

doi:10.3969/j.issn.2095-6002.2014.05.005

文章编号:2095-6002(2014)05-0021-06

引用格式:温成荣,傅丽群,谢丙清,等. 基于稳定体系的魔芋葡甘聚糖与卡拉胶作用位点的研究. 食品科学技术学报,2014,32(5):21-26.



WEN Chengrong, FU Liqun, XIE Bingqing, et al. Studies on konjac glucomannan and carrageenan interaction sites based on stable system. Journal of Food Science and Technology, 2014,32(5):21-26.

基于稳定体系的魔芋葡甘聚糖与卡拉胶作用位点的研究

温成荣^{1,2}, 傅丽群³, 谢丙清³, 丛爽^{1,2}, 庞杰^{3,*}

(1. 大连工业大学 食品学院, 辽宁 大连 116034;

2. 国家海洋食品工程技术研究中心, 辽宁 大连 116034;

3. 福建农林大学 食品科学学院, 福建 福州 350002)

摘要:魔芋葡甘聚糖与 κ 型卡拉胶的协同增效作用是多糖相互作用的重要研究内容,研究二者的作用位点有利于揭示体系的许多本质,对稳定体系的网络构建及应用等具有重要的参考价值.研究了微波和热处理下3种配比的魔芋葡甘聚糖与 κ 型卡拉胶复合物的流变性变化,并通过分子动力学模拟研究二者之间的作用力位点.结果显示,微波处理后,魔芋葡甘聚糖与 κ 型卡拉胶相互作用发生变化, κ 型卡拉胶浓度越高,二者复合效果越好; κ 型卡拉胶分子中的 OSO_3 基团与魔芋葡甘聚糖分子之间形成的氢键是维持二者复合体系稳定的主要作用力,即 OSO_3 基团是 κ 型卡拉胶与魔芋葡甘聚糖的主要作用位点.这些结果表明, κ 型卡拉胶在魔芋葡甘聚糖与 κ 型卡拉胶复合体系中起着主导作用.

关键词:魔芋葡甘聚糖;卡拉胶;流变;分子动力学模拟

中图分类号:TS202

文献标志码:A

魔芋葡甘聚糖(konjac glucomannan, KGM)是一种水溶性、非离子中性杂多糖. KGM主链由D-葡萄糖单元和D-甘露糖单元按摩尔比1:1.5或1:1.6通过 β -1,4-糖苷键链接而成^[1-3],甘露糖残基上有少量的 β -1,3-糖苷键连接的侧链,分子的乙酰度大约为5%~10%. KGM具有高黏度、良好的生物相容性和生物降解性以及特殊的凝胶性等.当KGM与淀粉、蛋白质、卡拉胶、黄原胶和可德兰胶等共混时具有协同增效作用,形成特殊的质构性质^[4-5],如KGM与黄原胶皆为非凝胶多糖,但是当二者共混

后,可形成凝胶^[6]. KGM已经作为食品原料或添加剂广泛应用于面制品、果酱、仿生食品等食品行业中^[7-9].

卡拉胶(carrageenan)是一类从红藻中提取出来的水溶性多糖硫酸酯的钙、钾、钠、铵盐.根据硫酸酯结合的形态不同,可分为 κ 型(kappa)、 ι 型(iota)、 λ 型(lambda).不同型号具有不同的性质,其中 ι 型卡拉胶在 Ca^{2+} 、 Rb^{+} 和 Cs^{+} 的诱导下可形成具有晶体结构的凝胶^[10-11],而 κ 型卡拉胶(KC)在 K^{+} 诱导下形成凝胶^[12-13], λ 型卡拉胶在 Fe^{3+} 诱

收稿日期:2014-08-30

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31271837);科技部专项研究基金(2012GA7200022);福建省高校产学研重大专项(2013N5003).

作者简介:温成荣,男,博士,主要从事多糖结构与性能方面的研究;

*庞杰,男,研究员,博士,主要从事天然产物化学与应用方面的研究. 通讯作者.

导下形成凝胶^[14]。目前普遍认为卡拉胶中只有 KC 与 KGM 具有协同增效作用^[15],并被广泛应用于果冻等产品。文献对 KC 与 KGM 的相互作用有不同的报道,Cairns 等^[16]认为 KGM 不会改变 KC 结晶区,而有些报道却指出 KGM 与 KC 混合后的 DSC 曲线有两个峰^[17],暗示晶体改变。可见,研究 KGM 与 KC 的相互作用具有重要的理论和实践意义。

热处理是物质间相互作用的最重要方法之一,不同的热处理方式产生不同的作用和产物。前期研究中发现,KGM 与 KC 的共混溶液经过微波处理后流变性发生明显变化,因此,本研究分别制备了不同配比下加热和微波处理的 KGM 与 KC 复合样品,对比二者的动态流变性,并结合分子动力学模拟分析了二者的相互作用位点,以为多糖分子间相互作用的研究提供方法借鉴。

1 材料与方法

1.1 材料

魔芋粉(食品级),云南昭通市三艾有机魔芋发展有限责任公司; κ 型卡拉胶(食品级),烟台协力海洋生物制品有限公司;异丙醇(分析纯),Sigma-Aldrich 有限公司。

1.2 仪器设备

P70F20CL-DG 型微波炉,格兰仕集团;MYP11-2 型恒温磁力搅拌器,上海梅颖浦仪器仪表制造有限公司;ARES-G2 型流变仪,TA 仪器设备有限公司;HAD-VORTEX-5 型漩涡振荡器,北京恒奥德仪器仪表有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 KGM/KC 复合物的制备

将 100 mg 的 KC 和 KGM 分别溶于 200 mL 的双蒸水中,90℃下恒温搅拌 60 min,搅拌过程中每 20 min 补充双蒸水至 200 mL,最终保持 200 mL 的溶液。将溶好的 KGM 溶液缓缓加入到 KC 溶液中(不断搅拌),其中加热处理组在磁力搅拌下加热 90℃,搅拌约 1 h,至溶液为 50 mL,得到 KGM/KC(KK)混合溶液,KGM 与 KC 质量比分别为 2:1,1:1,1:2,并分别记为 A1、A2、A3;微波处理组为将溶胀好的 KGM 溶液缓缓加入到 KC 溶液中,不断搅拌 5 min

后在微波炉中加热 5 min,取出搅拌 2 min 后继续微波处理,不断重复微波搅拌过程至溶液为 50 mL,微波的输出功率为 750 W,频率为 2 450 MHz,KGM 与 KC 质量比分别为 2:1,1:1,1:2,并分别记为 B1、B2、B3。将预冷好的 200 mL 异丙醇溶液倒入所得的混合溶液中,得到絮状物沉淀,将絮状物沉淀在 55℃真空干燥箱中干燥,得到不同的 KK 复合物。

1.3.2 流变测定

称取 0.1 g 的 KK 加入到 10 mL 双蒸水中,放置 12 h 以保证复配物充分分散,再在 90℃下加热,期间不断取出在漩涡振荡器中振荡 1 min,制备成 KK 溶胶,冷却静置备用。采用 40 mm,0.05 rad 锥角的锥板,测量距离为 55 μ m,进行振荡扫描测定。在锥板凹槽中滴入少量的水并盖上保温盖,以防止水分挥发。应变扫描:温度 5℃,频率 1 Hz,应变 0.1%~20%,以得到最佳的线性黏弹区,最终选择应变为 1%进行频率和温度扫描实验。频率扫描:温度为 45,25,5℃,频率 0.1~100 Hz,应变 1%。温度扫描:温度 5~80℃,频率 1 Hz,应变 1%^[18]。

1.3.3 分子动力学模拟

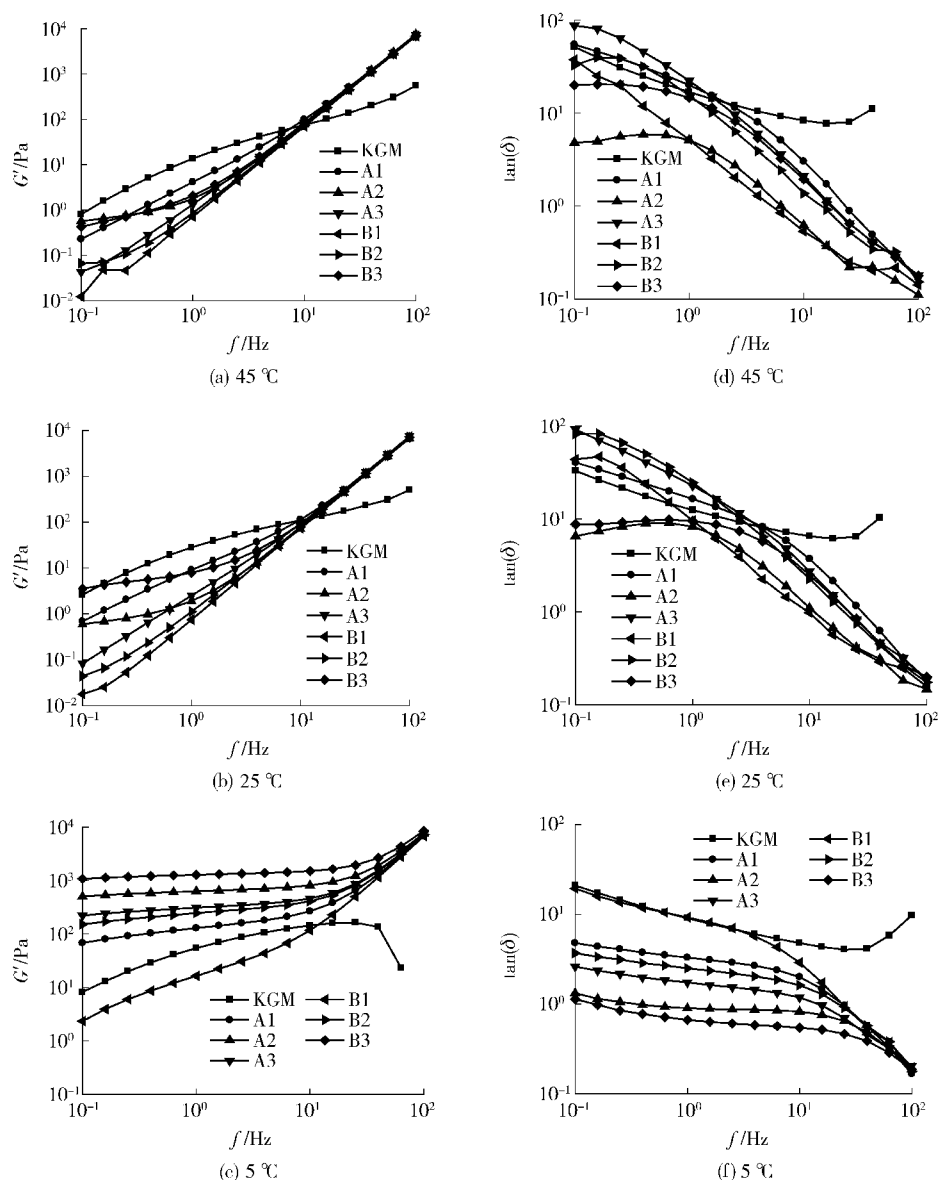
运用分子模拟软件 Material Studio 中的 Visualizer 模块,搭建 β -1,4-糖苷键链接的 KGM 分子基本单元 D-葡萄糖(G)与 D-甘露糖(M)以及乙酰基(AC)、 β -1,3 糖苷键链接的 G-M-AC 支链。搭建好各个分子模型后,选择 PCFF 力场估算每个模拟体系的势能。选用 Discover 模块中的 smart minimize 方法对分子模型进行 5 000 步的优化。参数设置中,精度等级取 Fine,选用 COMPASS 力场,其中能量收敛公差 0.42 J/mol,力收敛公差为 2.1 J/mol,偏转收敛公差为 5×10^{-3} pm,采用 Atom-based cutoffs 技术进行优化。经分子力学优化计算后分别得到各个基本单元的能量最低的 3D 结构模型。

2 结果与分析

2.1 频率依赖性分析

图 1 是 1.0% 的 KK 溶胶在不同温度下(45,25,5℃)对频率的依赖性研究结果,分别从储能模量 G' 和 $\tan(\delta)$ 对频率的双对数关系进行分析。

从图 1(a)、(b)、(c)的 $\lg G' - \lg f$ 曲线可以看



(a)、(b)、(c) 依次为 45, 25, 5 °C 下的 G' ; (d)、(e)、(f) 依次为 45, 25, 5 °C 下 $\tan(\delta)$

图 1 KK 复合物在不同的温度下的频率依赖性

Fig. 1 Frequency dependence of KK at different temperature

出,在 45 °C 和 25 °C 时, KK 复合体系的 $\lg G' - \lg f$ 曲线上升速度较快,而 5 °C 时则相对缓和,说明随着温度的升高,体系对频率的稳定性降低。图 1 (d)、(e)、(f) 的 $\lg \tan(\delta) - \lg f$ 曲线也说明了这一点。对于普通加热的 A1 至 A3 组,在较高温度下,复合体系被破坏,各组之间的储能模量 G' 和 $\tan(\delta)$ 大小没有明显的规律,而在 5 °C 时, G' 的大小依次为 A2、A3、A1, $\tan(\delta)$ 相反,这与文献报道的 KGM 与 KC 共混的最佳比例为 5.5:4.5 基本符合^[15,19];微波处理的 B1 至 B3 发生了变化, G' 主要的趋势由大到小

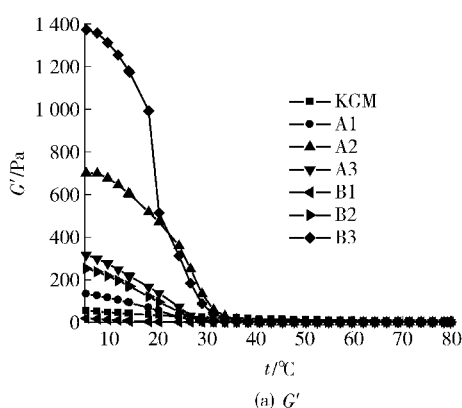
是 B3、B2、B1, $\tan(\delta)$ 则相反。对微波处理与加热处理组进行对比可知, B1 的 G' 总体低于 A1,但在 45 °C 和 25 °C 时, B1 的 $\tan(\delta)$ 也低于 A1; B2 的 G' 总体低于 A2, B2 的 $\tan(\delta)$ 也高于 A2; B3 的 G' 总体大于 A3, $\tan(\delta)$ 也低于 A3。可见随着 KC 比例的增高,微波处理的 KK 流变性增强,有利于 KK 体系性能的提高,如在 25 °C,与 A3 不同, B3 的 $\tan(\delta) < 1$,表明体系趋于形成凝胶态。这可能是因为微波引起卡拉胶降解,硫酸基脱离^[20-21],使部分的 KGM 与 KC 分子形成螺旋结构被破坏,体系流变性降低,而当

KC 浓度提高后,与 KGM 形成螺旋结构的 KC 分子数量增加,并逐渐达到二者最佳复合比例,因此复合体系的凝胶性能增强. 暗示了 KGM 与 KC 分子间的相互作用的主要位点是 KC 分子中的 OSO_3 , KC 分子通过硫酸基与 KGM 分子形成螺旋结构,进一步形成空间凝胶网络结构体系.

2.2 温度模量分析

图 2 是 KK 溶胶在频率 1 Hz,应变 1% 时对温度依赖性的研究结果,升温范围为 5 ~ 80 $^{\circ}\text{C}$.

从图 2 可以看出,经微波处理后的 B3 组在低温时具有最高的 G' (图 2(a)),且 $\tan(\delta)$ 值也与 A2 相



近(图 2(b)),除此之外,经微波处理的 B1 和 B2 组的流变性都不如普通加热的 A1 和 A2. 各实验组的 G' 在 30 $^{\circ}\text{C}$ 左右降低到最低,而 $\tan(\delta)$ 出现拐点的温度却有所不同, B3、A3 和 A2 的拐点温度相对较高;虽然 B3 的 $\tan(\delta)$ 在 30 ~ 40 $^{\circ}\text{C}$ 有个缓和阶段,但在 35 $^{\circ}\text{C}$ 之前就已经大于 1,只有 A2 的 $\tan(\delta)$ 在 40 $^{\circ}\text{C}$ 后才大于 1. 可见 A2 的体系的热稳定最好,分子间相互作用强;而 B3 可能受 KC 分子降解的影响,使 KGM 与 KC 之间存在一定的间隙,故对温度稳定性降低.

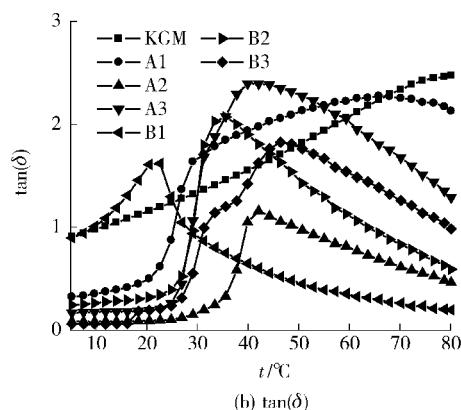


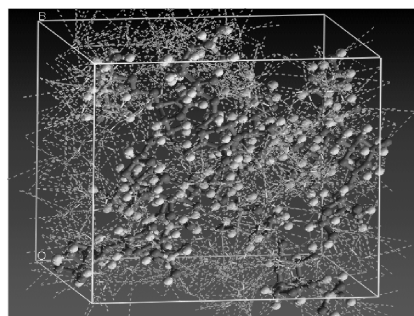
图 2 KK 对温度的依赖性

Fig.2 Temperature dependence of KK

2.3 KK 在水溶液中的氢键分布

葡甘聚糖的水溶液体系主要形成 KGM 与 H_2O 之间的分子间氢键,主要发生在 O(6) 位置以及糖苷键的 O 上^[22],此外还有 M(3) 上的 O(2) 与乙酰基之间通过水形成了氢键,葡甘聚糖分子之间未形成氢键;而卡拉胶的水溶液体系形成的分子间氢键为: O(6)—O(2)、O(6)—O(3,6-内醚键)、O(2)— H_2O 、O(6)— H_2O 、 H_2O — OSO_3 (硫酸基);分子内氢键为: S— H_2O — OSO_3 (硫酸基)、O(2)— OSO_3 (硫酸基). KGM 和 KC 复合体系在水溶液中形成氢键的情况见图 3. 由图 3 可以看出,葡甘聚糖与卡拉胶共混时形成的分子间氢键数明显增多,主要形成的是分子间氢键,这种分子间氢键多通过 OSO_3 来实现. 因此,当 KC 被降解, OSO_3 含量降低时, KGM 与 KC 之间的相互作用位点减少,相互作用减弱,体系流变性受到破坏. 孙玉敬^[23] 通过分子动力学模拟研究

结果表明, κ 型卡拉胶分子与 KGM 分子链间的非键合作用力依次为氢键、静电势和范德华力.



粗的为 KGM 分子,细的 KC 分子

图 3 KGM 和 KC 复合物在水溶液中的氢键分布

Fig.3 Distribution of hydrogen bonds of KGM and KC blends in water solution

通过介观形态动态模拟研究 KGM 与 KC 相互作用时的水分子的状态. KGM 和 KC 复配形成的

凝胶中含有两种状态的水分子,部分水分子和高分子链耦合缠结在凝胶的内部,但是仍有相当部分的水分子以自由水的形式游离于凝胶的表面,这说明了KGM、KC与水分子的相互作用主要是—OH之间形成的弱氢键,以及KGM和KC形成的空间网络结构对水分子的包埋吸附作用,这可能是KGM和卡拉胶复合体系对剪切和温度不稳定的原因。

3 结 论

魔芋葡甘聚糖与 κ 型卡拉胶的协同增效作用在食品工业中,尤其是在果冻、冰淇淋等食品行业中有广泛应用,但二者作用的分子机理尚未明确。我们通过理化实验和分子动力学模拟相结合研究KGM与KC相互作用的位点。考虑到微波会引起KC的 OSO_3 脱离,对比 OSO_3 的有无对KGM与KC复合体系的影响,间接揭示二者的作用位点。

在实验采用的3个配比中,通过微波处理KGM与KC复合物,得到具有最佳流变性的KGM与KC配比为1:2,而普通加热处理的最佳配比为1:1,说明微波对KC的降解影响了KC与KGM之间的协同增效作用, OSO_3 是二者相互作用的重要位点。分子动力学模拟表明,KC与KGM相互作用是通过分子间的氢键作用,且以KC分子中的 OSO_3 基团形成的氢键最为稳定,在二者相互作用中起决定性作用,这暗示了KC可能是KGM与KC复合中的主导部分。

参考文献:

- [1] Bewley J D, Reid J S G. Mannan and glucomannan[M] //Dey P M, Dixon R A. Biochemistry of storage carbohydrates in green plants. New York: Academic Press, 1985:289–304.
- [2] Katsuraya K, Okuyama K, Hatanaka K, et al. Constitution of konjac glucomannan: chemical analysis and ^{13}C -NMR spectroscopy[J]. Carbohydrate Polymers, 2003, 53:183–189.
- [3] Maeda M, Shimahara H, Sugiyama N. Detailed examination of the branched structure of konjac glucomannan[J]. Agricultural and Biological Chemistry, 1980, 44: 245–252.
- [4] Wu C H, Peng S H, Wen C R, et al. Structural characterization and properties of konjac glucomannan/Curdlan blend films[J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 89: 497–503.
- [5] Wang M, Yao M N, Jian W J, et al. Molecular dynamics simulations of the interactions between konjac glucomannan and soy isolate protein[J]. Agricultural Sciences in China, 2010, 9(10): 1538–1542.
- [6] Fitzpatrick P, Meadows J, Ratcliffe I, et al. Control of the properties of xanthan/glucomannan mixed gels by varying xanthan fine structure[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 92(2): 1018–1025.
- [7] Ratcliffe I, Williams P A, Viebke C, et al. Physicochemical characterization of konjac glucomannan[J]. Biomacromolecules, 2005, 6(4): 1977–1986.
- [8] Jin W P, Xu W, Li Z S, et al. Degraded konjac glucomannan by gamma-ray irradiation assisted with ethanol: preparation and characterization[J]. Food Hydrocolloids, 2014, 36: 85–92.
- [9] Zhou Y, Cao H, Hou M, et al. Effect of konjac glucomannan on physical and sensory properties of noodles made from low-protein wheat flour[J]. Food Research International, 2013, 51(2): 879–885.
- [10] Thrimawithana T R, Young S, Alany R G. Effect of cations on the microstructure and in-vitro drug release of κ - and ι -carrageenan liquid and semi-solid aqueous dispersions[J]. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2011, 63(1): 11–18.
- [11] Janaswamy S, Chandrasekaran R. Effect of calcium ions on the organization of iota-carrageenan helices: an X-ray investigation[J]. Carbohydrate Research, 2002, 337: 523–535.
- [12] Hilliou L, Wilhelm M, Yamanoi M, et al. Structural and mechanical characterization of kappa/iota-hybrid carrageenan gels in potassium salt using Fourier Transform rheology[J]. Food Hydrocolloid, 2009, 23(8): 2322–2330.
- [13] Chen Y, Liao M L, Dunstan D E. The rheology of K^+ -kappa-carrageenan as a weak gel[J]. Carbohydrate Polymers, 2002, 50(2): 109–116.
- [14] Rbnnig C A, Falshaw R, Janaswamy S. Trivalent iron induced gelation in lambda-carrageenan[J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 87(4): 2735–2744.

- [15] 谢建华, 庞杰, 林惠清, 等. 魔芋葡甘聚糖-卡拉胶共混膜制备及其性能研究初探[J]. 现代食品科技, 2007(4):26-27.
- [16] Cairns P, Moes M J, Morris V J. X-ray fiber diffraction studies on konjac mannan-kappa carrageenan mixed gels [J]. Carbohydrate Polymers, 1988, 8(2): 99-104.
- [17] Williams P A. Molecular interactions of plant and algal polysaccharides [J]. Structural Chemistry, 2009, 20(2): 299-308.
- [18] 温成荣. 魔芋葡甘聚糖/小分子对结冷胶类糖晶态的影响[D]. 福州:福建农林大学, 2014.
- [19] 何东保, 彭学东, 詹东风. 卡拉胶与魔芋葡甘聚糖协同相互作用及其凝胶化的研究[J]. 高分子材料科学与工程, 2001(2):28-30.
- [20] 刘丽红, 谢晓琼, 谢苗, 等. 微波处理对卡拉胶结构性质的影响[J]. 广东化工, 2003(5):16-19.
- [21] 刘鹏, 刘钟栋, 顾采琴, 等. 微波辐射对几种增稠剂性质影响的研究[J]. 中国食品添加剂, 2012(4): 84-86.
- [22] Pang J, Sun Y J, Yang Y H, et al. Studies on hydrogen bonding network structures of konjac glucomannan [J]. Journal of Chinese Structural Chemistry, 2008(4): 431-436.
- [23] 孙玉敬. 葡甘聚糖微结构的分子动力学模拟[D]. 福州:福建农林大学, 2006.

Studies on Konjac Glucomannan and Carrageenan Interaction Sites Based on Stable System

WEN Chengrong^{1,2}, FU Liquan³, XIE Bingqing³, CONG Suang^{1,2}, PANG Jie^{3,*}

(1. College of Food, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China;

2. National Engineering Research Center of Seafood, Dalian 116034, China;

3. College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: The synergy effect of konjac glucomannan(KGM) and κ -Carrageenan (KC) is one of an important research fields of polysaccharide interactions. The study of their interaction site can help to reveal many essential problem of the system, and it also plays a key role in the building and application of stable network system. The changes of KGM and KC blends rheological property in three ratios with microwave and heating process were studied, and their action sites were also measured through rheometer and molecular dynamics simulation, respectively. The results showed that the interaction between KGM and KC was changed after microwave treatment. The higher was the KC concentration, the better of their interaction. The hydrogen bonds between OSO_3 of KC and KGM molecular were the main forces to maintain the complex system stable, which indicated that the OSO_3 residue was the main KC and KGM interaction site. These results suggested that KC played a dominant role in KGM and KC composite system.

Key words: konjac glucomannan; carrageenan; rheology; molecular dynamics simulation

(责任编辑:叶红波)