

## 富硒米中某些化学形态硒含量的测定

杨容甫<sup>1</sup>, 陈巧伦<sup>1</sup>, 梁永能<sup>1</sup>, 梅承恩<sup>1</sup>, 黄宝珍<sup>1</sup>, 范仕贤<sup>2</sup>, 谢汝君<sup>2</sup>, 杨中行<sup>2</sup>

(1. 中山医科大学肿瘤研究所, 广东 广州 510060; 2. 广州市农牧渔业局, 广东 广州 510047)

**摘要:**【目的】测定富硒米中某些化学形态硒的含量, 为将富硒米用于肿瘤预防提供科学根据。【方法】2, 3-二氨基萘荧光分析法测定富硒米中总硒、无机硒、有机硒含量; CNBr-2, 3-二氨基萘荧光分析法测定硒蛋氨酸中的硒含量。【结果】夏、秋季收获的富硒米中总硒含量分别为 $(2.71 \pm 0.97) \mu\text{g/g}$ 、 $(9.87 \pm 1.18) \mu\text{g/g}$ , 均大大地高于普通米,  $P < 0.001$ ; 有机硒含量分别为 $2.68 \mu\text{g/g}$ 、 $9.77 \mu\text{g/g}$ , 均占总硒含量的99%以上; 富硒米中的有机硒主要成分为硒蛋氨酸, 含量分别为 $(1.45 \pm 0.67) \mu\text{g/g}$ 、 $(4.96 \pm 0.98) \mu\text{g/g}$ , 它们占总硒含量的53.5%, 50.5%。【结论】富硒米中的硒绝大部分是天然有机硒, 有机硒的主要成分是硒蛋氨酸。

关键词: 硒/分析; 稻(米)/化学; 肿瘤/预防和控制

中图分类号: O627.61 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2001)01-0033-02

## Determination of Selenium Contents for Some Chemical Forms in Rice Rich-Selenium

YANG Rong-pu<sup>1</sup>, CHEN Qiao-lun<sup>1</sup>, LIANG Yong-neng<sup>1</sup>, MEI Chen-gen<sup>1</sup>,  
HUANG Bao-zhen<sup>1</sup>, FAN Shi-xian<sup>2</sup>, XIE Ru-jun<sup>2</sup>, YANG Zhong-xing<sup>2</sup>

(1. Cancer Institute, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510030, China;

2. Bureau of Farming, Animal Husbandry and Fishery of Guangzhou City, Guangzhou 510047, China)

**Abstract:** 【Objective】Selenium (Se) contents of some chemical forms as total Se, inorganic Se, organic Se and selenomethionine (SeMet) in rice enriched-Se were determined, in order to provide scientific basis for applying rice enriched-Se to cancer prevention. 【Methods】Fluorometric determination with 2, 3-diaminonaphthalene (2, 3-DAN) for total Se, inorganic Se and organic Se, and with CNBr-2, 3-DAN for SeMet. 【Results】Total Se contents of rice enriched-Se reaping in summer and autumn were  $(2.71 \pm 0.97) \mu\text{g/g}$ ,  $(9.87 \pm 1.18) \mu\text{g/g}$ , respectively, both higher than that of ordinary rice ( $P < 0.001$ ); the organic Se occupying over 99% of total Se were  $2.68$ ,  $9.77 \mu\text{g/g}$ , respectively. Main component of the organic Se was SeMet, and its Se content (Se-SeMet) was  $(1.45 \pm 0.67) \mu\text{g/g}$  for rice enriched-Se reaping in summer,  $(4.96 \pm 0.98) \mu\text{g/g}$  in autumn, and their contents/total Se contents were 53.5, 50.5%, respectively. 【Conclusions】Most part of Se in rice enriched-Se was natural organic Se and main component of the organic Se was SeMet.

**Key words:** Selenium/analysis; rice/chemistry; neoplasm/prevention & control

有机硒由于它的毒性远比无机硒小<sup>1,2</sup>, 因此, 寻找低成本且天然的有机硒用于肿瘤预防, 已成为当前硒的热门研究课题之一。鉴于富硒米尚未面市, 我们采用水稻叶面喷硒法成功地生产出富硒米, 总硒含量高达 $(2.71 \pm 0.97) \sim (9.87 \pm 1.18)$

$\mu\text{g/g}$ , 有机硒占总硒的99%以上。现将结果报道如下。

### 1 材料与方 法

收稿日期: 1999-09-23

作者简介: 杨容甫(1939-), 男, 广东惠阳人, 副研究员。

### 1.1 材料

普通大米及富硒米均为同一稻种(增城丝苗米3号)生产出的大米,磨成粉(80目)。

溴化氰(CNBr, 德国进口): 50 mg/mL, 0.1 mol/L HCl; 2,3-二氨基萘(sigma公司): 1 mg/mL, 0.1 mol/L HCl; 硒标准液: 0.2  $\mu$ g/mL, 0.18 mol/L HClO<sub>4</sub>、HNO<sub>3</sub>、HClO<sub>4</sub>、环己烷等,均为分析纯。MPF-4型荧光分光光度计(日本日立公司制造)。

### 1.2 分析方法

总硒: 2,3-二氨基萘荧光分析法,参照文献[3]。无机硒:用去离子水浸已称重的富硒米1h,过滤,于80℃恒温1h,冷却后再过滤,定容,吸取一定体积的此滤液,不经HNO<sub>3</sub>+HClO<sub>4</sub>消化,参照文献[3],测出滤液中的Se。

有机硒含量=总Se含量-无机Se含量

硒蛋氨酸(Selenomethionine, SeMet)中的硒(Se-SeMet):参照文献[4],在0.1 mol/L HCl及60℃恒温水浴条件下,CNBr与SeMet反应生成CH<sub>3</sub>SeCN,用CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>萃取将CH<sub>3</sub>SeCN从水相中分离出来,然后,按总Se的分析方法,测出Se-SeMet含量。

数据处理做t检验。

## 2 结果

以同稻种生产出的普通米作对照,测定夏、秋季富硒米中的总硒、无机硒、有机硒及Se-SeMet含量,结果见表1。

表1 夏、秋季收获的富硒米中总Se、无机Se、有机Se及SeMet的Se含量

Table 1 Se contents of total Se, inorganic Se, organic Se in rice enriched-Se reaping in summer and autumn ( $\mu$ g/g)

	<i>n</i>	Range	$\bar{x} \pm s$	<i>P</i>	Se-SeMet/ Total Se (%)	
Total Se in ordinary rice (control)	5	0.009~0.075	0.049±0.028			
Total Se in rice enriched-Se	summer	10	1.59~4.06	2.71±0.97	<0.001	
	autumn	10	8.34~11.20	9.87±1.18	<0.001	
Inorganic Se in rice enriched-Se	summer	5	0.010~0.068	0.030±0.018		
	autumn	10	0.060~0.140	0.101±0.024		
Organic Se in rice enriched-Se	summer		2.68( $\bar{x}$ )			
	autumn		9.77( $\bar{x}$ )			
Se-SeMet in rice enriched-Se	summer	10	0.70~2.44	1.45±0.67		(53.5)
	autumn	6	3.45~6.12	4.96±0.98		(50.5)

## 3 讨论

无论是夏季还是秋季收获的富硒米,硒均大大地高于普通米,高出90~325倍。富硒米中硒含量可人工调节,为了满足动物试验高剂量的需要,我们在去年秋季生产出高达8.3~11.2  $\mu$ g/g的富硒米,而用于防癌保健的富硒米则应以0.2~0.3  $\mu$ g/g为宜。夏、秋季富硒米中有机硒含量占总硒的99%以上,提示我们采用的水稻叶面喷硒法是可行的,可将绝大部分无机硒转化为天然的有机硒。富硒米中大部分有机硒成分为Se-SeMet,占总硒含量50%以上。已知硒在食品中主要以硒蛋氨酸的形式存在<sup>[5]</sup>,硒蛋氨酸对人类多种肿瘤细胞的生长有

较强的抑制作用<sup>[6]</sup>,而且硒对预防原发性肝癌的发生已取得了较明显的效果<sup>[7]</sup>,因此,我们生产的富硒米可作为防癌保健低成本且天然的有机硒食品。

### 参考文献:

- [1] Shamberger R J. Selenium metabolism and function[J]. Clin Physiol Biochem, 1986, 4(1): 42.
- [2] Shamberger R J. The genotoxicity of selenium[J]. Mutation Research, 1985, 154(1): 29.
- [3] Yang R P, Huang J C, Feng Gongkan, et al. Fluorometric determination of micro-amounts of selenium in human blood using 2,3-diaminonaphthalene[J]. Med Lab Sci, 1986, 43(3): 331.

(下转第40页)

这些案例均同时检验 SE33、D11S554、D12S391、D19S253、FES/FPS、D7S809、PLA、TH01、vWA、FGA、CSF1PO、D16S690、D21S11 和 D8S1179 等 STR 位点。在 72 例排除父权关系案件中, 有 38 例 D13S631 也排除, 有 1 例 D13S631 在父子间不符合孟德尔规律遗传, 而其余位点均符合孟德尔规律遗传。

### 3 讨论

STR 主要有两类: 简单 STR 和复合或复杂 STR。简单 STR, 尤其是以 4 个核苷酸为核心序列 (core sequence) 的 STR, 结构稳定, 突变率较低, PCR 扩增产物在凝胶电泳后的条带较清晰, 重复性良好, 分型易标准化<sup>[8]</sup>。D13S631 是一个以 4 核苷酸为核心序列的 STR 位点。在本研究的电泳条件下, 利用银染显色, 均得到清晰的谱带, 以自制的 Ladder 作为分型的参照标准, 都能正确分型, 各等位基因均相差 4 bp, 无分型不明确的情况, 也未发现类似 TH01(9.3) 等核心序列不完全的等位基因, 表明 D13S631 是一个易于分型标准化的位点。

国内外尚未见报道有关 D13S631 的等位基因频率的资料。本文调查共发现 19 种基因型, 6 个等位基因, 最高等位基因频率为 A2(0.2967), 最低的频率为 A6(0.0374),  $\chi^2$  检验证明 D13S631 的基因型分布符合 Hardy-Weinberg 定律。经计算杂合度达 0.7902, 个人识别率为 0.9231, 多态性信息容量为 0.7711, 这些表明 D13S631 是一具有较高多态性的 STR 位点。

在 348 例亲子鉴定案件中有 1 例 D13S631 基因分型结果与其它 15 个 STR 位点的结果相矛盾, 不符合孟德尔遗传规律, 提示该例的 D13S631 在遗传过程中发生了突变, 突变率为 0.00287。在

72 例否定父权关系的个案中, D13S631 排除了 38 例, 占 52.78%, 与计算的非父排除率 0.5543 相近。家系调查结果表明 D13S631 位点也符合孟德尔规律遗传, 说明 D13S631 位点对广东汉族人群的亲子鉴定有较大的应用价值。

本研究获得了广东汉族人群 D13S631 位点的基因分布资料, 为该位点的法医学应用提供了群体遗传学数据。

#### 参考文献:

- [1] Edwards A, Civitello A, Hammond H, *et al.* DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats[J]. *Am J Hum Genet*, 1991, 49(4): 746.
- [2] Walsh P, Metzger D, Higuchi R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material[J]. *Biotechniques*, 1991, 10(4): 506.
- [3] 江三多, 吕宝忠. 医学遗传数理统计方法[M]. 北京: 科学出版社, 1998. 1~40.
- [4] Nei M. *Molecular Evolutionary Genetics*[M]. New York: Columbia University Press, 1987. 178.
- [5] Aitken C G. *Statistics and the Evaluation of Evidence for Forensic Scientists*[M]. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 1995. 80~88.
- [6] 吴梅筠. 法医物证学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998. 217.
- [7] Botstein D, White R, Skolnick M, *et al.* Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism[J]. *Am J Hum Genet*, 1980, 32(3): 314.
- [8] Sala A, Penacino G, Corach D. Comparison of allele frequencies of eight STR loci from Argentinian Amerindian and European populations[J]. *Hum Biol*, 1998, 70(5): 937.

(编辑 黄小延)

(上接第 34 页)

- [4] Ouyang Z, Wu J A, Xie L Q. A method for the indirect determination of trace bound selenomethionine in plants and some biological materials[J]. *Anal Biochem*, 1989, 178(1): 77.
- [5] Beilstein M A, Whanger P D, Yang G Q. Chemical forms of selenium in corn and rice grown in a high selenium area of China[J]. *Biomed Environ Sci*, 1991, 4(4): 392.
- [6] Redman C, Scott J A, Baines A T, *et al.* Inhibitory effect of selenomethionine on the growth of three selected human tumor cell lines[J]. *Cancer Lett*, 1998, 125(1-2): 103.
- [7] 李文广, 黄启生, 柳林, 等. 硒盐预防原发性肝癌前瞻观察六年[J]. *癌症*, 1993, 12(2): 108.

(编辑 黄小延)