

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2022.60046

# 富硒农产品中硒代氨基酸形态及其在不同蛋白组分中的分布

Selenium amino acids speciation in selenium-enriched agricultural products and their distribution in different protein components

刘 为<sup>1</sup> 尹金晶<sup>2</sup> 吴慕慈<sup>2</sup> 杨 宁<sup>1</sup> 何静仁<sup>1,2</sup> 张 瑞<sup>2</sup>

LIU Wei<sup>1</sup> YIN Jin-jing<sup>2</sup> WU Mu-ci<sup>2</sup> YANG Ning<sup>1</sup> HE Jing-ren<sup>1,2</sup> ZHANG Rui<sup>2</sup>

(1. 武汉轻工大学食品科学与工程学院, 湖北 武汉 430023;

2. 武汉轻工大学硒科学与工程现代产业学院, 湖北 武汉 430023)

(1. College of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University,

Wuhan, Hubei 430023, China; 2. School of Modern Industry for Selenium Science

and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan, Hubei 430023, China)

**摘要:**目的:探究富硒西兰花、富硒大豆、富硒玉米、富硒大麦苗不同溶解性蛋白组分中硒代氨基酸形态及分布情况。方法:利用高效液相色谱—氢化物发生—原子荧光光谱联用技术测定 4 种富硒禾谷类和十字花科农产品中硒代蛋氨酸(SeMet)、硒代胱氨酸(SeCys<sub>2</sub>)、甲基硒代半胱氨酸(MeSeCys)和硒代乙硫氨酸(SeEt)含量,并分析各硒代氨基酸在清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白和谷蛋白等不同溶解性蛋白组分中的分布特点。结果:4 种富硒植物的硒代氨基酸在不同蛋白组分中的含量及分布存在显著差异( $P < 0.05$ )。富硒大豆、富硒玉米、富硒大麦苗的有机硒以 SeMet 形式存在,在 4 类蛋白组分中分布较一致且相对含量均高于 66%,不存在 SeEt;富硒西兰花的有机硒主要以 SeCys<sub>2</sub> 和 SeMet 为主,MeSeCys 次之,前二者在清蛋白和谷蛋白组分中的分布较一致且约占有机硒含量的 36%,但在球蛋白和醇溶蛋白组分中均以 SeMet 存在,相对含量最高达 60%,其次为 SeCys<sub>2</sub> 约占有机硒含量的 34%。富硒西兰花中存在极少量的 SeEt 约占有机硒含量的 5%。结论:3 种禾谷类农产品(富硒大豆、富硒玉米、富硒大麦苗)的不同溶解性蛋白中均以 SeMet 为主;而富硒西兰花的不同溶解性蛋白则以 SeMet 和 SeCys<sub>2</sub> 为主,并且其清蛋白和谷蛋白还富含较多的 MeSeCys。

**关键词:**高效液相色谱—氢化物发生—原子荧光光谱;硒形态;富硒农产品;硒代氨基酸

**Abstract:** Objective: This study aimed to explore the distribution and speciation of selenium amino acids in different solubilized proteins of selenium-enriched broccoli, soybean, corn and barley seedlings. Methods: The contents of selenomethionine, selenocysteine, methylselenocysteine and selenethionine in four selenium-enriched cereals and cruciferous agricultural products were determined by high performance liquid chromatography-hydride generation-atomic fluorescence spectrometry. Moreover, the distribution characteristics of each selenium amino acid in albumin, globulin, gliadin and glutelin with different solubilized proteins were analyzed. Results: The content and distribution of selenium amino acids of the four selenium-enriched plants in different protein components were significantly different ( $P < 0.05$ ). SeMet was the main organic selenium form in selenium-enriched soybean, corn and barley seedlings, and its distribution of the four types of protein fractions was more consistent and the relative contents were all higher than 66%. However, no SeEt was detected. The organic selenium forms in selenium-enriched broccoli were mainly SeCys<sub>2</sub> and SeMet, following by MeSeCys. SeCys<sub>2</sub> and SeMet were more uniformly distributed in the albumin and glutenin which accounted for about 36% of the organic selenium content, but SeMet was present in the globulin and gliadin with the highest relative content of 60%. SeCys<sub>2</sub> accounted for about 34% of the organic selenium content, while SeEt was the smallest constituent accounted for about 5%. Conclusion: SeMet is the main selenium specie in different soluble proteins of Gramineous and cereals (selenium-enriched soybean, corn and barley seedlings); SeMet and SeCys<sub>2</sub> are the

**基金项目:**农产品加工与转化湖北省重点实验室开放课题(武汉轻工大学,编号:2020HBSQGDKFB11);湖北省重点研发计划项目(编号:2020BBA043)

**作者简介:**刘为,女,武汉轻工大学在读硕士研究生。

**通信作者:**何静仁(1974—),男,武汉轻工大学教授,博士。

E-mail: jingren.he@whpu.edu.cn

**收稿日期:**2022-03-19

main selenium species in different soluble proteins of selenium-enriched broccoli, and there are also MeSeCys in albumin and glutelin.

**Keywords:** high performance liquid chromatography-hydrate generation-atomic fluorescence spectrometry; organic selenium speciation; selenium-enriched agricultural products; selenoaminoacids

硒是人体必需营养素之一,具有抗氧化、抗病毒、调节免疫等生理功能,与人类健康密切相关<sup>[1-3]</sup>。在自然界中,硒主要以无机硒和有机硒两种形式存在,植物、动物和微生物等可将无机硒转变为有机硒,植物中的有机硒主要以游离的硒代氨基酸和硒蛋白中结合态硒代氨基酸形式存在<sup>[4]</sup>。研究<sup>[5-6]</sup>证明,无机硒对机体的安全阈值窄,过量摄入会导致人体中毒,而有机硒毒害低、生物活性强,且比无机硒更易被人体吸收利用。由于人体无法自行合成有机硒,必须依赖外源性膳食摄入,且不同形态硒在人体内的生物学效应和生物利用率差异较大,因此寻找一种灵敏、准确和可靠的检测方法以确定食物硒化合物的形态及含量,对进一步评估富硒产品的营养价值和含硒化合物对人体健康影响具有重要意义。

目前硒形态检测的常用方法为高效液相色谱—电感耦合等离子体质谱(HPLC-ICP-MS)和高效液相色谱—氢化物发生—原子荧光光谱(HPLC-HG-AFS)<sup>[7]</sup>,其中HPLC-HG-AFS因原理简单、测试光谱干扰较少、分析时间短、成本较低等诸多优点而被广泛应用<sup>[8]</sup>。植物样品中有机硒的提取及硒形态分析的前处理过程中,酶水解法具有反应条件温和及可防止物质原始形态转变的优点,是当前被广泛应用的方法,也是硒形态测定样品前处理的关键过程<sup>[9]</sup>。目前富硒农产品及硒蛋白类营养补充剂层出不穷,总硒含量的测定、硒形态分析及富硒农产品资源的营养评价也日益增多<sup>[4]</sup>,但有关不同科属富硒农产品的有机硒代氨基酸形态比较及其在不同溶解性蛋白组分中的分布差异特点研究尚未见报道。因此,研究拟优化硒形态测定前处理和液相色谱分离分析条件,建立一种基于HPLC-HG-AFS的硒代氨基酸测定方法,分析禾谷类和十字花科富硒农产品中典型硒代氨基酸形态含量及其在不同溶解性蛋白组分中的差异化分布特点,旨在为富硒农产品不同溶解性蛋白资源进一步开发利用提供依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 主要材料与试剂

富硒西兰花:深圳福山生物科技有限公司;  
富硒大麦苗:湖北吉田有限公司;  
富硒大豆:黑龙江新三农大豆种植合作社;  
富硒玉米:湖北恩施德源健康科技发展有限公司;  
SeCys<sub>2</sub>、MeSeCys、SeMet 标准溶液:中国计量科学研

究院;

SeEt 标准品:北京百灵威科技有限公司;

蛋白酶 E、蛋白酶 K:北京索莱宝科技有限公司;

中性蛋白酶、碱性蛋白酶、风味蛋白酶、胰蛋白酶、胃蛋白酶:上海阿拉丁生化科技股份有限公司;

柠檬酸、盐酸、硝酸:优级纯,国药集团化学试剂有限公司;

甲醇:色谱纯,美国 Fisher 公司。

### 1.2 主要仪器与设备

原子荧光光谱仪:AFS-8530 型,北京海光仪器有限公司;

微波消解仪:Multiwave PRO 型,奥地利安东帕有限公司;

高速冷冻离心机:FC5718R 型,奥豪斯仪器(美国)有限公司;

超纯水系统:Milli-Q Sythesis 型,美国 Millipore 公司;

电热恒温鼓风干燥箱:DHG-924385-III 型,上海新苗器械有限公司。

### 1.3 试验方法

1.3.1 富硒农产品前处理 将富硒西兰花、富硒大豆、富硒玉米、富硒大麦苗 4 种富硒农产品原料于 60 °C 烘干,粉碎过 80 目筛。取干燥粉末,以料液比 1:10 (g/mL) 加入正己烷,搅拌提取 3 h,重复提取 3 次,脱脂后置于通风橱挥干残余正己烷,获得脱脂粉末。

1.3.2 富硒农产品各级蛋白制备 参照 Osbore<sup>[10]</sup> 的方法,根据各级蛋白的不同溶解性,从富硒西兰花、富硒大豆、富硒玉米、富硒大麦苗中依次提取清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白和谷蛋白。

1.3.3 硒含量测定 参照 GB/T 5009.93—2017。

1.3.4 标准溶液配制 分别取硒代蛋氨酸(SeMet)、硒代胱氨酸(SeCys<sub>2</sub>)、甲基硒代半胱氨酸(MeSeCys)标准液和硒代乙硫氨酸(SeEt)标准品,用超纯水分别配置成质量浓度为 1.0 mg Se/mL 标准储备液,混合稀释成质量浓度为 5.0,10.0,25.0,50.0,100.0 μg Se/L 的标准工作液,现配现用。

1.3.5 样品前处理 称取 0.1 g 样品,加入 3 mL 一定浓度的蛋白酶溶液,振荡摇匀,迅速放入 37 °C 恒温水浴振荡,酶解提取后,10 000 r/min 离心 20 min,过 0.22 μm 滤膜,备用。选用硒含量较高的富硒西兰花样品对提取硒形态的酶解条件进行优化,并按式(1)计算提取效率。

$$X = \frac{A_1}{A_0} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

X——提取效率,%;

A<sub>1</sub>——样品中 4 种有机硒形态测定值总和,mg/kg;

$A_0$ ——样品硒含量,mg/kg。

### 1.3.6 仪器条件

(1) 液相色谱条件:色谱柱为 ZORBAX SB-Aq  $C_{18}$  柱 (150 mm×4.6 mm, 5  $\mu$ m), 流动相为 15 mmol/L 柠檬酸+5 mmol/L 己烷磺酸钠 (含 3% 甲醇), 流速 1.0 mL/min, 进样量 100  $\mu$ L。

(2) 氢化物发生参数:载流为 10% HCl;还原剂为 2.5%  $KBH_4$ +0.5% NaOH;消解剂为 0.15% KI+0.5% KOH;蠕动泵转速 40 r/min, 开启紫外灯。

(3) 原子荧光检测参数:硒空心阴极灯;灯电流 80 mA;负高压 380 V;载气、屏蔽气为氩气;流量分别为 300, 800 mL/min;原子化高度 8 mm。

1.3.7 数据分析 每个样品设置 3 个平行组, 使用 SPSS 23 对试验数据进行处理, 使用 Origin 9.0 作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 4 种富硒农产品的硒含量

富硒西兰花总硒含量[(154.19±1.37) mg/kg]远超过其他富硒玉米[(3.05±0.17) mg/kg]、富硒大豆[(2.84±0.11) mg/kg]和富硒大麦苗[(1.82±0.14) mg/kg], 根据作物的总硒含量可知, 富硒大豆、富硒玉米、富硒大麦苗均为非聚硒植物(<100 mg/Se kg·DW), 而富硒西兰花为次级聚硒植物(100~1 000 mg/Se kg·DW)<sup>[11-12]</sup>。

### 2.2 样品前处理条件优化

2.2.1 蛋白酶的筛选 由图 1 可知, 蛋白酶 E 对硒形态的提取效果最佳, 提取效率可达 62.6%, 其次是蛋白酶 K, 提取效率为 57.1%; 其他蛋白酶的提取效率均低于 50%, 硒形态提取效果一般。蛋白酶 E 和蛋白酶 K 对硒的提取效率较好, 与林樾等<sup>[13]</sup>的结果相符, 这可能是由于蛋白酶 K 和蛋白酶 E 是活性广泛的丝氨酸蛋白酶, 无特异性, 具有促进酶水解的各种限制性位点和性质, 可将硒蛋白分解成更小、更短的肽和氨基酸, 从而获得更高提取效率<sup>[9,14]</sup>。

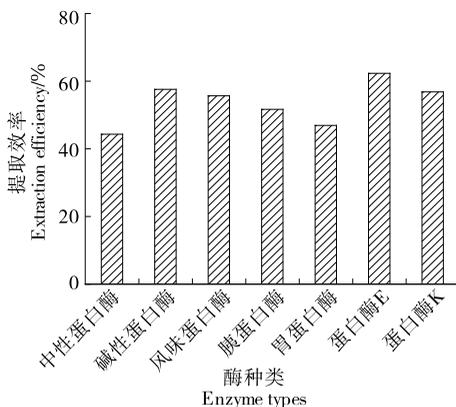


图 1 酶种类对 4 种硒形态提取效果的影响

Figure 1 Effects of enzyme types on the extraction of four selenium species

2.2.2 酶解时间的筛选 由图 2 可知, 当酶解时间>4 h 时, 提取效率不再提高, 随着酶解反应的进行反应体系 pH 会有所下降, 同时长时间酶解的外力环境下  $SeCys_2$  等硒代氨基酸稳定性会受到不同程度的影响, 导致含量测定值有所降低<sup>[15-16]</sup>, 故选择 4 h 为最适酶解时间。

2.2.3 加酶方式的筛选 由图 3 可知, 采用先添加蛋白酶 E 水浴 2 h 后再添加蛋白酶 K 水浴 2 h 的酶解方式提取效果最好, 提取效率可达 76.87%, 高于单独使用蛋白酶进行酶解提取, 与林樾等<sup>[13]</sup>的结论相符。故选择先添加蛋白酶 E 水浴 2 h 后再添加蛋白酶 K 水浴 2 h 的酶解方式对样品硒形态进行提取。

2.2.4 蛋白酶添加量的筛选 由图 4 可知, 随着蛋白酶添加量的增大, 样品中硒形态提取效率有所提高, 当蛋白酶添加量为 3.0% 时, 硒形态的提取效率最佳, 再继续增大蛋白酶用量, 样品中硒形态提取效率变化不明显, 故选择蛋白酶添加量为 3.0% 进行样品有机硒形态的提取。

### 2.3 色谱条件优化

2.3.1 色谱柱的选择 以柠檬酸溶液作为流动相, 分别

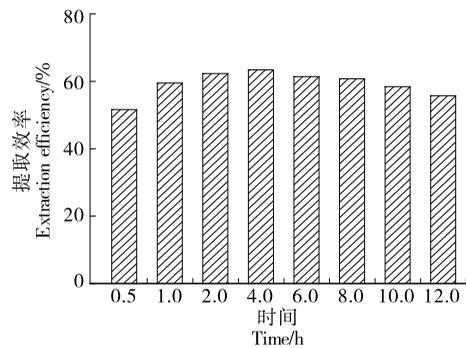
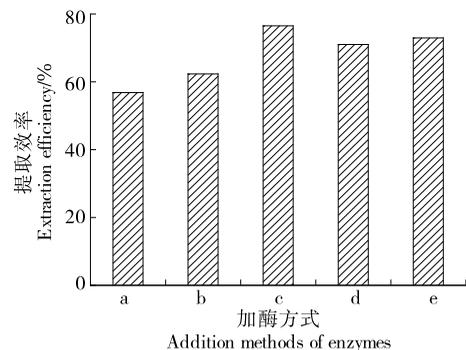


图 2 酶解时间对 4 种硒形态提取效果的影响

Figure 2 Effects of enzymatic digestion time on the extraction of four selenium species



a. 只添加蛋白酶 K b. 只添加蛋白酶 E c. 先添加蛋白酶 E 水浴 2 h 后再添加蛋白酶 K 水浴 2 h d. 先添加蛋白酶 K 水浴 2 h 后再添加蛋白酶 E 水浴 2 h e. 同时添加蛋白酶 E 和蛋白酶 K 水浴 4 h

图 3 加酶方式对 4 种硒形态提取效果的影响

Figure 3 Effects of the addition methods of enzymes on the extraction of four selenium species

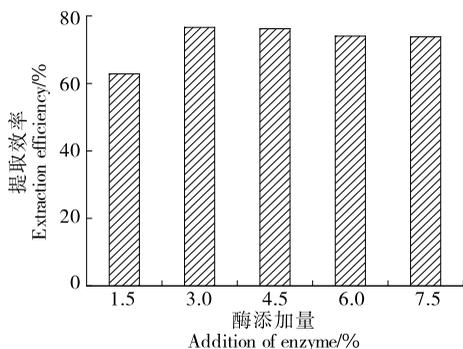


图 4 蛋白酶添加量对 4 种硒形态提取效果的影响

Figure 4 Effects of protease addition on the extraction of four selenium species

选用 PRP-X100 阴离子交换柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm) 和 ZORBAX SB-Aq C<sub>18</sub> 柱 (150 mm×4.6 mm, 5 μm) 进行测试。结果表明, PRP-X100 阴离子交换柱只能分离除 SeEt 以外的 3 种硒代氨基酸组分, 而 ZORBAX SB-Aq C<sub>18</sub> 反相色谱柱可以有效分离 4 种硒代氨基酸组分, 因此选用 ZORBAX SB-Aq C<sub>18</sub> 柱作为液相分离色谱柱。

### 2.3.2 流动相条件优化

(1) 流动相的选择: 在硒形态研究中, 磷酸盐溶液和柠檬酸盐溶液常被用作流动相, 使用 ZORBAX SB-Aq C<sub>18</sub> 柱, 调整流动相浓度为 15 mmol/L。结果显示, 磷酸氢二铵溶液作为流动相时, 只能分离出 SeCys<sub>2</sub>、MeSeCys、SeMet 3 个组分, 而柠檬酸溶液作为流动相时 4 种硒代氨基酸均可顺利出峰, 因此选择柠檬酸溶液进行进一步优化。

研究<sup>[17]</sup>表明, 在硒形态分离时, 向流动相中添加一定量离子对试剂可以有效改善分离效果及峰形。由图 5 可知, 离子对试剂的加入使得 4 种硒形态均达到基线分离, 当离子对试剂浓度增大时, 各有机硒组分的出峰时间及峰形改变并不明显, 综合考虑出峰情况和色谱柱耐受性, 选择己烷磺酸钠添加浓度为 5 mmol/L。

由图 6 可知, 未添加甲醇时, SeEt 组分出现双峰及拖尾现象, 随着甲醇的加入, 峰形得到明显改善。当甲醇添

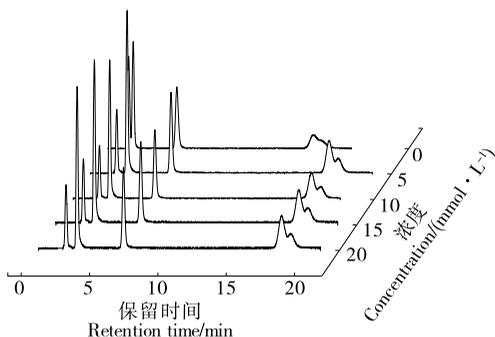


图 5 己烷磺酸钠浓度对 4 种硒形态分离效果的影响

Figure 5 Effects of the sodium hexanesulfonate concentration on the separation of four selenium species

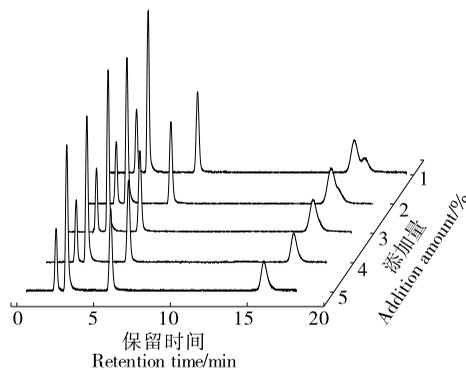


图 6 甲醇添加量对 4 种硒形态分离效果的影响

Figure 6 Effects of methanol addition on the separation of four selenium species

加量 > 3% 时, 各色谱峰强度及峰形变化较小, 且分离度受到影响, 综合分析峰形及出峰时间, 选择甲醇添加量为 3%。

(2) 流动相浓度的选择: 使用 ZORBAX SB-Aq C<sub>18</sub> 反相色谱柱时, 流动相浓度变化对 4 种硒形态的分离效果无明显影响, 同时考虑到高盐含量不利于色谱柱及仪器的保养, 选择 15 mmol/L 柠檬酸溶液作为流动相。

(3) 流动相 pH 的选择: 当 pH > 4.0 时, SeCys<sub>2</sub> 和 MeSeCys 无法实现分离; 当 pH 为 3.0~4.0 时, 随着 pH 的增大, 各组分出峰时间有所提前 (见图 7), 特别是 SeEt 组分受影响明显, 可以缩短分析时间, 故选择流动相 pH 为 4.0。

### 2.4 方法学考察

2.4.1 标准曲线与检出限 由表 1 可知, 4 种硒形态线性关系良好,  $R^2 \geq 0.9993$ , 该方法下 4 种硒代氨基酸检出限为 0.86~2.79 μg/L。

2.4.2 回收率与精密度 由表 2 可知, 富硒西兰花、富硒大豆、富硒玉米、富硒大麦苗中各硒形态相对标准偏差值 (RSD) 均 < 5%, 加标回收率分别为 78.5%~104.1%, 89.4%~103.7%, 76.5%~106.8%, 87.3%~103.5%, 说

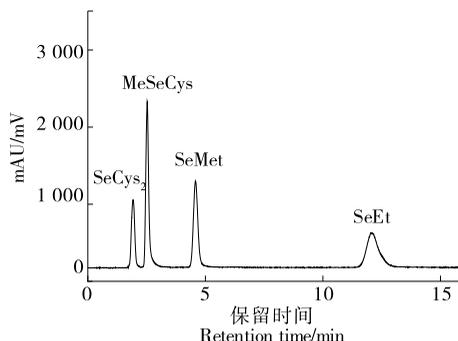


图 7 4 种硒代氨基酸混合标样的液相色谱图 (100 μg Se/L)

Figure 7 Liquid chromatogram of mixed standard samples with four seleno amino acids (100 μg Se/L)

明方法的准确性和重复性良好,可以满足检测需求。

2.5 样品分析

由表 3 可知,从硒代氨基酸整体来看,富硒西兰花的球蛋白和谷蛋白组分中均存在 SeCys<sub>2</sub>、SeMet、MeSeCys、

SeEt 4 种硒代氨基酸,富硒西兰花清蛋白和醇溶蛋白组分,富硒玉米谷蛋白组分均含有除 SeEt 以外的其他 3 种硒代氨基酸,其余硒蛋白组分中则只含两种或一种硒代氨基酸。

表 1 4 种硒代氨基酸的线性关系和检出限

Table 1 Linearity and detection limits of four seleno amino acids

硒形态	线性范围/( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	保留时间/min	线性方程	R <sup>2</sup>	检出限/( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )
SeCys <sub>2</sub>	0~100	1.93	$y=85.4508x+121.645$	0.999 5	0.86
MeSeCys	0~100	2.68	$y=240.839x+482.598$	0.999 6	1.44
SeMet	0~100	4.76	$y=153.877x+142.035$	0.999 3	1.06
SeEt	0~100	12.13	$y=195.545x-188.951$	0.999 9	2.79

表 2 富硒西兰花的加标回收率<sup>†</sup>

Table 2 Recovery rate of selenium enriched broccoli (n=3)

硒形态	富硒西兰花					富硒大豆				
	本底值/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	添加量/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	测定值/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	回收 率/%	RSD/ %	本底值/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	添加量/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	测定值/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	回收 率/%	RSD/ %
SeCys <sub>2</sub>	41.63	3	43.99	78.5	3.92	0.18	3	2.92	91.2	3.34
		9	49.67	89.3	3.02		9	8.60	93.6	2.53
		15	54.75	87.5	1.68		15	14.79	97.4	4.26
MeSeCys	41.20	3	44.02	104.1	2.83	ND	3	2.68	89.4	2.56
		9	50.34	101.5	1.23		9	8.39	93.2	2.65
		15	55.14	92.9	1.22		15	14.36	95.7	3.83
SeMet	35.79	3	38.61	94.1	4.42	1.82	3	4.87	101.6	2.51
		9	45.10	103.5	3.49		9	11.15	103.7	2.39
		15	49.97	94.6	1.78		15	16.31	96.6	2.31
SeEt	1.30	3	3.71	80.4	4.30	ND	3	2.95	98.2	1.07
		9	9.95	96.1	2.74		9	8.33	92.6	1.79
		15	15.61	95.4	2.06		15	15.20	101.3	2.53
硒形态	富硒玉米					富硒大麦苗				
	本底值/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	添加量/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	测定值/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	回收 率/%	RSD/ %	本底值/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	添加量/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	测定值/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	回收 率/%	RSD/ %
SeCys <sub>2</sub>	0.10	3	2.51	80.4	4.09	0.45	3	3.07	87.3	3.16
		9	8.09	88.8	1.56		9	8.66	91.2	2.45
		15	13.62	90.1	2.33		15	14.35	92.6	1.40
MeSeCys	0.07	3	2.36	76.5	3.90	0.09	3	2.88	93.1	2.10
		9	7.67	84.5	1.72		9	9.22	101.4	2.23
		15	13.84	91.8	2.29		15	14.99	99.3	3.88
SeMet	2.24	3	5.34	106.8	3.89	0.68	3	3.32	88.0	3.68
		9	11.04	97.7	3.35		9	8.91	91.4	1.33
		15	17.66	102.8	1.80		15	16.15	103.1	2.19
SeEt	ND	3	2.95	98.2	2.76	ND	3	3.11	103.5	2.85
		9	9.12	101.3	1.66		9	8.93	99.3	2.14
		15	14.75	98.3	2.70		15	14.48	96.5	1.45

<sup>†</sup> ND 为低于检出限。

由图 8 可知,富硒大豆、富硒玉米和富硒大麦苗不同溶解性蛋白中主要硒代氨基酸为 SeMet,SeMet 在此 3 种原料蛋白的硒代氨基酸中占比可达 66% 以上,其中富硒玉米除谷蛋白有 SeCys<sub>2</sub> 和 MeSeCys 检出,清蛋白、球蛋白、醇溶蛋白中均只检出 SeMet。SeMet 是富硒农产品不同溶解性蛋白中均有分布的硒代氨基酸,其普遍存在于富硒植物蛋白这一特点与 SeMet 代谢吸收途径密切相

关。SeMet 在植物中的生物合成途径与蛋氨酸(Met)十分相似,在 Met 的合成过程中 tRNA 对 S 和 Se 并无特异性识别,使得 SeMet 可以直接进入富硒植物蛋白质,大豆、玉米、大麦苗这类非聚硒植物蛋白质中硒代氨基酸主要以 SeMet 形式存积<sup>[18]</sup>。富硒大麦苗蛋白中除了 SeMet,还存在着一定比例的 SeCys<sub>2</sub>,但含量较少,可能与大麦苗吸收转换硒的能力有关。

表 3 富硒农产品各级蛋白组分中 4 种有机硒形态含量<sup>†</sup>

Table 3 Content of the four kinds of organic selenium species in different soluble proteins of selenium enriched agricultural products mg/kg

蛋白类型	富硒西兰花				富硒大豆			
	SeCys <sub>2</sub>	MeSeCys	SeMet	SeEt	SeCys <sub>2</sub>	MeSeCys	SeMet	SeEt
清蛋白	29.48	21.53	28.75	ND	0.42	ND	3.16	ND
球蛋白	37.46	4.92	68.03	0.31	0.67	ND	6.98	ND
醇溶蛋白	12.82	2.27	22.51	ND	ND	ND	0.99	ND
谷蛋白	49.16	16.05	48.42	1.85	0.11	ND	8.94	ND
蛋白类型	富硒玉米				富硒大麦苗			
	SeCys <sub>2</sub>	MeSeCys	SeMet	SeEt	SeCys <sub>2</sub>	MeSeCys	SeMet	SeEt
清蛋白	ND	ND	9.68	ND	1.37	ND	6.24	ND
球蛋白	ND	ND	18.72	ND	1.02	ND	4.79	ND
醇溶蛋白	ND	ND	5.38	ND	0.64	ND	1.25	ND
谷蛋白	1.32	0.27	8.67	ND	0.32	ND	0.97	ND

† ND 为低于检出限。

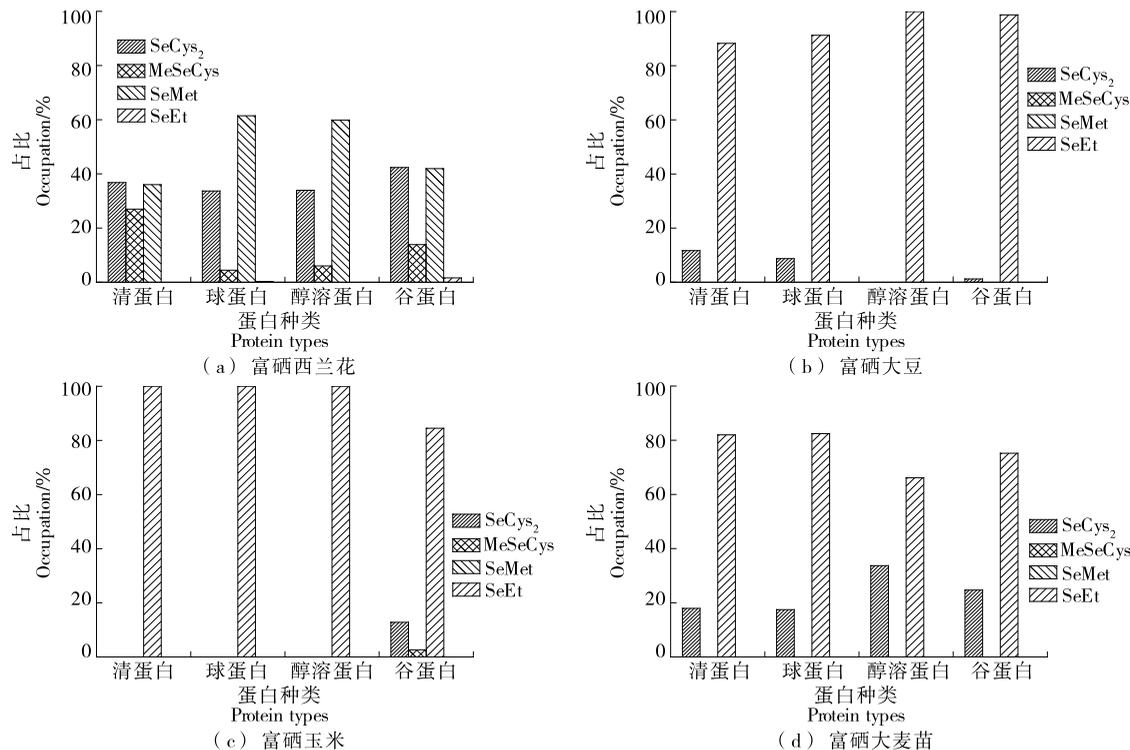


图 8 4 种富硒农产品各级蛋白中有机硒形态占比

Figure 8 Proportions of organic selenium species in different soluble proteins of selenium enriched agricultural products

富硒西兰花作为十字花科植物中次级聚硒植物,其各级蛋白中硒代氨基酸含量较高。土壤中的硒被植物吸收后经过S代谢途径被还原或转化为SeCys和SeMet,这两种硒代氨基酸在蛋白质中进行非特异性结合,代替了部分Cys和Met参与其中,然而,当硒被过度积累时会致使蛋白质的折叠中断,从而引发中毒反应,为避免中毒,许多十字花科植物会通过甲基化的方式转变硒的储存形式,因此西兰花中存在较高含量的MeSeCys<sup>[11,19]</sup>。在西兰花清蛋白和谷蛋白中检出MeSeCys含量分别为21.53, 16.05 mg/kg。研究<sup>[20]</sup>表明,植物中MeSeCys不进入蛋白质而直接存于植物,但此类硒代氨基酸可被提取剂提取出来,因而推测在蛋白质提取的同时,西兰花中大量存在的MeSeCys仍会被溶出,继而检出。

除SeMet外,可直接被结合进入蛋白的SeCys<sub>2</sub>也在大豆、玉米、大麦苗3种禾谷类植物中有所分布,富硒西兰花球蛋白和谷蛋白中除SeMet、SeCys<sub>2</sub>和MeSeCys外,还分布有少量的SeEt。十字花科植物西兰花和禾谷类植物的硒形态分布之间存在一定差异,与西兰花更为复杂、多样的硒代谢途径有关,其防中毒机制也在一定程度上丰富了有机硒的存在形式。

### 3 结论

通过对样品前处理条件和色谱条件进行优化,建立了高效液相色谱—氢化物发生—原子荧光光谱联用测定富硒西兰花、富硒玉米、富硒大豆、富硒大麦苗中SeMet、SeCys<sub>2</sub>、MeSeCys、SeEt 4种有机硒形态的方法。结果表明,该方法操作简单、重复性好、准确性高、成本低,满足富硒农产品中多种有机硒形态检测需要。大豆、玉米、大麦苗3种禾谷类富硒农产品蛋白中硒代氨基酸主要以SeMet形式存在,而十字花科的富硒西兰花蛋白中SeCys<sub>2</sub>、SeMet和MeSeCys占比较高,且硒代氨基酸在不同蛋白组分中的赋存形式及含量也存在差异。后续可探究高有机硒蛋白组分的抗氧化活性及功能特性。

### 参考文献

- [1] AVERY J C H P. Selenium, selenoproteins, and immunity[J]. *Nutrients*, 2018, 10(9): 1 203.
- [2] RAZAGHI A, POOREBRAHIM M, SARHAN D, et al. Selenium stimulates the antitumour immunity: Insights to future research[J]. *European Journal of Cancer*, 2021, 155: 256-267.
- [3] ZHANG J, SAAD R, TAYLOR E W, et al. Selenium and selenoproteins in viral infection with potential relevance to COVID-19[J]. *Redox Biology*, 2020, 37: 101715.
- [4] 王珠琳,袁莉,李建科,等.富硒植物蛋白的研究进展[J].*中国粮油学报*, 2022, 37(2): 196-202.  
WANG Zhu-lin, YUAN Li, LI Jian-ke, et al. Research progress of selenium-rich plant protein[J]. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2022, 37(2): 196-202.
- [5] KUMAR B S, TIWARI S K, MANOJ G, et al. Anti-ulcer and antimicrobial activities of sodium selenite against *Helicobacter pylori*: In vitro and in vivo evaluation [J]. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 2010, 42(4): 266-274.
- [6] KUMAR B S, PRIYADARSINI K I. Selenium nutrition: How important is it? [J]. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 2014, 4(2): 333-341.
- [7] 李洁,祝振洲,程水源,等.硒形态检测方法在富硒食品标准中的应用与进展[J].*食品科技*, 2021, 46(12): 8-14.  
LI Jie, ZHU Zhen-zhou, CHENG Shui-yuan, et al. Recent insights on application of selenium forms detection in selenium enriched food standards[J]. *Food Science and Technology*, 2021, 46(12): 8-14.
- [8] 肖志明,宋荣,贾铮,等.液相色谱—氢化物发生原子荧光光谱法测定富硒酵母中硒的形态[J].*分析化学*, 2014, 42(9): 1 314-1 319.  
XIAO Zhi-ming, SONG Rong, JIA Zheng, et al. Quantitative determination of selenium species in Se-enriched yeast using liquid chromatography-hydride generation atomic fluorescence spectrometry[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2014, 42(9): 1 314-1 319.
- [9] YE M, LI J, YU R, et al. Selenium speciation in selenium-enriched plant foods[J]. *Food Analytical Methods*, 2022, 15: 1 377-1 389.
- [10] OSBORNE T B. The vegetable proteins[M]. London: Longmans, Green and Company, 1924: 154-156.
- [11] 饶申,程华,刘浩东,等.硒对十字花科作物营养品质的影响综述[J].*食品科技*, 2022, 47(3): 30-35.  
RAO Shen, CHENG Hua, LIU Hao-dong, et al. Effects of selenium on the nutrient quality in cruciferous crops: A review[J]. *Food Science and Technology*, 2022, 47(3): 30-35.
- [12] SCHIAVON M, PILON-SMITS E. Selenium Biofortification and phytoremediation phytotechnologies: A review[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2017, 46(1): 10-19.
- [13] 林樾,陈尚卫,虞锐鹏,等.高效液相色谱—电感耦合等离子体质谱法测定富硒碎米芥中的硒形态[J].*分析科学学报*, 2021, 37(5): 637-642.  
LIN Yue, CHEN Shang-wei, YU Rui-peng, et al. Determination of selenium speciations in selenium-enriched cardamine violifolia by high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry[J]. *Journal of Analytical Science*, 2021, 37(5): 637-642.
- [14] 汤恒.高效降解β-乳球蛋白的蛋白酶的性能优化及结构解析[D].无锡:江南大学,2019:6-7.  
TANG Heng. Optimization and structure analysis of a protease with highly Beta-Lactoglobulin degradation ability [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2019: 6-7.
- [15] 赵秋香,冯超,陈福强.形态硒的研究过程中硒代蛋氨酸的稳定性研究[J].*广州化工*, 2011, 39(8): 66-68, 119.  
ZHAO Qiu-xiang, FENG Chao, CHEN Fu-qiang. Stability of selenomethionine during the extraction of selenium species[J]. *Guangzhou Chemical Industry*, 2011, 39(8): 66-68, 119.

(下转第190页)