

魔芋葡甘露聚糖羧甲基化过程的优化

吴海燕 钱 和 闫序东

(江南大学食品学院教育部功能食品工程中心,无锡,214036)

摘 要 羧甲基葡甘露聚糖是魔芋葡甘露聚糖的重要产物。文中以反应时间、理论取代度、反应温度、NaOH 与氯乙酸摩尔比、液料比、乙醇的体积分数作为葡甘露聚糖羧甲基化的影响因素,根据 Box-Behnken 的中心组合实验设计原理,在 confounded fractional factorial designs 的基础上,采用三因素三水平的响应面分析法对羧甲基化过程进行优化。结果表明:羧甲基化的最佳条件为,理论取代度 2.8、NaOH 与氯乙酸摩尔比值为 2.5、乙醇的体积分数 70% 时,可得到取代度 0.772 9 羧甲基葡甘露聚糖。

关键词 魔芋葡甘露聚糖,羧甲基优化,响应面分析

魔芋葡甘露聚糖分子链上的部分羟基被羧甲基取代后,其产物羧甲基葡甘露聚糖(CMKGM)以盐的强烈亲水性而极易溶于水,水溶液透明、细腻、流动性好,具有一定的粘性,而且不易受温度、pH、时间的影响,稳定性、成膜性能大大提高,扩大了其应用领域^[1]。

国内外对葡甘露聚糖的羧甲基化过程影响因素的探讨比较多^[3~5],但对于羧甲基化过程中的主要影响因素以及各个因素之间的交互作用的研究还未见报道。同时由于羧甲基化过程的影响因素较多,若采用常规的正交实验设计,实验次数为 n^2 (水平数),工作量很大。若采用多因素多水平的均匀实验设计,其实验次数为 n ,分散性很强,冒尖性也很好,但没有正交实验的整齐可比性,不能进行方差分析,优化效率不如正交实验。为此,本文采用的是 SAS(statistical analysis system)软件中二水平设计(two level design)和响应面分析法(response surface analysis, RSA)相结合的实验设计,并以取代度为指标对羧甲基反应过程进行优化。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

魔芋葡甘露聚糖,由武汉强森魔芋食品有限公司提供,其纯度为 77.21%;氯乙酸、HCl、NaOH、乙醇等试剂均为国产分析纯。

超级恒温水浴器,上海市实验仪器总厂;Delta 320 pH 计,瑞士梅特勒仪器公司;98-2 磁力搅拌器,上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司。

1.2 实验方法

第一作者:硕士研究生(钱和为责任作者)。

收稿日期:2006-06-06,改回日期:2006-06-30

1.2.1 羧甲基魔芋葡甘露聚糖的制备

将一定量魔芋葡甘露聚糖溶于一定乙醇溶液(含有定量的氯乙酸)中,一定温度下匀速搅拌一定时间,随后加入一定量的 NaOH 溶液,在一定温度下反应一段时间后,用 HCl 中和,产物用乙醇溶液洗涤至滤液中无氯离子检出,在用体积分数 95% 的乙醇脱水,而后经干燥得到羧甲基魔芋葡甘露聚糖^[3]。

1.2.2 羧甲基魔芋葡甘露聚糖取代度的测定

取代度(DS)是指葡甘露聚糖每个葡萄糖残基中被取代羟基的平均数量。文中采用酸洗法测定 CMKGM 的取代度。准确称取 CMKGM 样品 0.5 g,置于 50 mL 的烧杯中,加入 2 mol/L 的 HCl 溶液 40 mL,用磁力搅拌器搅拌,过滤,用乙醇洗涤样品,直至滤液用 AgNO_3 检验无氯离子检出为止,这时样品转化成酸式 CMKGM(HCMKGM),用 0.1 mol/L 的 NaOH 标准溶液 40 mL 溶解 HCMKGM,在微热条件下使溶液呈透明状态,立即用 0.1 mol/L 的 HCl 标准溶液滴定剩余的 NaOH,用酚酞作指示剂,滴至红色刚刚褪去为止,记录所消耗的 HCl 标准溶液的体积。^[7]DS 按下式计算:

$$A = (C_{\text{NaOH}} \times V_{\text{NaOH}} - C_{\text{HCl}} \times V_{\text{HCl}}) / m$$

$$\text{DS} = A \times 0.162 / (1 - 0.058A)$$

式中: C_{NaOH} ——NaOH 标准溶液的浓度, mol/L; V_{NaOH} ——NaOH 标准溶液体积, mL; C_{HCl} ——HCl 标准溶液的浓度, mol/L; V_{HCl} ——滴定过量 NaOH 的 HCl 标准溶液的体积, mL; m ——CMKGM 样品的质量, g。

1.3 实验设计^[8~11]

根据文献的讨论,选择反应时间、理论取代度、反应温度、NaOH 与氯乙酸摩尔比、液料比、乙醇的体积分数等 6 个影响羧甲基化的因素^[3~6],对反应过程进

行优化。

1.3.1 二水平设计

根据单因素试验结果,采用 SAS 软件中 6 因素、实验次数为 8 的 confounded fractional factorial designs 来确定影响羧甲基化过程的主要因素以及因素间交互作用的一级作用。每 1 个因素取 1 个相对高和 1 个相对低的水平,并且假定响应值在所选的水平区间内是近似线性的。试验因素和水平见表 1。

1.3.2 响应面分析

根据 Box-Bohnken 的中心组合设计原理,由二水平设计确定的主要因素各取 3 水平,设计了 3 因素 3 水平共 15 个实验点的响应面分析。试验的因素和水平见表 3。

2 结果与分析

2.1 二水平设计

表 1 confounded fractional factorial designs 的取值

因素	时间 /h	理论取 代度	温度 /℃	$n(\text{NaOH})/$ $n(\text{ClCH}_2\text{COOH})$	液料比 (mL:g)	乙醇的体积 分数/%
code	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6
-1	5	2	55	2	10:1	50
1	6	3	65	3	12:1	70

试验结果如下:

表 2 方差分析表

方差来源	自由度	偏差平方和	平均偏差平方和	F 值	大于 F 值的概率
X_1	1	0.001 154	0.001 154	2.644 063	0.351 01
X_2	1	0.003 49	0.003 49	7.994 254	0.216 419
X_3	1	0.000 751	0.000 751	1.719 604	0.414 76
X_4	1	0.016 992	0.016 992	38.919 86	0.101 185
X_5	1	0.001 526	0.001 526	3.495 824	0.312 664
X_6	1	0.014 715	0.014 715	33.702 84	0.108 594
模 型	6	0.038 629	0.006 438	14.746 07	0.196 748
误 差	1	0.000 437	0.000 437		
所有项	7	0.039 066			

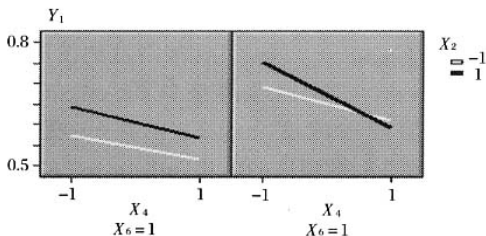


图 1 X_2 、 X_4 、 X_6 三者的交互作用

实验结果表明,理论取代度、NaOH 与 ClCH_2COOH 摩尔比、乙醇体积分数对羧甲基取代度

有显著影响。因此作为主要因素做下一步优化实验。试验中这 3 个因素的交互作用如图 1 所示(分别为 $X_6 = -1, 1$ 时 X_2 和 X_4 的交互作用。交叉表示两者有交互作用,平行表示二者没有交互作用。)

2.2 响应面分析

利用响应面分析对二水平设计确定的主要影响因素作进一步的分析。根据 Box-Bohnken 的中心组合设计原理,设计了 3 因素 3 水平共 15 个实验点的响应面分析实验,在中心值重复 3 次实验,用以估计试验误差。

表 3 三因素三水平的取值

因 素	编码值		
	-1	0	1
X_1 理论取代度	2	2.5	3
X_2 氢氧化钠与氯乙酸摩尔比值	2	2.5	3
X_3 乙醇体积分数/%	60	70	80

表 4 响应面分析及实验结果

试验号	X_1	X_2	X_3	DS
1	-1	-1	0	0.521 1
2	-1	1	0	0.547 2
3	1	-1	0	0.651 3
4	1	1	0	0.653 1
5	0	-1	-1	0.606 9
6	0	-1	1	0.613 3
7	0	1	-1	0.607 2
8	0	1	1	0.622 5
9	-1	0	-1	0.641 9
10	1	0	-1	0.747 6
11	-1	0	1	0.675 8
12	1	0	1	0.750 1
13	0	0	0	0.759
14	0	0	0	0.764 1
15	0	0	0	0.762 7

表 5 回归方程的方差分析

方差来源	自由度	平方和	均方	F 值	Pr>F	显著性
X_1	1	0.021 642	0.021 642	227.040 8	0.000 1	**
X_2	1	0.000 175	0.000 175	1.834 221	0.233 617	
X_3	1	0.000 422	0.000 422	4.426 503	0.089 307	
$X_1 \times X_1$	1	0.005 528	0.005 528	57.987 08	0.000 621	**
$X_1 \times X_2$	1	0.000 148	0.000 148	1.548 642	0.268 488	
$X_1 \times X_3$	1	0.000 246	0.000 246	2.585 817	0.168 737	
$X_2 \times X_2$	1	0.062 464	0.062 464	655.282 3	0.000 1	**
$X_2 \times X_3$	1	0.000 02	0.000 02	0.207 739	0.667 657	
$X_3 \times X_3$	1	0.001 388	0.001 388	14.565 54	0.012 418	**
回 归	9	0.088 375	0.009 819	103.011 1	0.000 1	
参 差	5	0.000 477	0.000 095			
总离差	14	0.088 851				

由表 5 可见,三因素对羧甲基的过程的影响并非

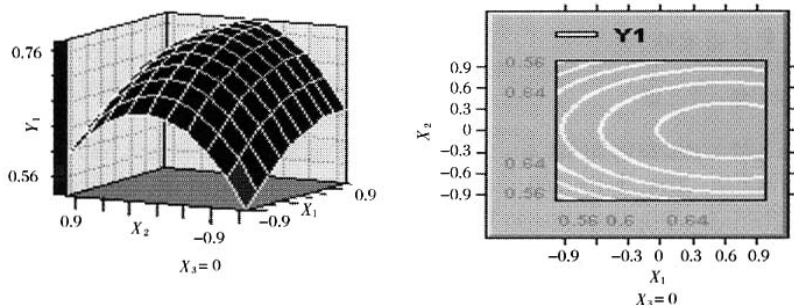
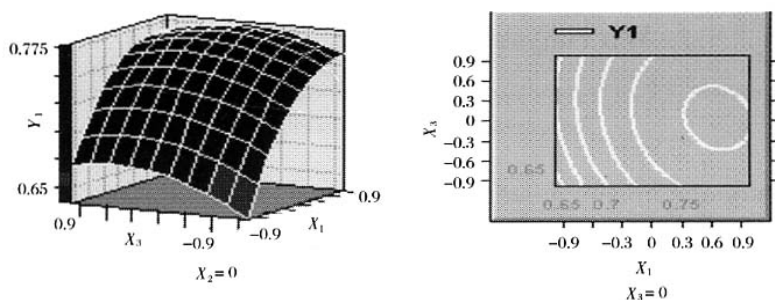
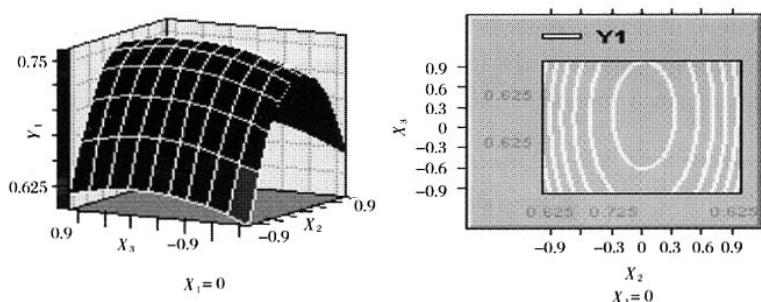
简单的一次线性关系。而是呈二次抛物面关系。一次项 X_1 、交叉乘积项 $X_1 \times X_1$ 、 $X_2 \times X_2$ 、 $X_3 \times X_3$ 对 y 显著影响。各因素经回归拟合后,得回归方程: $Y_1 = 0.761\ 933 + 0.052\ 013 \times X_1 + 0.004\ 675 \times X_2 + 0.007\ 263 \times X_3 - 0.038\ 692 \times X_1 \times X_1 - 0.006\ 075 \times X_1 \times X_2 - 0.007\ 85 \times X_1 \times X_3 - 0.130\ 067 \times X_2 \times X_2 + 0.002\ 225 \times X_2 \times X_3 - 0.019\ 392 \times X_3 \times X_3$ 模型可信度分析的统计检验结果如表 6 所示。

表 6 模型的可信度分析的统计检验结果

Mean(均值)	0.661 587
R-square(复相关系数的平方)/%	99.46
Adj. R-square(复相关系数)/%	98.50
RMS E(模型误差的平方根)	0.009 763
CV(变异系数)	1.475 754

复相关系数的平方为 99.46%,说明由这三个因素及其二次项能解释 Y 变化的 99.46%,模型误差的平方根 0.009763,模型拟合程度很好。

对羧甲基化的响应因子水平的优化见图 2、图 3、图 4。

图 2 X_1 、 X_2 的响应面立体图和等高图图 3 X_1 、 X_3 的响应面立体图和等高图图 4 X_1 、 X_3 的响应面立体图和等高图

利用 sas 分析可知,回归模型存在稳定点(X_1 , X_2 , X_3)为(0.656 6, 0.010 1, 0.050 5), Y 的最大值为 0.779 5。根据表 3 因素水平,考虑到实际操作,将

理论取代度取 2.8,氢氧化钠与氯乙酸摩尔比取 2.5,乙醇的体积分数取 70%,得到取代度为 0.772 9 羧甲基葡甘露聚糖,证实了回归方程对羧甲基化过程的提

供了可靠的模型。

3 结 论

实验证明,响应面分析法对羧甲基过程优化是有效。二水平设计用较少的实验对多个因素进行考察,找出了影响羧甲基化过程的主要因素,分别为理论取代度、氢氧化钠与氯乙酸摩尔比、乙醇的体积分数。通过响应面实验对3个主要因素进一步优化,找出最佳反应条件为:理论取代度为2.8,氢氧化钠与氯乙酸摩尔比为2.5,乙醇的体积分数为70%,得到取代度为0.772 9羧甲基葡甘露聚糖。

参 考 文 献

- 1 张小菊,姜发堂.羧甲基魔芋葡甘聚糖的制备及应用于心胶囊的研究[J].食品科学,2004,25(10):200~203
- 2 Shinsaku Kobayashi, Shigetomo Tsujihata, Naruhiro Hibi, et al. Preparation and rheological characterization of carboxymethyl konjac glucomannan [J]. Food Hydrocolloids,

- 2002,6:289~294
- 3 汪超,李斌,谢笔钧,等.魔芋葡甘聚糖羧甲基化方法改进研究[J].农业工程学报,2005,21(5):140~144
- 4 魏香奕,姚开,何强,等.魔芋葡甘露聚糖羧甲基化改性条件的优化[J].食品与发酵工业,2005,31(7):50~54
- 5 庞杰,肖丽霞,王丽霞,等.羧甲基及羟乙基葡甘聚糖及其性能的研究[J].林产化学与工业,2003,12(4):63~65
- 6 陈林,王志贤,马妮,等.魔芋葡甘露聚糖的纯化及羧甲基化改性研究[J].云南民族大学学报(自然科学版),2005,14(2):133~135
- 7 张慧,侯汉学,董海洲,等.羧甲基淀粉干法制备工艺[J].食品与发酵工业,2005,31(1):10~14
- 8 吴有炜.试验设计与数据处理[M].苏州:苏州大学出版社,2002
- 9 Douglas C, Montgomery, Wan R G, et al. Experimental Design and Analysis [M]. Beijing: China Statistics Press, 1998
- 10 Thompson D R. Response surface experimentation [J]. J Food Proc Press, 1982(6):155
- 11 姚杰,包正,尤宏,等.马铃薯淀粉羧甲基化过程的优化[J].计算机与应用化学,2005,22(8):651~654

Optimization of the Carboxymethyl Process of Konjac Glucomannan

Wu Haiyan Qian He Yan Xudong

(Department of Food Science, Southern Yangtzi University, Laboratory of Functional Food,
Ministry of Education, Wuxi 214036, China)

ABSTRACT The carboxymethyl glucomannan is a very important product of konjac. The effects of the reaction conditions on the carboxymethylation of konjac glucomannan such as time of reaction, theoretical degree of substitution, temperature, molar ratio of sodium hydroxide to sodium monochloroacetate, alcohol concentration, liquid - to - solid ratio were studied. The optimum condition was systematically studied with SAS system. The primary factors were first selected by means of Confounded Fractional Factorial designs then optimized by response surface analysis. It was showed that the optimum conditions were theoretical degree of substitution: 2.8; molar ratio of sodium hydroxide to sodium monochloroacetate: 2.5; alcohol concentration: 70%. The DS about 0.779 2 of carboxymethyl konjac glucomannan was obtained in this condition.

Key words konjac glucomannan, optimum conditions of carboxymethylation, response surface analysis

食用油脂加工业溶剂新标准通过论证

我国即将出台食用油脂加工业溶剂新标准,新标准对食用油脂加工业溶剂的抽提,制定了更严格的技术要求和试验方法。目前,新标准已经经过了多方论证并通过,有望2006年年底前出台。来自中国粮油行业协会、中国石油化工股份有限公司、石油化工科学研究院、金陵石化公司的专家参加了这一研究会。

据专家介绍,我国目前使用的食用油脂加工业溶剂标准是1996年制定的,这个标准规定,6#抽提溶剂油作为主要浸出用溶剂,与当前我国食用油脂工业的发展以及人们对食用油健康卫生质量要求不相符。

即将出台的食用油脂加工业溶剂新标准符合欧美最先进的标准,按照新标准对食用油脂加工业溶剂抽提制定的技术要求和试验方法,溶剂油中有害物质将大大降低。