

# 营养元素硒在南瓜中赋存形态及分布研究

刘信平<sup>1</sup>, 张 驰<sup>2</sup>, 周大寨<sup>2</sup>, 毛良伟<sup>2</sup>

(1. 湖北民族学院化学与环境工程学院, 湖北 恩施 445000;

2. 湖北民族学院 湖北省生物资源保护与利用重点实验室, 湖北 恩施 445000)

**摘 要:** 本文研究了营养元素硒在南瓜中赋存形态、分布及含硒大分子的提取分离技术; 采用蒸馏水、稀盐、乙醇、稀碱分别依次提取不同种类的蛋白质, 热水浸提法提取多糖, 原子吸收分光光度法测定硒的含量; 结果表明: 南瓜中的含硒组分主要有蛋白硒和多糖硒, 分别占样品含硒量的 45.76% 和 27.47%, 在硒蛋白组分中又以碱性蛋白结合硒含量最高, 占样品含硒量的 46.34%。

**关键词:** 南瓜; 硒蛋白; 硒多糖; 赋存形态

## Study on the Distribution and Combined of Forms Element Selenium in the Pumpkin

LIU Xin-ping<sup>1</sup>, ZHANG Chi<sup>2</sup>, ZHOU Da-zhai<sup>2</sup>, MAO Liang-Wei<sup>2</sup>

(1. School of Chemical and Environmental Engineering, Hubei Institute for Nationalities, Enshi 445000, China;

2. Key Laboratory of Biological Resources Protection and Utilization of Hubei Province, Hubei Institute for Nationalities, Enshi 445000, China)

**Abstract:** This article studied the combined forms and distribution of selenium, the extraction and separation technology of macromolecule containing selenium in pumpkin. Uses the distilled water, the thin salt, the ethyl alcohol, the thin alkali to extract separately in turn, the polysaccharide was selected with hot water immersion extraction. After that, selenium was assayed with the atomic absorption spectrophotometric method. The results indicated that, in the pumpkin, the main Se-containing components are Se-protein and Se-polysaccharide, occupying the total the selenium 45.76% and 27.47%. In Se-protein components, alkaline-soluble protein has the highest selenium content, which occupies the total selenium 46.34%. Thus, the Enshi rich selenium pumpkin is extremely good function food or the drugs, having huge developmental potential.

**Key words:** pumpkin; Se-protein; Se-polysaccharide; combined forms

中图分类号: 0946.911

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2006)10-0061-04

南瓜(*Cucurbita spp*)属葫芦科南瓜属一年生草本蔓性植物, 研究发现南瓜不仅营养丰富, 而且具有降血糖、降血脂、预防癌症、解毒护肝、抗氧化、护视力、辅助治疗前列腺炎、增强男性性功能等多种食疗保健作用及药用价值<sup>[1~5]</sup>, 而营养元素硒是人体必须的微量元

素, 具有抗氧化、抗衰老、保护细胞损伤、提高人体免疫、预防癌变、排毒、养颜等多重生物学功能<sup>[6,7]</sup>, 中国约有 2/3 的地区属于国际公认的缺硒地区, 其中近 1/3 为严重缺硒地区, 科学补硒在美国、加拿大等发达国家已制定了严格的每日每天补硒标准, 通过食物链解

收稿日期: 2006-08-18

基金项目: 湖北省教育厅重点项目(D200529005)

作者简介: 刘信平(1967-), 女, 副教授, 主要从事硒的化学和天然产物开发研究。

[7] Wallace W, Secor J, Schrader B.J. Rapid accumulation of 4-aminobutyric acid and alanine in soybean leaves in response to an abrupt transfer to lower temperature, darkness, or mechanical manipulation[J]. Plant Physiol, 1984, 75: 170-175.

[8] Reggiani R, Cantu C A, Brambilla I, et al. Accumulation and

interconversion of amino acids in rice roots under anoxia[J]. Plant Cell Physiol, 1988, 29: 981-987.

[9] Auri sano N, Bertani A, Reggiani R. Involvement of calcium and calmodulin in protein and amino acid metabolism in rice roots under anoxia[J]. Plant Cell Physiol, 1995, 36: 1525-1529.

决人群缺硒问题。我国食品营养学会提出了成人补硒的标准( $50 \sim 200 \mu\text{g}/\text{人} \cdot \text{d}$ )。世界硒都——湖北恩施拥有丰富的无机硒矿,但是无机硒被人畜直接吸收利用率较低,当与南瓜中的蛋白质和多糖有机结合时,硒就转化为有机硒。研究南瓜中硒的存在形态及在生物大分子中的分布,对于南瓜产品的深度开发具有十分重要的作用,恩施富硒南瓜(含硒量 $0.392 \mu\text{g}/\text{g}$ )中多糖和蛋白质均结合一定量的硒,极具开发利用价值。南瓜产品的综合开发与利用日益受到国内及世界发达国家的普遍重视,开发南瓜系列产品硒多糖、硒蛋白等具有广阔的国际和国内市场前景。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

南瓜采自恩施双河(中国最高富硒区),50℃烘干,粉碎机粉碎,过40目筛后放入干燥器中备用。

### 1.2 药品

牛血清蛋白、考马斯亮蓝G-250、乙醇、磷酸、氯化钠、氢氧化钠、蒽酮、浓硫酸、葡萄糖、氯化钡、三氯、正丁醇、硝酸、双氧水、硝酸镍、丙酮、磷酸二氢钾、磷酸氢二钠(以上药品均为分析纯),实验用水为去离子水。

### 1.3 仪器与设备

HWS17型电热恒温水浴锅 上海-恒科技有限公司;AL204电子天平 梅特勒公司;S21-3磁力搅拌器 上海司乐仪器厂;202-1A型电热恒温干燥箱 上海阳光实验仪器有限公司;DL6MB大容量冷冻离心机 长沙英泰仪器有限公司;AVANTI 130超速离心机 贝克曼公司;S53/54紫外可见分光光度计 上海棱光技术有限公司;微波消解仪 意大利;WZ-150C型磨粉磨浆机 湖北黄石;原子吸收仪(800) 美国PE公司。

### 1.4 方法

#### 1.4.1 不同种类蛋白质提取及含量测定

##### 1.4.1.1 样品总可溶性蛋白的提取

取5.0000g烘干的南瓜粉,加入50ml丙酮搅拌2h,5000r/min离心,收集沉淀,重复此操作三次。将沉淀用50ml pH8.5的 $\text{KH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$ <sup>[8]</sup>搅拌提取4h后静置0.5h,5000r/min离心15min,取其上清液,残渣再分别用40ml和30ml溶液重复搅拌提取,离心,合并上清液。将收集的上清液定容至200ml,准确吸取20ml,加硫酸铵至饱和。4℃下静置过夜,5000r/min、4℃离心15min,收集沉淀转入透析袋,透析至饱和 $\text{BaCl}_2$ 溶液检验透析水为阴性,将蛋白质用提取液定容至100ml,测定其质量和含硒量。

##### 1.4.1.2 样品水溶性蛋白的提取

准确称取5.0000g烘干的南瓜粉,加入50ml丙酮搅拌2h,5000r/min离心15min,收集沉淀,重复此操作三次,挥发丙酮。将脱脂后的南瓜粉置于250ml烧杯中,加50ml蒸馏水放在磁力搅拌器上搅拌提取4h后静置0.5h,5000r/min离心15min,取其上清液,并将残渣合并于原烧杯中,再分别用40ml和30ml蒸馏水重复搅拌提取,离心,合并上清液,剩余残渣合并于原烧杯中。将收集的上清液定容至200ml,准确吸取20ml,加硫酸铵至饱和。4℃下静置过夜,5000r/min、4℃离心15min,收集沉淀转入透析袋,透析至饱和 $\text{BaCl}_2$ 溶液检验透析水为阴性,将蛋白质用提取液定容至100ml,测定其质量和含硒量。

##### 1.4.1.3 样品盐溶性蛋白的提取

在提取水溶性蛋白质后的残渣中,加50ml 0.5mol/L NaCl溶液,放于磁力搅拌器上搅拌提取4h后静置0.5h,5000r/min离心15min,取其上清液,并将残渣合并于原烧杯中,再分别用40ml和30ml 0.5mol/L NaCl溶液重复搅拌提取,离心,合并上清液,剩余残渣合并于原烧杯中。将收集的上清液定容至200ml,准确量取20ml,加硫酸铵至饱和。4℃下静置过夜,5000r/min、4℃离心15min,收集沉淀转入透析袋,透析至饱和 $\text{BaCl}_2$ 溶液检验透析水为阴性,将蛋白质用提取液定容至100ml,测定其质量和含硒量。

##### 1.4.1.4 样品醇溶性蛋白的提取

在提取盐溶蛋白的残渣中,加50ml 70%乙醇溶液,放于磁力搅拌器上搅拌提取4h后静置0.5h,5000r/min离心15min,取其上清液,并将残渣合并于原烧杯中,再分别用40ml和30ml 70%乙醇溶液重复搅拌提取,离心,合并上清液,剩余残渣合并于原烧杯中。将收集的上清液定容至200ml,准确量取20ml,加硫酸铵至饱和。4℃下静置过夜,5000r/min、4℃离心15min,收集沉淀转入透析袋,透析至饱和 $\text{BaCl}_2$ 溶液检验透析水为阴性,将蛋白质用提取液定容至100ml,测定其质量和含硒量。

##### 1.4.1.5 样品碱溶性蛋白的提取

在提取醇溶蛋白的残渣中,加50ml 0.1mol/L NaOH溶液,放于磁力搅拌器上搅拌提取4h后静置0.5h,5000r/min离心15min,取其上清液,并将残渣合并于原烧杯中,再分别用40ml和30ml溶液重复搅拌提取,离心,合并上清液,剩余残渣合并于原烧杯中。将收集的上清液定容至200ml,准确量取20ml,加硫酸铵至饱和。4℃下静置过夜,5000r/min、4℃离心15min,收集沉淀转入透析袋,透析至饱和 $\text{BaCl}_2$ 溶液检验透析水为阴性,将蛋白质用提取液定容至100ml,测定其质量和含硒量。

##### 1.4.1.6 样品蛋白质的含量测定

考马斯亮蓝 G-250 染色法<sup>[9]</sup>。采用牛血清蛋白作标准曲线： $Y=75.605A+0.136$ ，相关系数  $r=0.9989$ 。

#### 1.4.2 多糖提取及硒含量测定

##### 1.4.2.1 样品多糖的提取

取 5.0000g 烘干的南瓜粉，加入 50ml 丙酮搅拌 2h，5000r/min 离心 15min，收集沉淀，重复此操作三次，挥发丙酮。将脱脂后的南瓜粉置于 100ml 烧杯中，加 25ml 蒸馏水恒温 80℃ 放在磁力搅拌器上搅拌提取 2h 后静置 0.5h，5000r/min 离心 15min<sup>[23]</sup>，取其上清液，并将残渣合并于原烧杯中，再重复用 25ml 蒸馏水恒温 80℃ 搅拌提取两次，离心，合并上清液。将收集的上清液转入分液漏斗，加入等体积的 Sevag 试剂<sup>[15]</sup>，剧烈震荡后静置 2h 取其上清液。Sevag 脱蛋白操作重复 5 次后取上清液加入约 4 倍体积的乙醇，醇析 8h，5000r/min 离心 15min，收集沉淀。重复醇析两次。然后依次用丙酮、乙醚洗涤离心三次。最后将多糖水溶解并定容到 100ml，测定其质量和硒含量。

##### 1.4.2.2 样品多糖含量测定

蒽酮-硫酸比色法<sup>[10]</sup>。采用葡萄糖作标准曲线： $Y=188.56A+1.8551$ ，相关系数  $r=0.9994$ 。

##### 1.4.2.3 硒含量的测定

本研究用原子吸收分光光度法作为检测硒的手段，样品用 (7ml  $HNO_3$ +2ml  $H_2O_2$ ) 微波消化，用去离子水定容至 25ml，以硝酸镍作为基体改进剂，石墨炉原子吸收分光光度法测定<sup>[11]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 蛋白质和多糖测定结果

总蛋白质和蛋白质各组分质量分数测定结果见表 1。

表 1 不同种类蛋白质各组分质量分数测定结果  
Table 1 Determination results of content of various protein components

	水溶 蛋白	盐溶 蛋白	醇溶 蛋白	碱溶 蛋白	总可溶 蛋白
吸光度值	0.058	0.070	0.098	0.145	0.416
蛋白质质量 (μg)	4.521	5.428	7.545	11.099	31.588
蛋白质质量分数 (mg/g)	0.181	0.217	0.302	0.440	1.264

根据三次检测结果，吸光度值 A 为 0.109，按回归方程求得多糖质量为 22.408μg，再依据提取液体积可得样品多糖质量分数为 4.409mg/g。

从实验结果看，南瓜中蛋白质种类较多，总可溶性蛋白质达干重的 0.1264%，在不同种类的蛋白质中，水溶蛋白、盐溶蛋白、醇溶蛋白、碱溶蛋白分别占干重的 0.0181%、0.0217%、0.0302%、0.0440%，以碱溶性蛋白质含量较高。多糖含量占干重的 0.4409%，其硒

含量为 0.934mg/kg。为了进一步弄清营养元素硒在蛋白质生物大分子中的存在形态及分布，对所得到的各组分进行硒含量的检测。

### 2.2 硒在南瓜中赋存形态

为研究高硒土壤所培育出的富硒南瓜中硒的赋存状态，笔者采用石墨炉原子吸收分光光度法测定了南瓜干样的总硒、总蛋白硒、非蛋白硒和多糖硒，其含量分布如图 1。从图中可以看出，南瓜样品的硒含量是 0.392mg/kg，其中蛋白质硒是硒的主要存在形态，占样品总硒的 45.76%，达到 1.556Se mg/kg，南瓜样品中其次是多糖硒，占样品总硒的 27.47%，达到 0.934mg/kg，其他形态的硒占总硒的 26.76%，以非蛋白硒形式存在也占有一定的比例，可能有单质硒、小分子硒或其他大分子硒等形式存在，还有待进一步研究。这说明南瓜中的硒主要分布在蛋白质中，其赋存状态主要是与蛋白质结合形式存在，但也有部分硒与多糖等非蛋白质形式存在。

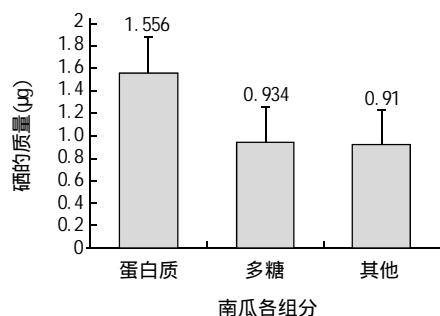


图 1 硒在南瓜中的分布

Fig.1 Selenium distribution in pumpkin

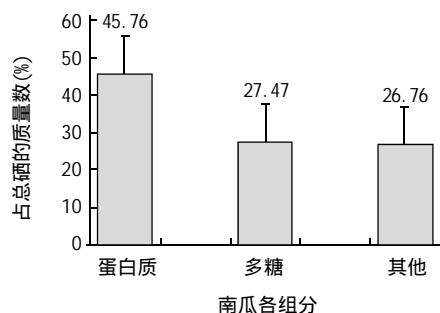


图 2 硒在南瓜中的分布百分比

Fig.2 Selenium distributed percentage in pumpkin

### 2.3 不同蛋白质硒含量分布

为进一步弄清硒在蛋白质中的分布情况，笔者利用蛋白质在不同溶剂中的溶解性将南瓜可溶性蛋白质分成四组，并研究硒在其的分布情况。从图 3 中可以看出，南瓜的这四组蛋白质中都含有硒，其中硒的分布情况是：盐溶性蛋白 > 碱溶性蛋白 > 水溶性蛋白 > 醇溶性蛋

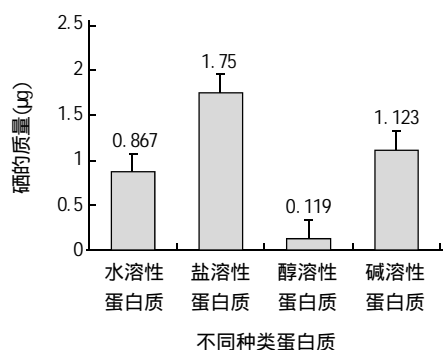


图3 硒在蛋白质各组分中的分布

Fig.3 Selenium distribution in various protein components

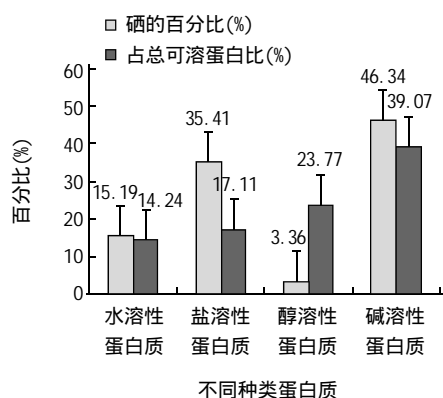


图4 硒在蛋白质中的分布百分比

Fig.4 Selenium in protein distributed percentage

白, 盐溶性蛋白含硒高达 1.75mg/kg, 碱溶性蛋白质中硒的含量高达 1.123mg/kg, 水溶性蛋白质中硒的含量也达 0.867mg/kg, 醇溶性蛋白质中硒的含量最低, 只有 0.119mg/kg。从图 4 可以看出, 不同种类蛋白质占总可溶蛋白的量是不一样的, 碱溶性蛋白 > 醇溶性蛋白 > 盐溶性蛋白 > 水溶性蛋白, 分别为: 39.07%、23.77%、17.11%、14.24%, 以碱溶性蛋白质比例最高, 水溶性蛋白最低; 但不同种类蛋白质结合硒量却为碱溶性蛋白 > 盐溶性蛋白 > 水溶性蛋白 > 醇溶性蛋白, 分别为 46.34%、35.41%、15.19%、3.36%, 以碱溶性蛋白结合硒最多, 醇溶蛋白结合硒最少, 说明盐溶性的蛋白质和碱溶性蛋白质中不仅硒的相对质量高, 而且蛋白质

的相对质量也较高, 其次是水溶性蛋白, 而醇溶性蛋白质质量虽较高, 但结合微量元素硒并不多。开发利用南瓜中蛋白硒, 主要以盐溶和碱溶蛋白为主。

### 3 结 论

南瓜作为一种广泛食用的蔬菜, 不仅营养丰富, 而且还可作为食品加工原料, 开发其他种类的食品, 但作为富硒南瓜, 通过以上的分析, 初步可以认为, 营养元素硒在南瓜中主要以蛋白质硒和多糖硒存在, 非蛋白质组分分布硒很少。在对蛋白质的四个组分硒的分析结果中可以看到: 水溶性蛋白、盐溶性蛋白、醇溶性蛋白以及碱溶性蛋白都能结合一定量的硒, 以碱溶性蛋白硒形式存在的硒最多, 而每分子盐溶性蛋白质所结合硒原子最多。这对于硒与南瓜蛋白质、多糖的结合机理的研究打下了基础, 同时也对开发板南瓜富硒蛋白质、富硒多糖产品提供了重要的依据, 也为南瓜的深度学习找到了有效的途径。

### 参考文献:

- [1] 刘宜生. 南瓜的开发利用[J]. 中国食物与营养, 2001, (5): 19-20.
- [2] 丁云花. 南瓜的食疗保健价值及开发前景[J]. 中国食物与营养, 1998, (6) 49.
- [3] 孔庆胜, 王彦英. 南瓜多糖的分离纯化及其降血脂作用[J]. 中国生化药物杂志, 2000, 21(3): 130-132.
- [4] Yong-Kon Park, Hwan-Soo Cha, Mee-Weon Park, et al. Chemical components in different parts of pumpkin[J]. Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition, 1997, 26(4): 639-646.
- [5] 霍小琼, 陈颜红, 肖建春, 等. 南瓜粉开发及营养成分分析[J]. 昆明医学院学报, 1999, 20(3): 46-48.
- [6] 王夔. 生物科学中的微量元素(上册)[M]. 北京: 中国计量出版社, 1992. 57-89.
- [7] 覃事栋, 刘建福, 张永康. 微量元素硒及其测定[J]. 吉首大学学报, 1997, 18: 71-76.
- [8] 王宪泽. 生物化学实验技术原理和方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002. 132-197.
- [9] 李合生, 孙群, 赵世杰, 等. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002. 7.
- [10] 范文秀, 李新岭. 南瓜生长过程中多糖含量的测定[J]. 光谱实验室, 2005, 22(4): 7-10.
- [11] 王丽鑫, 胡晓荣, 李晖. 微波消解-石墨炉原子吸收法测定大鼠组织中的硒[J]. 光谱学与光谱分析, 2004, 24(11): 1447-1450.

中国科学引文数据库核心库收录期刊