

大豆硒蛋白与亚硒酸钠生物利用的比较研究

田俊梅[&],张# 丁[!],付瑞娟[&],张# 锐[&],何# 伟^{\$}

(^{&4}郑州大学 公共卫生学院,河南 郑州 >9%&&;!⁴河南省疾病预防控制中心,河南 郑州 >9%&&;\$⁴河南省医药科学研究院,河南 郑州 >9%&&!)

摘# 要:以雄性(N大鼠为研究对象,建立低硒动物模型,通过灌胃的形式给低硒大鼠补充大豆硒蛋白和亚硒酸钠,检测各组大鼠血、肝、肾中的硒含量与谷胱甘肽过氧化物酶(R(P:^\))和硫氧还蛋白还原酶(YU8)活性来比较两者的生物利用效果。结果表明:与低硒对照组相比,血、肝、肾中的硒含量以及含硒酶的活性均明显提高(@u%4%9)。亚硒酸钠产生更高的组织硒积累,大豆硒蛋白对含硒酶活性的影响明显高于亚硒酸钠组(@u%4%9)。结果证明大豆硒蛋白具有低毒高效的特点,其吸收利用效果优于亚硒酸钠。

关键词:低硒;大豆硒蛋白;生物利用;谷胱甘肽过氧化物酶

中图分类号:8&9&4! # # # **文献标识码:**- # # # **文章编号:**8%&&" Q>&(! %&% %\$: %9\$>: %\$

! " # \$%&." 4 " / ' B* D(" %9%:%7(:(' 9 " / + " 97*%4 +*:4"\$&" '*(4 %4- +"- (, # +*:4(' * Y0 . 567: ? K[&], ; P- . R N^{&!} , ` S 86A⁶Q[&], ; P- . R 86^A, P, < K[&]

(^{&4}/ 23! K2W6T3F PKQ^B, ; BK7!jB26 S7AK^QE, ; BK7!jB26 >9%&&; ! 4PK7Q / K7OUU^UNAKQK/ 27Q23 Q^L ^UKK7Q27, ; BK7!jB26 >9%&&; \$4PK7Q - FQ^K? E2WMLF^B Q^L ^BQ^T Q^T6Q^FB (FA7FK^Q; BK7!jB26 >9%&&! , PK7Q, / B^AQ

27.' &%': YBK2TJFAK2VBCAG⁶LE Z Q⁶Q 2TGUK BK TA2Q@Q^TAYE 2VBC GETKQ Q3K72H20^AY ZAB BK Q^LA6? Q3K7AK Q^UUKUK7F4 MQK(N UGZKUKFB2K7 Q⁶BK K HUA K7Q⁶2TJFC2 KQ^T3AB BK 3Z:Q3K7A6? Q^A Q³? 2LK4 YBKUGZKUK IAK7 GETKQ Q3K72H20^AY 2U Q^LA6? Q3K7AK TE A7Q^QQ^UF Q[?]? A7AQ^Q274 (K3K7A6? F27Q7C I3Q⁶BA7K H12A.Q (R(P:^\) Q^L B2UK2A7 UK6FQ^K(YU8) Q⁶A7AKA7 T32L, 3AKUQ^L i A7KE2VBCUGZKUKLKQ^U? A7K Q F2? HQ^KBK TA2Q@Q^TAYE 2VBC Q3K72H20^AY Q^L BK Q^LA6? Q3K7AK / 2? HQ^UL ZAB F27Q23I26H, T2B BK Q3K7A6? F27Q7CQ^L BK Q⁶A7AK2VBC Q3K72K7E? KGZKUK K7BQ^{FL} GA7AFQ^{CE} (@u%4%9)4 M6FB BAKUQ⁶6K Q3K7A6? Q⁶F6? 63Q^Q27 ZQ⁶ FQ⁶Q^L A7 BK Q^LA6? Q3K7AKI26H4 YBK Q⁶A7AK2VBC Q3K72K7E? KA7 BK GETKQ Q3K72H20^AY I26H ZKUKBAKUQ⁶Q⁶ BQ^A7 BK Q^LA6? Q3K7AKI26H4 8KQ⁶3Q⁶6I KQ⁶BQ⁶BK GETKQ Q3K72H20^AY AGBAB.KWFA7FE Q^L 3Z:Q^AFAE, Q^L BK KWFG2WQ⁶Q^UHQ²7 Q^L 6Q^AQ^Q27 Q^K Q⁶HU2U2 BK Q^LA6? Q3K7AK4 @*98"&.: Q2Z Q3K7A6? ; (2ETKQ Q3K72H20^AY; +A2Q@Q^TAYE; R3Q⁶BA7KH12A.Q

硒是人体必需的微量元素之一,是谷胱甘肽过氧化物酶的主要组成成分,具有广泛的生物学作用^[&]。大豆硒蛋白是从富硒大豆中提取得到的富硒蛋白质,具有有机硒源和大豆蛋白的双重作用。据调查,我国=Q^d以上的地区缺硒,中国营养学会通过大面积的营养调查发现我国成人每日硒的摄入量为\$! 40b9\$40#I,仅为推荐摄入量的下限,日常饮食中的硒不能满足人体的正常需要,因此补充适量的硒对人体健康非常重要。近年来有研究报道了大豆硒蛋白在动物药理、毒理、以及抗肿瘤活性等方面的作用^{[1]~>}。但这些研究所涉及的剂量多是营养剂量的几倍甚至几十倍,对日常补硒缺乏参考性。现以亚硒酸钠(无机硒)为参照,研究了大豆硒蛋白在营养剂量范围内的吸收利用效果,旨在为大豆硒蛋白的推广应用提供理论依据。

&# 材料与方法

&4&# 供试材料

&4&4&# 低硒饲料# 饲料中的粮食均购自河南省灵宝市朱阳镇后河村(克山病区),其饲料组成为:玉米\$Q^d、小麦89d、麸皮894>d、大豆\$! d、混合盐! d、磷酸氢钙%49d、复合维生素! d,另外每8%&iI饲料中加赖氨酸Q%I、蛋氨酸>%I。饲料配方由河南省实验动物中心指导配制,将上述成分按比例混匀加工成颗粒饲料,经测定硒含量为%4% #I·I¹&。

&4&4! # 试验动物# 清洁级雄性(N大鼠\$! 只,体重9 %%I,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号%&>\$>\$9。饲养环境温度为!&b!\$ a,相对湿度为9%^d b' %^d。

4.4.1 主要试剂 亚硒酸钠由黄骅市津华添加剂有限公司生产,硒含量为 94% ;大豆硒蛋白由湖北希力医药保健品公司提供,硒含量为 88% ;谷胱甘肽过氧化物酶(RP)试剂盒购自南京建成生物工程研究所;大鼠硫氧还蛋白还原酶(YU8)试剂盒由美国 8qN 公司生产。

4.4.2 试验方法

4.4.2.1 动物饲养管理 大鼠适应性喂养 1 周,分单笼饲养,按体重随机分为 3 组,每组 10 只,自由进食低硒饲料和水。每周从每组中抽取 1 只采尾血检测血硒值的变化,1 周后大鼠血硒平均值降为 0.88 Or 0.90 μg/L。开始对低硒大鼠以灌胃的形式补硒。低硒对照组(1)每天以纯水灌胃;亚硒酸钠组(2)每天灌胃的硒剂量为 0.88 μg/L;大豆硒蛋白分两个补硒剂量,大豆硒蛋白 1 组(N1)的硒剂量为 0.88 μg/L,大豆硒蛋白 2 组(N2)的硒剂量为 0.88 μg/L。= 称体重 1 次,连续灌胃 1 周。

4.4.2.2 样品采集 末次灌胃 1 周后处死,宰杀前一天禁食、禁水。取大鼠血 1 mL 于塑料管中,1000 r/min 离心 5 min,取上层血清于 -20℃ 保存备用。肝脏和肾脏组织用 0.9% 的生理盐水漂洗干净后用滤纸吸干,称取部分肝、肾组织加生理盐水在冰浴中制备成 10% 的组织匀浆,1000 r/min 离心 5 min,取上清液 -20℃ 保存备用,其余组织 -80℃ 冰箱贮存。

4.4.2.3 检测方法 采用原子荧光光谱法^[9]测定样品和饲料中的硒含量。酶促比色法测定 RP 和

YU8 活性,组织匀浆中蛋白含量的测定用双缩脲比色法。双抗体夹心法测定 YU8 活性。

4.4.3 数据分析

结果以平均值 ± 标准差(±s)表示,数据采用 SPSS 19.0 统计软件进行单因素方差分析,检验水准为 0.05。

5 结果与分析

5.1 动物的生长情况

低硒饲料喂养 1 周后,部分大鼠的皮毛显得杂乱,有少数大鼠出现脱毛现象,活动减少,体重增长减缓。补硒后大鼠的缺硒症状减轻,体重从 89% 左右增至 98% 左右,低硒对照组大鼠体重增加较少,大豆硒蛋白组与亚硒酸钠组之间无显著差异。说明补充大豆硒蛋白和亚硒酸钠均能有效改善动物的缺硒症状。

5.2 大豆硒蛋白与亚硒酸钠对大鼠血、肝、肾中硒含量的影响

与低硒对照组相比,各组血、肝、肾中的硒含量均明显增高(表 1)(表 2)。与亚硒酸钠相比,大豆硒蛋白 1 个剂量组的血硒含量均高于亚硒酸钠(表 2)。大豆硒蛋白 1 组的肝肾硒含量略低于亚硒酸钠组,大豆硒蛋白 2 组的肝肾硒含量略高于亚硒酸钠组,但无统计学差异(表 2)。大豆硒蛋白 2 组的肝肾硒含量高于大豆硒蛋白 1 组(表 2)。

表 1 各组大鼠血清、肝脏、肾脏中的硒含量
Erg: * 8# +*: *4(, # ; "4' *4'. (4 7:" - , :) * & %4- K(- 4*9 (, r =4,) f O)

分组	剂量	血硒	肝硒	肾硒
R126H	(K37/6? g#l · il l ¹ &	+32L Q37/6? g#l · ? Q l ¹ &	QAKUQ37/6? g#l · l l ¹ &	XAL7KE Q37/6? g#l · l l ¹ &
/	%	# %4& r %4%	# %49\$ r %4%&	# %4O/r %4l 9
*(>	# %4\$! r %4% "	# %4&" r %4%O	# 848%/r %4& "
N(:&	>	# %4>! r %4%& {	# %4! r %4% "	# 84% r %4% "
N(:!	&	# %49\$ r %4%& { (# %4O r %4%& " (# 84! \$ r %48% (

" 表示与对照组比较 @u %4%&; { 表示与亚硒酸钠组比较 @u %4%&; (表示与大豆硒蛋白 1 组比较 @u %4%&。
" : @u %4%& ALAF@GGA7AUF@CLAWUKFK TKZK7 Q37/6?: QK@L @L F27Q23, { : @u %4%& ALAF@GGA7AUF@CLAWUKFK TKZK7 GLA6? Q3K 7AK @L QETK@ Q372H20A; (: @u %4%& ALAF@GGA7AUF@CLAWUKFK TKZK7 Q372H20A; & @L Q372H20A; ! 4

从结果可以看出,大豆硒蛋白能明显提高低硒大鼠血肝肾中的硒含量,在 0.88 μg/L 补硒剂量时,亚硒酸钠产生较高的组织硒积累,硒剂量为 0.88 μg/L 时,大豆硒蛋白 2 组血肝肾中的硒含量升高,但与亚硒酸钠组无显著差异,说明增加大豆硒蛋白的摄入量会增加硒在体内的吸收效果,但同时也可能增加其在体内蓄积产生硒中毒的风险。选用的 1 个补硒剂量是参考 8.0 推荐摄入量)和 SQ(可耐受最高摄入量)的 1/2 来设计的,按大鼠 9 倍的等效剂量来换算,均在营养剂量的安全范围内,无不良影响。

5.3 大豆硒蛋白与亚硒酸钠对大鼠肝肾组织中含硒酶活性的影响

由表 1 可知,各组大鼠肝肾组织中 RP 和 YU8 活性均明显高于对照组(表 1),大豆硒蛋白 1 个剂量组的含硒酶活性明显高于亚硒酸钠组(表 1)。0.88 μg/L 剂量的大豆硒蛋白组含硒酶的活性均高于 0.88 μg/L 剂量的大豆硒蛋白组,但仅有肾脏中 RP 活性有显著性差异,其余的酶活性两组之间无显著差异。补充大豆硒蛋白可以有效的提高组织中含硒酶的活性,进一步增加其摄入量

可以使含硒酶的活性继续增高,但增加幅度不大。

表!# 各组大鼠肝肾组织中 R(P:^\ 和 YU8 活性

E%7:* !# 2;')('9 / 6+OGHQ%- E8QD (4 :) *%&- K(- 4*9 (, r =4,) f O)

分组	剂量	肝 R(P:^\ QAKU	肾 R(P:^\ XA.7KE	肝 YU8 QAKU	肾 YU8 XA.7KE
RU26H	(K37/6? g#l · il l^&	R(P:^\ gS · l l^&	R(P:^\ gS · l l^&	YU8 g? S · l l^&	YU8 g? S · l l^&
/	%	# &>4% r l 4=>	# 8\$4Q r 84 \$	# 84>> r %4\$O	# ! 4=&r %4\$>
*(>	# 8=4"9 r l 4Q="	# & 4" r 84>&"	# 84O/r %4>="	# \$4! " r %4-&"
N(:&	>	# !94> r l 4\$% {	# !84" &r 84%\$ {	# !498 r %4! ! " {	# \$4=" r %4\$=" {
N(:!	&	# !' 4\$! r l 4>= " {	# !>4\$! r l 4>9 " { (# !49Dr %4\$! " {	# \$4" %r %4! " " {

" 表示与对照组比较 @u %4%9;^表示与亚硒酸钠组比较 @u %4%9;^表示与大豆硒蛋白:8组比较 @u %4%9。
" :@u %4%9 A7LF@XGGA7AF@CLANUK7FK TKZK47 G3K7/6?:QK@BL @L F27Q23;^: @u %4%9 A7LF@XGGA7AF@CLANUK7FK TKZK47 GLA6? G3K 7AK @L QETK@ G3K72H20AY;^: @u %4%9 A7LF@XGGA7AF@CLANUK7FK TKZK47 G3K72H20AY:& @L G3K72H20AY: ! 4

硫氧还蛋白还原酶是含硒的嘧啶核苷]二硫化物氧化还原酶家族的成员,低硒可以降低许多脏器 YU8 活性,长期低硒喂养的大鼠肝肾组织中 YU8 活性明显下降^[=],该试验结果表明低硒对照组大鼠肝肾组织中的 YU8 较补硒组低,且大豆硒蛋白组的 YU8 活性高于亚硒酸钠组,说明大豆硒蛋白可以更有效的提高肝肾组织中 YU8 活性。

\$# 讨论

与亚硒酸钠相比,大豆硒蛋白能明显提高大鼠血清中的硒含量,但对肝硒和肾硒的增加却低于亚硒酸钠,相比之下亚硒酸钠具有更高的组织硒积累。大豆硒蛋白和亚硒酸钠都可增加低硒大鼠肝肾组织中 R(P:^\ 和 YU8 的活性,但大豆硒蛋白增加含硒酶活性的作用强于亚硒酸钠。

李改平等^[O]也证实了有机硒可使 R(P:^\ 活性显著增强,特别是对肝脏 R(P:^\ 活性提高极为显著。硒是谷胱甘肽过氧化物酶的重要组成成分,可能大豆硒蛋白中的硒比亚硒酸钠中的硒更易参与 R(P:^\ 的合成而构成酶的活性中心,进而增强 R(P:^\ 的活性。硒在体内的生物功能主要是通过各种含硒酶和硒蛋白来实现的^[^],含硒酶代表了体内硒的活性形式,更能反映硒在体内的吸收利用效果。因此,与亚硒酸钠相比,大豆硒蛋白的生物利用效果更好。刘琼等^[8%]的研究表明大剂量补硒降低大鼠肝 R(P:^\ 和 YU8 基因表达和酶活性,并造成肝组织损伤。该研究表明,在安全剂量范围内补充大豆硒蛋白是比较安全的。

大豆硒蛋白作为一种新的有机硒源,具有比无机硒毒性低,生物利用度高的优点,其特点是天然、营养、安全,适于在乳制品、饮料中使用,可代替无机硒用于保健食品的开发,具有广阔的发展前景。

参考文献

[&]# (AK@X, Y@UKJ E M4 (K37/6? @G@ K3? K7CA? @K UK@ K7C2W

2V@Q@ F@FRUA? Z2? K7 UKFAVA? FBK? 2@KLU@E [5]4 RE7KF23) 7: F23 !%%, "\$ (!): \$!% \$! =4

[!]# 向天勇,吴永尧,陈建英4 大豆硒蛋白的生物学功能初探[5]4 营养学报,!%%,! ' ('): >' %] >' \$4 (m@?l Y*, <6 * *, / BK 5 * 4 - HUK3? A?@E @H2@B Q TA22 AF@W7FQ27 2V@ETK@ G3K72H [5]4 - FQ@ 6QAP K7Q@ (A?A@ !%%,! ' ('): >' %] >' \$4)

[\$]# 刘玉翠,陈英珠,辛春燕,等4 大豆硒蛋白药理作用研究[5]4 河北省科学院学报,!%%& &= (\$) : & O] &=84 (Q6 * / , / BK * ; , m? / *, KC@4 (GLAG27 HB@? @231 E 2V@ETK@ G3K72 H20AY [5]4 526U@ 2V@PKTA - F@K? E 2W(FA7FHG !%%& &= (\$) : & O] &=84)

[>]# 向天勇,吴永尧,陈建英4 天然大豆硒蛋白抗肿瘤作用研究[5]4 氨基酸和生物资源,!%%9,!= (&): 8%] &4 (m@?l Y*, <6 * *, / BK 5 * 4 - 7G@FAY2 K7A? @VAAG 2V@ETK@ G3K72H20AY [5]4 - ? A2 - FAGq +A@F 8K36UFG !%%9,!= (&): 8%] &4)

[9]# 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会4 R+ gY 9%84"\$] !%%\$4 食品中硒的测定[(]4 北京:中国标准出版社,!%%\$:'&] ' ' O4 (MA?@E 2V@K@B 2V@BK ^K2-B4G 8K-6T3F 2W / B?@ (Q@L@L@Q27 - L? A?@LQ27 2V@BK ^K2-B4G 8K-6T3F 2W / B?@ R+ gY 9%84"\$] !%%\$4 NK@L? A?@27 2V@G3K7/6? A? W2LG [(]4 +KAVI: (Q@L@LG^UKG2W B?@ !%%\$:'&] ' ' O4)

[']# 中华人们共和国卫生部4 < (gY 8%] &""4血清中硒的氢化物发生]原子吸收光谱测定方法[(]4 北京:中国标准出版社,&""4 (MA?@E 2V@K@B 2V@BK ^K2-B4G 8K-6T3F 2W B?@ < (g Y 8%] &""4(K6?] NK@L? A?@27 2V@G3K7/6?] PELUAK I K7UJ @27 Q2? A? @GUH27 GHFC2? KQAF ? KB2L [(]4 +KAVI: (Q@L: @LG^UKG2W B?@ &""4)

[=]# PABX, MF3236? R, +24 3Y. M, KC@4 YB@UKL2A? UKL6FO@K @: QAE AG LKFK@L TE G3K7/6? LKAFK7FE [5]4 +A?B? A?@ @L +A?B@F@8K@Q@B / 2? ?67A@27G &""=,!> (!): !" \$] !"94

[O]# 李改平,刘子川,王梦亮4 有机硒和无机硒对小鼠抗氧化作用比较研究[5]4 山西中医学院学报,!%%&,! (!): &] !&4 (QAR ^, Q6; / , < @l M Q4, WFG2V2U @A? G3K7/6? @L A2U @A? G3K7/6? 27 TA?B? A?@ FUAL27GA? ?ARK [5]4 526U@ 2W(B@A / 234 K2WYU@A27@/ BAYK MKLFA7K,!%%&,! (!): &] !&4)

["]# (67 k -, ; @H@2Q@, ` @2U1 M, KC@4 PK@L2 I K7KAE ZAB @: A? @B@UKL2A? UKL6FO@G [5]4 526U@ 2W+ A221 A?@/ BK? @E, !%%&,! =: \$8%] \$8&-4

[8%]#刘琼,甘璐, - TLK3@- 3A等4 大剂量硒降低硒酶基因表达并致大鼠肝组织损伤[5]4 营养学报,!%%\$,!9 (>): \$-O] \$O 4 (Q6 k , R@ Q, - TLK3@- 3A, KC@4 (K37/6? GH+B? K7Q@27 @3@UKL2QG ABATAG G3K72K? E? K I K7K KHJG27 @L F@QG UC 3AKU 3Q27 [5]4 - FQ@ 6QAP K7Q@ (A?A@ !%%\$,!9 (>): \$-O] \$O 4)