

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2024.80617

# 栉江珧多糖纳米硒的制备、结构表征及抗氧化活性研究

张寅<sup>1</sup> 南志光<sup>1</sup> 卢从飞<sup>2</sup> 吴玉鑫<sup>1</sup>

(1. 郑州财税金融职业学院, 河南 郑州 450000; 2. 福建师范大学, 福建 福州 350000)

**摘要:** [目的] 优化栉江珧多糖纳米硒制备的最佳工艺并探究其抗氧化能力, 开发栉江珧多糖纳米硒潜在功能性食品添加剂。[方法] 以栉江珧多糖为稳定剂, 采用亚硒酸钠法制备栉江珧多糖纳米硒, 通过单因素试验和响应面试验优化制备工艺, 分析栉江珧多糖纳米硒结构并研究其抗氧化活性。以栉江珧多糖纳米硒粒径为指标, 选择维生素 C 与亚硒酸钠摩尔比、反应温度、反应时间和多糖质量浓度 4 个影响因素进行单因素试验, 并设计响应面试验。[结果] 栉江珧多糖纳米硒多糖最优制备条件为: 维生素 C 与亚硒酸钠摩尔比 8.3:1、反应温度 44 °C、反应时间 2.3 h、多糖质量浓度 0.4 mg/mL。在最优条件下制备的栉江珧多糖纳米硒粒径为 (69.81±1.04) nm, Zeta 电位为 (-35.28±0.41) mV, 硒含量为 (195.73±0.39) μg/g。结构分析结果显示, 栉江珧多糖纳米硒已成功硒化且属于无定型非晶体。栉江珧多糖纳米硒对 DPPH 自由基和 OH 自由基具有较好的清除作用, 具有一定的抗氧化效果, 且均优于栉江珧多糖和纳米硒。[结论] 栉江珧多糖纳米硒可以作为一种功能性食品添加剂使用。

**关键词:** 栉江珧多糖; 纳米硒; 制备; 结构; 抗氧化

## Preparation, structural characterization and antioxidant activity of selenium nanoparticles decorated by *Atrina pectinata* polysaccharides

ZHANG Yin<sup>1</sup> NAN Zhiguang<sup>1</sup> LU Congfei<sup>2</sup> WU Yuxin<sup>1</sup>

(1. Zhengzhou Vocational College of Finance and Taxation, Zhengzhou, Henan 450000, China;

2. Fujian Normal University, Fuzhou, Fujian 350000, China)

**Abstract:** [Objective] This study aimed to optimize the preparation process of selenium nanoparticles stabilized by *Atrina pectinata* polysaccharides (APPS-SeNPs), evaluate their antioxidant activity, and explore their potential as a functional food additive. [Methods] Selenium nanoparticles were prepared using the sodium selenite reduction method with *A. pectinata* polysaccharides as stabilizer. The preparation process was optimized using single-factor experiments and response surface methodology (RSM). The particle size, zeta potential and selenium content were measured, and the nanoscale structure was analyzed. Antioxidant activity was evaluated by assessing the scavenging effects on DPPH and hydroxyl (OH) radicals. Four factors influencing particle size-molar ratio of vitamin C to sodium selenite, reaction temperature, reaction time, and polysaccharide concentration-were analyzed. [Results] The optimal preparation conditions were as follows: molar ratio of vitamin C to sodium selenite was 8.3:1, reacting at 44 °C for 2.3 hours, and polysaccharide concentration of 0.4 mg/mL. Under the control of these conditions, the selenium nanoparticles size was (69.81±1.04) nm, and the Zeta potential was (-35.28±0.41) mV, with the selenium content at (195.73±0.39) μg/g. The structural analysis confirmed successful selenization, with the nanoparticles exhibiting an amorphous form. Antioxidant assays showed that APPS-SeNPs had significant scavenging effect on DPPH and OH radicals, surpassing both *A. pectinata* polysaccharides and nano-selenium alone. [Conclusion] The selenium nanoparticles stabilized by *A. pectinata* polysaccharides demonstrated excellent antioxidant properties and stability, suggesting their potential as a novel functional food additive.

**Keywords:** *Atrina pectinata* polysaccharides; selenium nanoparticles; preparation; structure; antioxidant

基金项目: 河南省科技攻关项目(编号: 242102210009); 教育部人文社会科学研究青年基金项目(编号: 23YJC890024)

通信作者: 张寅(1986—), 男, 郑州财税金融职业学院讲师, 博士。E-mail: zhang625125@sina.com

收稿日期: 2024-07-02 改回日期: 2024-11-09

栉江珧 (*Atrina pectinata*) 又称牛角江珧蛤, 是软体动物门贻贝目的一种贝类, 主要分布在印度洋和太平洋等海域, 在中国沿海各省均有分布<sup>[1]</sup>。栉江珧闭壳肌肥大, 一般鲜食或者作为速冻海鲜品出售。据报道, 栉江珧中富含多糖, 是一种由鼠李糖、阿拉伯糖、岩藻糖、木糖、甘露糖和半乳糖组成的吡喃糖, 含有硫酸根和糖醛酸, 因此是一种酸性多糖, 具有一定的抗氧化能力<sup>[2-3]</sup>。

硒元素是人体必需的微量营养元素, 由于具有抗氧化、提高机体免疫的能力, 成为目前功能性食品添加剂的研究热点<sup>[4]</sup>。在自然界中硒主要是以无机硒和有机硒的形式存在, 无机硒是由肠道被动吸收, 存在吸收效率低, 且易被还原等缺点, 而有机硒可通过机体代谢途径吸收, 具有吸收效率高的优势<sup>[5-6]</sup>。纳米硒具有比表面积大和表面能量高等优点, 是硒元素合成的热门研究方向, 但纳米硒容易发生聚集导致失活, 该特点限制了其应用<sup>[7]</sup>。

多糖可与硒元素结合形成硒多糖, 其形成的纳米硒多糖, 可提高硒元素的稳定性, 且具有多糖和硒元素的多重效果, 比单一多糖和纳米硒效果更优<sup>[8]</sup>。目前多糖纳米硒的制备研究以植物多糖为主, 如猴头菇多糖纳米硒<sup>[9]</sup>、岩藻多糖纳米硒<sup>[10]</sup>、刺五加多糖纳米硒<sup>[11]</sup>等, 对于动物多糖纳米硒制备鲜有相关研究。研究拟以栉江珧多糖为稳定剂, 采用亚硒酸钠法制备栉江珧多糖纳米硒, 优化制备工艺, 采用傅里叶变换中远红外光谱仪、透射电镜和 X 射线衍射仪对栉江珧多糖纳米硒进行结构分析, 并对栉江珧多糖纳米硒抗氧化能力进行分析, 以期为栉江珧多糖纳米硒作为功能性食品的开发提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

冷冻栉江珧闭壳肌: 大连珊瑚岛海产品发展有限公司;

无水乙醇、亚硒酸钠: 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司;

氯仿、正丁醇、30% 双氧水: 分析纯, 天津科密欧化学试剂有限公司;

透析袋(相对分子质量截留量 500): 浙江博实医疗器械有限公司;

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(diphenyl-picryl hydrazide, DPPH)、维生素 C、D(+)-无水葡萄糖: 分析标准品, 上海源叶生物科技有限公司。

### 1.2 试验设备

中药粉碎机: WN-100 型, 广州市旭朗机械设备有限公司;

离心机: AXTD5A 型, 盐城市安信实验仪器有限公司;

公司;

紫外可见分光光度计: UPG-722 型, 北京瑞析科技有限公司;

纳米粒度表面电位分析仪: Litesizer 500 型, 安东帕(上海)商贸有限公司;

傅里叶变换红外光谱仪: FTIR-1500 型, 中世沃克(天津)科技发展股份有限公司;

透射电镜: NX5000 型, 株式会社日立制作所;

X 射线衍射仪: XRDynamic 500 型, 安东帕(上海)商贸有限公司;

分析天平: BSA224S-CW 型, 赛多利斯(上海)贸易有限公司;

旋转蒸发器: R1005 型, 巩义市京华仪器有限责任公司。

### 1.3 试验方法

1.3.1 栉江珧多糖提取 将冷冻的栉江珧闭壳肌自然解冻后, 置于中药粉碎机中粉碎, 依次加入一定量的无水乙醇和石油醚进行脱脂, 离心(5 000 r/min, 10 min)收集沉淀, 60 °C 烘干得到栉江珧粉。采用热水浸提工艺提取栉江珧多糖, 称取 100 g 栉江珧粉加入到 3 400 mL 去离子水中, 于 94 °C 下提取 215 min, 离心(5 000 r/min, 10 min)分离滤液和滤渣, 滤渣重复上述提取工艺再次进行提取, 合并两次滤液, 在 45 °C、0.1 MPa 下浓缩至 100 mL, 使用无水乙醇将滤液乙醇体积分数调节至 75%, 4 °C 静置过夜, 5 000 r/min 离心 10 min 后在 45 °C、0.1 MPa 的真空干燥箱中烘干 12 h 得到栉江珧粗多糖。称取 10 g 栉江珧粗多糖, 使用去离子水将其复溶至 10 mg/mL, 加入 5 倍体积的 Seville 试剂( $V_{\text{氯仿}}:V_{\text{正丁醇}}=5:1$ ), 200 r/min 摇晃 30 min 后室温静置 15 min, 离心(10 000 r/min, 5 min)后取上清液, 使用无水乙醇将上清液乙醇体积分数调节至 95%, 4 °C 静置过夜, 5 000 r/min 离心 10 min 后取沉淀在 45 °C、0.1 MPa 的真空干燥箱中烘干 12 h 得到栉江珧多糖。栉江珧多糖中多糖含量为(93.52±1.06)%、蛋白含量为(3.13±0.15)%、糖醛酸含量为(0.72±0.06)%、硫酸基含量为(0.06±0.01)%、水分含量为(1.23±0.04)%、灰分含量为(1.35±0.07)%<sup>[3]</sup>。

1.3.2 栉江珧多糖纳米硒合成 配制不同浓度的栉江珧多糖溶液, 将适量的维生素 C 溶液和亚硒酸钠溶液添加到栉江珧多糖溶液中, 在一定温度条件下 400 r/min 磁力搅拌一定时间进行反应, 待反应时间结束后, 将上述反应液放到透析袋(相对分子质量截留量 500)中透析 48 h, 每 12 h 更换一次去离子水。透析结束后, 将上述溶液进行冷冻干燥可得到栉江珧多糖纳米硒。将上述不同浓度的栉

江珧多糖更换为去离子水,同法可制备出纳米硒。

1.3.3 单因素试验 按照1.3.2方法,以维生素C与亚硒酸钠摩尔比6:1、反应温度40℃、反应时间1.5h和多糖质量浓度0.3mg/mL为基准,以栾江珧多糖纳米硒粒径为评价指标,考察维生素C与亚硒酸钠摩尔比(2:1,4:1,6:1,8:1,10:1)、反应温度(30,40,50,60,70℃)、反应时间(0.5,1.0,1.5,2.0,2.5h)和多糖质量浓度(0.1,0.2,0.3,0.4,0.5mg/mL)对栾江珧多糖纳米硒粒径的影响。

1.3.4 响应面优化试验 基于单因素试验结果,采用响应面法对上述4个单因素进行优化试验,以确认最佳工艺参数。

1.3.5 栾江珧多糖纳米硒结构表征分析

(1) 粒径和Zeta电位分析:采用纳米粒度表面电位分析仪<sup>[12]</sup>。

(2) 硒含量测定:采用微波消解ICP-MS法<sup>[13]</sup>。

(3) 官能团分析:采用傅里叶变换红外光谱仪<sup>[14]</sup>。

(4) 微观形态分析:采用透射电镜<sup>[9]</sup>。

(5) 晶体结构分析:采用X射线衍射仪<sup>[10]</sup>。

1.3.6 栾江珧多糖纳米硒抗氧化试验 采用两种不同抗氧化模型(DPPH自由基清除<sup>[15]</sup>和OH自由基清除<sup>[16]</sup>)评价栾江珧多糖纳米硒的抗氧化能力,并用相同浓度的栾江珧多糖、纳米硒和维生素C作为对照。

1.3.7 试验数据处理与分析 响应面优化及数据处理采用Design-Expert 13软件进行。单因素试验分析处理采用SPSS 22.0软件LSD法进行, $P<0.05$ 表示差异显著, $P<0.01$ 表示差异极显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 单因素试验

2.1.1 维生素C与亚硒酸钠摩尔比对栾江珧多糖纳米硒粒径的影响 如图1所示,多糖含有—OH、—COOH和—C=O等官能团,这些官能团在含有还原剂维生素C的反应体系中,会与纳米硒颗粒的 $\text{SeO}_3^{2-}$ 官能团结合,继续反应其聚合物会沿聚合物链形成分子间和分子内氢键,最终反应形成多糖纳米硒颗粒<sup>[17]</sup>。如图2所示,维生素C与亚硒酸钠摩尔比逐渐加大,栾江珧多糖纳米硒粒径先下降再上升。维生素C与亚硒酸钠摩尔比为8:1时,栾江珧多糖纳米硒的粒径最小,维生素C与亚硒酸钠摩尔比再增加,其粒径反而增大。纳米硒的生成主要是利用维生素C与亚硒酸钠的氧化还原反应,维生素C作为还原剂可以稳定纳米硒的形态<sup>[17]</sup>。过量的维生素C可以加快反应,形成小粒径的多糖纳米硒,而维生素C添加量过大时,维生素C会被多糖纳米硒吸附在表面,导致其聚集,使得其粒径变大<sup>[10]</sup>。因此,选择维生素C与亚硒酸钠摩

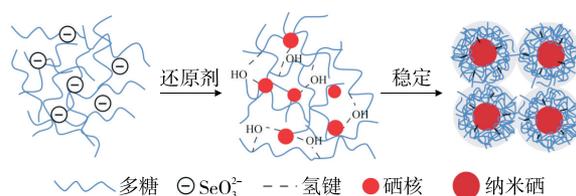
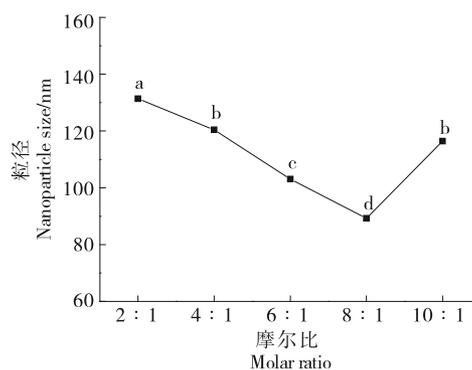


图1 多糖—纳米硒的形成、分散和稳定示意图

Figure 1 Schematic diagram of formation, dispersion and stabilization of polysaccharide-nano-selenium



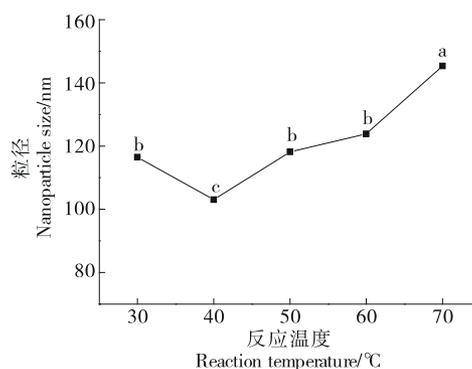
字母不同表示差异显著( $P<0.05$ )

图2 维生素C与亚硒酸钠摩尔比对栾江珧多糖纳米硒粒径的影响

Figure 2 Effects of molar ratio on the nanoparticle size of the selenium nanoparticles decorated by *A. pectinata* polysaccharides

尔比为6:1,8:1,10:1进行进一步优化试验。

2.1.2 反应温度对栾江珧多糖纳米硒粒径的影响 如图3所示,反应温度逐渐加大,栾江珧多糖纳米硒粒径先下降再升高。反应温度为40℃时,栾江珧多糖纳米硒的粒径最小,反应温度再增加,其粒径反而变大。反应温度



字母不同表示差异显著( $P<0.05$ )

图3 反应温度对栾江珧多糖纳米硒粒径的影响

Figure 3 Effects of reaction temperature on the nanoparticle size of the selenium nanoparticles decorated by *A. pectinata* polysaccharides

对多糖纳米硒的粒径调控有很大的影响,反应温度过低时,不利于硒化反应的进行,导致粒径较大,而温度过高时,生成的栲江朊多糖纳米硒扩散运动加快,栲江朊多糖纳米硒颗粒聚集,导致其粒径增大<sup>[10]</sup>。因此,选择反应温度为 30,40,50 °C 进行进一步优化试验。

2.1.3 反应时间对栲江朊多糖纳米硒粒径的影响 如图 4 所示,反应时间逐渐加大,栲江朊多糖纳米硒粒径先下降再趋于稳定。反应时间为 1.5 h 时,栲江朊多糖纳米硒的粒径最小,反应时间再增加,其粒径反而不再发生变化( $P>0.05$ )。反应时间是纳米硒反应是否完全的关键因素,当反应时间较短时,硒化反应不完全,导致粒径较大,而反应时间充分时,栲江朊多糖上的羟基与纳米硒结合较为完全,阻碍了纳米硒的聚集反应使其粒径变小<sup>[7,11]</sup>。因此,选择反应时间为 1.0, 1.5, 2.0 h 进行进一步优化试验。

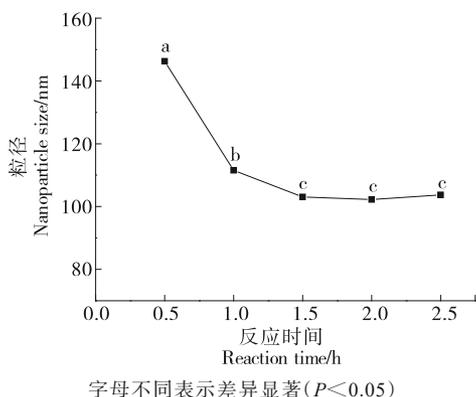


图 4 反应时间对栲江朊多糖纳米硒粒径的影响

Figure 4 Effect of reaction time on the nanoparticle size of the selenium nanoparticles decorated by *A. pectinata* polysaccharides

2.1.4 多糖质量浓度对栲江朊多糖纳米硒粒径的影响

如图 5 所示,多糖质量浓度逐渐加大,栲江朊多糖纳米硒粒径先下降再上升。多糖质量浓度为 0.4 mg/mL 时,栲江朊多糖纳米硒的粒径最小,多糖质量浓度再增加,其粒径反而增大。多糖是硒化反应中的关键分散剂,多糖上的羟基可以与纳米硒结合,防止生成的纳米硒被还原导致其形成沉淀,从而使其粒径变大<sup>[7,17]</sup>。因此,选择多糖质量浓度为 0.3,0.4,0.5 mg/mL 进行进一步优化试验。

2.2 响应面优化试验

采用响应面优化法对上述单因素进行优化,各因素水平见表 1,响应面设计试验结果如表 2 所示,根据 Design-Expert 13 软件计算得出各因素对栲江朊多糖纳米硒粒径的多元方程为:

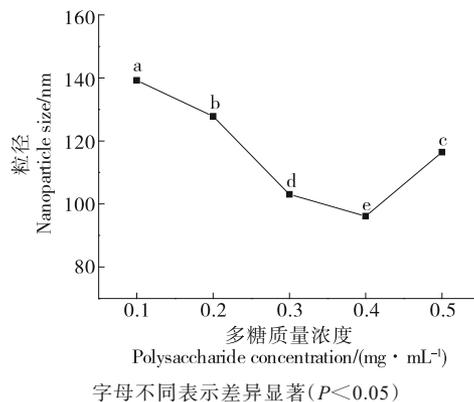


图 5 多糖质量浓度对栲江朊多糖纳米硒粒径的影响

Figure 5 Effects of polysaccharide concentration on the nanoparticle size of the selenium nanoparticles decorated by *A. pectinata* polysaccharides

表 1 响应面优化因素水平

Table 1 Response surface optimization factor level

水平	A 维生素 C 与亚硒酸钠摩尔比	B 反应温度/°C	C 反应时间/h	D 多糖质量浓度/(mg · mL <sup>-1</sup> )
-1	6:1	30	1.5	0.3
0	8:1	40	2.0	0.4
1	10:1	50	2.5	0.5

$$Y=75.07+3.84A-8.58B-14.4C+0.5D-4.27AB+5.57AC-11.68AD-1.24BC-16.17BD-15.6CD+26.67A^2+8.28B^2+9.95C^2+15.53D^2。 \quad (1)$$

由表 3 可知,模型  $P<0.0001$ , 差异极显著,失拟项  $P=0.3078$ , 差异不显著,说明该模型数据精度高。 $R^2$  为 0.9794, CV 为 4.20%, 说明该模型稳定性较高,数据变异性小,可用于预测各因素对栲江朊多糖纳米硒粒径的影响。各因素对栲江朊多糖纳米硒粒径影响大小为  $B=C>A>D$ , 其中 B、C 和 A 影响极显著, D 影响不显著。在各因素之间的交互作用中, A 与 B、B 与 C 不显著, A 与 C 显著, A 与 D、B 与 D、C 与 D 极显著。两个单因素之间的交互作用影响程度如图 6~图 11 所示。图 6 和图 9 中响应面图弯曲程度较小且等高线图椭圆度较低,说明 A 与 B、B 与 C 交互不显著;图 8、图 10 和图 11 中响应面图均呈倒伞状,弯曲程度很高且等高线图椭圆度很大,说明 A 与 D、B 与 D、C 与 D 交互作用极显著;图 7 中响应面图弯曲程度较高且等高线图椭圆度较大,说明 A 与 C 交互作用显著。

通过对多元方程分析可得出,栲江朊多糖纳米硒最优制备工艺条件为:维生素 C 与亚硒酸钠摩尔比 8.29:1、反应温度 44.15 °C、反应时间 2.29 h、多糖质量浓度 0.4 mg/mL,且在上述制备工艺条件下,栲江朊多糖纳米

表2 响应面试验设计及结果

试验号	A	B	C	D	Y 粒径/nm
1	0	0	0	0	77.74
2	0	0	0	0	75.02
3	1	0	0	1	109.75
4	0	0	0	0	72.79
5	0	1	0	1	73.04
6	0	1	1	0	70.07
7	0	0	-1	1	131.72
8	0	0	0	0	78.98
9	-1	-1	0	0	115.87
10	-1	0	0	1	127.27
11	0	-1	0	1	123.06
12	0	0	-1	-1	104.49
13	1	0	-1	0	124.79
14	0	-1	-1	0	112.41
15	1	0	0	-1	128.99
16	1	1	0	0	101.76
17	-1	1	0	0	105.23
18	1	-1	0	0	129.49
19	0	0	0	0	70.81
20	1	0	1	0	106.22
21	0	-1	1	0	87.15
22	-1	0	1	0	82.95
23	0	-1	0	-1	87.89
24	-1	0	-1	0	123.80
25	0	1	-1	0	100.27
26	0	0	1	-1	106.71
27	-1	0	0	-1	99.78
28	0	1	0	-1	102.56
29	0	0	1	1	71.55

硒粒径为 69.03 nm。由于上述栲江珧多糖纳米硒最优制备工艺条件控制精度要求过高,不利于生产操作,将其调整为:维生素 C 与亚硒酸钠摩尔比 8.3:1、反应温度 44 ℃、反应时间 2.3 h、多糖质量浓度 0.4 mg/mL,在此制备工艺条件下,进行 3 次平行验证实验,栲江珧多糖纳米硒粒径为 (69.81±1.04) nm,与理论值差异较小,说明该制备工艺条件可用于栲江珧多糖纳米硒的制备。

### 2.3 栲江珧多糖纳米硒结构表征分析

2.3.1 硒粒径、Zeta 电位及硒含量 由表 4 可知,栲江珧多糖纳米硒的粒径、电位和硒含量均显著低于纳米硒 ( $P<0.05$ ),这是由于多糖作为模板分散剂可以降低纳

表3 响应面试验方差分析<sup>†</sup>

方差来源	平方和	自由度	均方差	F 值	P 值	显著性
模型	11 755.31	14	839.66	47.51	<0.000 1	**
A	177.10	1	177.10	10.02	0.006 9	**
B	883.05	1	883.05	49.97	<0.000 1	**
C	2 489.18	1	2 489.18	140.85	<0.000 1	**
D	2.97	1	2.97	0.17	0.688 0	
AB	73.02	1	73.02	4.13	0.061 5	
AC	124.10	1	124.10	7.02	0.019 0	*
AD	545.92	1	545.92	30.89	<0.000 1	**
BC	6.10	1	6.10	0.35	0.566 2	
BD	1 046.20	1	1 046.20	59.20	<0.000 1	**
CD	973.13	1	973.13	55.07	<0.000 1	**
A <sup>2</sup>	4 613.54	1	4 613.54	261.06	<0.000 1	**
B <sup>2</sup>	444.90	1	444.90	25.18	0.000 2	**
C <sup>2</sup>	641.93	1	641.93	36.32	<0.000 1	**
D <sup>2</sup>	1 565.04	1	1 565.04	88.56	<0.000 1	**
残差	247.41	14	17.67			
失拟项	201.65	10	20.16	1.76	0.307 8	
误差项	45.77	4	11.44			

<sup>†</sup> \*表示差异显著,  $P<0.05$ ; \*\*表示差异极显著,  $P<0.01$ 。

米硒颗粒间的相互作用力,增加其稳定性,可以使其颗粒粒径降低,而多糖的羟基与纳米硒结合后形成的多糖纳米硒与纳米硒相比,引入了多糖,导致纳米硒相对分子质量变大,反而使硒含量降低<sup>[1,17]</sup>。岩藻多糖纳米硒颗粒粒径为 (83.40±0.55) nm<sup>[10]</sup>,高于栲江珧多糖纳米硒。由于多糖纳米硒粒径越小,其稳定性越好,生物学活性越高<sup>[18]</sup>。因此,推测栲江珧多糖纳米硒的生物学活性可能高于岩藻多糖纳米硒。连翘多糖纳米硒中硒含量为 908.00 μg/g<sup>[19]</sup>,而栲江珧多糖纳米硒中硒含量为 195.73 μg/g,明显低于连翘多糖纳米硒,但高于猴头菇多糖纳米硒 (169.63 μg/g)<sup>[9]</sup>。硒具有一定的生物学活性,硒含量越高,生物学活性越好。因此,推测栲江珧多糖纳米硒的生物学活性可能差于连翘多糖纳米硒,但可能优于猴头菇多糖纳米硒。猴头菇多糖纳米硒的 Zeta 电位为 (-21.43±0.71) mV,其 Zeta 电位绝对值低于栲江珧多糖纳米硒,Zeta 电位可反映多糖纳米硒的稳定性,其绝对值越大,多糖纳米硒的稳定性越好<sup>[20]</sup>。因此,推测栲江珧多糖纳米硒的稳定性优于猴头菇多糖纳米硒。

2.3.2 红外光谱分析 如图 12 所示,栲江珧多糖硒化前后的红外光谱均具有多糖类的特征峰,3 400.97 cm<sup>-1</sup>处是

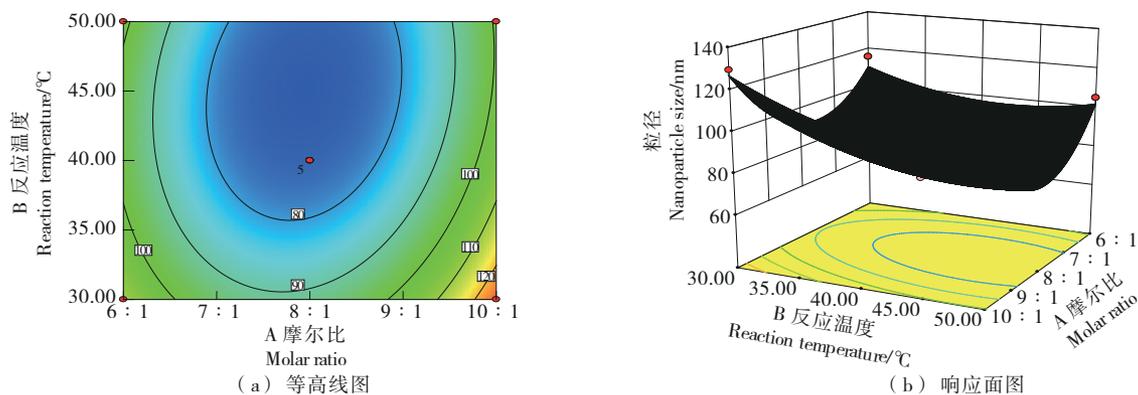


图 6 维生素 C 与亚硒酸钠摩尔比和反应温度的交互作用对栾江珙多糖纳米硒粒径的影响

Figure 6 The interaction between the molar ratio of vitamin C to sodium selenite and reaction temperature on the nanoparticle size of the selenium nanoparticles decorated by *A. pectinata* polysaccharides

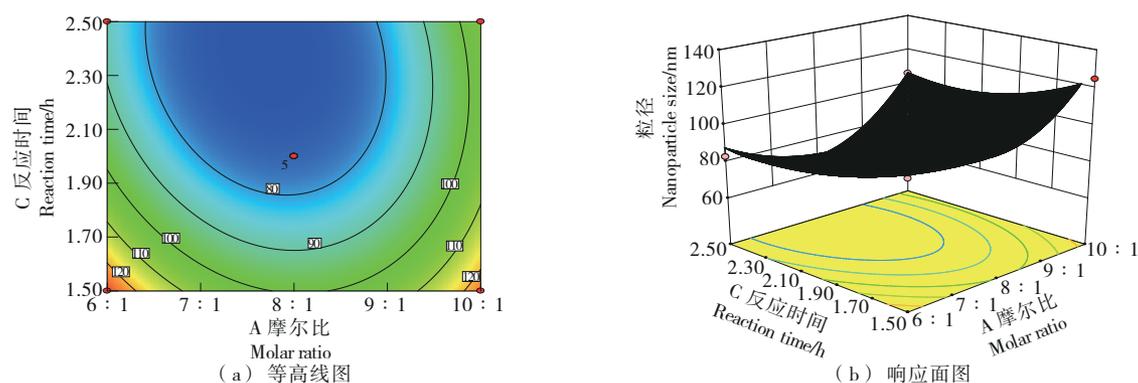


图 7 维生素 C 与亚硒酸钠摩尔比和反应时间的交互作用对栾江珙多糖纳米硒粒径的影响

Figure 7 The interaction between the molar ratio of vitamin C to sodium selenite and reaction time on the nanoparticle size of the selenium nanoparticles decorated by *A. pectinata* polysaccharides

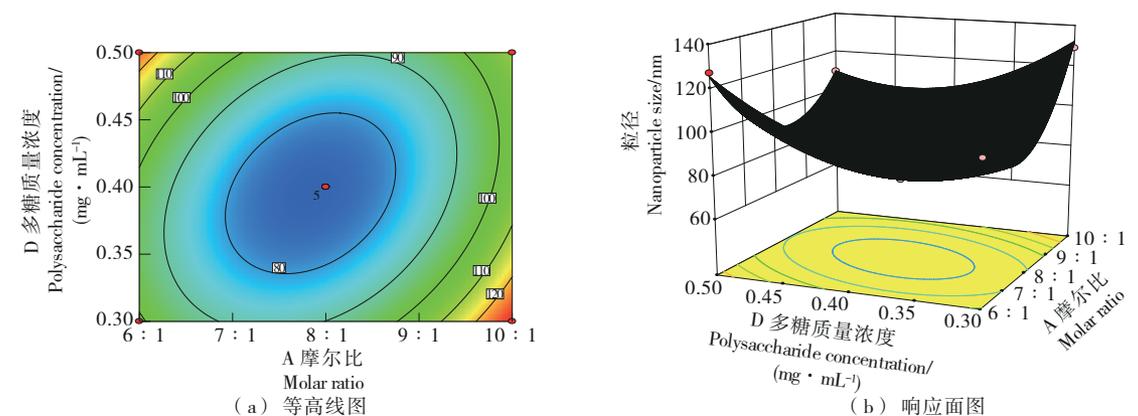


图 8 维生素 C 与亚硒酸钠摩尔比和多糖浓度的交互作用对栾江珙多糖纳米硒粒径的影响

Figure 8 The interaction between the molar ratio of vitamin C to sodium selenite and polysaccharide concentration on the nanoparticle size of the selenium nanoparticles decorated by *A. pectinata* polysaccharides

O—H 振动特征峰; 2 934.01  $\text{cm}^{-1}$  处是 C—H 伸缩振动特征峰; 1 401.26  $\text{cm}^{-1}$  处是 C—H 边角振动特征峰; 1 654.89  $\text{cm}^{-1}$  处是 C=O 非对称的伸缩振动特征峰; 1 094.36  $\text{cm}^{-1}$  处是 C—O 伸缩振动特征峰; 922.46  $\text{cm}^{-1}$  处

是吡喃糖 C—O—C 非对称环特征峰<sup>[21]</sup>; 而栾江珙多糖纳米硒相较于栾江珙多糖的红外光谱有波动, O—H、C—H 和 C—O 偏移至 3 389.85, 2 916.76, 1 082.65  $\text{cm}^{-1}$  处, 说明栾江珙多糖的 O—H 和 C—O 与纳米硒相互结合, 栾江珙多

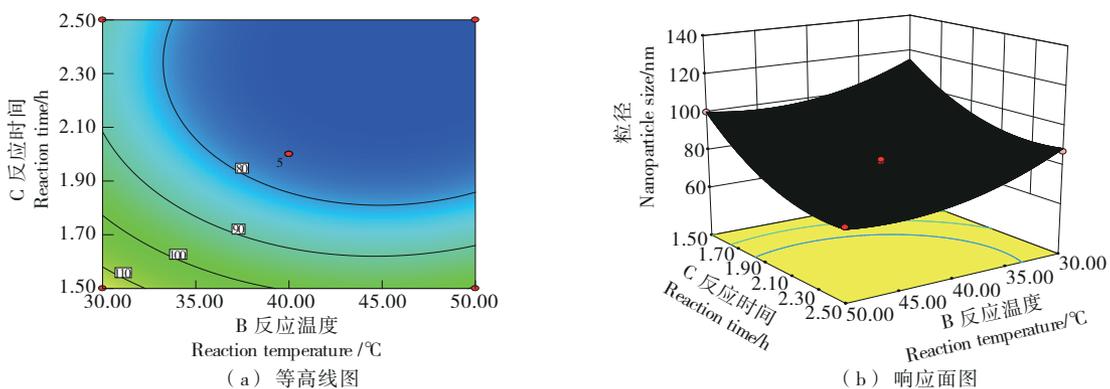


图9 反应温度和反应时间的交互作用对栉江珧多糖纳米硒粒径的影响

Figure 9 The interaction between reaction temperature and reaction time on the nanoparticle size of the selenium nanoparticles decorated by *A. pectinata* polysaccharides

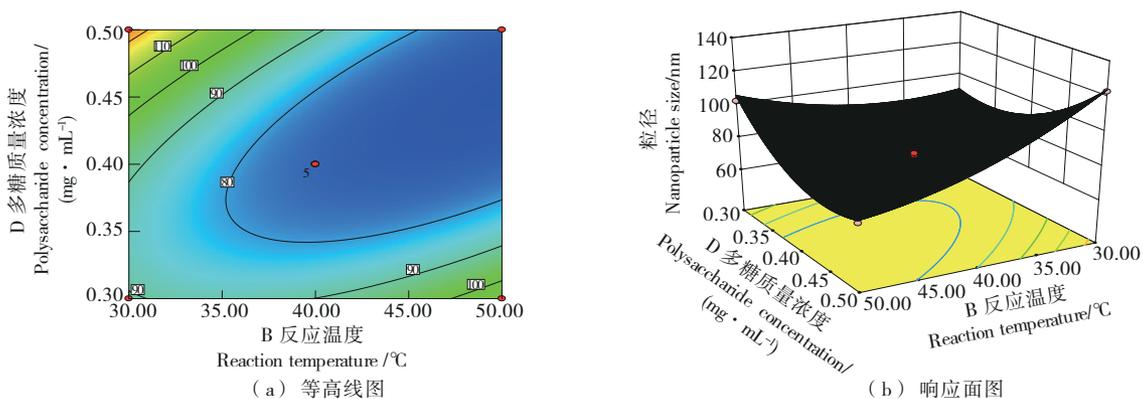


图10 反应温度和多糖浓度的交互作用对栉江珧多糖纳米硒粒径的影响

Figure 10 The interaction between reaction temperature and polysaccharide concentration on the nanoparticle size of the selenium nanoparticles decorated by *A. pectinata* polysaccharides

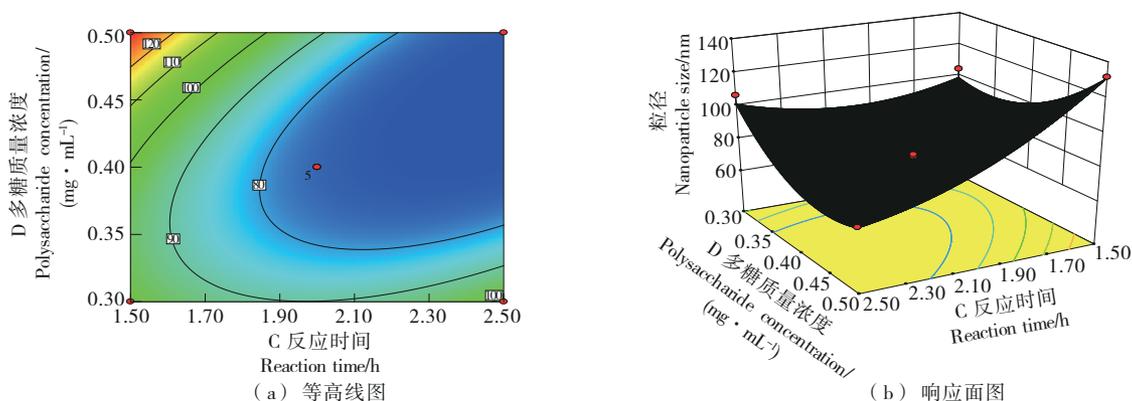


图11 反应时间和多糖浓度的交互作用对栉江珧多糖纳米硒粒径的影响

Figure 11 The interaction between reaction time and polysaccharide concentration on the nanoparticle size of the selenium nanoparticles decorated by *A. pectinata* polysaccharides

糖已成功硒化<sup>[22]</sup>。

2.3.3 透射电镜分析 如图13所示,纳米硒呈现多个球形颗粒的聚集体,而栉江珧多糖纳米硒呈现单个、分散且

均匀的球形颗粒,说明多糖的分支结构和活性羟基已与纳米硒结合,抑制其聚集。

2.3.4 硒晶体结构 如图14所示,栉江珧多糖纳米硒在

表 4 栝江珙多糖纳米硒与纳米硒比较<sup>†</sup>

Table 4 Comparison of selenium nanoparticles decorated by *A. pectinata* polysaccharides and selenium nanoparticles

样品	粒径/ nm	Zeta 电位/ mV	硒含量/ ( $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )
栝江珙多糖纳米硒	$69.81 \pm 1.04^b$	$-35.28 \pm 0.41^b$	$195.73 \pm 0.39^b$
纳米硒	$79.17 \pm 1.37^a$	$-29.16 \pm 0.55^a$	$669.27 \pm 0.82^a$

<sup>†</sup> 同列字母不同表示差异显著( $P < 0.05$ )。

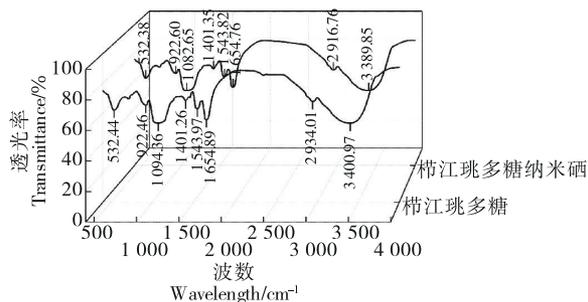
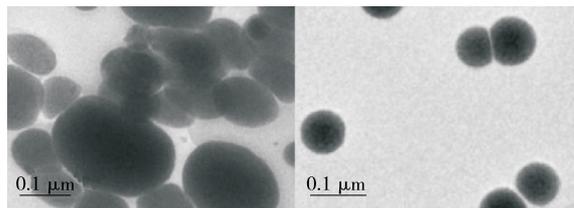


图 12 栝江珙多糖与栝江珙多糖纳米硒红外光谱图

Figure 12 Infrared spectrogram of *A. pectinata* polysaccharides and their selenium nanoparticles



(a) 纳米硒 (b) 栝江珙多糖纳米硒

图 13 纳米硒和栝江珙多糖纳米硒透射电镜图

Figure 13 Transmission electron microscopy image of selenium nanoparticles decorated by *A. pectinata* polysaccharides and their selenium nanoparticles

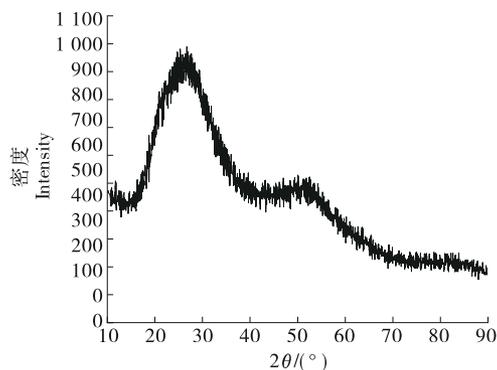


图 14 栝江珙多糖纳米硒 X 射线衍射图

Figure 14 X-ray diffraction pattern of selenium nanoparticles decorated by *A. pectinata* polysaccharides

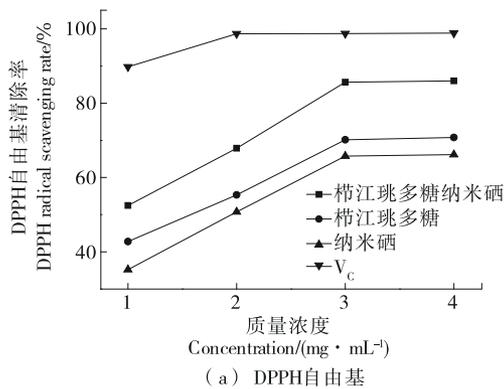
20°~30°范围内出现较宽的 X 射线衍射峰,说明栝江珙多糖纳米硒中的硒属于无定型非晶体结构<sup>[23-24]</sup>。

### 2.4 栝江珙多糖纳米硒抗氧化能力

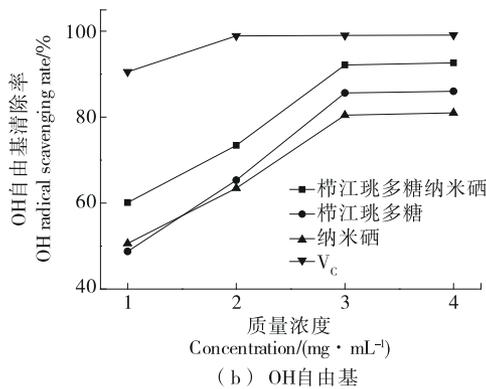
如图 15 所示, DPPH 自由基清除率和 OH 自由基清除率均随着溶液质量浓度的升高而增大, 达到一定值后趋于平缓。维生素 C 质量浓度为 2 mg/mL 时, DPPH 自由基清除率达到 98.69%, OH 自由基清除率达到 98.93%, 之后均趋于平稳。栝江珙多糖纳米硒质量浓度为 3 mg/mL 时, DPPH 自由基清除率达到 85.65%, 高于同质量浓度纳米硒(65.78%)、栝江珙多糖(70.16%)和栗子多糖纳米硒(79.00%<sup>[12]</sup>)的, 说明栝江珙多糖纳米硒具有较好的清除 DPPH 自由基的效果; OH 自由基清除率为 92.14%, 高于同质量浓度纳米硒(80.47%)、栝江珙多糖(85.65%)的, 说明栝江珙多糖纳米硒具有较好的清除 OH 自由基的效果。

## 3 结论

栝江珙多糖纳米硒多糖最优制备条件为: 维生素 C



(a) DPPH 自由基



(b) OH 自由基

图 15 栝江珙多糖纳米硒抗氧化能力

Figure 15 Antioxidant capacity of selenium nanoparticles decorated by *A. pectinata* polysaccharides

与亚硒酸钠摩尔比 8.3:1、反应温度 44 ℃、反应时间 2.3 h、多糖质量浓度 0.4 mg/mL。在最优条件下制备的栉江珧多糖纳米硒粒径为 (69.81±1.04) nm, Zeta 电位为 (-35.28±0.41) mV, 硒含量为 (195.73±0.39) μg/g。结构分析结果显示, 栉江珧多糖纳米硒已成功硒化且属于无定型非晶体。栉江珧多糖纳米硒对 DPPH 自由基和 OH 自由基具有较好的清除作用, 具有一定的抗氧化效果, 且均优于栉江珧多糖和纳米硒。栉江珧多糖纳米硒具有较强的抗氧化能力, 但后续还应采用动物模型研究其体内抗氧化能力, 并采用实时荧光定量核酸扩增检测系统和蛋白质印迹法对抗氧化相关通路进行分析, 研究其抗氧化机制。

### 参考文献

- [1] WANG W, LIN H S, SHEN W Q, et al. Optimization of a novel tyrosinase inhibitory peptide from *Atrina pectinata* mantle and its molecular inhibitory mechanism[J]. *Foods*, 2023, 12(21): 1-6.
- [2] PARK J S, HAN J M, PARK Y S, et al. Optimization and evaluation of *Atrina pectinata* polysaccharides recovered by subcritical water extraction: a promising path to natural products [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 259(P1): 1-18.
- [3] 李松林, 王林, 叶华, 等. 栉江珧粗多糖提取工艺优化、组成分析及其抗氧化活性研究[J]. *食品工业科技*, 2018, 39(4): 177-182, 209.
- LI S L, WANG L, YE H, et al. Optimization of extraction technology, composition analysis and antioxidant activity of crude polysaccharides from *Atrina pectinata*[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2018, 39(4): 177-182, 209.
- [4] 张文婧, 刘欢, 李红波, 等. 富硒平菇菌种筛选、发酵优化及菌丝特性评价[J]. *食品与生物技术学报*, 2024, 43(6): 75-85.
- ZHANG W J, LIU H, LI H B, et al. Screening, fermentation optimization, and mycelial characterization of selenium-enriched *Pleurotus ostreatus* strains[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2024, 43(6): 75-85.
- [5] 王茜, 方荣, 邓娟娟, 等. 富硒酵母功能作用研究进展及法规现状[J]. *中国食品添加剂*, 2023, 34(2): 327-335.
- WANG Q, FANG R, DENG J J, et al. Research progress on the functions and regulations status of selenium-enriched yeast[J]. *China Food Additives*, 2023, 34(2): 327-335.
- [6] 冯灏, 苏莹, 耿雅雯, 等. HPLC-ICP-MS同时测定富硒食品中砷形态和硒形态[J]. *食品与机械*, 2024, 40(7): 43-52.
- FENG H, SU Y, GENG Y W, et al. Study on simultaneous determination of arsenic speciation and selenium speciation in selenium-rich foods by HPLC-ICP-MS[J]. *Food & Machinery*, 2024, 40(7): 43-52.
- [7] 单荣, 许晓义, 尹永奎, 等. 多糖纳米硒制备和生物活性研究进展[J]. *食品工业科技*, 2024, 45(18): 376-383.
- SHAN R, XU X Y, YIN G K, et al. Research progress in the preparation and biological activity of polysaccharide nano-selenium[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2024, 45(18): 376-383.
- [8] 徐颖, 康佳敏, 魏宁果. 多糖-纳米硒复合物的合成方法、稳定性及生物活性研究进展[J]. *食品安全质量检测学报*, 2023, 14(8): 119-127.
- XU Y, KANG J M, WEI N G. Research progress on the synthesis method, stability and biological activity of polysaccharide-nano-selenium complex[J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2023, 14(8): 119-127.
- [9] 郝雨, 王慧, 杨文娟, 等. 猴头菇多糖-纳米硒的制备、结构表征及其生物活性研究[J]. *陕西科技大学学报*, 2024, 42(2): 53-61.
- HAO Y, WANG H, YANG W J, et al. Study on preparation, structural characterization and biological activity of selenium nanoparticles conjugated with *Hericium erinaceus* polysaccharides[J]. *Journal of Shaanxi University of Science & Technology*, 2024, 42(2): 53-61.
- [10] 陈博文, 陈建平, 黄文浩, 等. 岩藻多糖纳米硒的制备及其抑制肿瘤细胞增殖的研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2023, 35(12): 2 117-2 126.
- CHEN B W, CHEN J P, HUANG H W, et al. Preparation of selenium nanoparticles decorated by fucoidan and its inhibition effect on tumor cells growth[J]. *Natural Product Research and Development*, 2023, 35(12): 2 117-2 126.
- [11] LI X L, LI Y, WANG X Y, et al. Preparation, characterization, and bioactivities of polysaccharide-nano-selenium and selenized polysaccharides from *Acanthopanax senticosus*[J]. *Molecules*, 2024, 29(7): 1-20.
- [12] WANG S S, WU H, ZHANG X S, et al. Preparation of nano-selenium from chestnut polysaccharide and characterization of its antioxidant activity[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2023, 18(9): 1-17.
- [13] 金永燕, 郑春田, 陈伟, 等. 亚硒酸钠和酵母硒对蛋鸭产蛋性能、蛋品质、蛋硒含量和蛋硒转化率的影响[J]. *动物营养学报*, 2023, 35(3): 1 622-1 637.
- JIN Y Y, ZHENG C T, CHEN W, et al. Effects of sodium selenite and selenium yeast on laying performance, egg quality, egg selenium content and egg selenium conversion rate of laying ducks[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2023, 35(3): 1 622-1 637.
- [14] 周宁, 曹婷婷, 康琳, 等. 紫花苜蓿多糖对大肠杆菌的抑菌性

- 及其对草莓保鲜效果的研究[J]. 中国食品添加剂, 2023, 34(11): 19-25.
- ZHOU N, CAO T T, KANG L, et al. Antibacterial activity of polysaccharide from *Medicago sativa* L. on *Escherichia coli* and its usage on strawberry preservation[J]. China Food Additives, 2023, 34(11): 19-25.
- [15] 王婷婷, 贾娟, 王煜, 等. 杜仲枸杞复合保健饮料的研制及体外抗氧化性研究[J]. 美食研究, 2023, 40(4): 79-87.
- WANG T T, JIA J, WANG Y, et al. Development and *in vitro* antioxidant activity of *Eucommia ulmoides* and lycium compound health drink[J]. Journal of Researches on Dietetic Science and Culture, 2023, 40(4): 79-87.
- [16] SHA A L, CHEN H R, HAO H Y. Study on the antioxidant effects of *Suaeda rigida* polysaccharides *in vitro* and *in vivo* [J]. Biology Bulletin, 2023, 50(3): 250-258.
- [17] 钟泽梁, 洪碧红, 肖美添, 等. 多糖纳米硒的制备、功能和在食品领域应用的研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(19): 308-319.
- ZHONG Z L, HONG B H, XIAO M T, et al. Preparation, functions and food application of polysaccharide-selenium nanoparticles: a review[J]. Food Science, 2023, 44(19): 308-319.
- [18] MAN Z D, LONG Y Z, YANG C T, et al. Construction of blackberry polysaccharide nano-selenium particles: structure features and regulation effects of glucose/lipid metabolism in HepG2 cells[J]. Food Research International, 2024, 187: 1-15.
- [19] 姚琳琳, 任蕊蕊, 李菁岚, 等. 连翘多糖纳米硒的制备及体外抗氧化和降血糖能力[J]. 精细化工, 2024, 41(10): 2 216-2 222, 2 309.
- YAO L L, REN R R, LI Q L, et al. Preparation, characterization, antioxidant and hypoglycemic ability of polysaccharide nano-selenium from *Forsythia suspensa* *in vitro* [J]. Fine Chemicals, 2024, 41(10): 2 216-2 222, 2 309.
- [20] XIA B L, XU S, LIU Y G, et al. Preparation and process optimization of tea polysaccharide-nano-selenium[J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2021, 781(5): 1-5.
- [21] 马明华, 易杨华, 汤海峰. 厚壳贻贝多糖 MA 的分离纯化、理化性质及活性研究(I) [J]. 中国海洋药物, 2004, 23(4): 14-18.
- MA M H, YI F H, TANG H F. Isolation, purification, physicochemical properties and biological activities of polysaccharide MA from *Mytilus coruscus* (I) [J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2004, 23(4): 14-18.
- [22] TANG S, WANG T, JIANG M, et al. Construction of arabinogalactans/selenium nanoparticles composites for enhancement of the antitumor activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 128: 444-451.
- [23] 郑晓凤, 侯丽然, 廉亚楠, 等. 桔梗多糖软模板法制备纳米硒及表征[J]. 广东化工, 2016, 43(16): 25-26.
- ZHENG X F, REN L R, LIAN Y N, et al. Preparation and characterization of nano-selenium using platycodon grandiflorum polysaccharides as soft template[J]. Guangdong Chemical Industry, 2016, 43(16): 25-26.
- [24] CAO B L, ZHANG Q, GUO J, et al. Synthesis and evaluation of *Grateloupia livida* polysaccharides-functionalized selenium nanoparticles[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 191: 832-841.