

茶多糖-纳米硒复合物的制备及表征

穆静静, 叶锡光, 陈忠正, 张媛媛, 林晓蓉, 李斌

(华南农业大学食品学院, 广东广州 510642)

摘要: 为探究以茶多糖为模板制备纳米硒的可行性, 以云南大叶种绿茶、红茶、普洱茶和福鼎大白白茶、英红九号黄茶、岭头单丛乌龙茶为原料, 采用水提醇沉法提取茶叶粗多糖, 比较其得率和多糖、蛋白质组成, 并以各茶类粗多糖为模板制备纳米硒, 采用动态光散射和激光多普勒测速技术分析其平均水合直径、总光强、Zeta 电位和分散系数, 采用透射电子显微镜和扫描电子显微镜表征其颗粒大小、形貌和分布特性, 并对稳定性最佳的茶多糖-纳米硒, 采用电感耦合等离子体质谱检测其硒浓度, 采用傅里叶变换红外光谱分析其与模板的结合。结果表明, 不同品种茶树、茶类的粗多糖均有稳定纳米硒的作用, 但以普洱茶粗多糖作用最强, 所构建的纳米硒直径最小 (75 nm)、静电稳定性最高 (Zeta 电位-53 mV)、分布最集中 (多分散系数 0.11), 主要通过-OH、-NH₂、-C=O 等基团以非共价键与纳米硒结合。

关键词: 多糖; 硒; 茶多糖; 纳米硒; 修饰

文章编号: 1673-9078(2019)12-225-231

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.12.029

Preparation and Characterization of Complexes of Tea Polysaccharide-selenium Nanoparticles

MU Jing-jing, YE Xi-guang, CHEN Zhong-zheng, ZHANG Yuan-yuan, LIN Xiao-rong, LI Bin

(College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: To explore the feasibility of using tea polysaccharides as the template for the preparation of selenium nanoparticles (SeNPs), Yunnan large-leaf green tea, black tea, and Pu'er tea, Fuding Dabai white tea, Yinghong 9 yellow tea, and Lingtou Dancong oolong tea were used as the raw materials. Crude polysaccharides were extracted from these varieties of tea through water extraction and alcohol precipitation, and their yields and contents of carbohydrates and proteins were compared. Subsequently, SeNPs were prepared by using the crude tea polysaccharides as templates. The average hydrodynamic radius, total light intensity, Zeta potential and polydispersity index of SeNPs were analyzed by dynamic light scattering and laser Doppler velocimetry. The particle size, morphology and the distribution of SeNPs were characterized by transmission electron microscopy and scanning electron microscopy. Finally, the selenium concentration of the tea polysaccharide-SeNP complexes with the highest stability was determined by inductively coupled plasma mass spectrometry, and the binding of SeNPs to the template was characterized by Fourier transform infrared spectroscopy. The results showed the crude polysaccharides from different varieties of tea trees and tea leaves all exhibited a stabilizing effect on SeNPs, and the polysaccharides from Pu'er tea exerted the strongest effect (with the smallest SeNP diameter (75 nm), highest electrostatic stability (zeta potential: -53 mV), and the most concentrated distribution (polydispersity Index: 0.11)). The Pu'er tea polysaccharides might bind to SeNPs mainly via noncovalent interaction through the -OH, -NH₂ and -C=O groups.

Key words: polysaccharides; selenium; tea polysaccharides; selenium nanoparticles; modification

硒 (Selenium, Se) 是人体必需的八大微量元素

收稿日期: 2019-05-05

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金 (CARS-19); 广东省自然科学基金项目 (2018A030313917); 广东省普通高校青年创新人才项目 (2017KQNCX019)

作者简介: 穆静静 (1993-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品化学

通讯作者: 林晓蓉 (1986-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 食品纳米技术、茶叶精深加工; 共同通讯作者: 李斌 (1960-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 茶叶精深加工、天然产物功能特性

之一, 具有多种生物活性, 在预防克山病、心血管疾病及延缓衰老中发挥着重要作用。但传统硒制剂的营养剂量与毒性剂量之间范围较窄, 易摄入过量而导致贫血、肝硬化等毒副作用^[1]。1997 年, 张劲松团队利用抗坏血酸 (Vc) 还原亚硒酸钠 (Na₂SeO₃) 制备出红色单质硒, 并引入牛血清蛋白作为模板, 通过与单质硒的相互作用, 引导其形成直径 20~60 nm 的纳米硒胶粒^[2]。经动物模型证实, 纳米硒的抗氧化活性和生物利用率与传统硒制剂相当, 但其急性毒性、亚慢

性毒性、长期毒性均低于后者^[3-6]。这种高活性、高安全性的纳米硒一经报道,迅速引起全球相关领域的关注。为构建高稳定性的纳米硒,研究者先后筛选出蛋白质^[7]、多肽^[8]、多糖^[9]、聚合物^[10]等模板,其中,天然活性多糖因其具有抗氧化、调节免疫等功效,且生物相容性优良,成为制备纳米硒的首选模板,壳聚糖^[11]、河蚬多糖^[12]、果胶^[13]、冬虫夏草多糖^[14]、阿拉伯胶^[15]等均被证实能够充分稳定纳米硒,并显著增强其活性。

茶多糖是茶叶中具有生物活性的复合多糖,是一类由灰分、糖类和蛋白质等结合形成的酸性多糖或酸性糖蛋白^[16],具有抗氧化^[17]、抗肿瘤^[18]、降血糖^[19]等诸多功效。茶树品种、鲜叶采摘季节和嫩度、加工工艺等均影响茶叶中茶多糖的含量和组成^[16],进而影响其生物活性^[20-22]。尤其值得关注的是,无论是天然,还是人工富硒茶中,茶多糖因与硒结合而显示突出的协同增效特性^[23-25]。这些研究提示,茶多糖不仅具有稳定纳米硒的糖类、蛋白质等化学基础,而且有可能协同增强纳米硒的生物活性,是一种极具潜力的纳米硒功能模板,但目前国内外尚未开展相关探索。

为此,本研究以云南大叶种绿茶、红茶、普洱茶,英红九号黄茶,岭头单丛乌龙茶,福鼎大白白茶等六大茶类为原料,采用水提醇沉法提取粗多糖,分析并比较其含量和组成,进而以各茶类粗多糖为模板,利用 Vc 还原 Na_2SeO_3 制备纳米硒,采用动态光散射 (Dynamic Light Scattering, DLS) 和激光多普勒测速 (Laser Doppler Velocity, LDV) 技术分析其平均水合直径 (Hydrodynamic Diameter, D_H)、总光强、Zeta 电位、多分散系数 (Polydispersity Index, PDI), 采用透射电子显微镜 (Transmission Electron Microscope, TEM) 和扫描电子显微镜 (Scanning electron microscope, SEM) 技术表征其颗粒大小、形貌及分散情况,比较并探讨不同茶类粗多糖对纳米硒的稳定作用,并选择其中稳定性最佳的茶多糖-纳米硒,采用电感耦合等离子体质谱仪 (Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, ICP-MS) 分析其硒元素浓度,采用傅里叶变换红外光谱 (Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR) 分析其结合前后的红外光谱,初步探讨茶多糖与纳米硒的结合作用,为茶多糖与硒的功能复合、高活性纳米硒的研制提供理论依据和技术基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 茶叶原料

云南大叶种绿茶、红茶购自广东省华海糖业发展有限公司;云南大叶种普洱茶由广东省茶叶进出口公司提供;岭头单丛乌龙茶由广东省潮州市农业局提供;福鼎大白白茶由北京云开雅集茶文化交流中心提供;英红九号黄茶由广东省茶叶研究所提供。

1.1.2 主要试剂

亚硒酸钠 (Na_2SeO_3 , >98%) 购于 Sigma-Aldrich (上海) 贸易有限公司;抗坏血酸 (Vc) 分析纯购于北京普博欣生物科技责任有限公司。

1.1.3 主要仪器设备

Zetasizer Nano ZS 90 纳米粒度仪购自英国 Malvern 公司;H-7650 透射电子显微镜产自日本 Hitachi 公司;XL-30-ESEM 扫描电子显微镜产自美国 FEI 公司;UV-2102C 紫外可见分光光度计购自上海尤尼科有限公司;Milli-Q Integral 3 超纯水机购自德国 Merk-Millipore 公司;Centrifuge 5804R 冷冻离心机购自德国 Eppendorf A G 公司;Alpha 1-2 LD plus 冷冻干燥机购自德国 Martin Christ 公司;ETHOS UP 微波消解仪购自美国 Milestone 公司;Agilent 7700X ICP-MS 电感耦合等离子体质谱仪购自美国 VARIAN 公司;Vertex 70 傅里叶变换红外光谱仪购自美国 Bruker 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 茶叶粗多糖提取

参考 Yang 等^[26]研究,采用水提醇沉法提取粗多糖。将茶叶磨碎筛取 40~50 目,按照 1:80 的料液比加入 80%乙醇,经 30 °C、200 r/min 振荡 24 h;抽滤并收集滤渣干燥,加入 20 倍体积的水,80 °C 搅拌提取 1.5 h,提取 2 次,经布氏漏斗过滤,合并两次的滤液,在 60 °C、100 Mbar 下浓缩至原体积的 10%,添加 95%乙醇使终浓度达到 80%,4 °C 下沉淀 24 h;经 4 °C、6436 r/min 离心 10 min,冷冻干燥备用。粗多糖的得率 (%) 按以下公式计算:

$$\text{粗多糖得率 (\%)} = \frac{m}{M} \times 100\%$$

式中: m 为粗多糖冻干粉的重量, g; M 为所称取茶叶原料的重量, g。

1.2.2 茶叶粗多糖的多糖和蛋白质含量测定

茶叶粗多糖的多糖含量测定采用蒽酮硫酸法^[27]。将茶多糖配制成 1 mg/mL 的溶液,吸取 1 mL 样液,加入 4 mL 蒽酮-硫酸试剂,混合均匀立即在 100 °C 水浴中加热 7 min,冰浴终止反应,静置 10 min 后,采用分光光度计测定反应液在波长 620 nm 处的吸光值。

蛋白质含量采用杜马斯燃烧法测定。称取 10~50 mg 样品(精确至 0.1 mg)于锡箔纸上,经包裹、压片后置于 Rapid N Exceed 杜马斯定氮仪自动进样盘中测定总蛋白质含量。

1.2.3 茶多糖-纳米硒构建

取一定量的茶叶粗多糖冻干粉于 100 mL 烧杯中,加入一定量的超纯水,混合均匀,加入一定量的 Vc 溶液,混合均匀静置片刻,加入一定量的 Na_2SeO_3 溶液,混合均匀,使茶叶粗多糖最终添加量为 500 mg/L, $\text{Vc}:\text{Na}_2\text{SeO}_3$ (mmol:mmol) 为 8:1。将反应混合液置于 40 °C 水浴中静置反应 1 h, 4 °C、11000 r/min 离心 30 min,离心 3 次后,沉淀用超纯水重悬浮,静置 5 min,稀释 20 倍,备测。

1.2.4 茶多糖-纳米硒表征

1.2.4.1 茶多糖-纳米硒胶体化学特性表征

采用 DLS、LDV 技术,于 25 °C 下测定纳米硒悬液的总光强、平均 D_H 、PDI 和 Zeta 电位。

1.2.4.2 茶多糖-纳米硒胶体颗粒形貌表征

纳米硒悬液经超声 60 min 预处理,取 10 μL 悬液滴在载网支持膜中,沉淀 15 min 后,用滤纸吸去多余液体,置于干燥器中干燥过夜,采用 TEM 观察其大小及分散情况。另取适量纳米硒冻干粉置于载物台的铜导电胶上,喷金处理后采用 SEM 观察其形貌特征。

1.2.4.3 茶多糖-纳米硒的硒元素检测

称取普洱茶纳米硒悬液 0.5 g (精确至 0.0001 g),置于微波消解内罐中,加入 5 mL 优级纯硝酸和 2 mL 双氧水,按设定的升温程序进行消解(表 1)。消解完成,消解罐冷却至室温后,吸出样品,用少许高纯水洗涤消解内罐 3 次,洗液合并定容至 50 mL。样液经定量滤纸过滤后,采用 ICP-MS 检测,检测条件为:射频功率 1.55 kW,等离子体气流速 1.04 L/min,采样深度 10.0 mm,蠕动泵转速 0.10 r/s。

表 1 微波消解升温程序

Table 1 Heating program of microwave digestion

步骤	控制温度/°C	升温时间/min	恒温时间/min
1	130	10	5
2	165	10	0
3	180	15	20

1.2.4.4 茶多糖纳米硒结构分析

称取约 1 mg 模板或 0.7 mg 纳米硒和 100 mg KBr 粉末于玛瑙研钵中,充分研磨至 2 μm 左右(外观似细腻粉末状),压片(20 MPa,约 30 s),取出,进行 FT-IR 测试。

1.3 数据统计分析

所有实验重复 2 次以上,图表数据以平均值 $\pm$ 标准偏差表示。采用 Origin 9.0 分析样品组间差异显著性,不同上标字母表示组间差异显著($p<0.05$),根据数值由大到小按字母次序编号。

2 结果与分析

2.1 不同茶类粗多糖提取得率

本研究以不同茶叶初制工艺加工而成的六大茶类茶叶为原料,采用水提醇沉法提取粗多糖,分析并比较其得率,结果如图 1 所示。

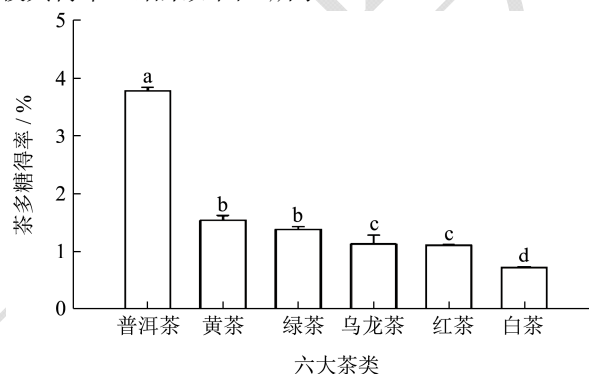


图 1 六大茶类粗多糖的提取得率

Fig.1 Yields of crude polysaccharides from six kinds of tea

注:不同字母表示各茶类粗多糖得率差异显著($p<0.05$)。

由图 1 可知,六大茶类粗多糖得率为 0.74%~3.80%,其中,普洱茶粗多糖得率最高,黄茶、绿茶次之,乌龙茶、红茶较低,白茶最低。其中以同一茶树鲜叶原料加工而成的绿茶粗多糖得率显著高于红茶。倪德江等以水仙、福鼎大白、云南大叶种制成的绿茶、乌龙茶和红茶的多糖含量,随发酵程度的增加而减小^[28]。赵雪丰等研究发现,普洱熟茶的多糖含量是其毛茶的 7 倍^[29]。这些结果表明,红茶的发酵工艺会降低其粗多糖含量,但普洱茶的后发酵会显著提高其粗多糖总量。

2.2 不同茶类粗多糖基本组成与含量

模板对纳米硒的稳定作用取决于其化学组成。茶叶粗多糖的多糖、蛋白质所占比例可能影响其对纳米硒的稳定作用。故本研究首先以六大茶类粗多糖为原料,分析比较其多糖和蛋白质的含量,结果如表 1。

由表 1 可知,六大茶类粗多糖的多糖含量均高于其蛋白质含量。其中,黄茶粗多糖的多糖含量最高,普洱茶次之,绿茶、白茶较低,随后是红茶、乌龙茶;普洱茶、绿茶粗多糖中的蛋白质含量最高,其次是白茶,黄茶又次之,随后是红茶,乌龙茶最低。这些结

果说明,六大茶类粗多糖均以多糖含量为主,同一茶树鲜叶制成的绿茶粗多糖的多糖、蛋白质含量显著高于其红茶,普洱茶粗多糖的多糖和蛋白质含量较高,而红茶、乌龙茶粗多糖的多糖和蛋白质含量显著低于其他茶类。张文彦等研究表明,普洱茶多糖的多糖、蛋白质比例随后发酵时间延长而逐渐增加,这可能与微生物对非水溶性多糖的分解及其自身代谢有关^[30]。倪德江等发现同一品种不同茶类茶多糖的多糖、蛋白质含量均以绿茶最高、乌龙茶次之,红茶最低^[28]。可见,普洱茶加工过程中“渥堆”环节的湿热作用可能有助于提高其粗多糖中多糖和蛋白质的比例,相反,乌龙茶、红茶的酶促氧化发酵工艺可能会降低其粗多糖中多糖和蛋白质的含量。

表 1 六大茶类粗多糖的多糖和蛋白质含量 (%)

Table 1 Content of carbohydrates and proteins in crude polysaccharides from six kinds of tea

六大茶类	多糖部分	蛋白质部分
黄茶	34.16±0.06 ^a	14.16±0.16 ^c
普洱茶	31.64±0.66 ^b	17.64±0.26 ^a
绿茶	27.22±0.50 ^c	17.42±0.05 ^a
白茶	27.01±0.32 ^c	16.01±0.52 ^b
红茶	22.43±0.24 ^d	12.43±0.54 ^d
乌龙茶	21.14±0.36 ^e	11.14±0.16 ^e

注:不同字母表示各茶类粗多糖的多糖、蛋白质含量差异显著 ($p<0.05$)。

2.3 不同茶类茶多糖-纳米硒的构建与表征

本研究以各茶类粗多糖为模板制备纳米硒,并以相同条件下未添加模板制成的纳米硒为对照,观察茶多糖-纳米硒悬液的外观;利用 DLS、LDV 技术测定六大茶类茶多糖-纳米硒的平均水合直径、总光强、PDI 和 Zeta 电位,并利用 TEM、SEM 分析其颗粒大小、分散情况和形貌特征,以研究不同茶类粗多糖稳定纳米硒的功效,结果如图 2~图 5 所示。

由图 2 可见,无模板条件下, Vc 还原产生的红色单质硒稳定性极差,实验中静置 5 min 后全部沉淀于瓶底;添加六大茶类粗多糖为模板,均能形成均匀、红色的单质硒悬液,其中以普洱茶多糖-纳米硒悬液最为澄清透亮,绿茶、红茶、白茶和乌龙茶粗多糖为模板构建的纳米硒较为澄清,但黄茶多糖-纳米硒悬液浑浊。静置 6 h 后,黄茶、乌龙茶等粗多糖修饰的纳米硒发生聚集,悬液底部出现沉淀。静置 24 h 后,以绿茶、白茶粗多糖为模板构建的纳米硒悬液底部出现沉淀,仅普洱茶多糖-纳米硒澄清透亮、无沉淀。这一结果初步说明,普洱茶粗多糖对纳米硒的稳定作用最强。

由图 3a 可知,六大茶类茶多糖-纳米硒的平均 D_H 在 100~400 nm 之间,其大小变化规律与悬液外观变化一致,即普洱茶多糖-纳米硒直径最小,黄茶多糖-纳米硒最大,其他茶类多糖-纳米硒的直径介于二者之间。在相同条件下,体系总光强与胶粒的直径六次方和胶粒数目成正比,结合光强变化趋势可知,绿茶多糖-纳米硒的总光强显著低于乌龙茶多糖-纳米硒,但二者平均直径相当,说明乌龙茶多糖-纳米硒的胶粒数目更多。由图 3b 可知,以六大茶类粗多糖为模板构建的纳米硒均带负电荷, Zeta 电位值均超过 30 mV,具有较高的静电稳定性,其中尤以普洱茶、红茶粗多糖修饰的纳米硒静电稳定性高, Zeta 电位值超过 50 mV;各茶类茶多糖-纳米硒的 PDI 均低于 0.4,其中以普洱茶多糖-纳米硒的 PDI 最小,粒径分布最集中。

由图 4 可知,以六大茶类粗多糖为模板均能制成不同形态、尺寸的纳米硒,但其中仅普洱茶多糖-纳米硒呈均匀分散的球型纳米硒胶粒形态,平均直径约 75 nm,而其他茶类多糖-纳米硒呈聚集状态。

由图 5 的扫描电子显微镜观察结果可见,以六大茶类粗多糖为模板构建的纳米硒均由单个完整的球型颗粒紧密堆积而成,其颗粒尺寸变化规律与悬液外观、DLS 分析结果一致,即普洱茶多糖-纳米硒直径最小,黄茶多糖-纳米硒直径最大。

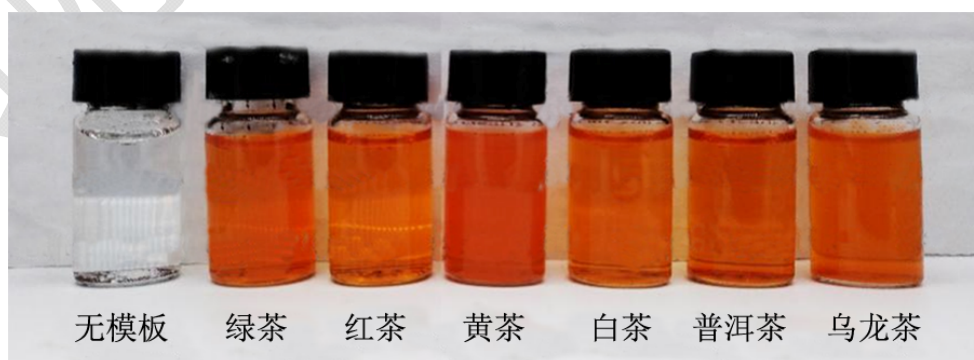


图 2 六大茶类茶多糖-纳米硒悬液的外观

Fig.2 Appearance of SeNPs suspension stabilized by crude polysaccharides from six kinds of tea

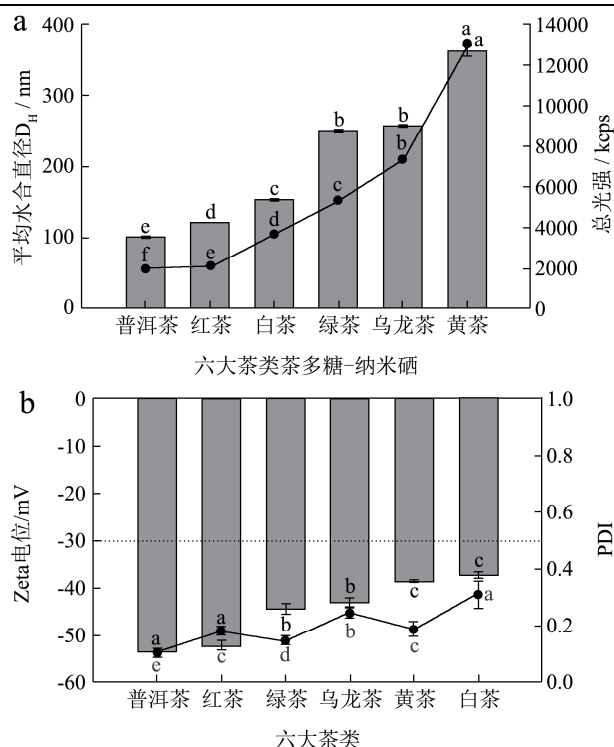


图3 六大茶类茶多糖-纳米硒的平均水合直径、总光强 (a) 和 Zeta 电位、PDI (b)

Fig.3 Average D_H, total light intensity (a), Zeta potential and PDI (b) of SeNPs suspension stabilized by crude polysaccharides from six kinds of tea

注: 不同字母表示各组茶多糖-纳米硒的平均水合直径、总光强、Zeta 电位或 PDI 差异显著 ($p < 0.05$)。

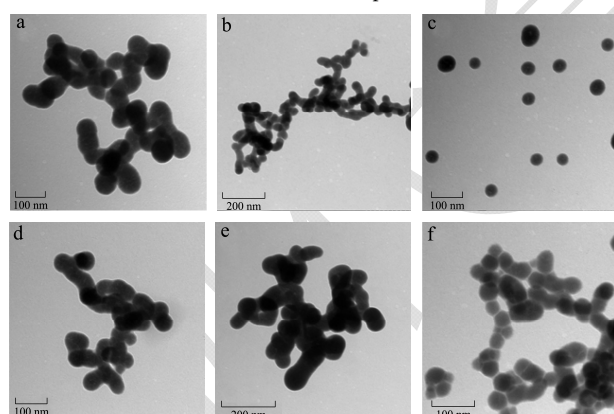


图4 六大茶类茶多糖-纳米硒的 TEM 观察

Fig.4 TEM observation of SeNPs stabilized by crude polysaccharides from six kinds of tea

注: a 为绿茶多糖-纳米硒; b 为红茶多糖-纳米硒; c 为普洱茶多糖-纳米硒; d 为白茶多糖-纳米硒; e 为黄茶多糖-纳米硒; f 为乌龙茶多糖-纳米硒。

上述结果表明, 六大茶类粗多糖均具有稳定纳米硒的能力, 其中以普洱茶多糖的稳定效果最佳, 所制备纳米硒粒径小、静电稳定性高、均匀分散; 随后依次是红茶、绿茶、乌龙茶、白茶等粗多糖, 黄茶粗多

糖的稳定作用最弱。目前, 竹荪多糖、桔梗多糖等天然活性多糖均已被证实能够制备出高稳定性、平均直径小于 100 nm 的纳米硒胶粒^[31-32]。但在本实验条件下, 六大茶类粗多糖中仅普洱茶多糖能够制备出高度分散、稳定的纳米硒, 提示了普洱茶特殊的后发酵工艺可能影响其粗多糖的化学组成和结构特性, 赋予其突出的纳米硒结合能力。

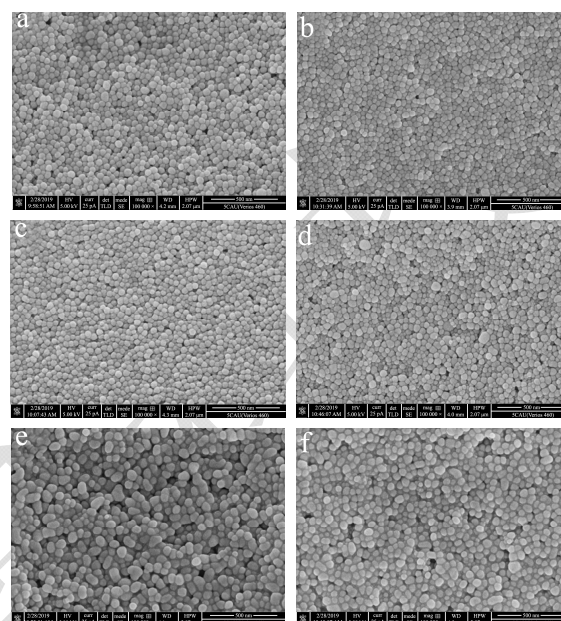


图5 六大茶类茶多糖-纳米硒 SEM 观察

Fig.5 SEM observation of SeNPs stabilized by crude polysaccharides from six kinds of tea

注: a 为绿茶多糖-纳米硒; b 为红茶多糖-纳米硒; c 为普洱茶多糖-纳米硒; d 为白茶多糖-纳米硒; e 为黄茶多糖-纳米硒; f 为乌龙茶多糖-纳米硒。

2.4 普洱茶多糖-纳米硒的组成分析

为进一步探究茶多糖与纳米硒的结合作用, 以稳定性最佳的普洱茶多糖-纳米硒为材料, 采用 ICP-MS 分析发现, 其硒元素浓度高达 12.9 mmol/L, 占原始亚硒酸钠中硒元素总量的 64.5% (即纳米硒得率)。

在此基础上, 以普洱茶多糖-纳米硒为主要研究对象, 以普洱茶多糖为对照, 采用 FT-IR 分析其红外光谱图, 比较并探讨普洱茶多糖与纳米硒的结合作用, 结果如图 6 所示。

由图 6 可知, 普洱茶多糖与其纳米硒在指纹区吸收峰高度相似, 说明二者相互结合。与普洱茶多糖比较, 纳米硒的谱图中无新吸收峰产生, 说明无新化学键产生, 二者主要通过次级键相互结合。普洱茶多糖谱图中, 波数为 3379.25 cm^{-1} 的强吸收峰属于 O-H 或 N-H 伸缩振动, 波数为 2935.76 cm^{-1} 的弱吸收峰为 C-H 伸缩振动, 波数为 1629.26 cm^{-1} 的吸收峰属于 C=O 的

不对称伸缩振动,波数 1445.21~1069.86 cm^{-1} 处的吸收峰为不同单糖组分的特征吸收峰,其中波数为 1069.86 cm^{-1} 的吸收峰为吡喃糖苷的醚键 (C-O-C) 伸缩振动^[33]。在普洱茶多糖-纳米硒谱图中,上述普洱茶多糖的特征吸收峰附近均发生了不同程度的红移,提示普洱茶多糖的-OH、-NH₂、-C=O 等可能是其结合纳米硒的主要基团,说明普洱茶多糖中含有大量-OH、-C=O 的多糖部分和含有-NH₂ 的蛋白质部分均可能与纳米硒结合并使其稳定;其中以 3379.25 cm^{-1} 处红移幅度最大 (201.14 cm^{-1}),提示普洱茶多糖的-OH 和-NH₂ 可能是其稳定纳米硒的核心基团,说明普洱茶多糖的多糖部分和蛋白质部分均对其结合纳米硒具有重要贡献。Wang 等发现河蚬多糖-蛋白复合物主要以 Se-O 和 Se-N 的形式结合并稳定纳米硒^[12], Qiu 等发现 Se-O 键是果胶与纳米硒结合最主要的作用方式^[13], Xiao 等指出冬虫夏草胞外多糖通过 Se-O 键和 C-O Se 键与纳米硒结合^[14]。这些研究表明,以天然多糖为模板制备纳米硒时,天然粗多糖的多糖部分和蛋白质部分的-OH、-NH₂、-C=O 等基团通过非共价键的形式与单质硒原子结合,形成稳定的多糖-纳米硒复合物,但以-OH 与硒形成的 Se-O 键最为重要。

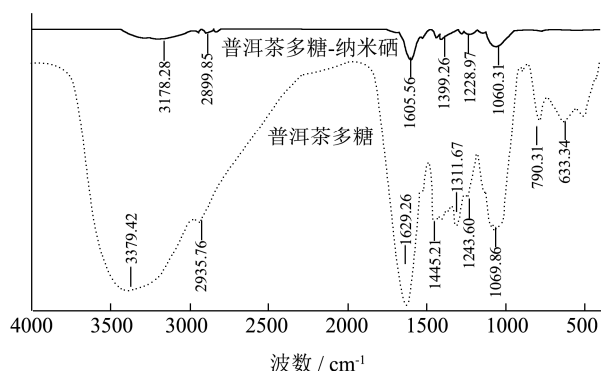


图6 普洱茶多糖-纳米硒和普洱茶多糖的红外光谱图

Fig.6 Infrared spectrum of SeNPs and crude Pu'er polysaccharides

3 结论

3.1 本研究以普洱茶等六大茶类粗多糖为研究对象,比较分析其提取得率、多糖与蛋白质组成,并以其为模板构建纳米硒,比较分析各茶类粗多糖-纳米硒的悬液外观、胶体化学特性和颗粒形貌。

3.2 结果表明:(1).茶类不同,其粗多糖得率和组成各异,以普洱茶粗多糖得率最高,多糖、蛋白质比例较大。(2).六大茶类粗多糖对纳米硒具有不同程度的稳定作用,其中以普洱茶粗多糖的稳定效果最佳,所构建的普洱茶多糖-纳米硒为平均直径约 75 nm、表面带负电荷、均匀分散的球型纳米胶粒,其纳米硒得率约

为 65%,主要通过普洱茶多糖的-OH、-NH₂ 和-C=O 以非共价键与纳米硒结合。

参考文献

- [1] Ganther Howard E. Selenotrisulfides formation by the reaction of thiols with selenious acid [J]. Biochemistry, 1968, 7(8): 2898-2905
- [2] 杨陟华,朱茂祥,龚诒芬,等.纳米硒对D-半乳糖所致小鼠免疫和氧化损伤的保护作用[J].微量元素与健康研究,1999,1: 6-9
YANG Zhi-hua, ZHU Mao-xiang, GONG Yi-feng, et al. Protection of nanometer-particulate Se on the unbalanced immune functions and oxidative damage in mice induced by D-galactose [J]. Free Radical Biology and Medicine, 1999, 1: 6-9
- [3] ZHAO Guang-shan, WU Xi-ming, CHEN Ping-ping, et al. Selenium nanoparticles are more efficient than sodium selenite in producing reactive oxygen species and hyper-accumulation of selenium nanoparticles in cancer cells generates potent therapeutic effects [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2018, 126: 55-66
- [4] Zhang Jin-song, Wang Xu-fang, XU Tong-wen. Elemental selenium at nano size (nano-Se) as a potential chemopreventive agent with reduced risk of selenium toxicity: comparison with Se-methylselenocysteine in mice [J]. Toxicological Sciences, 2008, 101(1): 22-31
- [5] Wang Hua-li, Zhang Jin-song, Yu Han-qing. Elemental selenium at nano size possesses lower toxicity without compromising the fundamental effect on selenoenzymes: Comparison with selenomethionine in mice [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2007, 42(10): 1524-1533
- [6] 高学云,张劲松,张立德.纳米红色元素硒的急性毒性和生物利用性[J].卫生研究,2000,29(1):57-58
GAO Xue-yun, ZHANG Jin-song, ZHANG Li-de. Acute toxicity and bioavailability of nano red elemental selenium [J]. Journal of Hygiene Research, 2000, 29(1): 57-58
- [7] Gao Xue-Yun, Zhang Jin-Song, Zhang Li-De. Hollow sphere selenium nanoparticles: Their *in-vitro* anti hydroxyl radical effect [J]. Advanced Materials, 2002, 14(4): 290
- [8] Rekha Ravichandran, Vaseeharan Baskaralingam, Vijayakumar Sekar, et al. Crustin-capped selenium nanowires against microbial pathogens and Japanese encephalitis mosquito vectors-insights on their toxicity and internalization [J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 2019, 51: 191-203

- [9] Cai Wen-fei, Hu Ting, Bakry Amr M, et al. Effect of ultrasound on size, morphology, stability and antioxidant activity of selenium nanoparticles dispersed by a hyperbranched polysaccharide from *Lignosus rhinocerotis* [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2018, 42: 823-831
- [10] Chaudhary Savita, Chauhan Pooja, Kumar Rajeev, et al. Toxicological responses of surfactant functionalized selenium nanoparticles: A quantitative multi-assay approach [J]. The Science of the Total Environment, 2018, 643: 1265-1277
- [11] Bai Kai-kai, Hong Bi-hong, He Jian-lin, et al. Preparation and antioxidant properties of selenium nanoparticles-loaded chitosan microspheres [J]. International Journal of Nanomedicine, 2017, 12: 4527-4539
- [12] Wang Yao-yao, Qiu Wen-yi, Sun Ling, et al. Preparation, characterization, and antioxidant capacities of selenium nanoparticles stabilized using polysaccharide-protein complexes from *Corbicula fluminea* [J]. Food Bioscience, 2018, 26: 177-184
- [13] Qiu Wen-yi, Wang Yao-yao, Wang Meng, et al. Construction, stability, and enhanced antioxidant activity of pectin-decorated selenium nanoparticles [J]. Colloids and Surfaces B-Biointerfaces, 2018, 170: 692-700
- [14] Xiao Yi-dong, Huang Qi-lin, Zheng Zhao-min, et al. Construction of a *Cordyceps sinensis* exopolysaccharide-conjugated selenium nanoparticles and enhancement of their antioxidant activities [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 99: 483-491
- [15] Kong Hui-ling, Yang Ji-xin, Zhang Yi-feng, et al. Synthesis and antioxidant properties of gum arabic-stabilized selenium nanoparticles [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 65: 155-162
- [16] 宛晓春. 茶叶生物化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003
WAN Xiao-chun. Tea Biochemistry [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2003
- [17] Shu Yang, Li Jie, Yang Xiao-ping, et al. Effect of particle size on the bioaccessibility of polyphenols and polysaccharides in green tea powder and its antioxidant activity after simulated human digestion [J]. Journal of Food Science and Technology-Mysore, 2019, 56(3): 1127-1133
- [18] Yang Ke, Gao Zhi-Yong, Li Tie-Qiu, et al. Anti-tumor activity and the mechanism of a green tea (*Camellia sinensis*) polysaccharide on prostate cancer [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 122: 95-103
- [19] 刘安军, 邓颖, 王雅静. 茶多糖及协同因子的降血糖作用研究[J]. 现代食品科技, 2012, 28(2): 139-141, 138
- LIU An-jun, DENG Ying, WANG Ya-jing. Research of hypoglycemic effects of tea polysaccharide and synergy factors [J]. Modern Food Science & Technology, 2012, 28(2): 139-141, 138
- [20] 冯小婕. 绿茶、红茶、黑茶多糖的提取纯化及其药理活性的研究[D]. 湘潭: 湘潭大学, 2016
FENG Xiao-jie. Study on the extraction, purification and pharmacological activities of polysaccharides from green tea, black tea and dark tea [D]. Xiangtan: Xiangtan University, 2016
- [21] Zhao Zhan-yi, Huangfu Long-tao, Dong Lu-lu, et al. Functional groups and antioxidant activities of polysaccharides from five categories of tea [J]. Industrial Crops and Products, 2014, 58: 31-35
- [22] Wang Yue-fei, Shao Shu-hong, Xu Ping, et al. Fermentation process enhanced production and bioactivities of oolong tea polysaccharides [J]. Food Research International, 2012, 46(1): 158-166
- [23] Lu Lee, Chai Lin-lin, Wang Wen-ping, et al. A selenium-enriched ziyang green tea polysaccharide induces bax-dependent mitochondrial apoptosis and inhibits tgf-beta 1-stimulated collagen expression in human keloid fibroblasts via NG2 Inactivation [J]. Biological Trace Element Research, 2017, 176(2): 270-277
- [24] Ren Dao-yuan, Hu Yuan-yuan, Luo Yi-yang, et al. Selenium-containing polysaccharides from Ziyang green tea ameliorate high-fructose diet induced insulin resistance and hepatic oxidative stress in mice [J]. Food & Function, 2015, 6(10): 3342-3350
- [25] Wang Yuan-feng, Li Yong-fu, Liu Yang-yang, et al. Extraction, characterization and antioxidant activities of Se-enriched tea polysaccharides [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 77: 76-84
- [26] Yang Xin-he, Huang Ming-jun, Qin Cai-qin, et al. Structural characterization and evaluation of the antioxidant activities of polysaccharides extracted from Qingzhuan brick tea [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 101: 768-775
- [27] 钟萝. 茶叶品质理化分析[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1989
ZHONG Luo. Physical and Chemical Analysis on Tea Quality [M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Press, 1989