

罗望子多糖模板法制备纳米硒



GAO Yi-xia

高义霞¹, 周向军¹, 张继^{1,2}, 高瑾霞¹

(1. 天水师范学院 生命科学与化学学院, 甘肃 天水 741001;

2. 西北师范大学 生命科学学院, 甘肃 兰州 730070)

摘 要: 以罗望子多糖为模板, 通过亚硒酸和抗坏血酸反应制备纳米硒, 探讨反应时间、反应物浓度、温度等条件对产物粒度的大小、形貌的影响, 并采用光谱法、扫描电镜 (SEM) 和 X 射线衍射 (XRD) 等手段对产物进行表征。结果表明: 当反应体系中亚硒酸和抗坏血酸的物质的量比为 2:1, 罗望子多糖质量分数为 0.02%, 60 °C 下温浴 4 h 时得到红色的纳米硒, 颗粒较小、均匀, 平均粒径为 39 nm 左右。

关键词: 罗望子多糖; 抗坏血酸; 纳米硒; 表征

中图分类号: TQ351

文献标识码: A

文章编号: 0253-2417(2011)03-0005-06

Preparation of Nano-selenium Using Tamarind Polysaccharides as Template

GAO Yi-xia¹, ZHOU Xiang-jun¹, ZHANG Ji^{1,2}, GAO Jin-xia¹

(1. College of Life Science and Chemistry, Tianshui Normal University, Tianshui 741001, China;

2. College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: Nano-selenium was prepared using tamarind seed polysaccharides (TSP) as template by reaction of selenious acid with ascorbic acid. The effects of reaction time, reactant concentration, temperature and other experimental conditions on particle size and morphology of product were studied. The products were characterized by UV-absorption, SEM and XRD. The results showed that when the reaction system is in the water bath at 60 °C for 4 h with TSP mass fraction 0.02% and mass ratio of selenious acid to ascorbic acid 2:1, the red and uniform selenium is obtained. Its average size is about 39 nm.

Key words: tamarind seed polysaccharide (TSP); ascorbic acid; nano-selenium; characterization

硒是人体必需的重要微量元素, 具有增强机体免疫能力、抗癌和防病等多种功能^[1], 然而, 目前的研究资料显示硒在超营养水平和大剂量时才有明显效果, 这些剂量接近剧毒水平, 这种困境强调低毒高效硒的紧迫性^[2]。采用纳米技术, 将单质硒制成纳米硒^[3], 其与一般硒相比, 发生了物理化学及生物性质的改变, 如水溶性、生物活性及吸收利用能力等增强, 而毒性明显降低^[4-5], 因此纳米硒在食品和医药行业扮演着越来越重要的角色。如研究显示粒度在 5~200 nm 的硒可直接清除体内各种自由基, 补充足够量的硒能够降低癌症的发病率等^[6-7]。目前文献报道的纳米硒的合成方法有表面活性剂法^[8]、微乳液法^[9]、蛋白质模板法^[10]、聚合物模板法^[11-12]、超声化学法^[13]、温度控制法^[14]、电化学法^[15]等。罗望子多糖为豆科罗望子属植物 (*Tamarindus indica* L.) 果实中的果核胚乳部分, 主要是由 D-半乳糖、D-木糖、D-葡萄糖 (1:3:4) 组成的中性聚多糖, 其分子结构中, 主链为 β -D-1,4-连接的葡萄糖, 侧链是 α -D-1,6-连接的木糖和 β -D-1,2-连接的半乳糖, 由此构成了支链极多的多糖类物质^[16]。据文献报道, 罗望子多糖具有稳定、乳化、增稠、凝结、保水、成膜的作用, 因此广泛应用于食品工业^[17]; 同时, 罗望子多糖为葡聚木糖, 是一种良好的膳食纤维, 具有增强肠蠕动、降血压及防治糖尿病的功能, 可用于医药和保健行业^[18-19]。本研究利用罗望子多糖支链多, 羟基性质活泼这一特点, 将亚硒酸钠分散于罗望子多糖溶液体系中, 当亚硒酸钠与抗坏血酸反应生成硒粒子时, 罗望子多糖分子便吸附包裹在初始形成

收稿日期: 2010-09-24

基金项目: 天水师范学院重点学科支持项目 (ZD08037)

作者简介: 高义霞 (1982-), 女, 甘肃白银人, 助教, 硕士生, 主要从事于植物资源开发利用研究; E-mail: egaoxy@126.com。

的硒晶体表面,阻止了粒子之间相互结合、团聚,并控制粒子的生长使还原产生的单质硒以纳米微粒的形式存在,旨在开发出具有更好保健意义的产品。

1 材料与方法

1.1 材料

罗望子胶,食品级,甘肃省弘诺科技贸易有限公司。

1.2 主要试剂

抗坏血酸、亚硒酸、乙醇、丙酮、乙醚等均为国产分析纯;木瓜蛋白酶,Sigma公司。

1.3 主要实验仪器

UV-2450 紫外光谱仪,日本岛津分析仪器;JSM-6701F 冷场发射型扫描电镜,日本电子光学中心;KQ-500 型超声波清洗仪器,昆山市超声仪器有限公司;真空冷冻干燥器,ALPHA1-4LD-德国。

1.4 罗望子多糖制备

称取食品级罗望子胶 10 g,1 000 mL 水中溶胀,80 °C 水浴提取 2 h。4 层纱布过滤,弃滤渣,滤液离心,上清液浓缩至 200 mL,加入 4 倍量 75 % 乙醇沉淀,离心,沉淀冷冻干燥至质量恒定得粗多糖。取粗多糖,固液比 1:100(g:mL),加入蒸馏水于 70 °C 水浴中溶解,用 Savege + 木瓜蛋白酶法除蛋白^[20-21],上清液依次用流水和蒸馏水各透析一天(用 1 % AgNO₃ 检测蒸馏水透析后的袋内及袋外物无白色沉淀生成),透析后的糖液浓缩至原体积的 1/4 后,加入乙醇使其体积分数达到 75 %~80 %,置冰箱过夜,离心分离,收集沉淀并依次用无水乙醇、丙酮、乙醚洗涤两次,冷冻干燥至质量恒定,得罗望子多糖。

1.5 纳米硒的制备

取一定量的亚硒酸、罗望子多糖溶液于 25 mL 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 H₂SeO₃ 中 Se⁴⁺ 还原为 Se⁰,并在罗望子多糖模板上生长为一定的形貌^[22]。

1.6 表征手段

采用光谱法、扫描电镜(SEM)、X射线衍射(XRD)对产物进行了表征。

2 结果与分析

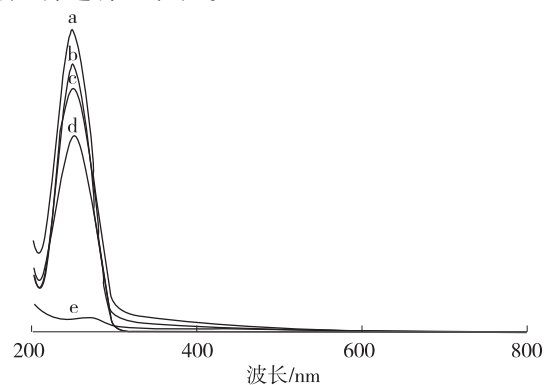
2.1 波长的选择

图 1 是不同溶液的全扫描吸收光谱,作为制得纳米硒的反应背景,可知 V_C 在 250 nm 处有强烈的吸收峰,而罗望子多糖、纳米硒在波长全扫描内无明显吸收峰。根据测定胶体溶液的双波长法^[23-24],选择可见光区 410、490 nm 作为纳米硒溶液的测定波长,并以两波长处吸光度的比值作为表征纳米硒粒度随时间变化的依据。

2.2 反应物浓度对产物形成的影响

固定反应体系中 H₂SeO₃ 浓度为 0.50 mmol/L,罗望子多糖质量分数为 0.02 % 时,改变反应体系中 V_C 的浓度于 40 °C 时反应 4 h,考察其对产物形成的影响。从吸光度影响曲线可看出(见图 2),当 V_C 浓度为 0 时,反应体系中没有纳米硒的生成。在一定浓度范围内,随着 V_C 浓度的增加,吸光度也在增大,至最大值后趋于平缓。当 V_C 浓度为 0.25 mmol/L 时,吸光度值最大且趋于平稳,此时两吸光度的比值趋于平稳,说明此条件下制得的纳米硒粒度较小且均匀、稳定,可能原因是稍过量的 V_C 能提供还原性的介质,致使生成的纳米硒稳定存在。故本实验选择 V_C 浓度为 0.25 mmol/L,即 H₂SeO₃ 和 V_C 的物质的量之比为 2:1。

固定反应体系中 H₂SeO₃ 浓度为 0.50 mmol/L,V_C 浓度为 0.25 mmol/L 时,改变溶液中罗望子多糖



a. 亚硒酸+V_C溶液 selenious acid+V_C solution; b. V_C溶液 V_C solution; c. 罗望子多糖+V_C溶液 TSP+V_C solution; d. 亚硒酸+罗望子多糖+V_C溶液 selenious acid+TSP+V_C solution; e. 罗望子多糖溶液 TSP

图 1 不同溶液的 UV-吸收光谱曲线

Fig. 1 UV-absorption spectra of different solutions

的质量分数于 40 °C 时反应 4 h,考察其对产物形成的影响。实验结果显示,随着罗望子多糖质量分数的增加,吸光度值呈减小的趋势,吸光度比值在罗望子多糖质量分数 0.012 %~0.024 % 范围内基本趋于平稳,此时两波长下吸光度的比值也接近 2(见图 3),说明此条件下纳米硒颗粒均匀且稳定。原因可能是当罗望子多糖质量分数为 0 时,由于所得主要产物硒不稳定,所以将迅速絮凝形成沉淀,随着糖质量分数增大,活泼的羟基便吸附包裹在初始形成的硒晶体表面,阻止了粒子之间相互结合、团聚,并控制粒子的生长使还原产生的单质硒以纳米微粒的形式存在;当糖质量分数超过 0.024 % 后,吸光度下降可能是浓度大时罗望子多糖分子间发生凝聚,羟基不能有效的阻止反应生成的硒粒子聚集,导致生成的纳米硒减少。在此实验中所依据产物析出的完全程度、粒度大小、稳定状态等综合考虑而选择罗望子多糖的质量分数为 0.02 %。

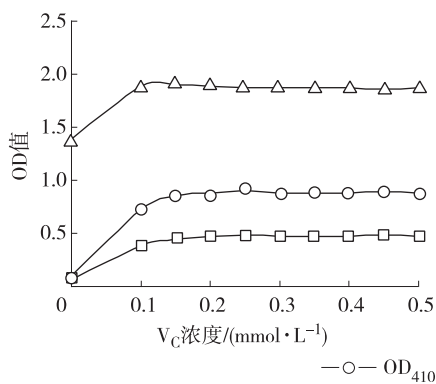


图 2 V_c 浓度对光吸收的影响

Fig. 2 Effect of V_c concentration on absorbance

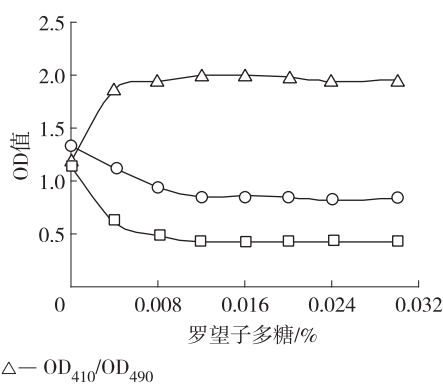


图 3 罗望子多糖质量分数对光吸收的影响

Fig. 3 Effect of TSP mass fraction on absorbance

2.3 反应条件对产物的影响

2.3.1 反应时间 固定 H₂SeO₃ 浓度 0.50 mmol/L,罗望子多糖质量分数 0.02 %, V_c 浓度 0.25 mmol/L 时,测 20、40、60 和 80 °C 几个梯度下不同时间反应产物吸光度(见图 4)。

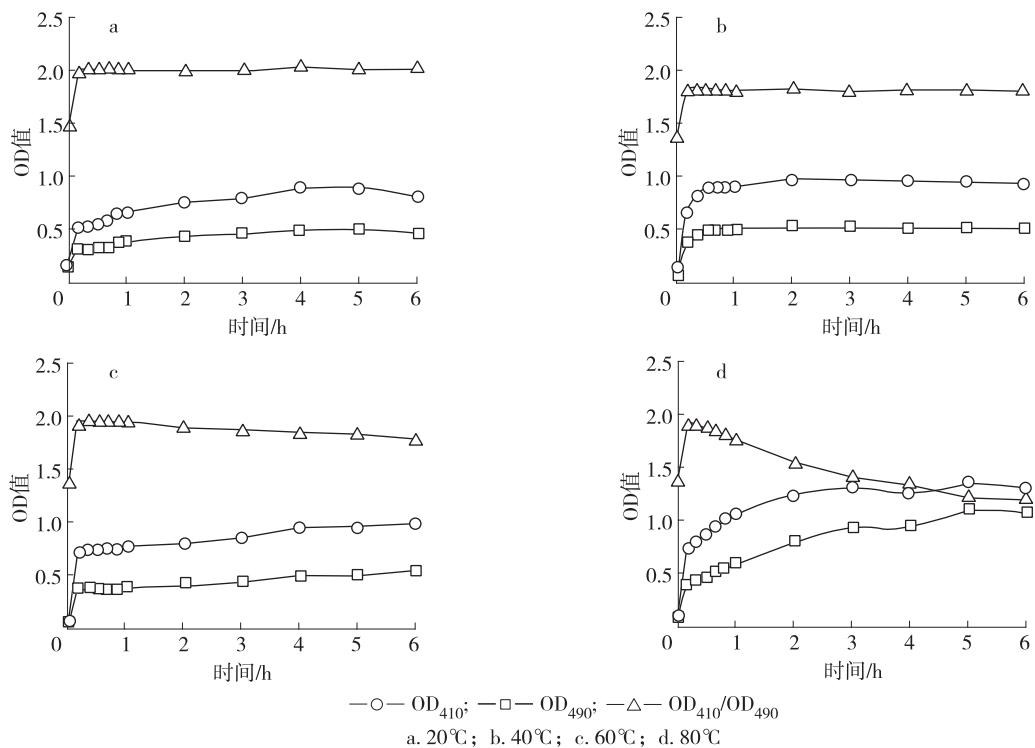
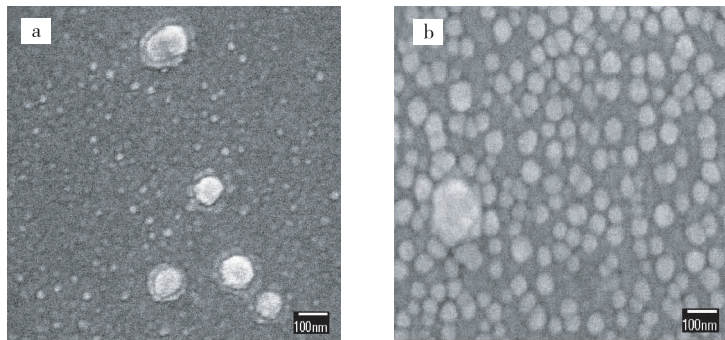


图 4 反应时间对光吸收值的影响

Fig. 4 Effect of reaction time on absorption

由图4可知,在一定范围内,随着反应时间增加,吸光度值都呈增大的趋势。20℃水浴反应5h的条件下,两波长下吸光度及其吸光度的比值均趋于平稳,说明此时形成的纳米硒粒子处于均匀稳定状态;40℃水浴反应4h之后,吸光度及其两波长下吸光度的比值均趋于平稳,说明此时形成的纳米硒粒子处于均匀稳定状态;60℃时吸光度比值随着时间的增加有不明显的降低趋势,在4h后,吸光度及其两波长下吸光度的比值均趋于平稳,说明此时形成的纳米硒粒子处于均匀稳定状态;80℃时,在一定范围内,吸光度值随着反应时间的增加呈增大的趋势,最后趋于平稳,但吸光度比值明显降低,且不能形成稳定趋势。由此推测反应时间对产物的状态受到反应温度的影响:其一,当温度较低时,形成的纳米硒粒子处于稳定状态所需时间长,反之,温度较高时分子扩散速度快,形成纳米硒稳定态离子所需时间短,同时降低罗望子多糖对纳米硒粒子形成的诱导能力。综上可知,在40和60℃条件下反应4h后形成的产物粒度较均匀、稳定。

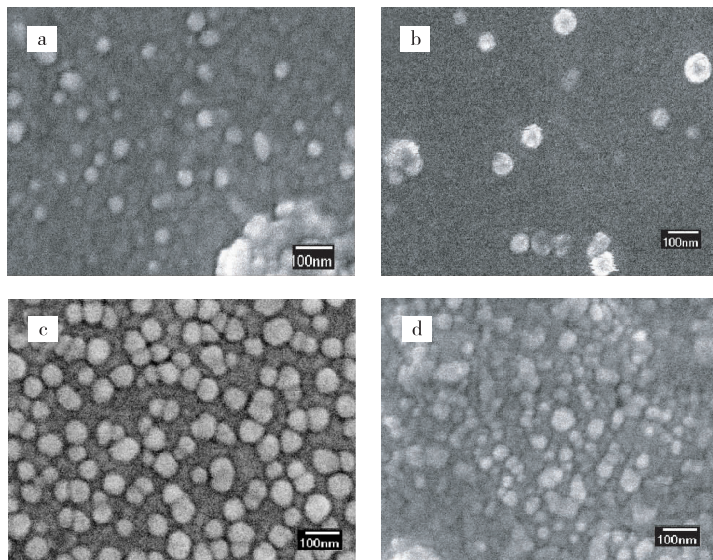
图5是在40℃条件下反应不同时间所得产物的扫描电镜(SEM)图,由图可以看出,时间对产物的形成有一定的影响,也可以看出产物被罗望子多糖吸附包裹的情形。由图5可知,随着反应时间的增加,产物粒度越均匀,说明形成的纳米硒粒子均匀且稳定。



反应时间 reaction time: a. 3 h; b. 6 h

图5 反应产物的SEM图
Fig.5 SEM images of products

2.3.2 反应温度 固定 H_2SeO_3 浓度0.50 mmol/L,罗望子多糖质量分数0.02%, V_C 浓度0.25 mmol/L时,改变反应温度,反应相同时间后得产物,其SEM图见图6。



温度 temp.: a. 20℃; b. 40℃; c. 60℃; d. 80℃

图6 不同温度下反应产物的SEM图
Fig.6 SEM images of products prepared at different temperature

由图 6(a) 知, 20 °C 时反应 4 h 产物虽然有颗粒分散, 但颗粒粒度大小不一、分散不均匀, 有不规则大团块存在, 主要原因可能是低温不利于分子运动, 且溶液黏度大, 不能很好分散开; 由图 6(b) 可知, 40 °C 时反应 4 h 的产物颗粒粒度大小不一且分散不均匀, 其颗粒粒度较小的在 20~60 nm, 较大的颗粒粒度在 75~120 nm, 有少量团块存在; 由图 6(c) 可知, 60 °C 时反应 4 h 产物颗粒粒度较均匀, 其粒度大多数集中在 39 nm 左右, 无团块存在; 由图 6(d) 可知, 80 °C 时反应 4 h 的产物粒度大小不一, 较小的在 35~47 nm 之间, 较大的颗粒粒度在 110~200 nm 之间, 同时有大量的不规则的团块存在, 这可能是由于温度升高使分子间原来较均匀的静电引力由于分子的热运动而遭到破坏, 且溶液黏度降低, 从而诱导粒子的不规则生长形成团块。综上可知, 温度对纳米硒的形成有较大的影响, 在 60 °C 时反应 4 h 所得纳米硒分散度较均匀, 粒度最小。

2.4 稳定时间

60 °C 时的反应产物经 12 000 r/min 离心 10 min 后, 取上清液放置在室温条件下一个月仍为红色, 溶液中无沉淀。

2.5 X 射线衍射结果分析

以 0.02 % 的罗望子多糖为分散体系, 通过 H_2SeO_3 和 V_c (物质的量比 2:1) 在 40 °C 条件下于水相中反应 4 h, 制得纳米硒罗望子多糖分散乳液, 经高速冷冻离心机将溶液中沉淀离心, 然后经旋转蒸发仪将离心过的纳米硒溶液浓缩, 并将其置于 -20 °C 的冰箱中冷冻, 最后再真空冷冻干燥至质量恒定, 用得到的固体粉末做 X 射线衍射图。

图 7 为罗望子多糖纳米硒和罗望子多糖在 $2^\circ \leq 2\theta \leq 85^\circ$ 范围内的 XRD 分析图。结果表明: 样品 a 有 X 衍射峰, 说明罗望子多糖是杂多糖, 如糖蛋白, 因为均多糖不能形成晶体, 为无定型粉末; 与样品 b 的衍射峰对比可知, 两种物质峰型及位置相同, 说明样品 b 中衍射峰对应的物质与样品 a 中的是相同的物质, 即以罗望子多糖为模板生成的纳米硒非晶态, 为无定型粉末^[25]。

2.6 讨论

以罗望子多糖为模板, 用抗坏血酸还原亚硒酸的方法制备纳米级的元素硒, 得到的纳米硒的粒度、形貌与蛋白质模板分散法、表面活性剂等方法制备的纳米硒相似, 均为颗粒状无定型粉末, 但利用多糖、蛋白质、聚合物等作为模板制备的纳米硒还可通过特殊处理使其生成棒状结构或纳米结晶, 如赵东元等以复配的非离子——非离子表面活性剂为模板合成了高性能中孔材料^[26]; 丁菲等利用表面活性剂控制纳米硒线生长^[27]; 史洪伟等利用乙烯吡咯烷酮为模板在乙醇溶液中控制抗坏血酸与亚硒酸制备纳米硒形成六方形片状晶体^[28]。以罗望子多糖制备的纳米硒可能具有硒和罗望子多糖的双重生物学功效, 将在癌症的化学预防和治疗方面有光明的前景, 同时可能在动物生产中将有广阔的应用前景。

3 结论

3.1 以罗望子多糖为模板制备纳米硒, 探讨实验条件对纳米硒粒度均匀性的影响。结果表明, 反应温度和反应时间对产物的稳定性影响较大; 当反应体系中亚硒酸和抗坏血酸的物质的量之比为 2:1, 罗望子多糖质量分数为 0.02 %, 60 °C 条件下反应 4 h 之后形成的产物粒度较均匀、稳定。

3.2 SEM 表征显示, 60 °C 下温浴 4 h 时得到红色的纳米硒, 颗粒较小、均匀, 平均粒径为 39 nm 左右, 且稳定存在于反应体系中。

3.3 XRD 分析表明, 罗望子多糖为模板生成的纳米硒非晶态, 为无定型粉末。

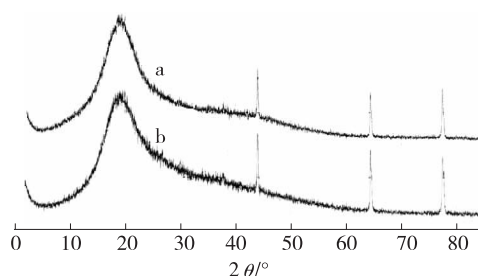


图 7 罗望子多糖(a)及纳米硒(b)的 XRD 图
Fig.7 XRD pattern of tamarind seed polysaccharides (a) and nano-selenium (b)

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.
- [2] COMBS G F, GARBISU C, LEE B C, et al. Bioavailability of selenium accumulated by selenite-reducing bacteria[J]. Biological Trace Element Research, 1996, 52(3): 209-225.
- [3] 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): 290-293.
- [4] ZHANG Jin-song, GAO Xue-yun, ZHANG Li-de, et al. Biological effects of a nano red elemental selenium[J]. Bio-Factors, 2001, 15(1): 27-38.
- [5] 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.
- [6] TAN Liang, JIA Xue-en, JIANG Xiang-fu, et al. *In vitro* study on the individual and synergistic cytotoxicity of adriamycin and selenium nanoparticles against Bel7402 cells with a quartz crystal microbalance[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2009, 24: 2268-2272.
- [7] PENG Dun-geng, ZHANG Jin-song, LIU Qing-liang, et al. Size effect of elemental selenium nanoparticles (Nano-Se) at supranutritional levels on selenium accumulation and glutathione S-transferase activity[J]. Journal of Inorganic Biochemistry, 2007, 101: 1457-1463.
- [8] DAVID R M, WILLIAM P, PETER J T. Formation of selenium colloids using sodium ascorbate as the reducing agent[J]. Journal of Colloid and Interface Science, 1995, 170: 254-260.
- [9] JOHNSON J A, SABOUNGI M L, THIYAGARAJAN P, et al. Selenium nanoparticles: A small angle neutron scattering study[J]. J Phys Chem B, 1999, 103: 59-63.
- [10] GAO Xue-yun, ZHANG Jin-song, ZHANG Li-de. Hollow sphere selenium nanoparticles: Their *in-vitro* anti hydroxyl radical effect[J]. Adv Mater, 2002, 14(4): 290-293.
- [11] SMITH T W, CHEATHAM R A. Functional polymers in the generation of colloidal dispersions of amorphous selenium[J]. Macromolecules, 1980, 13: 1203-205.
- [12] 张旭, 谢毅, 徐芬, 等. 单晶体纳米硒的室温快速增长[J]. 无机化学学报, 2003, 19(1): 77-80.
- [13] 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]. Adv Mater, 2000, 14(23): 1749-1752.
- [14] BYRON G, BRIAN M, BRYAN, et al. Synthesis and characterization of uniform nanowires of trigonal selenium whose diameters could be controlled in the range of 10-800 nm[J]. Adv Funct Mater, 2002, 12(3): 219-227.
- [15] IRIS N, JOANNE M E, GEORGE S. Electrodeposition of nano structured mesoporous selenium films (H[I]-e Se)[J]. Attard Chem Mater, 2001, 13(11): 3840-3842.
- [16] 蒲彪, 邓继尧, 蒋华曾, 等. 罗望子果肉的营养成分分析[J]. 四川农业大学学报, 1994(4): 455-457.
- [17] 王元兰, 李忠海. 罗望子胶及其在食品工业中的应用[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(9): 179-182.
- [18] GLORIA U B, SAMUELE N, FEDERICA B, et al. Enhanced affinity of ketotifen towards tamarind-seed polysaccharide in comparison with hydroxyethylcellulose and hyaluronic acid: A nuclear magnetic resonance investigation[J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2008, 16: 7371-7376.
- [19] 刘敏, 辛毅, 马郁芳, 等. 罗望子中葡聚糖的结构与功能初探[J]. 中国微生态学杂志, 1999, 11(3): 148-151.
- [20] 李进伟, 丁霄. 超声波提取金丝小枣多糖的工艺研究[J]. 林产化学与工业, 2006, 26(3): 73-76.
- [21] 罗娅君, 肖新峰, 王照丽. 大叶金花草多糖的提取、分离纯化及结构分析[J]. 林产化学与工业, 2009, 29(1): 68-72.
- [22] 钟捷, 翟祖康, 吴云林, 等. 口服葡甘聚糖对短链脂肪酸生成及其结肠细胞增殖的影响[J]. 中华消化杂志, 1998, 18(4): 232-234.
- [23] 王红艳, 张胜义, 郜洪文, 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.
- [24] 王红艳, 张胜义, 张莉, 等. 葡甘聚糖模板法制备纳米硒[J]. 安徽大学学报, 2005, 29(1): 80-85.
- [25] 蒋建新, 朱莉, 伟王磊, 等. 皂荚多糖胶 α -半乳糖苷酶修饰及产物性能研究[J]. 林产化学与工业, 2007, 27(5): 44-48.
- [26] TIAN B Z, LIU X Y, ZHANG Z D, et al. Syntheses of high-quality mesoporous materials directed by blends of nonionic amphiphiles under non-aqueous conditions[J]. Journal of Solid State Chemistry, 2002, 167(2): 324-329.
- [27] 丁菲, 于俊生. 表面活性剂控制的硒纳米线的室温生长[J]. 无机化学学报, 2009, 25(4): 708-712.
- [28] 史洪伟, 张胜义, 王红艳, 等. 液-液界面软模板法制备纳米硒[J]. 同济大学学报: 医学版, 2006, 27(4): 74-77.