

刺槐豆多糖纳米硒的制备及表征

高义霞, 周向军, 袁毅君, 鲜鹏杰

(天水师范学院 生命科学与化学学院, 甘肃 天水 741001)

摘要: 以刺槐豆多糖为软模板, 用抗坏血酸还原亚硒酸法制备纳米硒, 探讨反应时间、温度、刺槐豆多糖及抗坏血酸浓度对产物粒径和形貌的影响, 并采用紫外光谱(UV)、X衍射和扫描电镜(SEM)进行表征。结果表明: 当抗坏血酸和亚硒酸摩尔比为 5:1, 刺槐豆多糖质量分数为 0.2‰, 60 ℃反应 4 h 后可得红色均匀的球状纳米硒颗粒, 平均粒径为 95~100 nm。

关键词: 刺槐豆多糖; 抗坏血酸; 纳米硒; 亚硒酸

中图分类号: Q 613.52 **文献标志码:** A **文章编号:** 1673—1689(2014)09—0997—06

Preparation and Characterization of Nano-Selenium with Locust Bean Polysaccharides as Soft Template

GAO Yixia, ZHOU Xiangjun, YUAN Yijun, XIAN Pengjie

(College of Life Science and Chemistry, Tianshui Normal University, Tianshui 741001, China)

Abstract: Nano-selenium was prepared with locust bean polysaccharides as soft template by the reduction of ascorbic acid (Vc) to selenious acid and characterized by UV and SEM. The effects of reaction time, temperature, locust bean polysaccharide and Vc concentration on particle size and morphology of the resulting product were investigated. The results showed that uniformly red globular nano-selenium was obtained with average diameter about 95~100 nm when the mass fraction of locust bean polysaccharide was 0.2‰ and the molar ratio of ascorbic acid to selenite 5:1 at 60 ℃ for 4 h.

Keywords: locust bean polysaccharide, ascorbic acid, nano-selenium, selenious acid

硒是人体生命中必需的重要微量元素, 具有增强机体免疫能力、抵抗自由基损伤、防病和调节甲状腺机能等多种功能^[1-3]。然而硒及其化合物对人体有效和中毒剂量范围非常窄^[4], 因此需通过有机硒化物或纳米硒的形式来降低其毒性。纳米硒生物吸收性高, 能高效清除自由基^[5-6], 且毒性比无机硒和天然有机硒低, 活性比无机硒和天然有机硒高, 从

而克服了无机硒有效与中毒剂量十分接近而难以预防的缺点^[7-9], 是一种有效的补硒药物。纳米硒的合成方法有抗坏血酸还原法、表面活性剂法、微乳液法、蛋白质模板法、聚合物模板法、超声化学法、温度控制法和电化学法^[10-11]等。抗坏血酸(VC)将亚硒酸(H_2SeO_3)中的 Se(IV)还原为 Se^0 后, 此时硒不稳定, 极易团聚, 如聚合体一旦超过纳米尺度, 其生

收稿日期: 2014-01-10

基金项目: 天水师范学院“青蓝”人才工程项目。

作者简介: 高义霞(1982—), 女, 甘肃白银人, 理学硕士, 讲师, 主要从事植物化学、食品化学和天然产物研究。E-mail: egaoxy@126.com

物活性大大降低,因此需要对纳米硒粒子表面进行修饰以防止聚集。刺槐豆多糖是刺槐种子胚乳部分焙炒后热水抽提而成,常用于食品增稠剂、持水剂等,主要含有甘露糖和半乳糖^[12],但因相对分子质量大、黏度高、溶解度低等限制了其临床应用^[13]。研究发现,壳聚糖、阿拉伯胶等多糖可作为模板用于合成纳米硒^[14],且单质硒微粒的形成和聚集易受到糖分子的调控^[15]。因此在发生氧化还原反应前加入刺槐豆多糖,其便吸附、包裹在初始形成的硒晶体表面,一方面阻止了粒子之间相互结合、团聚,使纳米硒稳定存在于溶液中,另一方面可减缓或控制粒子的生长,使产生的纳米硒形成多种形貌。本研究中以刺槐豆多糖为软模板制备纳米硒,生成的纳米硒具有良好的生物活性和广泛用途,有效地提高了硒的生理功能。

1 实验器材

1.1 材料及试剂

刺槐豆胶(食品级,分子质量为 300 ku,黏度 3 700 mPa·s,主要含有甘露糖及半乳糖),甘肃弘诺科技贸易有限公司产品。抗坏血酸, Sigma 公司产品。Savege 液:氯仿与正丁醇以 4:1 的体积比混合。亚硒酸等其他试剂均为分析纯。

1.2 仪器

722 型可见分光光度计,上海欣茂仪器有限公司制造;UV-2450 型紫外光谱仪,日本岛津公司制造;RE-2000B 旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂制造;D2F-6021 型真空干燥箱,上海精宏实验设备有限公司制造;TGL-20M 高速台式冷冻离心机,湘仪离心机仪器有限公司制造;JSM-6701F 冷场发射型扫描电镜,日本电子光学中心制造。

2 实验方法

2.1 刺槐豆多糖的制备

参照高义霞方法^[16]进行。

2.2 纳米硒的制备

取一定量的亚硒酸、刺槐豆多糖溶液置于 25 mL 的比色管中,混合均匀后静置片刻,加入一定量抗坏血酸溶液,加水稀释至刻度,振摇混合均匀,将反应混合液置于不同温度水浴中或超声波环境中一定时间,使 H_2SeO_3 中 Se^{4+} 还原为 Se^0 ,并在刺槐豆多糖模板上生长至一定的形貌^[17]。

2.3 表征手段

利用紫外光谱法表征刺槐豆多糖为软模板的纳米硒溶液的粒度变化;扫描电镜(SEM)和 X 射线衍射(XRD)分别测定最佳制备纳米硒工艺条件下反应产物的形貌、粒度大小及形态。

3 结果与分析

3.1 紫外光谱

图 1 是不同溶液的全扫描吸收光谱,作为制备纳米硒的反应背景,可知 VC 最大吸收峰在 265 nm 处,刺槐豆多糖在此处无吸收峰。单纯刺槐豆多糖、VC 或两者的混合液在大于 400 nm 的可见光区均无吸收,说明在该条件下无红色纳米硒生成。以刺槐豆多糖为介质的总反应体系中,在 400~600 nm 处有较强的吸收,峰值较宽,说明该条件下生成了大量的红色纳米硒,但溶液中含有未消耗的反应物及中间产物,此结果与 SEM 表征结果(见图 2)一致。

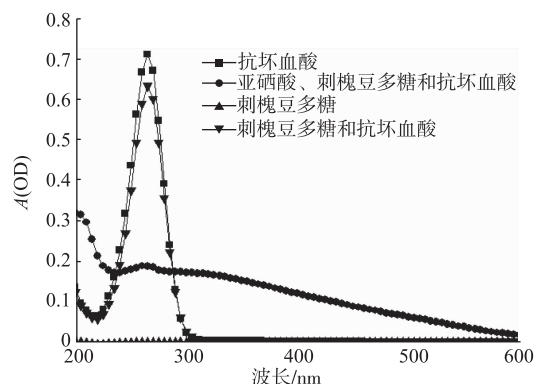


图 1 不同溶液的吸收光谱

Fig. 1 Absorption spectra of different solutions

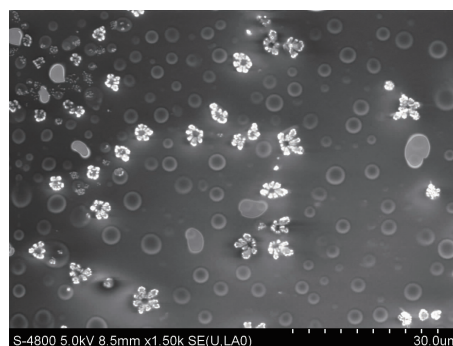


图 2 H_2SeO_3 、刺槐豆多糖和 VC 混合物的 SEM 分析

Fig. 2 SEM analysis mixture of H_2SeO_3 , locust bean polysaccharides and VC

据测定胶体溶液的双波长法^[18],胶体粒径参数

$$B=\lg(A_2/A_1)/\lg(\lambda_1/\lambda_2) \quad (1)$$

式(1)中, A_1 、 A_2 分别为波长 λ_1 、 λ_2 处的吸光值。

固定波长 λ_1 、 λ_2 , 当吸光值比值 A_2/A_1 不变时胶体粒径不变, 生成的纳米硒粒径均匀, 处于稳定状态。为避开 VC 的吸收且使测定方便, 试验选择 410 nm 和 490 nm 作为纳米硒测定波长, 并以 A_{410}/A_{490} 作为表征纳米硒粒度随时间变化的依据^[19]。

3.2 反应物浓度对纳米硒的影响

固定 H_2SeO_3 浓度为 0.1 mmol/L, VC 浓度为 0.1 mmol/L, 改变刺槐豆多糖质量分数, 40 °C 反应 4 h, 考察其对纳米硒的影响, 结果见图 3(a)。随刺槐豆多糖质量分数的增加, 吸光值呈明显增大趋势, 当刺槐豆多糖质量分数为 0.1‰ 时, 吸光值基本保持不变, 但 A_{410}/A_{490} 开始降低; 当刺槐豆多糖质量分数为 0.2‰ 时, A_{410}/A_{490} 维持在 1.7 左右, 说明此时纳米硒颗粒稳定, 故刺槐豆多糖质量分数选择 0.2‰。固定 H_2SeO_3 浓度为 0.01 mmol/L, 刺槐豆多糖质量分数为 0.2‰, 改变 VC 浓度, 40 °C 反应 4 h, 考察其对纳米硒形成的影响, 结果见图 3(b)。随着 VC 浓度的增加, 吸光值逐渐增大, 当 VC 浓度为 0.05 mmol/L 时, 吸光值最大且趋于平稳, 但此时 A_{410}/A_{490} 为 1.68, 且持续增加; 当 VC 浓度为 0.1 mmol/L, A_{410}/A_{490} 稳定在 1.77, 说明此时纳米硒粒度均匀稳定, 因此选择 VC 浓度为 0.05~0.1 mmol/L。理论上按 $n(VC)/n(H_2SeO_3)=2:1$ 计量关系发生氧化还原反应, 但稍过量的 VC 能提供还原性介质, 使晶核生长速度加快, 同时起稳定纳米硒的作用^[20-21]。 $n(VC)/n(H_2SeO_3)=5:1\sim10:1$ 为宜, 本试验则选择 5:1。

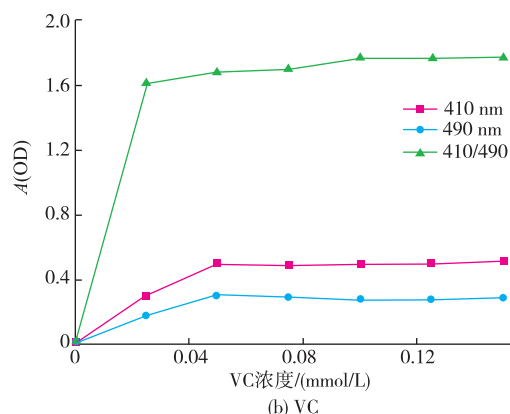
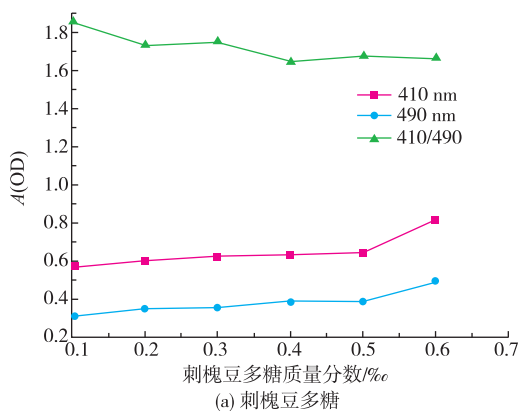
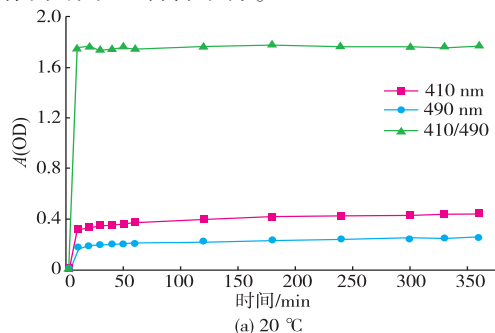


图 3 刺槐豆多糖质量分数及 VC 浓度对纳米硒的影响

Fig. 3 Effects of locust bean polysaccharides and VC concentration on nano-selenium

3.3 不同温度下反应时间对纳米硒的影响

固定 H_2SeO_3 浓度为 0.01 mmol/L, 刺槐豆多糖质量分数为 0.2‰, VC 浓度为 0.05 mmol/L, 考察 20、40、60 °C 和 80 °C 下不同时间对纳米硒的影响, 结果见图 4。由图 4(a)和(b)可知, 随反应时间的延长, 两者反应物吸光值不断增加, 2 h 后均趋于稳定, A_{410}/A_{490} 分别维持在 1.76 和 1.8 左右, 说明此时纳米硒稳定; 和 20 °C 相比, 40 °C 生成物吸光值更高, 说明该条件下反应较为迅速充分。由图 4(c)可知, 60 °C 条件下, 反应混合物吸光值随时间的增加而明显增大, 5 h 后吸光值增加程度减缓, 但反应 4 h 后, A_{410}/A_{490} 下降明显, 说明此时纳米硒稳定程度开始降低。由图 4(d)可知, 80 °C 条件下, 吸光值随时间的延长呈急剧增加趋势, 4 h 后逐步趋于平稳, 但 A_{410}/A_{490} 一直明显降低, 说明该条件下形成的纳米硒有增大、团聚趋势^[22], 不适合本试验。试验中发现, 在较高温度下, 随着时间的延长, 溶液颜色加深, 说明纳米硒颗粒随温度升高有定向生长趋势, 形成了其它形貌^[23-24]。综合考虑 40 °C 和 60 °C 吸光值及 A_{410}/A_{490} , 从节省能源等因素综合考虑, 选择 40 °C 反应 4 h 作为纳米硒制备条件。



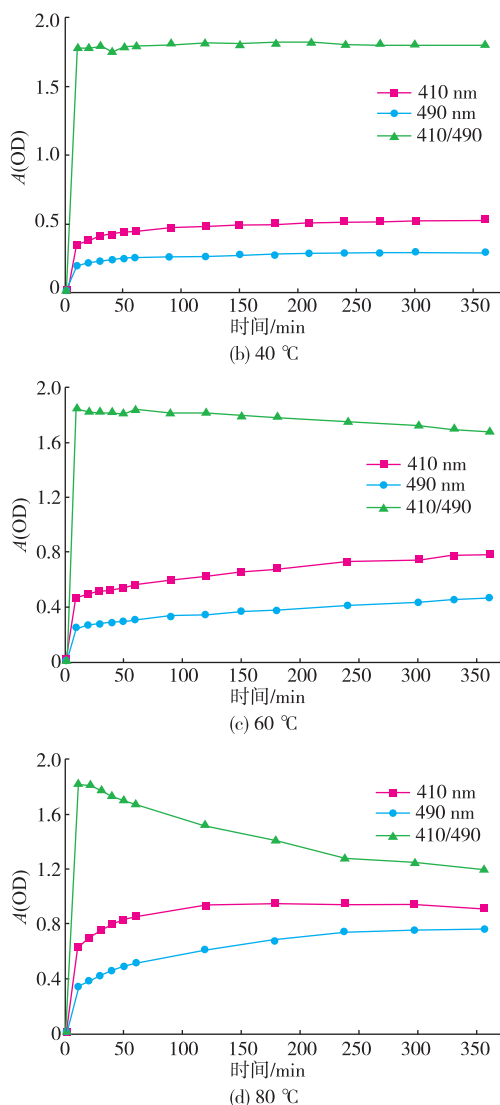


图4 不同温度下反应时间对纳米硒的影响

Fig. 4 Effects of reaction time on nano-selenium under different temperature

3.4 扫描电镜表征

在上述筛选出的条件,即刺槐豆多糖质量分数为 0.2%, $n(\text{VC})/n(\text{H}_2\text{SeO}_3)$ 为 5:1, 40 °C 反应 4 h, 制备的反应产物经离心后在室温条件下放置一个月仍为红色, 溶液中无沉淀, 进行 SEM 分析, 结果见图 5, 可知此条件下制备的纳米硒为球状分子, 粒径约在 95~100 nm, 颗粒粒度大小均一、分散均匀。

3.5 X 射线衍射分析

以质量分数 0.2% 刺槐豆多糖为分散体系, VC 和 H_2SeO_3 (两者摩尔比 5:1) 40 °C 水浴反应 4 h, 制得纳米硒刺槐豆多糖分散乳液, 冷冻离心、旋转蒸发得纳米硒溶液, -20 °C 冷冻干燥至恒质量, 取固体粉

末进行 X 射线衍射分析, 并与刺槐豆多糖衍射图比较。

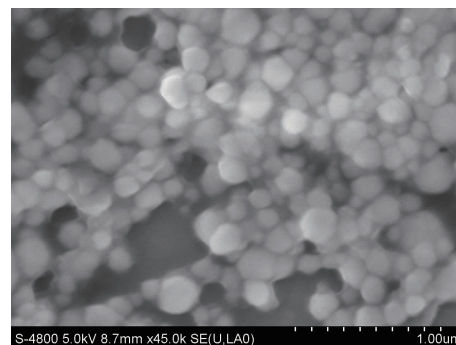
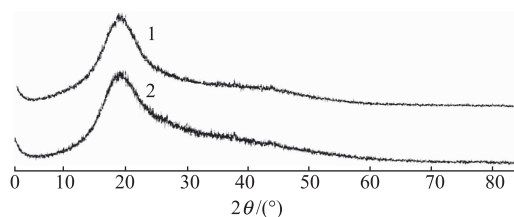


图5 最佳条件下反应产物的 SEM 分析

Fig. 5 SEM analysis of Reaction product under the optimal conditions

图 6 为 1 和 2 两个样品在 $2^\circ \leq 2\theta \leq 85^\circ$ 范围内的 XRD 分析图。



1: 反应产物; 2: 刺槐豆多糖

图6 反应产物和刺槐豆多糖的 XRD 分析

Fig. 6 XRD analysis of Reaction product and Locust bean polysaccharides

结果表明: 样品 2 有 X 衍射峰, 说明刺槐豆多糖是杂多糖, 如糖蛋白质, 因为均多糖不能形成晶体, 为无定型粉末; 由图与样品 1 的衍射峰对比可知, 两种物质峰形及位置相同, 说明样品 1 中没有结晶态物质, 即以刺槐豆多糖为模板生成的纳米硒非晶态亦为无定型粉末。

4 结 语

通过控制实验条件, 以刺槐豆多糖为模板, 用抗坏血酸还原亚硒酸的方法制备纳米硒。当抗坏血酸和亚硒酸摩尔比为 5:1, 刺槐豆多糖质量分数为 0.2%, 40 °C 反应 4 h 后可得红色均匀的纳米硒颗粒, 其粒度大多在 95~100 nm, 分散相对均匀, X 衍射显示其为非晶态无定型粉末。纳米硒具有硒和刺槐豆多糖的双重功效, 有望在营养和疾病防治方面获得进一步应用。

参考文献:

- [1] 罗海吉,吉雁鸿. 硒的生物学作用及其意义[J]. 微量元素与健康研究,2000,17(2):70-72.
LUO Haiji,JI Yanhong. Biological function and its significance of selenium [J]. **Studies of Trace Elements and Health**, 2000,17(2):70-72.(in Chinese)
- [2] Rayman M P. The importance of selenium to human health[J]. **Lancet**,2000,356(9225):233-241.
- [3] 李曦,刘义,吴军,等. 微量热法研究硒对砷在大肠杆菌生长中的联合作用[J]. 高等学校化学学报,2003,24(1):91-94.
LI Xi,LIU Yi,WU Jun,et al. Microcalorimetric study of the associated action of selenium to arsenic on the growth of *Escherichia coli*[J]. **Chemical Journal of Chinese Universities**,2003,24(1):91-94.(in Chinese)
- [4] 门晓媛,王一飞,郑文杰,等. 纳米硒化裙带菜多糖的制备及其体外抗 CVB3 病毒作用研究[J]. 中国卫生检验杂志,2005,15(10):1153-1155.
MEN Xiaoyuan,WANG Yifei,ZHENG Wenjie,et al. The synthesis of selenium nanoparticles with polysaccharides from undaria pinnatifida(charv) suringer and its antivirus effects on CVB3 in vitro[J]. **Chinese Journal of Health Laboratory Technology**, 2005,15(10):1153-1155.(in Chinese)
- [5] Gao X Y,Zhang J S,Zhang L D. Hollow sphere selenium nanoparticles;their in-vitro anti hydroxyl radical effect [J]. **Advanced Materials**,2002,14(4):29-293.
- [6] Huang B,Zhang J S,Hou J W,et al. Free radical scavenging efficiency of nano-se in vitro [J]. **Free Radical Biology Medicine**, 2003,35(7):805-813.
- [7] Zhang J S,Gao X Y,Zhang L D,et al. Biological effects of a nano red elemental selenium[J]. **Bio-Factors**,2001,15(1):27-38.
- [8] Zhang J S,Wang H L,Bao Y P,et al. Nano red elemental selenium has no size effect in the induction of seleno-enzymes in both cultured cells and mice[J]. **Life Sciences**,2004,75(2):237-244.
- [9] 韩晶,郭雄,吴翠艳,等. 硫酸软骨素纳米硒可抑制 T-2 毒素诱导的大骨节病软骨细胞凋亡[J]. 南方医科大学学报,2013,33(2):225-229.
HAN Jing,GUO Xiong,WU Cui-yan,et al. Nano-Se-Chondroitin sulfate inhibits T-2 toxin-induced apoptosis of cultured chondrocytes from patients with Kashin-Beck disease[J]. **Journal of Southern Medical University**,2013,33(2):225-229.(in Chinese)
- [10] Byron G,Brian M,Andrew G,et al. A sonochemical approach to the synthesis of crystalline selenium nanowires in solutions and on solid-supports[J]. **Advanced Materials**,2000,14(23):1749-1752.
- [11] Byron G,Brian M,Bryan C,et al. Synthesis and characterization of uniform nanowires of trigonal selenium [J]. **Advanced Functional Materials**,2002,12(3):219-227.
- [12] 高义霞,周向军,王凤霞,等. 刺槐豆多糖硒酸酯的制备及表征[J]. 食品工业科技,2012,33(14):288-290.
GAO Yixia,ZHOU Xiangjun,WANG Fengxia,et al. Preparation and characterization of selenium-polysaccharides of locust bean [J]. **Science and Technology of Food Industry**,2012,33(14):288-290.(in Chinese)
- [13] 孟春,郭养浩,石贤爱,等. 海藻多糖生物活性及分子修饰[J]. 中国生物工程杂志,2004,24(3):35-39.
MENG Chun,GUO Yanghao,SHI Xianai,et al. The physiological effect and molecular modification of algae polysaccharides[J]. **China Biotechnology**,2004,24(3):35-39.(in Chinese)
- [14] Lin Z H,Chris W C R. Evidence on the size-dependent adsorption spectral evolution of selenium nanoparticles [J]. **Materials Chemistry and Physics**,2005,92(2):591-594.
- [15] 郑文杰,黄亮,杨芳,等. 降解裙带菜多糖对纳米硒的形成与稳定作用[J]. 高等学校化学学报,2007,28(2):208-211.
ZHENG Wenjie,HUANG Liang,YANG Fang,et al. Formation and stabilization of selenium nano-particles in aqueous solution of undaria pinnatifida charv. suringer polysaccharide [J]. **Chemical Journal of Chinese Universities**,2007,28(2):208-211.(in Chinese)
- [16] 高义霞,周向军,张继,等. 罗望子多糖模板法制备纳米硒[J]. 林产化学与工业,2011,31(3):5-10.
GAO Yixia,ZHOU Xiangjun,ZHANG Ji,et al. Preparation of nano-selenium using tamarind polysaccharides as template[J]. **Chemistry and Industry of Forest Products**,2011,31(3):5-10.(in Chinese)
- [17] 王红艳,张胜义,刘明珠,等. 壳聚糖模板法制备纳米硒[J]. 应用化学,2004,21(8):788-792.
WANG Hongyan,ZHANG Shengyi,LIU Mingzhu,et al. Synthesis of selenium nanoparticles in the presence of chitosan template

- [J]. **Chinese Journal of Applied Chemistry**, 2004, 21(8):788–792. (in Chinese)
- [18] Gao H W. Molecular dynamics simulations and the rheology of fluids [G]. Proceedings of 4th Asian Chemical Congress. Beijing: Chinese Chemical Society, 1991:372.
- [19] 王红艳, 张胜义, 郝洪文, 等. 羧甲基纤维素钠模板法制备纳米硒[J]. 功能材料, 2004, 35(2):259–261.
WANG Hongyan, ZHANG Shengyi, HAO Hongwen, et al. Synthesis of selenium nanoparticles by sodium carboxymethyl cellulose template[J]. **Journal of Functional Materials**, 2004, 35(2):259–261. (in Chinese)
- [20] 温金凤, 金花, 崔胜云. 壳聚糖为负载的纳米硒的制备[J]. 延安大学学报: 自然科学版, 2007, 33(1):37–40.
WEN Jinfeng, JIN Hua, CUI Shengyun. Preparation and characterization of nanoselenium loaded on the chitosan [J]. **Journal of Yanbian University: Natural Science Edition**, 2007, 33(1):37–40. (in Chinese)
- [21] 李志林, 滑鹏敏. 十二烷基硫酸钠模板法制备纳米硒[J]. 无机盐工业, 2009, 41(7):32–34.
LI Zhilin, HUA Pengmin. Preparation of nanosized selenium by sodium dodecyl sulfate template method [J]. **Inorganic Chemicals Industry**, 2009, 41(7):32–34. (in Chinese)
- [22] 王红艳, 张莉, 张胜义, 等. 纳米硒的制备及表征[J]. 淮北煤炭师范学院学报, 2004, 25(3):36–39.
WANG Hongyan, ZHANG Li, ZHANG Shengyi, et al. Synthesis and characterization of selenium nanoparticles [J]. **Journal of Huaibei Coal Industry Teachers College**, 2004, 25(3):36–39. (in Chinese)
- [23] 史宏伟. 纳米硒和硒化镉制备方法研究[D]. 合肥: 安徽大学, 2005.
- [24] 滑鹏敏. 纳米硒的制备与应用[D]. 石家庄: 河北大学, 2009.

科技信息

粮农组织: 全球肉类、牛奶生产量将增加, 禽肉增幅最大

据台湾“中央社”消息, 11 日联合国粮农组织 (FAO) 预测, 随着全球消费者口味的改变, 农畜业将渐渐转向肉类和牛奶生产, 偏离传统的稻米和谷类生产。

据报道, 这项由粮农组织及经济合作与发展组织 (OECD) 所做的报告, 对 2023 年以前的农畜价格和生产进行了预测。

报告指出, 到 2023 年, 全球肉类生产将增加 5 800 万吨, 增加的部分有 80% 来自发展中国家。FAO 和 OECD 表示, 禽肉增幅最大, 占 50%, 猪肉占 30%; 并说, 禽肉是便宜的蛋白质来源。报告同时称, 家畜饲养及生物燃料的生产增长率, 预估将高过作物生产。

[信息来源] 食品伙伴网. 粮农组织: 全球肉类、牛奶生产量将增加 禽肉增幅最大 [EB/OL]. (2014-7-12). <http://news.foodmate.net/2014/07/267543.html>

欧盟食品安全局就两种虾青素产品作为新型食品配料的安全性发布科学意见

7 月 15 日, 欧盟食品安全局就富含虾青素的 AstaREAL A1010 和 AstaREAL L10 作为新型食品配料的安全性发布意见。

两种配料由富虾青素雨生红球藻产生。申请人拟将该新型食品配料用于健康的成年人的发酵液体乳制品、未发酵液体乳制品、发酵豆制品和水果饮料中。

欧盟专家组经过评估发现, 该产品无基因毒性, 也不会对人体营养构成损伤, 与虾青素相比毒性不大。申请人推荐的新型食品配料中虾青素的最大摄入量为 4 mg/day (0.06 mg/kg bw)。然而欧盟专家组经过评估认为, 按照申请人推荐的最大摄入量, 平均每日摄入量 0.106 mg/kg bw 超出虾青素的每日允许摄入量 (ADI) 为 0.034 mg/kg bw 大约 2–3 倍。因此欧盟委员会得出结论: 该食品配料提出的安全使用和使用水平尚未建立。

[信息来源] Scientific Opinion on the safety of astaxanthin-rich ingredients (AstaREAL A1010 and AstaREAL L10) as novel food ingredients [J]. EFSA. Journal :2014, 12(7):3757 [35 pp.].