

# 富硒处理对绿豆 GSH-Px 活性及 GSH 含量的影响

吴小勇<sup>1</sup>, 张延杰<sup>2</sup>, 陈铿铿<sup>1</sup>, 陈启鏊<sup>1</sup>

(1. 广东药学院公共卫生学院, 广东 广州 510310) (2. 咀香园健康食品(中山)有限公司, 广东 中山 528437)

**摘要:** 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px), 最早是在动物体内发现的一种含硒酶, 近年来在许多植物中也发现了该酶的存在, 并发现适当浓度的外源硒能提高 GSH-Px 的活性。本文以绿豆为实验材料, 用 NaSe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 作为硒源, 对绿豆进行富硒处理, 研究适当浓度的 NaSe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 对绿豆 GSH-Px 活性及绿豆中谷胱甘肽(GSH)含量的影响。结果显示: 富硒处理可以促进绿豆 GSH-Px 的合成; 无论是浸泡过程还是萌芽阶段, 经富硒处理的绿豆其 GSH-Px 的活性都比对照样高; 特别是在富硒处理 5 h 后, 绿豆 GSH-Px 活性显著增加, 比对照提高了 59.38%; 而绿豆中 GSH 的含量则是先下降, 后升高。

**关键词:** 绿豆; 谷胱甘肽过氧化物酶; 硒; 谷胱甘肽

中图分类号: TS972.16; 文献标识码: A; 文章编号: 1673-9078(2007)12-0028-03

## Effect of Selenium Enrichment Processing on GSH-Px Activity and GSH Content of Mung Bean

WU Xiao-yong<sup>1</sup>, ZHANG Yan-jie<sup>2</sup>, CHEN Keng-keng<sup>1</sup>, CHEN Qi-juan<sup>1</sup>

(1. College of Public Health, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510310, China)

(2. JU-XIANG-YUAN Health Food (Zhongshan) Co., LTD, Zhongshan 528437, China)

**Abstract:** Glutathione Peroxidase (GSH-Px) is a selenium-dependent enzyme which had been found in animal cells at first, and then has been discovered in many plants in recent years. Researchers has found that preferential concentrations exogenous Se could increase the GSH-Px activity of organism. In order to investigate the relationship between Se and the GSH-Px activity of mung bean, the mung bean had been soaked in a NaSe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> solution for 5 hours, and then been germinated in the ambient for a given period. The Se content and the GSH-Px activity of the processed mung bean were determined. Results indicate that exogenous Se increases the activity of GSH-Px in mung bean. Regardless of the immersing stage or the germinating stage, the GSH-Px activity of the selenium processed mung bean is higher than the same of the counterpart. After soaking in the selenium solution for 5 hours, the GSH-Px activity of the mung bean is remarkably increase, 59.38% higher than the same of the counterpart.

**Key words:** Mung bean; GSH-Px; selenium; GSH

谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)是 Mills 等人 1957 年首次从牛红细胞中发现的, 1973 年 Rotruck 等证明 GSH-Px 为含硒酶, 1978 年 Frostrom 等人证实 GSH-Px 的活性中心为硒代半胱氨酸(Se-Cys)。GSH-Px 是哺乳动物体内广泛存在的一种抗氧化酶, 它以还原型谷胱甘肽为底物, 催化还原多种氢过氧化物, 包括过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)、特丁基氢过氧化物、异丁基氢过氧化物等。GSH-Px 与超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)及过氧化氢酶(CAT)一起构成细胞的酶性保护系统, SOD、POD、CAT 分别清除细胞中过量的超氧阴离子自由基和过氧化氢, GSH-Px 则主要清除脂质过氧化物和过氧化氢。从而保护生物膜的生物

收稿日期: 2007-09-28

作者简介: 吴小勇(1972-), 男, 讲师, 研究方向: 功能性食品研究开发

大分子结构免受氧化伤害。大量研究表明, GSH-Px 主要存在于哺乳动物的肝脏、心脏、血液和动物乳汁中, 该酶能使机体免于自由基和辐射的破坏, 提高机体免疫能力, 抑制肿瘤, 抵抗疾病等, 在动物体和人体的生命活动中发挥重要作用<sup>[1-4]</sup>。

植物组织中 GSH-Px 的研究起步较晚。起初 Smith 和 Shrift 等<sup>[5]</sup>认为植物体内不存在 GSH-Px。但 A.Drotar 等<sup>[6]</sup>在菠菜、玉米、美国梧桐、蓝藻中检测到 GSH-Px。我国学者薛泰麟等<sup>[7]</sup>在经不同形式的 Se 诱导的大豆、小麦、玉米、油菜等高等植物叶片或萌动种子中都检测到了 GSH-Px 活性。黄爱纓等<sup>[8]</sup>的研究表明适当浓度的外源 Se 能显著提高麦苗中 GSH-Px 的活性。本文以绿豆为研究对象, 研究了适当浓度的亚硒酸钠溶液浸泡处理对绿豆 GSH-Px 活性及绿豆中

GSH 含量的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

市售绿豆。选择色泽亮绿, 颗粒饱满, 无虫蛀之绿豆。

### 1.2 化学试剂

DAN (2,3-二氨基萘), GR 级, 美国 New Jersey; 硒粉, AR 级, 天津科密欧; 聚乙烯吡咯烷酮 K30, 上海伯奥生物科技有限公司; 高氯酸、硝酸、硫酸、偏磷酸、甲酚红均为 GR 级, 其他化学试剂均为 AR 级。谷胱甘肽过氧化物酶测试盒、谷胱甘肽测定试剂盒, 均购自南京建成生物工程研究所。

### 1.3 主要仪器设备

FA2004N 型电子天平, 上海精科; F950 型荧光分光光度计, 上海现科仪器有限公司; 移液器, 北京青云卓立精密设备有限公司; 分光光度计 (spectrumLab 22pc), 上海菱光科技有限公司。

## 2 试验方法

### 2.1 样品处理

分别称取 100.00 g 绿豆, 用 3 倍于绿豆重量, 浓度为 30  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的  $\text{NaSe}_2\text{O}_3$  溶液 (对照样用蒸馏水) 于 35  $^{\circ}\text{C}$  的条件下分别浸泡 1 h、3 h、5 h, 取样。对于萌芽绿豆, 先在上述溶液 (对照样用蒸馏水) 中浸泡 5 h, 然后取出, 用蒸馏水冲洗三次, 接着置于 35  $^{\circ}\text{C}$  的环境中分别萌芽 2 h、4 h、6 h, 取样。取得的各样品用于各自的硒含量、GSH-Px 活性及 GSH 含量的测定。

### 2.2 样品硒含量的测定

样品总硒含量的测定采用荧光分光光度法, 具体操作参照 GB5009.93-2003 食品中硒的测定, 用直接比较法计算样品硒含量<sup>[9]</sup>。

测定无机硒时, 样品消化方法与测定总硒时有所不同, 其他操作与总硒含量测定相同。具体操作为: 准确称取 1.000 g 左右的样品, 置于圆底烧瓶内, 加入用 4 mol/L HCl 30 mL, 然后于 170  $^{\circ}\text{C}$  加热, 回流 20 min, 冷却后用定量滤纸过滤杂质, 得滤液, 测滤液中的硒含量即为样品中无机硒含量。

样品有机硒含量为总硒含量减去无机硒含量。

### 2.3 样品 GSH-Px 的提取和测定

参照曹征星等<sup>[10]</sup>, 黄爱缨等<sup>[11]</sup>, 汤建林等<sup>[12]</sup>和赵耀<sup>[13]</sup>的方法, 采用 DTNB (二硫代硝基苯甲酸) 染色法, GSH-Px 活性以活力单位表示。检测试剂盒购自“南京建成生物工程研究所”, 批号为 20061206。具体操

作参考试剂盒中所附的说明书。

### 2.4 样品还原型 GSH 的提取和测定

参照张宗申等<sup>[14]</sup>的方法, 采用 DTNB (二硫代硝基苯甲酸) 染色法, GSH 含量以  $\text{mg}/\text{gprot}$  表示。检测试剂盒购自“南京建成生物工程研究所”, 批号为 20060925。

## 3 结果与讨论

### 3.1 浸泡和萌芽过程中绿豆 Se 含量的变化

由图 1 可以看出, 亚硒酸钠溶液浸泡处理对绿豆的 Se 含量有显著影响; 随着浸泡时间的增加, 绿豆总硒含量逐渐增加。当浸泡时间为 5 h 时, 绿豆总硒含量达到 12.2046  $\mu\text{g}/\text{g}$ , 是对照样总硒含量 (0.7060  $\mu\text{g}/\text{g}$ ) 的 17 倍。由图 4 还可以看出, 在浸泡初期 (浸泡 1 h、3 h 时), 绿豆对外源 Se 的转化率较低, 被吸收的无机硒多数仍以无机形式存在于绿豆中; 浸泡 3 h 后, 绿豆吸收的无机硒开始迅速转化成有机硒, 一直到此后的萌芽阶段, 绿豆中有机硒占总硒含量的 90% 以上。

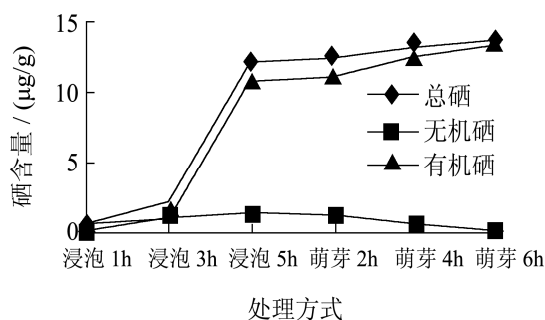


图1 浸泡和萌芽过程中绿豆Se含量的变化

### 3.2 硒对绿豆GSH-Px活性的影响

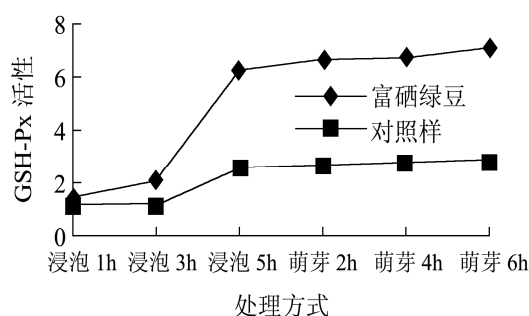


图2 浸泡和萌发过程中绿豆GSH-Px活性变化

GSH-Px 是一种含硒酶, Se 以硒代半胱氨酸 (Se-Cys) 的形式存在于酶的活性中心。硒在生物体内的抗氧化作用, 主要是通过 GSH-Px 来实现的。郭静成等人<sup>[15]</sup>的研究表明, 硒对高等植物中 GSH-Px 活性及 GSH 含量具有一定的影响, 外源硒处理, 可以在一定程度上提高高等植物中 GSH-Px 活性。本实验的结果 (见图 2) 也表明: 外源硒的存在对绿豆 GSH-Px

的活性具有积极作用, 绿豆 GSH-Px 的合成与 Se 的摄入和利用呈正相关; 随着浸泡时间的延长, 绿豆的硒含量逐渐增加, 绿豆 GSH-Px 的活性也逐渐升高, 而且升高的幅度比对照样大; 这可能是由于硒作为诱导因子, 启动了该酶合成有关的基因, 从而增加了该酶在绿豆中的含量和活性。

### 3.3 浸泡和萌芽过程中绿豆中GSH含量变化

GSH 是植物体内普遍存在的强还原性物质, 参与机体内多种氧化还原反应, 也是植物体内保护性酶—抗坏血酸过氧化物酶及 GSH-Px 发挥抗氧化功能的重要辅助物质。实验结果 (见图 3) 表明: 在浸泡过程中, 富硒绿豆中 GSH 含量随浸泡时间的延长而逐渐降低; 但在萌芽阶段, 富硒绿豆中 GSH 含量随萌芽时间的延长直线上升; 而对照样不管是在浸泡还是在萌芽阶段, 绿豆中 GSH 含量均随浸泡和萌芽时间的延长而升高, 且对照样中 GSH 含量除浸泡初始阶段低于富硒绿豆外, 其他阶段都高于富硒绿豆; 这可能与绿豆 GSH-Px 活性高低密切相关。结合图 2 和图 3, 可以看出, 与对照样相比, 除浸泡初始阶段外, 其他阶段富硒绿豆 GSH-Px 活性均高于对照样。GSH 作为 GSH-Px 的作用底物, 当绿豆 GSH-Px 活性增加时, GSH 的消耗量就会增加; 当绿豆中 GSH 的消耗量大于合成量时, 绿豆中 GSH 的含量就会降低。由于富硒处理可以提高绿豆 GSH-Px 的活性, 因此当富硒绿豆 GSH-Px 活性大大高于对照样时, 富硒绿豆中的 GSH 含量就会低于对照样。

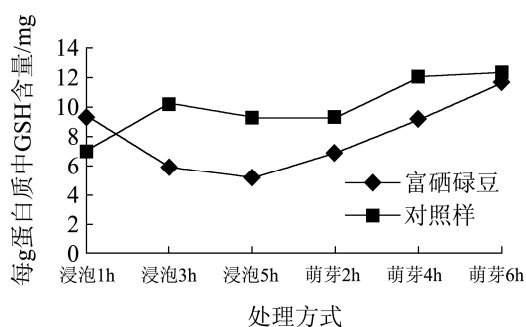


图3 浸泡和萌发过程中绿豆中GSH含量变化

## 4 结论

本文以绿豆为实验材料, 用  $\text{NaSe}_2\text{O}_3$  作为硒源, 对绿豆进行富硒处理, 研究绿豆富硒过程中绿豆 GSH-Px 活性及绿豆中 GSH 含量的变化情况。结果显示: 富硒处理可以促进绿豆 GSH-Px 的合成; 无论是浸泡过程还是萌芽阶段, 经富硒处理的绿豆其 GSH-Px 活性都比对照样高; 而作为 GSH-Px 的作用

底物之一的 GSH 在富硒绿豆中的含量却普遍比对照样低, 这可能是由于经富硒处理的绿豆其 GSH-Px 活性都比对照样高的缘故, 这从另一个侧面证明了富硒处理可以提高绿豆 GSH-Px 活性。

## 参考文献

- [1] 张凯, 谭武红, 徐光禄. 人肝谷胱甘肽过氧化物酶的纯化及部分性质研究[J]. 地方病通报, 1994, 9(2): 18-20
- [2] 徐衡. 人肝谷胱甘肽过氧化物酶纯化及性质研究[J]. 生物化学杂志, 1995, 11(2): 210-213
- [3] 夏其昌, 许根俊. 兔肝谷胱甘肽过氧化物酶的提纯和性质[J]. 生物化学与生物物理学报, 1986, 18(5): 438-442
- [4] 陈伟平, C.Rey, M.Lagsrde. 老年人血小板谷胱甘肽过氧化物酶的纯化和分子特性研究[J]. 科技报, 1994, 10(4): 247-250
- [5] Smith J, Shrift A. Phylogenetic distribution of glutathione peroxidase[J]. Physiol. Plant, 1979, 63(1): 39-44
- [6] Drotar A, Phelps A, Fall R. Evidence for Glutathione Peroxidase Activity In Cultured Plant Cells, Plant Science, 1985, 42: 35-40
- [7] 薛泰麟, 侯少范, 谭见安, 等. 硒在高等植物体内的抗氧化作用[J]. 科学通报, 1993, 38(3): 274-277
- [8] 黄爱纓, 吴珍龄.  $\text{NaSe}_2\text{O}_3$  对麦苗生长及谷胱甘肽过氧化物酶的影响[J]. 西南师范大学学报, 自然科学版, 1997, 22(4): 421-425
- [9] 毛红, 王光亚, 杨惠芬, 等. 食品中硒的测定[M]. 中华人民共和国国家标准 GB/T 5009.93-2003. 2003: 661-668
- [10] 容征星, 刘慧中, 鲍景奇, 等. 小鼠全血中谷胱甘肽过氧化物酶活力的微量测定法[J]. 生物化学与生物物理进展, 1994, 21(4): 362-366
- [11] 黄爱纓, 吴珍龄. 水稻谷胱甘肽过氧化物酶的测定法[J]. 西南农业大学报, 1999, 2(4): 324-327
- [12] 汤建林, 周世文, 徐传福. 分光光度法测定小鼠组织中谷胱甘肽过氧化物酶活力[J]. 第三军医大学学报, 1996, 18(6): 551-552
- [13] 赵耀. 亚硒酸钠诱导麦苗谷胱甘肽过氧化物酶生物合成机理探讨[J]. 西南农业大学学报, 2003, (6): 516-521
- [14] 张宗申, 利容千, 王建波. 外源  $\text{Ca}^{2+}$  预处理对高温胁迫下辣椒叶片细胞膜透性和 GSH、AsA 含量及  $\text{Ca}^{2+}$  分布的影响[J]. 植物生态学报, 2001, 25(2): 230-234
- [15] 郭静成, 尹顺平. 硒对高等植物中谷胱甘肽过氧化物酶活性及谷胱甘肽含量的影响[J]. 西北植物学报, 1998, 17(2): 157-161