

任月娜, 茆广华, 邹 焯, 等. 透明质酸纳米硒的制备与表征[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(9): 247-250.

透明质酸纳米硒的制备与表征

任月娜¹, 茆广华², 邹 焯², 冯伟伟², 朱 洋¹, 顾晓云¹, 陈 瑶³, 吴向阳³, 仰榴青¹

(1. 江苏大学化学化工学院, 江苏镇江 212013; 2. 江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013;

3. 江苏大学环境学院, 江苏镇江 212013)

摘要:以大分子多糖透明质酸为软模板, 在室温下采用抗坏血酸还原亚硒酸钠的方法制备得到红色透明质酸纳米硒, 采用透射电镜(TEM)、扫描电镜(SEM)、原子力显微镜(AFM)、傅里叶变换红外光谱(FT-IR)、差热重分析(DSC-TG)、X射线衍射(XRD)和圆二色谱(CD)对其进行表征, 结果表明, 透明质酸纳米硒呈均一球状、分散良好、粒径范围在50~70 nm左右, 呈无定形态, 透明质酸纳米硒中硒元素的含量为2.2%, 硒和透明质酸之间通过氢键相互连接; 透明质酸纳米硒形成之后, 其失水温度降低, 热降解过程也发生明显的变化。

关键词:透明质酸, 纳米硒, 软模板法, 表征

中图分类号: TQ125.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)09-0247-03

硒是生物体必需的微量元素之一, 在生命活动中发挥着至关重要的作用。研究证实, 硒是生物体中谷胱甘肽过氧化物酶、磷脂氢谷胱甘肽过氧化物酶活性中心的关键组成元素。此外硒还具有清除自由基、抗衰老、保护肝脏、免疫调节、抗肿瘤等多方面活性^[1-4]。与无机硒和有机硒相比, 红色纳米硒具有生物活性高和毒性低等特点^[5-6]。透明质酸(hyaluronic acid, 简称HA), 又名玻璃酸, 是一种由 β -D-乙酰氨基葡萄糖和D-葡萄糖醛酸单糖的重复结构组成的线性多糖。最早是由牛眼玻璃体内提取分离得到的, 目前主要的生产工艺有2种: 以动物组织为原料的提取法和细菌发酵法。因其具有高度黏弹性、可塑性、超强的持水性、渗透性和良好的生物易吸收性, 在食品、化妆品、医药等领域均有着广泛的应用^[7-8]。本研究以透明质酸为软模板, 在室温下采用抗坏血酸还原亚硒酸钠的方法, 制备性质稳定的红色纳米硒, 该反应条件温和, 操作简单, 是一种绿色环保的合成方法; 采用透射电镜(TEM)、扫描电镜(SEM)、原子力显微镜(AFM)、傅里叶变换红外光谱(FT-IR)、差热重分析(DSC-TG)、X射线衍射(XRD)和圆二色谱(CD)对其进行了表征。

1 材料与仪器

1.1 材料与仪器

材料: 透明质酸钠(江苏海华生物科技有限公司, M_r : 1.06×10^6 u); 硒标准溶液(1 000 $\mu\text{g/mL}$, 国家标准物质研究中心); 抗坏血酸(国药集团化学试剂有限公司)。仪器: JSM-7001F型热场发射扫描电子显微镜(日本电子株式会社JEOL); FD-1-50冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公司); NEXUS 670智能型傅里叶红外光谱仪(美国尼高利公

司); D/max2500VB3+/PC X射线衍射仪(日本理学); STA449C综合热分析仪(德国NETZSCH仪器公司); JASCO, J-815圆二光谱仪(日本分光公司); ICP-OES等离子体发射光谱仪(美国瓦里安公司)。

1.2 试验方法

1.2.1 以不同浓度透明质酸为模板制备透明质酸纳米硒 分别取100 mL质量浓度为0.1%、0.25%、1%、7%的透明质酸溶液(分子量为 1.06×10^6 u)和1 mL 0.1 mol/L的亚硒酸钠溶液, 在室温下磁力搅拌12 h, 缓慢滴加4 mL 0.1 mol/L抗坏血酸溶液继续搅拌, 溶液颜色由无色变为红色, 在去离子水中透析直至水中检测不到硒元素, 真空冷冻干燥, 即可得到红色透明质酸纳米硒粉末。

1.2.2 透明质酸纳米硒中硒含量的测定 (1)样品的湿法消解: 称取0.1 g透明质酸纳米硒粉末于50 mL锥形瓶中, 加入5 mL混酸($V_{\text{HNO}_3} : V_{\text{HClO}_4} = 4 : 1$), 冷硝化12 h, 同时做试剂空白。然后于电炉上加热, 及时补充混酸溶液, 当溶液变为清亮无色并伴有白烟时, 继续加热至剩余体积为2 mL左右, 加入6 mol/L盐酸10 mL, 放置20 min后, 转移至25 mL容量瓶, 纯水定容, 备用。(2)标准曲线的制备: 用硒标准液(1 000 $\mu\text{g/mL}$)稀释至1、2、4、6、8、10 $\mu\text{g/mL}$, 配制一系列浓度的硒溶液。用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-AES)在196.026 nm特定波长测定硒含量。

2 结果与分析

2.1 TEM考察不同浓度下制备的透明质酸纳米硒

由图1可知, 当透明质酸的浓度为0.1%时, 得到的红色纳米硒溶液出现浑浊, 这说明反应生成的透明质酸纳米硒不能稳定存在, 发生了沉聚。当透明质酸的浓度为0.25%时, 得到透明的红色溶液, 透明质酸纳米硒粒径分布均匀, 粒径范围在50~70 nm, 在室温条件下, 该透明质酸纳米硒在液相中可稳定保持1个月。透明质酸质量浓度增大, 纳米硒粒径逐渐增大。当透明质酸的质量浓度为1%时, 纳米硒的粒径范围为200~250 nm, 当透明质酸浓度为7%时, 纳米硒的粒径大于250 nm。这可能是由于高浓度的透明质酸溶液黏度增

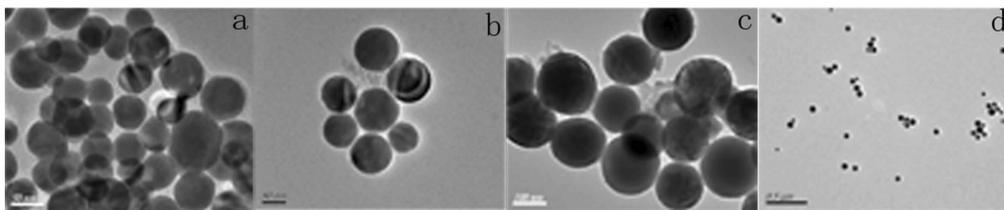
收稿日期: 2013-05-23

作者简介: 任月娜(1986—), 女, 河北涿州人, 硕士, 从事天然资源高效利用研究。Tel: (0511) 88791800; E-mail: renyuena1125@163.com。

通信作者: 吴向阳, 博士, 教授, 从事农业资源的高效利用研究。Tel: (0511) 88791200; E-mail: wuxy@ujs.edu.cn。

大易形成凝胶,导致产物发生粘连,故透明质酸钠米硒的粒径变大。在抗坏血酸还原亚硒酸钠生成纳米硒的过程中,透明

质酸不仅起到了调控纳米硒粒径的作用,而且对纳米硒的稳定起到了重要作用。



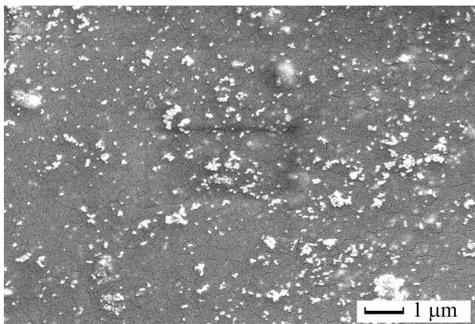
透明质酸质量浓度分别为(a) 0.1%;(b)0.25%;(c)1%;(c)7%

图1 不同浓度透明质酸制备得到的纳米硒的TEM图

2.2 透明质酸纳米硒中硒的含量

由 ICP - AES 测得透明质酸纳米硒中硒元素的含量为 2.2%。

2.3 样品的表征



2.3.1 SEM 表征 图2为透明质酸纳米硒的SEM - EDX图。由图2可知,透明质酸纳米硒呈球形分布,该透明质酸纳米硒表面含有的主要元素为C、O、Se。

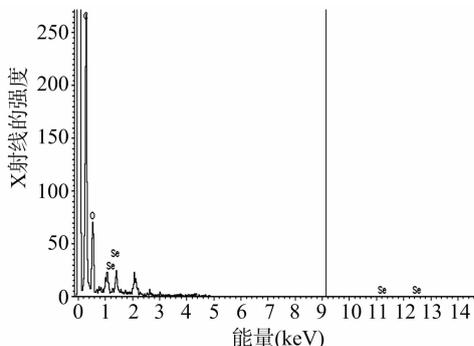


图2 透明质酸纳米硒的TEM-EDS图

2.3.2 AFM 表征 图3 - a、b 分别为透明质酸的 AFM 图及其立体图和透明质酸纳米硒的 AFM 图及其立体图。其中,透明质酸的 AFM 图与文献报道相一致^[9],原料透明质酸溶液在

云母片上卷曲成团簇状,形成珍珠网状分布,其立体图起伏较多。形成透明质酸纳米硒后经 AFM 检测,生成的纳米粒子粒径大小为 40 nm 左右,这与 TEM 检测结果相一致。

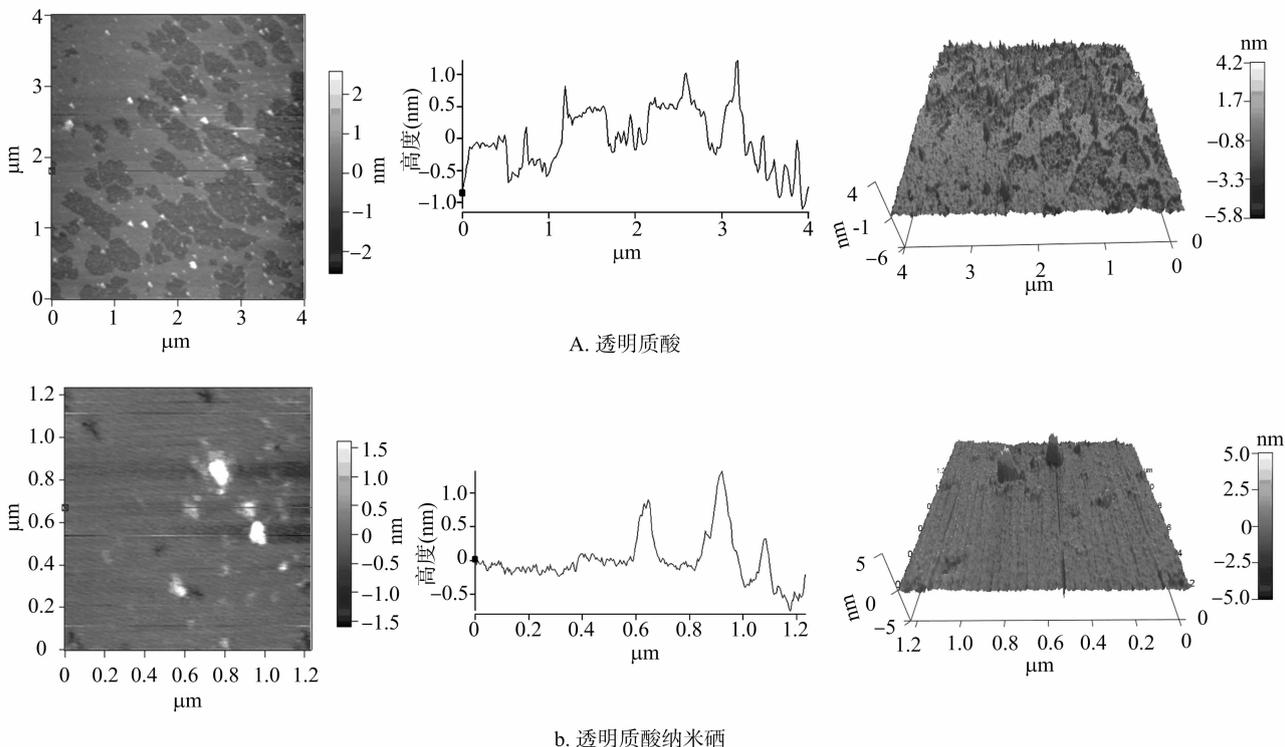


图3 透明质酸和透明质酸纳米硒的AFM图及 3D 图

2.3.3 傅里叶变换红外光谱法(FT-IR) 图4为透明质酸钠纳米硒和透明质酸的FT-IR图谱,透明质酸位于 $3\ 400\text{ cm}^{-1}$ 左右的宽的吸收峰为—OH伸缩振动吸收峰和—NH₂伸缩振动吸收峰重叠形成的多重吸收峰,在透明质酸钠纳米硒中该伸缩振动峰由 $3\ 385.4\text{ cm}^{-1}$ 移至 $3\ 379.5\text{ cm}^{-1}$,即向低频移动。这说明Se和透明质酸分子中的—OH之间形成了氢键。

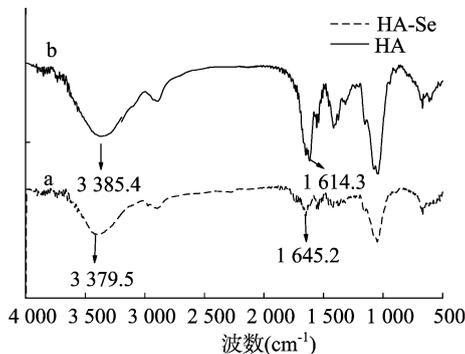


图4 透明质酸钠纳米硒的FT-IR图

2.3.4 XRD表征 XRD结果表明,所得透明质酸钠纳米硒为无定形态(图5),这与透明质酸钠纳米硒溶液呈红色相印证。

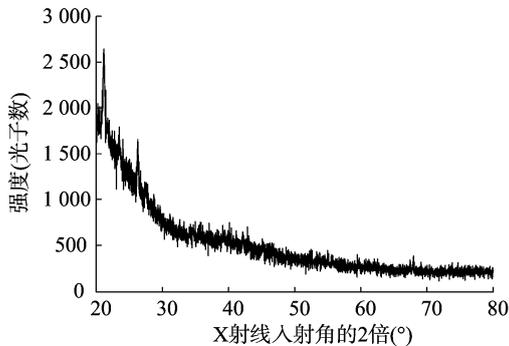


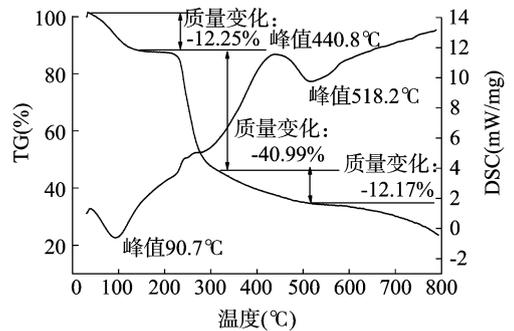
图5 透明质酸钠纳米硒的XRD

2.3.5 DSC-TG表征 图6-a、b分别为原料透明质酸和透明质酸钠纳米硒的DSC-TG曲线。如图6所示,原料HA和透明质酸钠纳米硒的DSC曲线分别在 90.7°C 和 87.3°C 各有1个吸热峰,该峰为失水吸热峰。对应于热失重曲线,失重率分别为12.25%和16.12%。HA在 440.8°C 处有吸热峰, 518.2°C 处出现放热峰。与原料HA不同的是,透明质酸钠纳米硒仅在 517°C 处出现1个放热峰。 517°C 左右出现的放热峰为糖胺聚糖链降解放热峰。由结果可知,与原料透明质酸相比,透明质酸钠纳米硒失水温度降低,糖胺聚糖链降解也发生了变化。

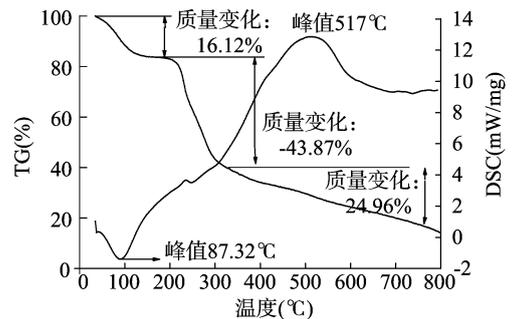
2.3.6 CD表征 透明质酸在 210 nm 处出现1个明显的负峰,这是由透明质酸分子中的羧基的 $n\rightarrow\pi$ 跃迁及无规则卷曲形成的,与文献报道相符^[10]。透明质酸钠纳米硒在小于 200 nm 处和 260 nm 处的峰与原料透明质酸相比均发生了改变,在大于 260 nm 波段所对应的的曲线与原料相比有上扬趋势。

3 结论

以透明质酸为软模板,在室温下以抗坏血酸还原亚硒酸钠的方法可制备出红色透明质酸钠纳米硒,结果表明,透明质酸钠纳米硒呈均一球状、分散良好,粒径范围在 $50\sim 70\text{ nm}$ 左右,其表面的主要元素成分为C、O、Se,透明质酸钠纳米硒中硒元素的含量为2.2%,硒和透明质酸之间通过氢键相互连接,呈无



a.透明质酸



b.透明质酸钠纳米硒

图6 透明质酸和透明质酸钠纳米硒的DSC-TG

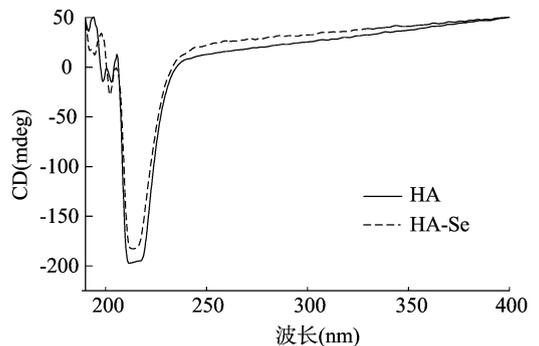


图7 透明质酸钠纳米硒的CD

定形态存在;透明质酸钠纳米硒形成后,其失水温度降低,热降解过程也发生明显的变化。该反应条件温和,操作简单,是一种绿色环保的合成方法,

参考文献:

- [1] Yazdi M H, Mahdavi M, Kheradmand E, et al. The preventive oral supplementation of a selenium nanoparticle - enriched probiotic increases the immune response and lifespan of 4T1 breast cancer bearing mice[J]. *Arzneimittel Forschung Drug Research*, 2012, 62(11): 525 - 531.
- [2] 屈兰竺,杨松杰,嵯 苏,等. 微量必需元素硒的作用探析[J]. *中国农学通报*, 2010, 26(7): 94 - 97.
- [3] 秦粉菊,袁红霞. 纳米硒对小鼠学习记忆能力的影响[J]. *江苏农业科学*, 2008(1): 51 - 53.
- [4] Turlo J, Gutkowska B, Herold F. Effect of selenium enrichment on antioxidant activities and chemical composition of *Lentinula edodes* (Berk.) Pegl. mycelial extracts[J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2010, 48(4): 1085 - 1091.

蔡梅艳,陶乐仁,张婷玉,等. 温湿度对菠菜可溶性蛋白质含量的影响[J]. 江苏农业科学,2013,41(9):250-252.

温湿度对菠菜可溶性蛋白质含量的影响

蔡梅艳,陶乐仁,张婷玉,范国华,李娟

(上海理工大学低温与生物研究所,上海 200093)

摘要:菠菜体内的大部分可溶性蛋白质是参加新陈代谢活性的酶类,其含量能反映菠菜组织的总代谢活动。为找出菠菜最佳储藏温度和湿度,研究了不同温度(2、5、8℃)及相对湿度(60%、80%、99%)对菠菜可溶性蛋白质含量的影响。结果表明,温度及相对湿度对可溶性蛋白质含量的影响都达到极显著水平,相对湿度对可溶性蛋白质含量的影响大于温度,而温湿度交互作用的影响不显著。温度越低,环境湿度越大,可溶性蛋白质保留效果越好。2℃及99%相对湿度下菠菜可溶性蛋白质含量最大。

关键词:菠菜;可溶性蛋白质;相对湿度;温度

中图分类号:S609+.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)09-0250-03

菠菜是一种营养丰富的蔬菜,菠菜采后不能再进行光合作用等同化作用,但其他生理活动仍在进行,大分子有机物被降解成了小分子物质,导致菠菜内部组织结构发生变化,有序结构变成了无序结构,使菠菜的感官品质和营养品质(糖、蛋白质、维生素、有机酸等)都下降,从而降低了菠菜的商品价值^[1]。de Azevedo - Meleiro 等研究发现,菠菜在7~9℃下储存5d后β胡萝卜素、叶黄素、紫黄素、新黄素的含量下降了42%、32%、20%、20%^[2]。Lopez - Velasco 等研究表明,储存温度及储存时间能够影响附在菠菜表面微生物种类的多样性,影响菠菜的生理及生长机理^[3]。微生物侵染菠菜内部的柱状薄壁组织,造成菠菜腐烂^[4]。如何减少果蔬采后的损失已上升为一个全球性的问题,越发受到国内外广泛的关注^[5-6]。Grozeff 等研究发现,1-MCP可以降低铵盐的含量和蛋白质下降的速率,低剂量的1-MCP处理菠菜可以延缓衰老,保持菠菜的良好营养品质和感官^[7]。5℃下气调包装菠菜,发现不同生长期和采收期对菠菜储存过程中维生素C、叶绿素、硝酸盐及草酸的含量影响不显著,对微生物数量有显著影响^[8]。Gómez 等研究发现,与未经热处理的菠菜叶相比,经过热处理的菠菜叶叶绿素含量、蛋白质含量相对较高,溶质渗透少^[9]。刘扬等采用具有不同孔径的带孔保鲜袋包装菠菜,结果表明1mm孔径的保鲜袋保鲜效果最好,失水率最

低,可溶性蛋白质和叶绿素的含量最高;色差值越小,孔径越大,保鲜效果越差^[10]。侯建设等采用低温冷藏结合塑料薄膜不扎口的包装方式保鲜菠菜,结果表明在2℃下保鲜的菠菜有很好的感官评价,9℃下包装保鲜虽能抑制菠菜的水分蒸发,但菠菜有严重的腐烂现象^[11]。李华贞等研究表明微酸性电解水和强酸性电解水均能延缓菠菜表面微生物的增长,保持菠菜的营养品质,抑制亚硝酸盐的积累^[12]。低温高湿是大多数果蔬理想的储藏条件。高湿控制果蔬的蒸腾作用,减少水分的蒸发;低温能抑制果蔬的呼吸作用,降低微生物酶的活性,减少微生物对果蔬的分解,延长保鲜期。本试验研究了温度2、5、8℃及相对湿度60%、80%、99%对捆绑菠菜可溶性蛋白质含量变化的影响,旨在找出菠菜最佳储藏温度和湿度。

1 材料与方 法

1.1 仪器与试剂

试验仪器:DFY-5/20低温恒温反应浴(槽)(上海丞明仪器设备有限公司);电子天平BP3100S(德国Sartorius集团);Panasonic温湿度数据记录仪(松下电器研究开发苏州有限公司);BP211D电子分析天平(上海松林科教仪器有限公司);721分光光度计(上海华连医疗器械有限公司);TDL-50B型离心机(江苏省南京桑力电子设备厂);DHG-9203A型电热恒温鼓风干燥箱(上海华连医疗器械有限公司);移液枪。其他均为实验室常用玻璃仪器。

试验试剂:95%乙醇,85%磷酸,结晶牛血清蛋白,考马斯亮蓝,变色硅胶。以上试剂均为分析纯。

1.2 材料及处理

新鲜菠菜(圆叶菠菜):购自上海华联超市,洗净,风干,

收稿日期:2013-02-17

作者简介:蔡梅艳(1989—),女,上海人,硕士研究生,研究方向为食品冷冻冷藏。E-mail:cm.y.sl@163.com。

通信作者:陶乐仁,博士。E-mail:cry0307@usst.edu.cn。

[5]王华丽. 纳米硒的生物利用和毒性研究[D]. 合肥:中国科学技术大学,2007.

[6]Zhang J, Wang H, Yan X, et al. Comparison of short-term toxicity between Nano-Se and selenite in mice[J]. Life Sciences, 2005, 76(10):1099-1109.

[7]Park W, Kim K S, Bae B C, et al. Cancer cell specific targeting of nanogels from acetylated hyaluronic acid with low molecular weight[J]. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2010, 40(4):367-375.

[8]Schanté C E, Zuber G, Herlin C, et al. Chemical modifications of hyaluronic acid for the synthesis of derivatives for a broad range of biomedical applications[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 85(3):469-489.

[9]王书红, 马豫峰, 蔡继业. 原子力显微镜对透明质酸分形结构的研究[J]. 高分子材料科学与工程, 2007, 23(3):211-213, 218.

[10]樊东辉, 吴蓓蓓, 徐政, 等. 透明质酸钠的光谱学分析[J]. 中国生化药物杂志, 2006, 27(1):22-25.