

# 高硒浓度下两种螺旋藻对 Se(IV) 的吸收和代谢

杨芳<sup>1,2</sup>, 余景<sup>1</sup>, 郑文杰<sup>1,2,\*</sup>, 白燕<sup>1</sup>

(1. 暨南大学化学系, 广东 广州 510632 2. 暨南大学水生生物研究所, 广东 广州 510632)

**摘要** 对极大(*S. maxima*)和钝顶(*S. platensis*)两种螺旋藻在接种后第5d和第6d两天内添加 $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ (累计加硒浓度分别为600、800和1000mg/L), 获得了有机硒含量分别为474.37、562.93、645.98 $\mu\text{g/g}$ (DW)的*S. maxima*和352.68、501.85、1198.15 $\mu\text{g/g}$ (DW)的*S. platensis*。分别测定了螺旋藻藻体及培养液中的无机硒、有机硒和总硒含量, 分析了无机Se(IV)经螺旋藻吸收、代谢后的分布状况。

**关键词** 螺旋藻; 无机硒; 有机硒; 代谢

## Absorption and Metabolization of Selenium(IV) by Two Kinds of *Spirulina* under High Selenium Concentration

YANG Fang<sup>1,2</sup>, YU Jing<sup>1</sup>, ZHENG Wen-jie<sup>1,2,\*</sup>, BAI Yan<sup>1</sup>

(1. Department of Chemistry, Jinan University, Guangzhou 510632, China

2. Institute of Hydrobiology, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

**Abstract:**  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  was added to two kinds of *Spirulina*, *S. maxima* and *S. platensis*. On the fifth and sixth days after inoculation, the cumulating concentration of Selenium reached 600, 800 and 1000mg/L respectively. *S. maxima* containing organic selenium 474.37, 562.93, 645.98 $\mu\text{g/g}$ (DW) and *S. platensis* containing organic selenium 352.68, 501.85, 1198.15 $\mu\text{g/g}$ (DW) were obtained. The inorganic selenium, organic selenium and total selenium in both the *Spirulina* and the culture were assayed respectively. It was also studied in this paper the distribution of selenium after the absorption and metabolization of *Spirulina*.

**Key words:** *Spirulina*; inorganic selenium; organic selenium; metabolization

中图分类号: Q949.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)11-0051-05

硒是人体内唯一受基因调控的必需微量元素; 而螺旋藻被联合国食品会议认定为“明天最好的食品资源”, 含有丰富的生物活性物质, 作为无机硒生物有机化的生物载体, 螺旋藻是理想的选择<sup>[1]</sup>。有关富硒螺旋藻的培养已有不少报道<sup>[2~4]</sup>, 但不同研究者的培养条件、方法不同, 因此, 关于Se(IV)对螺旋藻的生长影响及螺旋藻对Se(IV)的吸收代谢所得到的结论也不同。硒对螺旋藻究竟是营养因子还是胁迫因子螺旋藻对Se(IV)是如何吸收、代谢等问题迄今未得到解决。本课题组在研究过程中, 发现螺旋藻对Se(IV)的耐受性与藻细胞密度密切相关, 从而提出了硒胁迫强度的概念<sup>[5]</sup>, 定义为单位生物量所受胁迫的硒量, 该概念表达了高的硒浓

度并不意味着高的硒胁迫强度, 就硒胁迫对不同生长阶段螺旋藻生长的影响作用做了探讨, 建立了高硒浓度下培养富硒螺旋藻的方法, 并得到较高有机硒含量的螺旋藻。为了进一步了解高硒浓度下螺旋藻对硒的吸收、代谢作用, 本研究通过测定螺旋藻藻体和培养液中的无机硒、有机硒和总硒含量变化, 全面地考察硒的动态情况。

### 1 材料与方法

#### 1.1 藻种及仪器

*S. maxima*和*S. platensis*藻种, 由暨南大学水生生物研究所藻种室提供。本实验室保种; 752 紫外光栅分光光度计 上海第三分析仪器厂; 970CRT 荧光分光光

收稿日期: 2004-11-18

\*通讯作者

基金项目: 教育部重点项目(01141); 广州市科技项目(2001-J-010-01)

作者简介: 杨芳(1976-), 女, 讲师, 博士研究生, 主要从事水生生物学研究。

度计 上海三科仪器有限公司;  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  等试剂均为 AR 级。

## 1.2 培养条件

两种螺旋藻培养条件相同。采用 Zarrouk 培养基, 于 250ml 三角瓶中接种处于指数生长期的 *S. maxima* 和 *S. platensis* 藻液 100ml, 调节初始藻密度  $\text{OD}_{560\text{nm}}=0.10$ , 脱脂棉封口后置于光照培养箱中, 温度  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ , 光照强度 5000 Lx 左右, 光暗比 14h:10h, 初始 pH 值 8.5, 每天定时摇动 4 次。

## 1.3 分组与处理

实验分 3 组, 按表 1 添加亚硒酸钠储备液 (10mg/ml 的  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  溶液, 以 Se 计量)。累计加硒溶液 10ml, 与 10d 蒸发水分的体积 (10ml) 相抵消。(经实验, 培养过程中蒸发水分约为 1ml/d)。每实验组均设 2 个平行, 分别以不加硒培养的 *S. maxima*、*S. platensis* 为对照 (CK), 培养 10d 采收。

表 1 各实验组硒的添加量和累加量 (mg/L)  
Table 1 Adding Se(IV) concentration and Se cumulating concentration

实验组	培养时间(d)			
	1~4	5	6	7~10
I		400(400)	200(600)	
II		400(400)	400(800)	
III		400(400)	600(1000)	

注: 括号内数据为累加硒量。

## 1.4 OD 值的测定和生长曲线的绘制

每天同一时间在波长 560nm 处测定螺旋藻吸光度值 ( $\text{OD}_{560}$  值), 重复 3 次取平均值。以时间 Time(d) 为横坐标,  $\text{OD}_{560}$  值为纵坐标, 绘制生长曲线。

培养到 10d, 将藻液用 300 目筛绢过滤, 等量的二次蒸馏水冲洗, 真空干燥, 称量。以干藻粉的质量与采收时藻液的体积之比 (mg/L) 代表螺旋藻最终生物量。

## 1.5 藻体和培养液中无机、有机硒含量测定

藻体(干藻粉)中硒含量的测定参见文献[5]。培养液中硒含量测定如下: 于接种后培养至第 8、9、10d 共 3d 每天同一时间, 摇匀藻液后, 用滤器取 2ml 均匀藻液, 微孔滤膜过滤, 编号置冰箱保存。取 0.1ml 的滤液稀释到 50ml, 然后取一定体积的稀释后的滤液直接用 DAN 荧光法<sup>[6]</sup>测定其中 Se(IV) 含量(为无机硒含量); 另取 0.1ml 的滤液经混酸 ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4+\text{HClO}_4+\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 消化后, 0.1mol/L 的 HCl 定容 50ml, 取一定量该溶液用 DAN 荧光法测定硒含量(为总硒含量)。

有机硒含量 = 总硒含量 - 无机硒含量<sup>[7]</sup>

## 2 结果与讨论

### 2.1 各实验组中两种螺旋藻生长情况

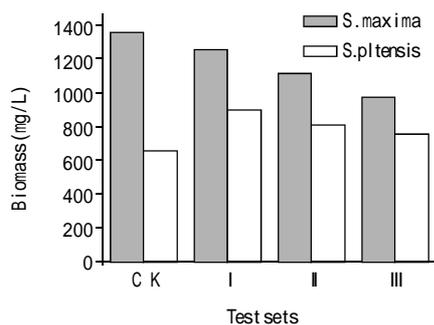


图 1 两种螺旋藻最终生物量  
Fig.1 Biomass of *S. maxima* and *S. platensis*

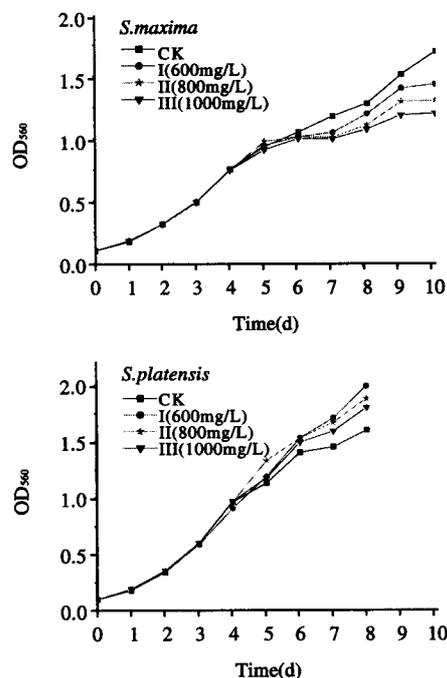


图 2 两种螺旋藻生长曲线  
Fig.2 Growth curves of *S. maxima* and *S. platensis*

图 1 和图 2 为两种螺旋藻的最终生物量和生长曲线, 从图中可看出, 不论是对照组还是加硒组, *S. maxima* 的生物量均明显高于 *S. platensis*。在硒的实验浓度范围内, *S. maxima* 的生长受到一定的抑制, 其生长顺序是:  $\text{CK} > \text{I} > \text{II} > \text{III}$ 。而 *S. platensis* 的生长表现出促进作用, 其生长顺序是:  $\text{I} > \text{II} > \text{III} > \text{CK}$ 。由于 *S. maxima* 的生物量明显高于 *S. platensis*, 在添加相同硒浓度的情况下, *S. maxima* 所受到的硒胁迫强度明显低于 *S. platensis*, 而在此情况下 *S. maxima* 却受到抑止, 可见 *S. platensis* 耐受硒胁迫的能力比 *S. maxima* 强; 在实验浓度范围内, 对于 *S. maxima* 生长的均表现为抑制作用, 对于 *S. platensis* 生长的均表现为促进作用; 且随硒浓度增加, *S. maxima* 抑制增强, 而 *S. platensis* 促进减弱。

### 2.2 培养液中硒动态变化

表2 8~10d各d培养液中硒含量(μg/ml)  
Table 2 Se content in the culture on 8~10 day

藻种	实验组	硒含量(μg/ml)								
		8			9			10		
		Se(IV)	O-Se	T-Se	Se(IV)	O-Se	T-Se	Se(IV)	O-Se	T-Se
S. maxima	C K	0.04	1.56	1.60	0.03	2.63	2.66	0.697	2.543	3.24
	I	400.6	93.9	494.5	345.8	91.2	437.0	350.8	76.7	427.50
	II	597.4	105.9	703.3	564.5	116.5	681.0	619.2	36.4	655.60
	III	715.3	181.2	896.5	439.9	163.6	603.5	477.5	118.5	596.00
S. platensis	C K	0.09	1.51	1.60	0.03	1.77	1.80	0.98	1.32	2.30
	I	412.1	87.9	500.0	423.3	63.7	487.0	347.2	129.6	476.80
	II	621.9	108.4	730.3	593.9	124.3	718.2	495.4	178.6	674.00
	III	801.7	164	965.7	768.6	160.8	929.4	705.2	187.1	892.30

注: Se(IV): 无机硒; O-Se: 有机硒; T-Se: 总硒。

表3 各实验组螺旋藻藻体中的硒含量(μg/g, DW)  
Table 3 Se contents of spirulina in different test sets (μg/g, DW)

藻种	实验组	无机硒含量	有机硒含量	总硒含量	有机硒比率(%)	藻体对硒的吸收率(%)
S. maxima	C K	未测出	1.43	1.43	100	—
	I	106.46	474.37	580.83	81.67	0.1122
	II	123.01	562.93	685.94	82.07	0.0884
	III	125.67	645.98	771.65	83.71	0.0694
S. platensis	C K	未测出	4.46	4.46	100	—
	I	109.23	352.68	461.91	76.35	0.0633
	II	114.21	501.85	616.06	81.46	0.0574
	III	178.05	1198.15	1376.20	87.06	0.0955

注: 藻体对硒的吸收率是指藻体的含硒总量占加硒总量的百分比, 藻体含硒总量(包括无机硒和有机硒)。

8~10d各d培养液中无机硒、有机硒和总硒含量见表2。从表2可见, 总体上, 各硒胁迫实验组每d培养液中的有机硒含量按I<II<III增大, 各实验组培养液中有有机硒含量多数在100~200μg/ml, 说明藻细胞转化无机硒的能力很强, 代谢到培养液中的有机硒量很大, 且添加无机硒量越大, 代谢的有机硒越多。对于S. maxima, 各硒胁迫实验组培养液中有有机硒含量从8d到10d呈逐渐降低趋势。对于S. platensis, 各硒胁迫实验组培养液中有有机硒含量从8d到9d稍有降低, 但从9d到10d则升高, 总的趋势是有机硒含量升高。从图1、2可以很明显看出, 各硒胁迫实验组都较好地促进了S. platensis的生长, 说明S. platensis在8d到10d处于生长旺盛时期, 向培养液中代谢有机硒的量大体呈增加趋势。

两种螺旋藻对照组培养液中有有机硒的含量远小于硒胁迫组, 从8~10d先升高, 然后降低。对照组中没有添加无机硒, 因此其中的有机硒可能来源于硒胁迫实验组产生的气态硒化合物, 而且我们在培养过程中闻到有类似大蒜的气味, 也说明有气态物质的挥发。这些气态硒化合物在硒胁迫实验组培养液中达到饱和, 通过气液平衡挥发到光照培养箱中, 然后扩散到对照组培养液中, 使其中的有机硒含量增大。进入对照组培养液中的有机硒有一部分被藻细胞吸收, 导致对照组藻体中也测到一定量的有机硒。但是, 我们也注意到另一个事

实, 这就是在第10d两个对照组的培养液中无机硒, 即Se(IV)的含量均明显增加。这提出了一个值得探讨的问题。由于螺旋藻具有异养或混养的特性, 藻细胞可以吸收培养液中的某些有机碳源作为营养源, 这是否意味着某些有机硒被藻细胞作为有机碳源进行二次吸收代谢呢? 如果是这样, 则培养液中有有机硒含量不是单调上升, 甚至出现下降趋势的事实就容易理解了。

### 2.3 藻体中硒动态变化

两种螺旋藻藻体中硒的分布和有机硒比率情况见表3。由表3可见, 不论是S. maxima还是S. platensis, 各实验组中无机硒、有机硒、总硒含量及其有机硒比率, 均是按I<II<III增大; 有机硒比率介于76.35%~87.06%之间, 说明较高硒浓度下螺旋藻中的有机硒含量较高。

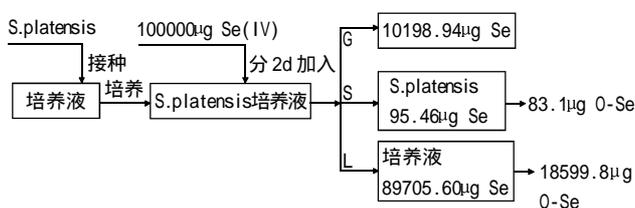
藻体对硒的吸收率既与进入藻体的总硒含量有关, 也与藻的生物量有关。对于S. maxima, 藻体对硒的吸收率与硒含量和有机硒比率的趋势正好相反, 各硒胁迫实验组按III<II<I增大, 这是由于S. maxima对硒的吸收利用率随硒浓度的变化不太敏感; 且随硒胁迫加大, 其生物量相应减少, 以致于藻体对硒的吸收率呈下降趋势。而对于S. platensis, 硒胁迫实验组III对硒的吸收率明显高于I和II, I和II则相差不大, 说明较高硒浓度下S. platensis对硒的吸收利用率比较高。

通过以上比较可知, 对于S. maxima, 较高浓度硒

表4 培养液中含硒总量和藻体中含硒总量  
Table 4 Total Se content in the culture and Spirulina

藻种	实验组	L-Se(μg)	S-Se(μg)	LS-Se(μg)	总硒回收率* R(%)	G-Se(μg)
S. maxima	C K	315.94	0.18	316.12	—	—
	I	43119.00	67.33	43186.33	71.98	16813.67
	II	66106.20	70.68	66176.88	82.72	13823.12
	III	61083.40	69.43	61152.83	61.15	38847.17
S. platensis	C K	225.00	0.27	225.27	—	—
	I	47858.40	37.95	47896.35	79.83	12103.65
	II	67736.60	45.91	67782.51	84.73	12217.49
	III	89705.60	95.46	89801.06	89.80	10198.94

注: L-Se: 培养液中含硒总量; S-Se: 藻体中含硒总量; LS-Se: 培养液和藻体中含硒总量; G-Se: 未检测的硒总量, 这里作为挥发出的气态硒总量; G-Se = 加硒总量 - LS-Se; \* 注: 总硒回收率为藻体和培养液中含硒总量占加硒总量的百分比。



G、S、L 三部分中的有机硒(即 O-Se)达到 28881.8 μg

图3 螺旋藻对硒的代谢及产物分布状况

Fig.3 The metabolization and distribution of selenium in spirulina

胁迫下藻的生长较差, 但总硒含量和有机硒比率仍比较高, 从总体上来说, 低硒浓度有利于 S. maxima 对硒的吸收和转化, 提高利用率。对于 S. platensis, 实验浓度范围的硒均能较好地促进其生长, 并且高硒胁迫实验组藻体中硒含量、有机硒比率和藻体对硒的吸收率也比较高。因此, 在相同的培养条件下, 实验浓度范围内较高的硒浓度能明显提高 S. platensis 对硒的吸收转化。尽管 S. platensis 对硒的吸收率低于 S. maxima, 但有利于提高藻体中有机硒的含量。

此外, 比较表 2 和表 3 数据可知, 至第 10 d, 培养液中的有机硒量远远高于进入藻体中的硒总量。因此, 研究螺旋藻对无机硒的吸收代谢时, 不能忽略培养液中的次代谢产物。

#### 2.4 硒的代谢分布状况

藻体和培养液中含硒总量及硒的代谢情况见表 4 和图 3。由表 4 可见, 各硒胁迫实验组中培养液和藻体中的含硒总量总是少于所添加硒总量, 说明培养过程中加入的硒并没有完全存在于培养液中和被藻细胞吸收而保留于藻细胞之中, 尚有一部分被藻代谢转化的含硒气态小分子物质进入到空气中, 这些物质主要是甲基硒和二甲基硒化合物<sup>[8]</sup>。根据螺旋藻对硒的吸收代谢情况可以把未从藻体和培养液中检测到的硒都归为气态硒(G-Se)。从表 4 可知, 两种藻产生气态硒的总量很大, 尤其是 S. maxima, 3 个实验组产生的气态硒分别为藻体中总硒(S-

Se)的 200~550 倍。而对于 S. platensis, 气态硒约为 S-Se 的 100~320 倍, 但各实验组之间产生 G-Se 的总量没有显著性差异。由于螺旋藻属于非喜硒类生物, 硒在螺旋藻体内不会大量积累, 但却能大量代谢硒, 代谢产生的气态硒排出藻细胞通常被认为是自身解毒方式。对照组培养液中测出含有一定的有机硒, 且从 8~9d 逐天增加, 比较表 2~表 4 数据可知, 培养液中的有机硒总量远远大于进入藻体的硒总量, 尤其是对于 S. platensis, 培养液中有有机硒总量约为藻体中硒总量的 200~400 倍。说明培养液中存在大量的硒的次代谢产物, 当然, 其中有一部分是气态硒在溶液中的溶解平衡部分。

图3是S. platensis实验组III中硒的代谢及产物分布状况, 由图可见, 气态硒、培养液和藻体中有机硒(即 O-Se)总量达到 28881.8 μg, 这说明螺旋藻将无机硒代谢转化为有机硒的能力非常强, 尽管藻体中有机硒含量相对较少。经过计算, 对于 S. platensis 实验组 I 和 II, 其气态硒、培养液和藻体中有机硒总量分别为 24785.1, 29798.5 μg; 对于 S. maxima 的三个实验组 I、II 和 III, 气态硒、培养液和藻体中有机硒总量分别为 24712.1, 18135.9、51164.9 μg。根据前面的分析结果, 累计加硒浓度越高, 对于 S. maxima 生长的抑制作用越强, 但实验组 III 中的有机硒量却是最高, 约为加入总硒的 50%, 其中大多数有机硒是作为气态硒挥发掉, 说明藻细胞通过排出气态硒进行解毒。

综上所述, 不同品种的螺旋藻对硒的吸收代谢状况有所不同的。在螺旋藻培养过程中加入的无机硒, 经螺旋藻吸收、转化、代谢后, 藻体中的硒含量逐渐增加, 由于生物量较少, 进入藻体总硒量仍偏少, 但藻体中的硒以有机硒占优势; 留在培养液中硒量依然很多, 而且培养液中的有机硒远远多于藻体中的总硒量。在藻体中的有机硒、培养液中有有机硒和气态硒都是经藻细胞代谢转化的有机态硒, 这部分有机态硒总量是非常大的, 说明螺旋藻对无机硒的有机化能力是很强的。分

# 外源蛋白基因对棉籽营养成分影响的研究

唐茂芝, 黄昆仑, 唐小革, 周 可, 罗云波\*  
(中国农业大学食品科学与营养工程, 北京 100083)

**摘 要:** 本研究通过对转 Bt 毒蛋白棉花的各种营养成分、矿物质含量、氨基酸含量以及抗营养因子成分的检测与分析, 评价 Bt 等外源基因对棉籽营养成分的影响, 为转基因产品的安全评价提供依据。通过检测证明, 转基因棉籽和非转基因棉籽在营养学方面具有实质等同性。

**关键词:** 转基因; 抗虫棉; 营养成分; 影响

## Effect after Introducing Bacillus thuringiensis Gene on Nutritional Composition Changes in Cottonseed

TANG Mao-zhi, HUANG Kun-lun, TANG Xiao-ge, ZHOU Ke, LUO Yun-bo\*  
(College of Food Science and Nutrition Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

**Abstract:** Compositional analyses including protein, oil, fiber, moisture mineral content were performed on the cottonseed to assess the effects on compositional components change after introducing Bacillus thuringiensis gene. The results demonstrated that the transgenic cottonseed was comparable to the nontransgenic cottonseed within the established ranges for commercial cotton varieties. Anti-nutrients were also measured and comparisons again showed no material difference with respect to the control. The results of numerous analytical assay of the compositions demonstrated that the transgenic cottonseed was compositionally equivalent to the conventional one.

**Key words:** transgenic pest-resistant cotton nutritional composition effect

中图分类号 R151.3

文献标识码 A

文章编号 1002-6630(2005)11-0055-04

收稿日期 2005-02-22

\*通讯作者

基金项目: 国家科技部 863 计划(2001AA212291)

作者简介: 唐茂芝(1966-), 女, 工程师, 博士, 研究方向为生物安全。

析测定这些有机硒的形态对研究硒在植物体内的代谢机理是具有重要意义的。此外, 由于培养液中的有机硒总量远大于进入藻体的硒总量, 因此, 分离提取培养液中的有机硒是急需解决的问题, 当然, 对于培养液中的无机硒, 也应考虑对培养液的重复利用, 这些对富硒螺旋藻的培养提供了重要的参考。

参考文献:

- [1] 郑文杰, 欧阳政. 植物有机硒的化学及其医学应用[M]. 广州: 暨南大学出版社, 2001. 261-263.
- [2] Li ZY, Guo SY, Li L. Bioeffects of selenite on the growth of *Spirulina platensis* and its biotransformation[J]. *Bioresource Technology*, 2003, 89(2): 171-176.

- [3] 黄峙, 向军俭, 郑文杰. 钝顶螺旋藻富集转化硒及硒在藻体中分布[J]. *植物生理学通讯*, 2001, 17(1): 12-14.
- [4] 郑文杰, 贺鸿志, 黄峙, 等. 螺旋藻富集转化硒研究进展[J]. *中国生物工程杂志*, 2003, 23(1): 57-60.
- [5] 郑文杰, 余景, 杨芳, 等. 两种螺旋藻在不同生长阶段的硒胁迫和生物有机化效应[J]. *生态科学*, 2004, 22(4): 305-309.
- [6] 瞿进文, 吴应亮, 蔡端仁, 等. 富硒生物样品中硒的价态和形态分析[J]. *天然产物研究与开发*, 1994, 6(1): 96-98.
- [7] Watkinson JH. Fluorimetric determination of selenium in biological material with 2,3-diaminonaphthalene[J]. *Anal Chem*, 1966, 38: 92-97.
- [8] 徐辉碧, 黄开勋. 硒的化学、生物化学及其在生命科学中的应用[M]. 武汉: 华中理工大学出版社, 1994. 104-135.