

硒化玉米须多糖的工艺条件及硒含量测定研究

侯巍, 朱小庆, 楚婧, 高金波* (黑龙江省教育厅生物药剂重点实验室, 佳木斯大学药学院, 黑龙江 佳木斯 154007)

摘要: 目的 以玉米须多糖为原料, 用亚硒酸钠进行玉米须多糖的硒化研究。方法 利用单因素和正交试验确立硒化的最佳工艺条件; 利用硒-硫氰酸钾-甲基紫萃取光度法测定硒多糖中的硒含量, 并通过红外光谱对硒多糖进行了初步表征。结果 最佳工艺条件为反应温度 70 °C, 反应时间 8 h, 玉米须多糖与亚硒酸钠质量比为 1:1.2, 硝酸体积分数为 0.3%, 玉米须硒多糖中硒含量为 3.17 mg·g⁻¹, 平均收率为 35.72%。红外光谱显示: 玉米须硒多糖中含有 Se=O 键和 Se-C 键。结论 利用该工艺成功合成了玉米须硒多糖, 为玉米须的开发和利用奠定基础。

关键字: 玉米须多糖; 亚硒酸钠; 硒化; 正交试验

中图分类号: R284.1; R917.101

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2012)07-0621-04

Study on the Synthesis Processing and Content Determination of Corn Silk Polysaccharide Selenide

HOU Wei, ZHU Xiaoqing, CHU Jing, GAO Jinbo* (The Key Laboratory for Biological Drug of the Education Department Helongjiang, College of Pharmacy, Jiamusi University, Jiamusi 154007, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE Using the polysaccharide from corn silk as the raw material, to study the selenizing process with sodium selenite. **METHODS** Selenizing conditions were established by single factor and orthogonal design; determining content of polysaccharide selenide by Se(IV)-KSCN-MV extraction spectrophotometry; characterizing the structure of polysaccharide selenide by IR. **RESULTS** The optimal conditions were: 70 °C reaction temperature, 8 hours reaction time, mass ratio of corn silk polysaccharide to sodium selenite 1:1.2, 0.3% HNO₃ of volume fraction. The average content of selenium in corn silk polysaccharide was over 3.17 mg·g⁻¹ and average yield was 35.72%. IR results showed that corn silk polysaccharide contained Se=O and Se-C. **CONCLUSION** Corn silk polysaccharide selenide is successfully synthesized and the study provides the foundation for further study and exploiting for corn silk.

KEY WORDS: corn silk polysaccharide; sodium selenite; selenizing; orthogonal test

中药玉米须(corn silk)具有清血热、利尿、平肝、利胆等功效, 用于治疗糖尿病、黄疸、麻疹、乳糜血尿、血崩等症状^[1]。从玉米须中提取的多糖具有免疫调节、抗肿瘤、抗辐射、抗炎、抗疲劳和抗衰老等作用^[2]。1975年, Awasthi等研究证明硒是人体所必须的微量元素, 可防癌, 抗衰老, 拮抗有毒元素^[3]。人体若硒含量失调会导致糖尿病、克山病等^[4]。因此, 将硒与多糖结合使之成为有机硒化合物硒多糖, 它不仅保持了多糖的基本构型和生物活性, 而且有机硒化合物很大程度提高了生物可利用度, 降低了毒性和不良反应。

近几年, 国外主要研究有机硒药物的合成及其生物体内的作用机制, 但对于硒多糖的研究尚未成熟^[5], 目前已发现的天然硒多糖较少。本研究以玉米须为原料, 根据有机硒化合物的合成原理, 用亚硒酸钠对玉米须多糖进行硒化, 在硒化中摸索出了合成硒多糖的最佳工艺条件, 并通过红外

光谱对玉米须硒多糖进行结构表征, 用硒(IV)-硫氰酸钾-甲基紫萃取光度法对玉米须硒多糖中的硒含量进行了测定。

1 仪器与材料

UV-7501 型分光光度计(无锡科达仪器厂); DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器(武汉科尔仪器设备有限公司); 透析袋 MD10(上海欧韦达仪器科技有限公司); 玉米须多糖(本实验室提取、多次纯化所得均一多糖); 亚硒酸钠(分析纯, 上海新宝精细化工厂); 硫氰酸钾(分析纯, 北京化工厂); 甲基紫(分析纯, 上海恒远生化试剂有限公司); 苯(分析纯, 天津科密欧化学试剂开发中心); 高氯酸(分析纯, 河北省亚泰电化有限公司); 硫酸(分析纯, 沈阳新西试剂厂); 硝酸(分析纯, 北京化工厂); 无水乙醇(分析纯, 北京化工厂)。

2 方法与结果

2.1 玉米须硒多糖含量的测定方法

作者简介: 侯巍, 男, 教授 Tel: (0454)8610345 E-mail: houwei20072007@163.com

*通信作者: 高金波, 女, 教授 Tel: (0454)8611271 E-mail: gaojinbo2001@163.com

2.1.1 标准曲线的绘制 分别移取含硒元素 $1 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的标准溶液 0.0, 0.5, 1.5, 2.0, 3.0, 6.0 mL 置 25 mL 量瓶中, 加入 1.0 mL $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫氰酸钾溶液, 摇匀, 放置 15 min, 加入 1 mL $2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的盐酸溶液, 摇匀, 再加入 2.5 mL $0.2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲基紫水溶液, 用水稀释至刻度, 室温静置 20 min, 移至 60 mL 分液漏斗中, 加入 5.0 mL 苯, 充分振荡 2 min, 静置 5 min 取有机相, 以试剂空白为参比, 用 1 cm 比色皿于 600 nm 处测量吸光度值, 绘制标准曲线。得标准曲线方程: $Y=0.48776X-0.05821$, $r=0.99913$ 。

2.1.2 样品的处理方法 精密称取 20 mg 样品置入坩埚中, 加入 2.0 mL 消化液(高氯酸、浓硫酸、浓硝酸按体积比 1:1:4 混合), 冷消化至过夜, 次日于电热板上加热, 至白烟冒净, 再继续加热至干, 用蒸馏水冲洗坩埚, 洗液移入容量瓶定容至 10 mL, 待测。

2.1.3 玉米须硒多糖的含量及收率测定 取消化后的样品溶液 1.00 mL 于 25 mL 量瓶中, 加入 1.0 mL $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫氰酸钾溶液, 摇匀, 放置 15 min, 再加入 2.5 mL $0.2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲基紫水溶液, 室温静置 20 min, 移至 60 mL 分液漏斗中, 加入 5.0 mL 苯, 充分振荡 2 min, 静置 5 min 取有机相, 以试剂空白为参比, 用 1 cm 比色皿于 600 nm 处测量吸光度值, 利用标准曲线计算其硒含量。结果通过正交设计实验合成出的 5 批玉米须硒多糖的平均含量为 $3.17 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 平均收率为 35.72%。

2.2 玉米须硒多糖的制备(单因素实验)

2.2.1 原料比对硒含量的影响 玉米须多糖与亚硒酸钠的质量比分别为 1:1.2、1:1、1:0.8, 加入的硝酸体积分数 0.5%、加热时间 10 h、反应温度 $70 \text{ }^\circ\text{C}$, 合成硒多糖。冷却, 用 Na_2CO_3 调 pH 5~6, 抽滤, 透析, 抗坏血酸检测透析液直至无红色时结束, 醇沉, 真空干燥得硒多糖。并测其硒含量及其收率。硒多糖收率分别为: 29.91%, 34.44%, 31.17%。当二者的质量比为 1:1 时, 含硒量及收率最高。硒含量结果见图 1。

2.2.2 反应温度对硒含量的影响 玉米须多糖与亚硒酸钠的质量比分别为 1:1, 加入的硝酸体积分数 0.5%、加热时间 10 h、反应温度 $60, 70, 80 \text{ }^\circ\text{C}$, 反应完毕后冷却, 依上法处理后测其硒含量及收率。硒多糖收率分别为: 32.12%, 34.05%, 29.93%。当反应温度为 $70 \text{ }^\circ\text{C}$ 时, 玉米须硒多糖的含量及收率最高。结果见图 2。

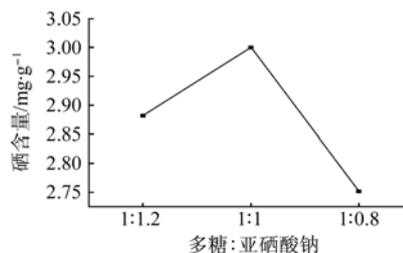


图 1 原料比对硒含量的影响

Fig 1 Effect of raw material ratio on content of Se

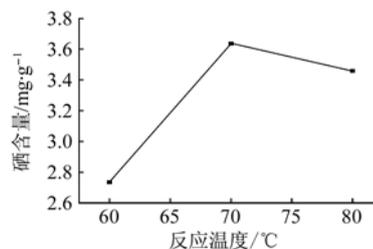


图 2 反应温度对硒含量的影响

Fig 2 Effect of reaction temperature on content of Se

2.2.3 硝酸的体积分数对硒含量的影响 玉米须多糖与亚硒酸钠的质量比分别为 1:1, 加入的硝酸体积分数 0.1%, 0.3%, 0.5%, 1.0%, 1.2%, 加热时间 10 h、 $70 \text{ }^\circ\text{C}$, 反应完毕后冷却。同法测定硒含量及收率。硒多糖的收率分别为: 33.95%, 34.13%, 33.57%, 33.10%, 32.97%, 当硝酸溶液的体积分数为 0.3% 时含量及收率最高, 结果见图 3。

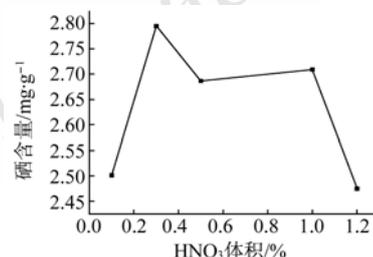


图 3 硝酸体积分数对硒含量的影响

Fig 3 Effect of volume fraction of HNO_3 on content of Se

2.2.4 反应时间对硒含量的影响 玉米须多糖与亚硒酸钠的质量比分别为 1:1, 加入的硝酸体积分数 0.3%、加热时间 8, 10, 12 h, 反应温度 $70 \text{ }^\circ\text{C}$, 合成硒多糖。冷却后同上处理, 测其硒含量及收率。硒多糖收率分别为: 34.48%, 34.25%, 30.07%。最佳反应时间为 12 h, 但收率最低。结果见图 4。

2.3 玉米须硒多糖的制备(正交实验)

在单因素实验的基础上, 选用原料质量配比(玉米须多糖:亚硒酸钠)(A)、硝酸的体积分数(B)、反应温度(C)、反应时间(D)4 个因素进行, 因素水平见表 1。正交实验中因素分布和硒含量结果见表 2, 正交实验中因素分布和硒多糖的收率结果见表 3。

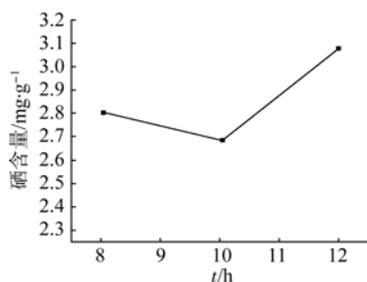


图4 反应时间对硒含量的影响

Fig 4 Effect of reaction time on content of Se

表1 因素水平表

Tab 1 Levels of factors

水平	因素			
	A	B/%	C/°C	D/h
1	1 : 1.2	0.3	60	8
2	1 : 1.0	0.5	70	10
3	1 : 0.8	1.0	80	12

表2 L₉(3⁴)正交实验和硒含量结果

Tab 2 Results of orthogonal experiment and content of Se

实验号	因素				含量/ g·g ⁻¹
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	2.772 0
2	1	2	2	2	2.748 8
3	1	3	3	3	2.469 7
4	2	1	2	3	2.717 2
5	2	2	3	1	2.401 7
6	2	3	1	2	2.115 7
7	3	1	3	2	1.717 8
8	3	2	1	3	1.911 7
9	3	3	2	1	2.062 4
K ₁	7.990 5	7.207 0	6.799 4	7.236 1	
K ₂	7.234 6	7.062 2	7.528 4	6.582 3	
K ₃	5.691 9	6.647 8	6.589 2	7.098 6	
R	2.298 6	0.559 2	0.939 2	0.653 8	

表3 L₉(3⁴)正交实验和硒多糖收率结果

Tab 3 Results of orthogonal experiment and yield of polysaccharide selenide

实验号	因素				收率/%
	A	B	C	D	
1	1	1	1	1	35.17
2	1	2	2	2	34.45
3	1	3	3	3	34.11
4	2	1	2	3	33.70
5	2	2	3	1	34.05
6	2	3	1	2	33.53
7	3	1	3	2	33.29
8	3	2	1	3	32.55
9	3	3	2	1	33.40
K ₁	1.037 3	1.021 6	1.012 5	1.026 2	
K ₂	1.012 8	1.010 5	1.015 5	1.012 7	
K ₃	0.992 4	1.010 4	1.014 5	1.003 6	
R	0.044 9	0.011 2	0.003 0	0.022 6	

由结果可知,影响硒含量的 4 个因素由大到小为: A>C>D>B, 即玉米须多糖和亚硒酸钠的质量比对硒含量的影响最大,其次是反应温度。而影响硒多糖收率的 4 个因素大小为: A>D>C>B, 说明玉米须多糖和亚硒酸钠的质量比对硒含量的影响最大,其次是反应时间。综合收率与硒含量结果,水平并以收率为主确定玉米须多糖的硒化最佳条件:多糖与亚硒酸钠的质量比为 1 : 1.2、硝酸体积分数为 0.3%、反应温度为 70 °C、反应时间为 8 h。

2.4 玉米须硒多糖的红外光谱图分析

将玉米须多糖和硒化玉米须多糖利用 FT-IR 红外光谱仪进行 KBr 压片测定。红外光谱图见图 5 与图 6。

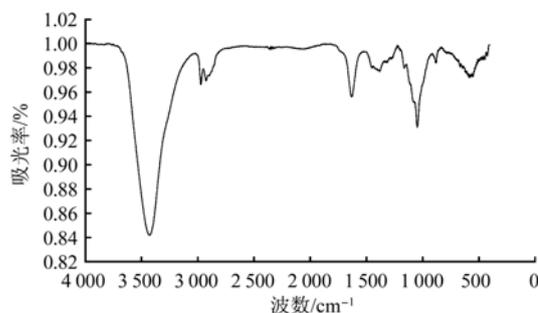


图5 玉米须多糖的红外光谱图

Fig 5 Infrared spectrogram of corn silk polysaccharide

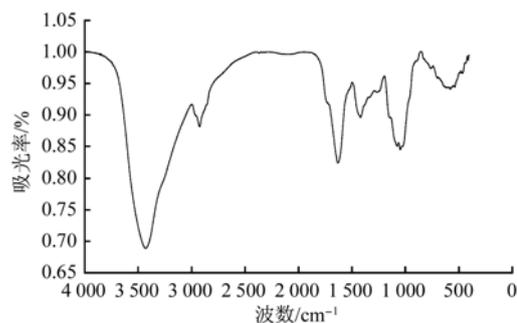


图6 玉米须硒多糖的红外光谱图

Fig 6 Infrared spectrogram of corn silk Se polysaccharide

由红外光谱可知,在 3 433 cm⁻¹(O-H), 2 975 cm⁻¹、2 920 cm⁻¹、2 988 cm⁻¹(C-H), 1 635 cm⁻¹(C=O), 1 457 cm⁻¹(C-O)等处为多糖的特征峰; 879 cm⁻¹为吡喃甘露糖的特征吸收峰; 823 cm⁻¹为吡喃葡萄糖的特征吸收峰; 749 cm⁻¹为吡喃木糖的特征吸收峰。图 5 与图 6 红外图谱相比较,在图 6 中 765 cm⁻¹多出的峰为 SeO₃²⁻特征吸收峰, 1 082 cm⁻¹处多出

峰为 Se-O-C 特征吸收峰。由此可知：是由于多糖分子中的-OH 与 H_2SeO_3 分子中的-OH 脱去 1 个水分子后形成亚硒酸酯(C-O-SeO₂⁻)的结果。

3 讨论

3.1 硒化工艺中影响含硒量的因素

在考察温度对硒多糖含量的影响时发现，因为温度的升高使分子的热运动增加，溶剂和玉米须多糖粒子间的传递速度加快，使其充分反应。但温度过高时，部分玉米须硒多糖会发生分解，导致玉米须硒多糖的硒含量又缓慢下降，因此硒化反应最佳温度是 70 ℃。

在对硝酸体积进行考察时发现，由于玉米须多糖是中性多糖，易溶于较低浓度的硝酸溶液，当硝酸浓度较低时多糖才能与亚硒酸钠反应较完全；但当硝酸浓度过低时，发现硒与多糖反应不够完全；当硝酸浓度增加时，由于硝酸的氧化性会使多糖的某些化学键断裂而发生降解作用，降解后的低聚寡糖在透析时被除去，硒含量较低。因此，硒化反应最佳硝酸体积分数为 0.3%。

在对反应时间进行考察时发现，正交实验的结果和单因素考察结果不一致，这是因为在单因素考察时，先是由估计的方法初步固定 4 因素中的 3 个因素进行的，虽硒含量 12 h 最高，但收率最低。综合收率和硒含量两因素，按正交实验结果，最终选定反应时间为 8 h。

3.2 硒多糖的含量测定

选用硒-硫氰酸钾-甲基紫法测玉米须硒多糖的含量，因为该方法灵敏度、准确度高，操作简便。适于玉米须硒多糖中硒含量的测定，该法在 0~1.8 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围内呈良好的线性关系： $r=0.999\ 13$ 。其硒多糖的含量可达到 $3.17\ \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

3.3 玉米须硒多糖的水溶性

实验发现，玉米须多糖在水中的溶解度较小，而硒化后的玉米须多糖在水中的溶解性可增加 4 倍以上，易被制备成水溶液，也有利于人体的吸收，是一个具有一定研究价值的硒多糖。

REFERENCES

- [1] FANG M. Bioactive components and their bioactivities studies on corn silk [D]. Wuhan: Wuhan Polytechnic University, 2010.
- [2] ZHAO L J, SONG X P, LI F Y. Research progress on anti-oxidation of polysaccharide and its derivatives [J]. J Shanghai Univ Engineering Sci(上海工程技术大学学报), 2008, 22(1): 44-46.
- [3] SHENG X Q. Study on the relationship between selenium and diabetes mellitus [D]. Wuhan: Huazhong University of Science And Technology, 2004.
- [4] WANG Y Y, WU H G, GAO D B. Research progress on polysaccharide containing selenium [J]. Chem Bioeng(化学与生物工程), 2008, 25(2): 7-9.
- [5] PANG X F, YANG G N, ZHAO Q. Preparation of selenide glycyrrhiza polysaccharides [J]. Chem Engineering(化学工程), 2009, 9(37): 63-66.

收稿日期：2011-11-10