水分含量的测量

参考国标 GB5009.3-2016 食品安全国家标准 食品中水分的测定。

1.8 数据处理

实验数据的获得均采用同一样品三次平行进样测定, 实验数据均采用 SPSS 22, Minitab 17.1, Excel 2016 软件进行处理, $p < 0.05$, 表示存在统计学显著差异, $p < 0.01$, 表示存在统计学极显著差异。

2 结果与讨论

2.1 不同处理方案对芽菜成长状态的影响

豆芽菜的下胚轴长和含水量数据是反应芽菜生长状态的最直观指标, 生长状态良好的芽菜, 具有较高的含水量以维持自身的生长需求, 下胚轴长较长, 生长活力较强。对实验中获得的所有样品点随机取 10 粒豆芽进行测量, 计算下胚轴长及含水量的平均值, 实验结果如图 1, 图 1a 是各处理方案芽菜下胚轴长随时间的变化规律, 图 1b 是各处理方案和空白对比方案的芽菜含水量随时间的变化规律。

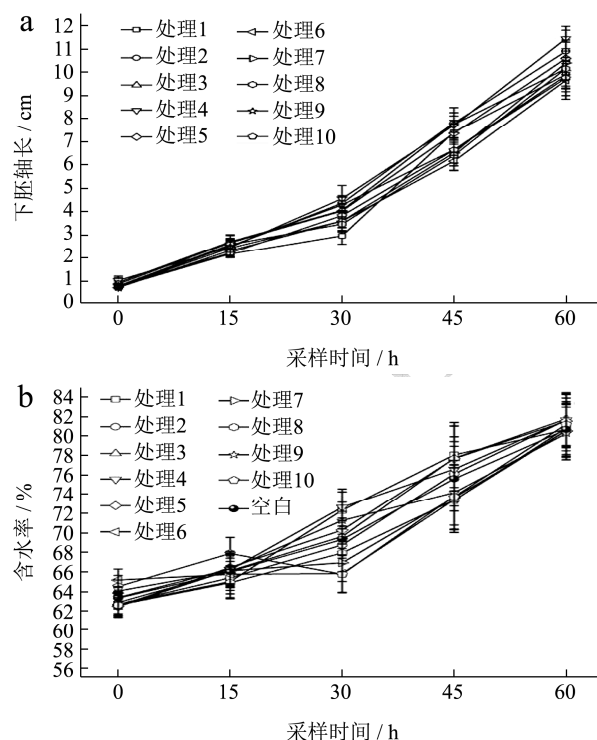


图1 不同处理方案豆芽菜的下胚轴长(a)和含水量(b)

Fig.1 Hypocotyl lengths (a) and water contents (b) of the soybean sprouts in different treatments

由图 1a 可以看出, 10 个处理方案的豆芽的生长状态良好, 随着生长时间的延长, 芽菜的下胚轴长逐步增大, 生长速度各有差异, 但差别不明显, 从芽菜生长曲线的斜率可进一步看出, 芽菜在 30 h 后生长速度要明显快于 30 h 之前。由图 1b 可以看出, 随着生长时间的延长, 芽菜对于环境水的吸收逐步增强, 芽菜样品的含水量也逐步提高, 对比空白方案样品, 芽菜生长前期 (30 h 前) 部分实验处理方案对芽菜生长具有轻微抑制作用, 表现在相同的取样时间这些处理方案的样品的含水量低于空白样品; 芽菜生长后期 (30 h 后), 10 个处理方案的样品生长趋于活跃, 60 h 所有处理方案的芽菜的含水量处于 80.25%~81.74%, 接近空白方案样品的含水量 80.66%, 但是处理方案 2、3、5 观测到明显的促进作用 (含水量处于 81.52%~81.74%), 其中处理方案 3 尤为突出, 60 h 豆芽含水量为 81.74%。综上, 不同处理方案的芽菜生长状态基本趋于一致, 所有的处理方案都可以获得与一般黄豆芽菜外观状态相似的正常富 Zn、Co 和 Se 的芽菜。

2.2 芽菜培养期间 Zn、Co、Se 元素间的相互干扰关系

已有研究文献^[25,26]表明, 在培养条件确定的条件下, 设计元素的富集量不仅和自身的外源浓度相关联,

其数值还会受到溶液中共存元素的影响。利用回归分析作为数学工具对不同实验处理方案相同采样时间进行了组间数据与处理方案的外源浓度以及处理环境共

存元素浓度进行了计算,可以得出在不同的时间节点,Zn、Co、Se 三种元素的富集量和各元素外源浓度的回归相关性(表3)。

表3 对豆芽 Zn、Co、Se 富集总量和各元素外源浓度的回归结果

Table 3 Regression analysis of the enrichments of Zn(A), Co(B) and Se(C) in bean sprouts

组间	回归方程	R	p 模型	p 变量
0 h	$A(\#1)=12.730+0.214[A]\times[A]$	R=0.71	0.02	[常量]=0.00 [A×A]=0.02
15 h	$A(\#2)=11.417+0.287[A]\times[A]$	R=0.90	0.00	[常量]=0.00 [A×A]=0.00
30 h	$A(\#3)=10.377+137.337[A]\times[B]\times[C]$	R=0.78	0.00	[常量]=0.00 [A×B×C]=0.00
45 h	$A(\#4)=8.723+172.291[A]\times[B]\times[C]-132.150[B]\times[C]$	R=0.93	0.00	[常量]=0.00 [A×B×C]=0.00 [B×C]=0.01
60 h	$A(\#5)=7.106+16.746[A]\times[B]-16.956[B]-0.179[A]\times[A]$	R=0.97	0.00	[常量]=0.00 [A×B]=0.00 [B]=0.00 [A×A]=0.02
0 h	$B(\#1)=0.048+0.666[B]$	R=0.96	0.00	[常量]=0.00 [B]=0.00
15 h	$B(\#2)=0.053+0.599 [B]$	R=0.91	0.00	[常量]=0.00 [B]=0.00
30 h	$B(\#3)=0.053+0.603 [B]$	R=0.91	0.00	[常量]=0.00 [B]=0.00
45 h	$B(\#4)=0.044+0.420 [B]+2.712 [B]\times[C]$	R=0.97	0.00	[常量]=0.00 [B]=0.00 [B×C]=0.00
60 h	$B(\#5)=0.028+0.513[B]$	R=0.95	0.00	[常量]=0.00 [B]=0.00
0 h	$C(\#1)=0.023+0.106[C]$	R=0.63	0.04	[常量]=0.00 [C]=0.04
15 h	$C(\#2)=0.018+0.106[C]$	R=0.68	0.03	[常量]=0.00 [C]=0.03
30 h	$C(\#3)=0.023+0.153[C]-0.562[A]\times[B]\times[C]$	R=0.93	0.00	[常量]=0.00 [C]=0.00 [A×B×C]=0.00
45 h	$C(\#4)=0.016+0.262[C]-0.049[A]\times[C]$	R=0.94	0.00	[常量]=0.00 [C]=0.00 [A×C]=0.03

注:表中所示回归模型均采用95%置信水平,R代表线性相关度, $p<0.05$,代表统计学水平存在显著差异, $p<0.01$,代表统计学水平存在极显著差异,+代表协同,-代表拮抗;其中,[A×B]表示Co、Zn的一阶交互作用项,[A×B×C]表示Zn、Co、Se的二阶交互作用项,以此类推。

如表3所示,在豆芽的整个生长阶段,Zn(A)、Co(B)、Se(C)三种元素的富集量和三者的处理浓度之间存在明显的回归相关性。Zn的富集规律较为复杂,在芽菜的生长前期只有Zn元素的自交互项是显著的;由图3、图4和图5所示的富集曲线可知,芽菜样品Co、Zn、Se元素的富集会受到相应元素和环境元素的外源浓度的影响,且Co、Zn、Se的外源浓度越大,这种影响越明显,当Zn、Co、Se的外源浓度达到最大时,外部环境对于芽菜特定稀有元素富集的影响趋于最大。0 h和15 h时外源Zn对芽菜总Zn含量的最大贡献值分别为1.56 mg Zn_(芽菜)/mg Zn_(外源)和2.09 mg Zn_(芽菜)/mg Zn_(外源),约占此时芽菜总Zn含量的12.25%和18.33%,如此小的占比反映出在芽菜生长前期,Zn的富集量受环境干扰较小,黄豆的固有Zn浓度处于主导地位,此时回归模型的线性相关性仅处于中等强度。按照同样的处理方法本研究得出了图2所示的Co、Zn、Se三元素存在的相互干扰关系。

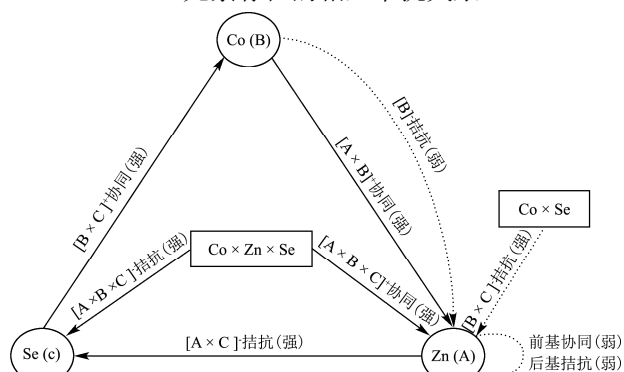


图2 芽菜生长期间, Co、Zn、Se 三元素存在的相互干扰关系

Fig.2 Mutual interference among Co, Zn and Se during the sprouting of sprouts

由图2可以看出,在芽菜生长的中后期,Co、Se对Zn的干扰开始明显,结合相应取样时间的回归方程可以看出, $[Co \times Zn \times Se]$, $[Co \times Se]$, $[Zn \times Co]$, $[Co]$ 作用项对于Zn的富集量都有影响,其中 $[Co \times Zn \times Se]$ 对Zn元素有协同性,且处于主导地位, $[Zn \times Co]$ 对Zn元素的富集也表现出较强的协同性;而 $[Co \times Se]$, $[Co]$ 作用项则对Zn的富集起到拮抗性,但这种抑制作用较弱。随着生长时间的延长,芽菜对于生长环境的依赖越来越强,模型的预测精度越来越高,45 h回归方程的R值高于0.93是最直观的体现。外源Co在芽菜的Co富集过程中始终处于主导地位,在整个生长期Co的处理浓度都处于极显著水平,回归方程的线性度高($R \geq 0.91$),外源Zn对于Co的富集没有影响。另外在芽菜的生长后期Se对Co的富集有一定的协同性。外源Se在芽菜生长的整个周期内都处于主导地位,且随着时间的延长,Se的处理浓度对Se的富集

量影响越来越大;在芽菜的生长前期,只有Se元素是显著的,说明该时间段外源Zn、Co对于Se的富集没有干扰;在芽菜生长的中后期, $[Co \times Zn \times Se]$, $[Zn \times Se]$ 对Se的富集表现出较强的拮抗性。介晓磊^[27,28]等人对于苜蓿的相关研究发现,Se肥单施和Se-Co配施都有利于作物对于Zn元素的吸收;在富Se方面,低Co高Se配施效果优于高Co高Se配施;在富Co方面,高Co高Se配施效果优于高Co低Se配施,以及Co对Se的生物吸收存在抑制作用,对Zn的生物吸收存在促进作用。Dai Hui-Ping^[10]等人的大白菜富Se研究也得出了Se能促进Zn生物吸收的结论($p < 0.05$)。这些研究结论与本文的研究结论是一致的。

2.3 芽菜对于Zn、Co、Se元素的富集规律

豆芽在生长过程中,会对周围环境中的可溶物质有一定的富集作用,利用豆芽的萌发过程可以对Zn、Co和Se元素进行富集研究,各处理方案豆芽对Zn、Co和Se元素的富集总量以及有机富集量随培育时间的变化如图3、图4和图5所示。

2.3.1 Zn元素的富集规律

图3a是不同处理方案豆芽菜的Zn总富集量随时间的变化规律,图3b是不同处理方案豆芽菜的有机Zn量随时间的变化规律。

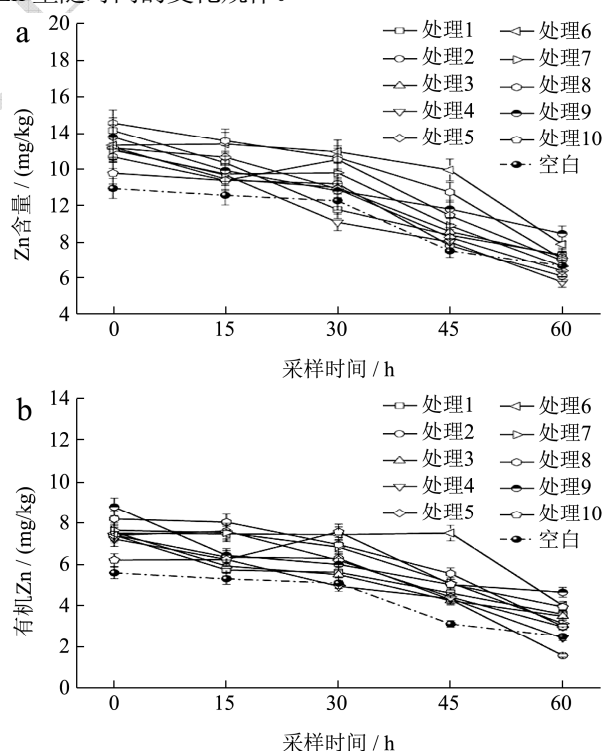


图3 不同处理方案豆芽菜的总Zn(a)和有机Zn(b)随时间的富集规律

Fig.3 Enrichments of total Zn (a) and organic Zn (b) over time in different treatments

由图3可知,Zn元素的富集总量和有机态富集量呈现出相似的变化规律,随着生长的延长呈现逐步下降的趋势,这与Zn元素对生物的促进作用是相一致的,生长活跃导致芽菜含水量逐步增长,特别是生长后期(30 h后),芽菜的含水量15 h增长超过了0.13 g/g芽菜(图1b),造成芽菜增重剧烈,稀释了富集的Zn元素。总Zn以及有机Zn在催芽结束时(下胚轴长约5 mm)浓度最高的原因在于催芽时采用 Zn^{2+} 、 Co^{2+} 混合溶液和 Se^{4+} 溶液各自浸种4 h,并在黑暗条件下进行催芽23 h,这种催芽历史造成所有实验处理方案的样品Zn元素已经发生生物富集,且由于芽菜还没有进入旺盛的生长期,芽菜的含水量处于最低点(图1b)。变化趋势随处理方案的不同而归因于Zn外源浓度以及处理环境共存元素浓度的交互作用(图2)。生长前期样品(45 h)有机化度普遍在52.30%~60.39%之间,而空白样品的有机化度为51.08%,显然生长前期Zn元素富集以物理渗析吸收为主。含水量和富集交互作用的综合影响在芽菜生长后期表现尤为突出,造成处理方案2、4、5、7的60 h样品总Zn值(5.76 mg/kg~6.65 mg/kg)低于了同期空白方案样品(6.68 mg/kg)(图3a),而有机态Zn值则表现不同规律,只有处理方案2、4的60 h样品有机态Zn值(1.57 mg/kg、2.42 mg/kg)低于了同期空白方案样品(2.50 mg/kg),其他实验处理方案60 h样品有机态Zn值(2.98~4.65 mg/kg)均高于同期空白方案样品1.19倍(图3b);特别是处理方案3、6、9的60 h样品总Zn(7.23 mg/kg、7.23 mg/kg、8.47 mg/kg)和有机Zn(3.50 mg/kg、3.50 mg/kg、4.65 mg/kg)富集表现尤为突出,分别高于同期空白方案样品(总Zn 6.68 mg/kg)1.09倍和(有机Zn 2.50 mg/kg)1.35倍,样品的有机Zn比率高于48.39%,此时空白样品的有机化度为37.42%,显然外源Zn在生长后期发生了生物有机转化吸收。本研究侧重安全有效富Zn,外源Zn的外源浓度低于2.7 mg/L(表1),对比于已有的高 Zn^{2+} 外源浓度(10~100 mg/L)大豆芽富锌研究^[11], $[\text{Zn} \times \text{Zn}]$ 自交互作用交互是相同的,本研究的生物有机转化率远高于对比文献,对比文献最佳富集在 Zn^{2+} 外源浓度100 mg/L时达到,其芽菜的Zn含量为194.18 mg/kg,但其生物可利用Zn却仅有1.87%(3.63 mg/kg),这意味着对比文献的技术富Zn豆芽大量的Zn处于无机态,其对于生物体的影响不好预测。

2.3.2 Co元素的富集规律

图4a是不同处理方案豆芽菜的Co总富集量随时间的变化规律,图4b是不同处理方案豆芽菜的有机Co量随时间的变化规律。

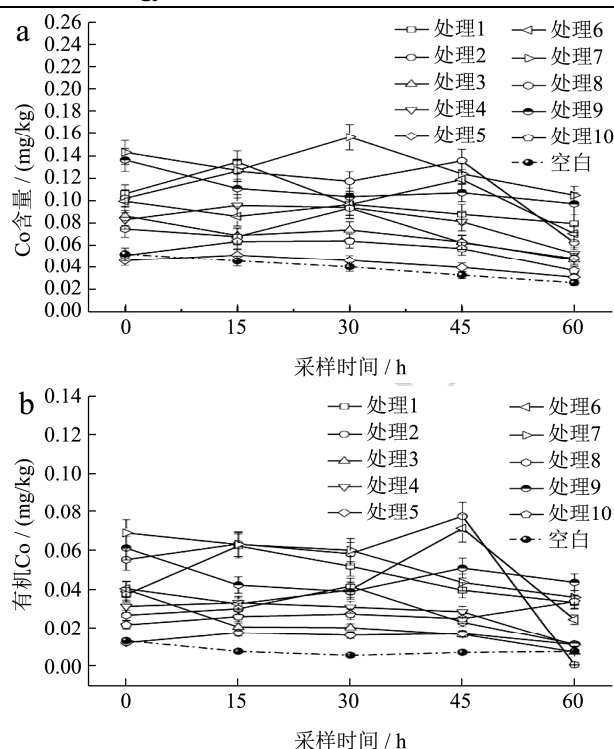


图4 不同处理方案豆芽菜的总Co(a)和有机Co(b)随时间的富集规律

Fig.4 Enrichments of total Co (a) and organic Co (b) over time in different treatments

由图4可知,Co元素的富集总量和有机态富集量呈现出相似的变化规律,在催芽结束时,除实验处理方案5和10外,其他的实验处理方案的样品Co元素已经发生生物富集且总量(74.84~142.74 $\mu\text{g/kg}$)已经超过了同期空白方案样品(52.49 $\mu\text{g/kg}$)。芽菜生长前期(30 h前)由于部分实验处理方案对芽菜生长具有抑制作用造成其芽菜样品含水量偏低,表现现象是该部分实验处理方案芽菜样品出现富集的峰值,随抑制的效应不同峰值出现不同的位置。在生产全期,实验处理方案2、7的富集总量和有机态富集量(处理2:总Co 134.58~79.50 $\mu\text{g/kg}$,有机Co 62.11~32.96 $\mu\text{g/kg}$;处理7:总Co 142.74~104.67 $\mu\text{g/kg}$,有机Co 68.81~35.72 $\mu\text{g/kg}$)超过了其他处理方案和空白样(总Co 52.49~26.27 $\mu\text{g/kg}$,有机Co 12.59~5.34 $\mu\text{g/kg}$),并表现出高的有机化度(34.94%~53.44%,34.13%~49.64%),高于空白样品的生产全期平均值20.63%。芽菜生长后期10个处理方案的样品生长都很活跃,特别是60 h时所有处理方案的芽菜的含水量大于空白方案样品,则造成样品中Co元素浓度值呈现下降的趋势,实验处理方案1、6、7、9在整个生长周期呈现较高的富集状态,这些样品的总Co量(70.73~104.67 $\mu\text{g/kg}$)是同期空白方案样品(26.27 $\mu\text{g/kg}$)的2.69~3.98倍,有机态Co量(24.20~43.39

$\mu\text{g/kg}$)是同期空白方案样品($7.50 \mu\text{g/kg}$)的3.22~5.78倍,样品的有机Co比率处于34.12%~44.66%,显然外源Co在生长后期也发生生物有机转化吸收。

李黎^[13]等人在较高的外源浓度(20~120 mg/L)研究了9种植物种子发芽富Co的研究,发现植物种子富Co量正相关于Co的外源浓度,这与我们的结论是一致的;他们还发现了不同物种对Co吸收的巨大差异性,豆科植物种豇豆、豌豆和红豆富集能力从强到弱顺序为红豆、豇豆和豌豆,但值得注意的是,对比研究仅以物种对Co的富集能力为研究目标,对芽菜的实用性考虑不足,致使培养的豆科芽菜样品Co含量($\geq 15.93 \text{ mg/kg}$)严重超出安全范围(人体最大耐受值 $350 \mu\text{g/d}$),造成样品在安全食用方面的隐患,这一点和我们的研究有明显区别。

2.3.3 Se元素的富集规律

图5a是不同处理方案豆芽菜的Se总富集量随时间的变化规律,图5b是不同处理方案豆芽菜的有机Se量随时间的变化规律。

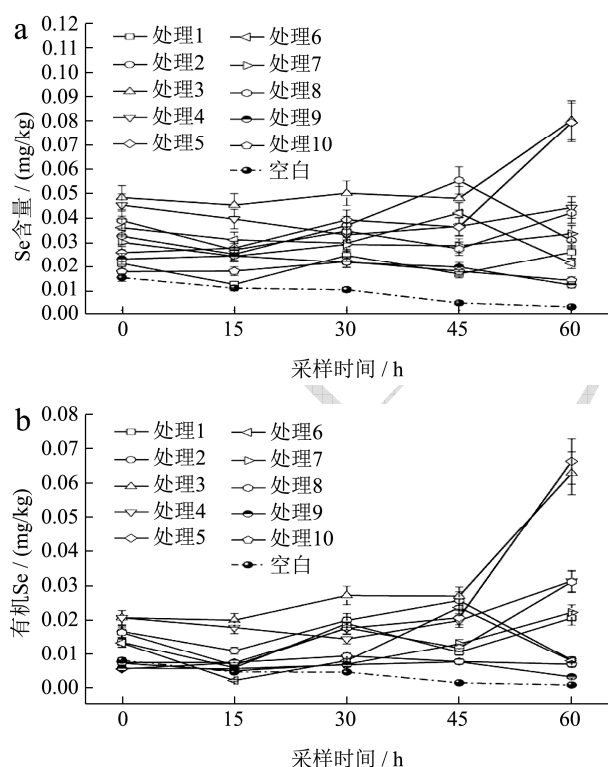


图5 不同处理方案豆芽菜的总Se(a)和有机Se(b)随时间的富集规律

Fig.5 Enrichments of total Se (a) and organic Se (b) over time in different treatments

由图5可知,处理方案3、4、5、8的样品Se元素的富集总量和有机态富集量呈现出相似的变化规律,且在催芽结束时以上实验处理方案的样品Se元素已经发生生物富集且总量($26.11\sim 48.67 \mu\text{g/kg}$)已经

超过了同期空白方案样品($15.64 \mu\text{g/kg}$),而且本研究所涉处理方案1~10的样品在整个生产周期Se总量一直高于同期空白方案样品,有机Se富集量则随实验处理方案稍显不同,但是处理方案3、4、5、8的样品具有突出的有机态Se富集能力,以上实验处理方案60h样品Se元素的富集总量($42.41\sim 80.36 \mu\text{g/kg}$)和有机态富集量($30.84\sim 66.14 \mu\text{g/kg}$)分别是高于同期空白方案样品(总Se: $3.60 \mu\text{g/kg}$ 有机Se: $0.69 \mu\text{g/kg}$)的11.78和44.06倍,特别是处理方案3、5的60h样品Se元素的富集总量(方案3: $80.36 \mu\text{g/kg}$, 方案5: $79.48 \mu\text{g/kg}$)、有机态富集量(方案3: $62.71 \mu\text{g/kg}$; 方案5: $66.14 \mu\text{g/kg}$)分别高达同期空白方案样品的22.32及22.08倍、90.88及95.86倍,且样品的Se有机化率高达78.03%以上,此时空白样品的有机化度为19.23%。

前期样品Se有机化度普遍在19.79%~50.23%之间,而空白样品的Se有机化度均值35.63%。以上现象说明前期样品Se的富集以物理渗析吸收为主,有机态的转化富集主要发生在芽菜培植后期,外源Se在生长后期发生了强烈的生物有机转化吸收。以上规律的表现归因于芽菜自身生长周期生理特性以及Se外源浓度和处理环境共存元素Co、Zn浓度的交互作用的共同影响(图2)。王建伟^[29]等人以马铃薯和小白菜大田试验为对象研究Se、Zn、Mo的富集作用时,发现马铃薯的富Se能力为从空白对照的75.50~107.50倍,小白菜的富Se能力为从空白对照的144.78~216.0倍,二者的富集量大于 1.51 mg/kg ,对比研究没有考察有机Se含量。从全周期富集效果上来看,黄豆发芽对于Se的富集能力略逊于马铃薯和小白菜的田间试验,综合考虑生长周期、有机转化率以及食用安全性等因素,在富集效率上黄豆发芽富集更胜一筹。

综上所述,本实验的处理方案3、6和9对获得富Zn、Co和Se的芽菜是有效的,富集效果随特定元素外源浓度和处理环境共存元素浓度的交互作用不同而变化,培植前期各元素的含量及有机化率接近空白方案,说明前期的富集方式以物理渗析吸收为主,培植后期各外源元素都发生不同程度的生物有机转化吸收,特别是处理方案3达到了最优综合Zn、Co和Se的富集,能同时达到Co、Se在中国膳食指南中推荐摄入量,Zn富集接近成年女性的推荐值,达到推荐值的96.40%,另有文献^[28]阐明Co可以改善Zn的生物活性,据此处理方案3的工艺具有重要应用意义。

3 结论

3.1 本文采用均匀设计的 $U_{10}(10^3)$ 表设计并实施了

Zn、Co、Se 三种人体微量元素在黄豆芽菜生长过程的生物富集,通过研究不同实验处理方案不同时间得到芽菜样品的 Zn、Co、Se 富集总量以及有机化富集量的数据,发现了在芽菜生产过程中各元素外源浓度对 Zn、Co、Se 的富集的交互作用以及 Zn、Co、Se 的富集规律。

3.2 各元素外源浓度对 Zn、Co 和 Se 富集的交互作用发生在芽菜生长后期(30 h 后), $[Zn \times Co]$ 和 $[Co \times Se]$ 呈现协同作用,外源 Se 可以通过双重协同作用促进芽菜吸收 Zn, $[Zn \times Se]$ 和 $[Zn \times Co \times Se]$ 呈现拮抗作用,外源 Zn 可以通过双重拮抗作用抑制芽菜对 Se 的吸收。

3.3 芽菜生长前期(30 h 前)元素的有机转化率低,元素的富集是以物理渗析吸收为主,生长后期(30 h 后)则通过各元素外源浓度交互作用下产生有机化富集,本实验的处理方案 3、6 和 9 对于获得富 Zn、Co 和 Se 的芽菜是有效的,生长终期(60 h)时各有效方案的 Zn、Co 和 Se 富集总量和有机量都远远高于相应的空白对照方案样品。特别是处理方案 3 (Zn^{2+} 、 Co^{2+} 混合液: $[Zn^{2+}] = 1200 \mu g/L$, $[Co^{2+}] = 30 \mu g/L$; Se^{4+} 溶液: $[Se^{4+}] = 180 \mu g/L$) 45 h 的样品达到了最优综合 Zn、Co 和 Se 富集: $Zn^{2+} = 8.58 \text{ mg/kg}$, $Co^{2+} = 63.10 \mu g/kg$, $Se^{4+} = 48.30 \mu g/kg$, 有机化率分别为 Zn 49.50%, Co 25.94%, Se 56.25%, 三个元素的富集总量基本同时达到了 Zn、Co 和 Se 在中国膳食指南中推荐摄入量(Zn: 7.5 mg/d; Co、Se: 50 $\mu g/d$),对于 Zn、Co 和 Se 多元富集健康蔬菜的生产实际具有直接的参考作用。

参考文献

- [1] Kasim B A, Kemal Y, Rasim M. Zinc metabolism and metallothioneins [J]. Biological Trace Element Research, 2018, 183(1): 22-31
- [2] 杨平,周明术,刘靳波,等.病毒性肝炎肝硬化病人血清锌值与白蛋白的相关性探讨[J].现代预防医学,2007,34(6):1039-1041
YANG Ping, ZHOU Ming-shu, LIU Jin-bo, et al. Study on the correlation between serum zinc value and albumin in virulent liver cirrhosis patient [J]. Modern Preventive Medicine, 2007, 34(6): 1039-1041
- [3] 林孙皓,李俊明.锌指蛋白家族在缺血性心脏病中的研究进展[J].海南医学,2019,30(10):1329-1332
LIN Sun-hao, LI Jun-ming. Mechanism of hepatocyte growth factor in anti-renal fibrosis [J]. Hainan Medical Journal, 2019, 30(10): 1329-1332
- [4] Rostamkhani H, Mellati A A, Tabaei B S, et al. Association of serum zinc and vitamin A levels with severity of retinopathy in type 2 diabetic patients: a cross-sectional study [J]. Biological Trace Element Research, 2019, 192(2): 123-128
- [5] Ole S L, Henrik H, Poul B. Cobalt metabolism and toxicology-A brief update [J]. Science of the Total Environment, 2012, 432: 210-215
- [6] 王磊,杜菲,孙卉,等.人体硒代谢与硒营养研究进展[J].生物技术进展,2015,5(4):285-290
WANG Lei, DU Fei, SUN Hui, et al. Progress on selenium metabolism and nutrition in human [J]. Current Biotechnology, 2015, 5(4): 285-290
- [7] 史祥宾,刘凤之,王孝娣,等.富硒黄豆和绿豆芽苗菜生产工艺研究[J].食品科技,2017,42(2):72-77
SHI Xiang-bin, LIU Feng-zhi, WANG Xiao-di, et al. Production of selenium-rich soybean and mung bean sprouts [J]. Food Science and Technology, 2017, 42(2): 72-77
- [8] 刘坤,沈卫,章克昌.姬松茸深层发酵富集锌的研究[J].食品与发酵工业,2005,31(4):84-86
LIU Kun, SHEN Wei, ZHANG Ke-chang. Zn accumulation of *Agaricus blazei* Murill [J]. Food and Fermentat Ion Industries, 2005, 31(4): 84-86
- [9] 刘文群,邓泽元,徐尔尼,等.保加利亚乳杆菌对微量元素硒、铬、锌的富集[J].食品科技,2006,2:135-137
LIU Wen-qun, DENG Ze-yuan, XU Er-ni, et al. Bioconcentrating trace elements of selenium, chromium and zinc by lactobacillus bulgaricus [J]. Food Science and Technology, 2006, 2: 135-137
- [10] DAI Hui-ping, WEI Shu-he, Lidia S, et al. Selenium spiked in soil promoted zinc accumulation of Chinese cabbage and improved its antioxidant system and lipid peroxidation [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 180: 179-184
- [11] 徐娜,邹涛,庞锦伟,等.外源锌浸种对大豆种子萌发、大豆芽生长及锌积累的影响[J].大豆科学,2012,31(6):932-936
XU Na, ZOU Tao, PANG Jin-wei, et al. Influences of exogenous zinc soaking on seed germination, sprout growth of soybean and zinc accumulation in the sprouts [J]. Soybean Science, 2012, 31(6): 932-936
- [12] 闫艳红,陈忠群,王小春,等.钼肥对套作大豆干物质积累与分配及产量的影响[J].中国油料作物学报,2015,37(1):72-76
YAN Yan-hong, CHEN Zhong-qun, WANG Xiao-chun, et al. Effects of molybdenum fertilizer on dry matter accumulation, distribution and yield of relay strip intercropping soybean [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2015, 37(1): 72-76
- [13] 李黎,王丹,贺佳,等.9种植物种子在胁迫下发芽特性及

- 富集能力研究[J].安徽农业科学,2015,43(9):246-249
- LI Li, WANG Dan, HE Jia, et al. Research of germination characteristics and cobalt accumulation abilities of nine kinds of plant seeds under the cobalt stress [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2015, 43(9): 246-249
- [14] 徐冬平,王丹,曾超,等.钴在蚕豆中积累与分布的动态变化[J].安全与环境学报,2014,14(2):294-298
- XU Dong-ping, WANG Dan, ZENG Chao, et al. On the dynamic change of cobalt accumulation and distribution in the broad bean [J]. Journal of Safety and Environment, 2014, 14(2): 294-298
- [15] 王宏,温冬玲,马生健.Box-Behnken 优化富硒豆芽处理条件[J].食品与发酵工业,2016,42(1):114-118
- WANG Hong, WEN Dong-ling, MA Sheng-jian. Optimization of the processing conditions of the selenium-enriched bean sprouts with box-behnken design [J]. Food and Fermentation Industries, 2016, 42(1): 114-118
- [16] 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
- SONG Jiao-jiao, ZHANG Hong, YANG Run-qiang, et al. Selenium distribution in different parts and macromolecule of selenium enriched soybean sprouts [J]. Journal of Jiangnan University (Natural Science Edition), 2011, 10(3): 323-327
- [17] 王彩霞,卢丽兰,张文,等.硒锌交互对蕹菜产量和品质的影响[J].热带作物学报,2016,37(1):36-41
- WANG Cai-xia, LU Li-lan, ZHANG Wen, et al. Effect of selenium-zinc interaction on the yield and quality of *Ipomoea aquatica* Forsk [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2016, 37(1): 36-41
- [18] 汤璐,林江辉,闫广轩,等.铜、锌、硒对药用菊花主要有效成分和花中硒含量的影响[J].植物营养与肥料学报,2009,15(6):1475-1480
- TANG Lu, LIN Jiang-hui, YAN Guang-xuan, et al. Effects of Cu, Zn and Se on contents of total flavonoid, chlorogenic acid and Se in the flower of *Chrysanthemum morifolium* Ramat [J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2009, 15(6): 1475-1480
- [19] 张玉兰,王昌全,李冰,等.硒锌交互对蒙山茶微量矿质营养的影响[J].四川农业大学学报,2007,25(3):288-293
- ZHANG Yu-lan, WANG Chang-quan, LI Bing, et al. Effect of selenium-zinc interaction on microelement nutrients of mengshan tea [J]. Journal of Sichuan Agricultural University, 2007, 25(3): 288-293
- [20] 方开泰.实验设计与建模[M].北京:高等教育出版社,2011
- FANG Kai-tai. Design and modeling of experiments [M]. Beijing: Higher Education Press, 2011
- [21] WS/T 578.3-2017,中国居民膳食营养素参考摄入量[S]
- WS/T 578.3-2017, Chinese Dietary Reference Intakes [S]
- [22] 刘文群,黄丽婵,韩伟.乳酸菌同时富集硒铬锌的初步研究[J].食品与机械,2007,23(2):41-42,69
- LIU Wen-qun, HUANG Li-chan, HAN Wei. Study on synchronous enrichment of Se Cr and Zn by lactic acid bacteria [J]. Food & Machinery, 2007, 23(2): 41-42, 69
- [23] 罗敏,陈德经,代惠萍,等.硒的检测方法研究进展[J].食品研究与开发,2017,38(18):202-206
- LUO Min, CHEN De-jing, DAI Hui-ping, et al. Research progress of detection methods of selenium [J]. Food Research and Development, 2017, 38(18): 202-206
- [24] 陈永波,刘淑琴,胡百顺,等.碎米荠及富硒产品中无机硒提取方法的建立[J].生物资源,2017,39(3):223-229
- CHEN Yong-bo, LIU Shu-qing, HU Bai-shun, et al. Establishment of extraction methods of inorganic selenium in *Cardamine* and selenium-rich products [J]. Biotic Resources, 2017, 39(3): 223-229
- [25] 咎亚玲,王朝辉,Lyons G.硒、锌对甘蓝型油菜产量和营养品质的影响[J].中国油料作物学报,2010,32(3):413-417
- ZAN Ya-ling, WANG Chao-hui, Lyons G. Effects of application of Se, Zn on the seed yield and quality of *Brassica napus* [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2010, 32(3): 413-417
- [26] 杜倩,王昌全,李冰,等.硒、锌及其交互作用对春茶亚细胞中硒分布的影响[J].园艺学报,2010,37(5):794-800
- DU Qian, WANG Chang-quan, Li Bing, et al. Effects of Se, Zn and their interaction on the subcellular distribution of selenium in spring tea leaves [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2010, 37(5): 794-800
- [27] 介晓磊,郭孝,刘世亮,等.硒钴在“土-草-饲-畜链”(SPFAC)传导中对草畜产品营养的调控[J].草业学报,2009,18(6):128-136
- JIE Xiao-lei, GUO Xiao, LIU Shi-liang, et al. Regulation of selenium and cobalt nutrition levels of grass and animal products by their transmission through the soil-pasture-feed-animal chain (SPFAC) [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2009, 18(6): 128-136

(下转第 283 页)