

# 可德兰多糖-阿魏酸接枝共聚物的制备工艺优化

王紫薇, 蔡吴丹, 闫景坤\*

(江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013)

**摘要:** 采用自由基介导的接枝方法制备可德兰多糖-阿魏酸 (FA) 接枝共聚物, 通过单因素试验考察 FA 添加量、维生素 C (Vc) 添加量、过氧化氢 ( $H_2O_2$ ) 浓度和反应时间对接枝率和得率的影响, 在此基础上, 利用正交试验设计进一步优化接枝共聚物的制备工艺参数。研究表明, 可德兰多糖-阿魏酸接枝共聚物制备的最佳工艺条件为: 25 mL 5 mg/mL 可德兰多糖溶液, FA 和 Vc 添加量分别为 250 mg 和 50 mg,  $H_2O_2$  浓度 5 mol/L, 反应时间 12 h, 此时, 可德兰多糖-FA 接枝共聚物的接枝率和得率均最大, 分别为 98.62 mg FA/g 和 40.84%, 并通过紫外和红外光谱验证了接枝反应的发生。因此, 该方法不仅改善了可德兰多糖的理化特性, 而且能够提高可德兰多糖-FA 接枝共聚物的接枝率, 为其在食品工业中的应用奠定了理论基础。

**关键词:** 可德兰多糖; 阿魏酸; 自由基介导; 接枝共聚

文章编号: 1673-9078(2021)09-179-185

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.9.1100

## Synthetic Optimization of Ferulic Acid/Curdlan Graft Copolymers

WANG Zi-wei, CAI Wu-dan, YAN Jing-kun\*

(School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

**Abstract:** A free-radical-mediated grafting method was used to prepare ferulic acid (FA)/curdlan graft copolymers. The effects of FA and vitamin C (Vc) addition, hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) concentration, and reaction time on the grafting ratio and yield of FA/curdlan graft copolymers were investigated using single factor experiments. Accordingly, the synthetic parameters of FA/curdlan graft copolymers were further optimized through orthogonal experiments. The results demonstrated that the optimal process conditions for the preparation of FA/curdlan graft copolymers included 25 mL of 5 mg/mL curdlan solution, 250 mg of FA, 50 mg of Vc, 5 mol/L  $H_2O_2$ , and a reaction time of 12 h. Under these conditions, the highest grafting rate and yield of the FA/curdlan graft copolymers of 98.62 mg FA/g and 40.84%, respectively, were obtained. Grafting was also confirmed by ultraviolet and infrared spectroscopy analyses. Therefore, the proposed preparation technique not only improved the physicochemical properties of curdlan, but also increased the grafting ratio of the graft copolymers. The findings of this study provide a theoretical foundation for the practical applications of curdlan in food industry.

**Key words:** curdlan; ferulic acid; free radical-mediated; grafting

引文格式:

王紫薇, 蔡吴丹, 闫景坤. 可德兰多糖-阿魏酸接枝共聚物的制备工艺优化[J]. 现代食品科技, 2021, 37(9): 179-185, +85

WANG Zi-wei, CAI Wu-dan, YAN Jing-kun. Synthetic optimization of ferulic acid/curdlan graft copolymers [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(9): 179-185, +85

可德兰多糖是一种由微生物发酵产生的胞外多糖<sup>[1]</sup>, 在食品领域可用作稳定剂、增稠剂等<sup>[2]</sup>, 但由于其刚性的三螺旋结构使其不溶于冷水<sup>[3]</sup>, 进而限制了其在食品工业中的应用。可德兰多糖分子内和分子间氢键的相互作用是其不溶于水的主要原因, 但是可德兰多糖分子链上又存在大量的羟基<sup>[4]</sup>, 可通过对羟基进行

收稿日期: 2020-11-27

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31671812)

作者简介: 王紫薇 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品碳水化合物结构、功能与应用, E-mail: 1416236182@qq.com

通讯作者: 闫景坤 (1980-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 食品碳水化合物结构、功能与应用, E-mail: jkyan\_27@163.com

化学修饰, 来获得具有独特理化性质和生物活性的可德兰多糖衍生物。目前, 可德兰多糖的化学改性方法主要包括羧甲基化<sup>[5]</sup>、氧化<sup>[6]</sup>、硫酸化<sup>[7,8]</sup>、磷酸化、阳离子化等。

近年来, 多糖-酚酸接枝共聚的方法因其具备不仅能结合酚酸类化合物和多糖的优点, 还可以赋予接枝共聚物新的功能与特性的特点而备受关注。目前, 用于制备接枝共聚物的方法主要包括: 碳二亚胺化学交联法、酶催化接枝法、电化学法和自由基介导接枝法<sup>[9]</sup>。其中, 自由基介导接枝法因具有经济、环保、安全以及可避免酚酸在反应过程中的降解和氧化等优点<sup>[10]</sup>, 已成功用于许多多糖-酚酸接枝共聚物的制备, 如

菊粉-没食子酸<sup>[11]</sup>、壳聚糖-咖啡酸<sup>[12]</sup>、壳聚糖-阿魏酸<sup>[13]</sup>、普鲁兰-阿魏酸<sup>[14]</sup>等。

因此,为了改善可德兰多糖的理化特性,拓宽其在食品工业中的应用范围。本文采用自由基介导的接枝方法制备可德兰多糖-阿魏酸(FA)接枝共聚物。通过单因素试验,研究FA添加量、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度、Vc添加量及反应时间对可德兰多糖-FA接枝共聚物接枝率和得率的影响;在此基础上,采用L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验设计优化可德兰多糖-FA接枝共聚物制备的工艺参数,确定最佳制备工艺条件和最高接枝率。此外,通过紫外光谱和红外光谱对可德兰多糖-FA接枝共聚物进行定性分析。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

可德兰多糖购于日本Wako Pure化学公司;FA、福林酚试剂(Folin-Ciocalteu)购于美国Sigma公司;过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)购于上海阿拉丁试剂有限公司;维生素C(Vc)、无水Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、NaOH等购于国药集团化学试剂有限公司;超纯水,实验室自制。

TE-124型电子天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;BS-124S型分析天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;PHS-3C pH计,上海理达仪器厂;真空冷冻干燥机,宁波新芝生物科技股份有限公司;台式高速冷冻离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;Nexus670红外光谱仪,美国Nicolet仪器公司;UV-1601紫外可见分光光度计,北京瑞利分析仪器公司。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 可德兰多糖溶液的制备

可德兰多糖溶液的制备参照Li等<sup>[15]</sup>的碱溶酸中和处理的方法,并稍作修改。将2g可德兰多糖溶解在200mL 1.0mol的NaOH溶液中,在室温条件下磁力搅拌6h,直至可德兰多糖完全溶解,然后用等体积的1.0mol HCl溶液将溶液调至中性,放置4℃冰箱过夜,使其充分水化,备用。

#### 1.2.2 可德兰多糖-FA接枝共聚物的制备

可德兰多糖-FA接枝共聚物的制备参照Liu等<sup>[16]</sup>的方法,并稍作修改。准确量取25mL 5mg/mL水化完全的可德兰多糖溶液于三颈瓶中,分别加入不同质量的Vc和FA,在氮气保护下先磁力搅拌30min,然后逐滴加入1mL不同浓度的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>溶液,在氮气保护下反应不同的时间。反应结束后,用4倍体积95%乙

醇沉淀,放入4℃冰箱中静置过夜,8000r/min离心10min,收集沉淀,用去离子水复溶、蒸馏水透析(分子截留量:6~8ku)48h,冻干,即得接枝共聚物固体。接枝共聚物的得率按式1计算:

$$\text{可德兰多糖-FA接枝共聚物的得率}/\% = \frac{M}{m_1 + m_2} \times 100\% \quad (1)$$

其中, $m_1$ 为可德兰多糖的添加量,mg; $m_2$ 为FA的添加量,mg; $M$ 为冻干后接枝共聚物的质量,mg。

#### 1.2.3 接枝率的测定

根据Folin-Ciocalteu法测定可德兰多糖-FA接枝共聚物的接枝率<sup>[17]</sup>。准确配制0.1mg/mL的样品溶液15mL,取4mL样品溶液于试管中,加入1mL 0.2M Folin-Ciocalteu试剂,充分混匀,3min后,加入3mL 2%的Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液,间断性振摇2h。在4000r/min的条件下离心8min,于760nm下测定样品溶液的吸光值,每个样品重复测三次。在相同条件下,制作FA的标准曲线,制得标准曲线的回归方程为 $y=0.0257x+0.0082$ ( $R^2=0.9991$ )。接枝率按式2计算得到。

$$\text{可德兰多糖-FA接枝共聚物的接枝率}/\% = \frac{m_1}{m_2} \times 100\% \quad (2)$$

其中, $m_1$ 为可德兰多糖-FA接枝共聚物中FA的质量; $m_2$ 为接枝共聚物的质量。

#### 1.2.4 单因素试验

##### 1.2.4.1 FA的添加量

保持Vc的加入量(50mg)、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度(5mol/L)以及可德兰多糖溶液的浓度与体积(25mL, 5mg/mL)不变,根据FA与可德兰多糖的质量比,添加不同质量的FA(100、150、200、250、300mg),在氮气保护的条件下反应8h后,得到五种不同的混合溶液,分别经过醇沉、离心、复溶、透析、冻干,得到不同FA添加量的可德兰多糖-FA接枝共聚物。计算接枝共聚物的得率,并采用Folin-Ciocalteu法测定接枝共聚物的接枝率。

##### 1.2.4.2 Vc的添加量

保持FA的加入量(200mg)、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度(5mol/L)和可德兰多糖溶液的体积与浓度(25mL, 5mg/mL)不变,加入不同质量的Vc(30、40、50、60、70mg),在氮气保护的条件下反应8h后,得到五种不同的混合溶液,分别经过醇沉、离心、复溶、透析、冻干,得到不同Vc添加量的可德兰多糖-FA接枝共聚物。计算接枝共聚物的得率,并采用Folin-Ciocalteu法测定接枝共聚物的接枝率。

##### 1.2.4.3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>的浓度

保持FA的加入量(200mg)、Vc的加入量(50mg)

以及可德兰多糖溶液的体积与浓度(25 mL, 5 mg/mL)不变,添加不同浓度的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液(1、3、5、7、9 mol/L),在氮气保护的条件下反应 8 h 后,得到五种不同的混合溶液,分别经过醇沉、离心、复溶、透析、冻干,得到不同 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 添加量的可德兰多糖-FA 接枝共聚物。计算接枝共聚物的得率,并采用 Folin-Ciocalteu 法定接枝共聚物的接枝率。

#### 1.2.4.4 反应时间

保持 FA 的加入量(200 mg)、Vc 的加入量(50 mg)、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度(5 mol/L)以及可德兰多糖溶液的体积与浓度(25 mL, 5 mg/mL)不变,在氮气保护的条件下,经过不同的反应时间(1、4、8、12、16 h),得到五种不同的混合溶液,分别经过醇沉、离心、复溶、透析、冻干,得到不同反应时间的可德兰多糖-FA 接枝共聚物。计算接枝共聚物的得率,并采用 Folin-Ciocalteu 法定接枝共聚物的接枝率。

#### 1.2.5 正交试验设计

根据单因素试验的结果,可初步确定每组单因素中的最优条件。为了得到更高接枝率的可德兰多糖-FA 接枝共聚物,以接枝率为指标,选取每组单因素中最佳水平附近的点,进行 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交试验,对可德兰多糖-FA 接枝共聚物的制备工艺进行优化。

#### 1.2.6 紫外光谱分析

准确称取制得的接枝共聚物溶于去离子水中,配制 0.1 mg/mL 的可德兰多糖-FA 接枝共聚物的水溶液,将可德兰多糖溶于 1 mol/L 的 NaOH 溶液中,配制 0.1 mg/mL 的可德兰多糖溶液,同时用无水乙醇配制 0.01 mg/mL 的 FA 溶液,在 200~400 nm 波长范围内进行紫外扫描分析。

#### 1.2.7 FT-IR 分析

处理前后的可德兰多糖以及阿魏酸的 FT-IR 通过 Nicolet 670 FT-IR 光谱仪进行测定。称取 1 mg 可德兰多糖样品、FA 和可德兰多糖-FA 接枝共聚物,样品与溴化钾按照质量比 1:100 进行混合,压片,在 500~4000 cm<sup>-1</sup> 的波长范围内扫描,分辨率为 4°/min。

#### 1.2.8 水溶性的测定

可德兰多糖-阿魏酸接枝共聚物水溶性的测定参照 Bai<sup>[18]</sup>的方法。准确称取 100 mg 可德兰多糖-阿魏酸接枝共聚物固体溶解于 5 mL 去离子水中,在室温下搅拌 12 h,然后在转速为 8000 g 的条件下离心 10 min,除去未溶解的可德兰多糖-阿魏酸接枝共聚物固体,将上清液在 105 °C 下烘干至恒重,按式(1.3)计算可德兰多糖-阿魏酸接枝共聚物的水溶性。

$$\text{水溶性}/\% = \frac{m}{M} \times 100\% \quad (3)$$

其中, m 为上清液中可德兰多糖-阿魏酸接枝共聚物的质量; M 为初始可德兰多糖-阿魏酸接枝共聚物固体的质量。

### 1.3 统计分析

每个试验重复三次,采用 Excel、SPSS 和 OriginPro 8.5 软件对试验数据进行分析处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 可德兰多糖-FA 接枝共聚物的形成机理

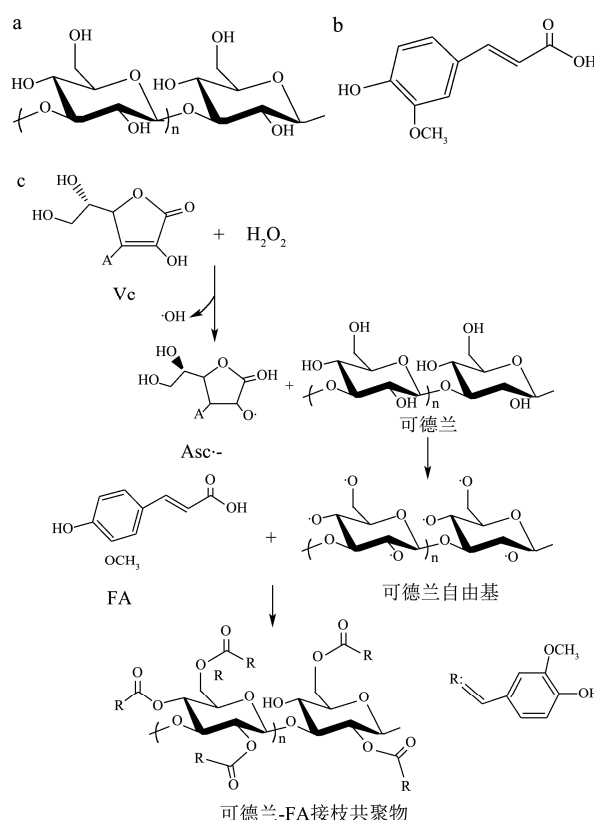


图1 可德兰多糖-FA 接枝共聚物的合成机理

Fig.1 Synthesis mechanism of FA-grafted curdolan conjugates

注:(a)可德兰多糖的化学结构;(b)FA 的化学结构;(c)利用 Vc/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 氧化还原体系介导的接枝法合成接枝共聚物的可能路线。

在多糖-酚酸接枝共聚物的制备方法中,Vc/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 氧化还原对因具有经济环保、价格低廉等优点而被广泛使用<sup>[10,19]</sup>。在本研究中,利用 Vc/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 氧化还原对,在氮气保护下,通过自由基介导的方式,将 FA 成功接枝到可德兰多糖上,其合成机理如图 1 所示<sup>[20]</sup>。Vc 与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 在室温下反应生成 Asc• 和 •OH。然后,生成的这些自由基(Asc• 和 •OH)攻击可德兰多糖羟基中的氢原子,从而在可德兰多糖链中形成大分子自由基。最后,FA 分子通过共价键的方式与可德兰多糖大分子自由基形成可德兰多糖-FA 接枝共聚物。

## 2.2 单因素试验分析

### 2.2.1 FA 添加量的影响

由图 2 可知,在其他条件保持一定的情况下,接枝共聚物的接枝率随着 FA 添加量的增加而增加,从 11.78 mg FA/g 增加到 58.87 mg FA/g。这可能是由于随着 FA 添加量的增加,大量的 FA 单体分子在可德兰多糖主链附近聚集,与可德兰多糖发生反应的 FA 增多而提高接枝率<sup>[21]</sup>。当 FA 添加量大于 200 mg 时,可德兰多糖-FA 接枝共聚物的接枝率呈现出下降的趋势。在较高的添加量下,接枝率不但没有增加,反而逐渐降低。这可能是由于 FA 分子在反应体系中达到了饱和,或者是由于 FA 添加量的逐渐增加,使反应达到了动态的化学平衡<sup>[22]</sup>。由此可见,FA 添加量的进一步增加对接枝率没有产生促进作用。同时,随着 FA 添加量的增加,得率逐渐减少。因此,选取 FA 添加量为 200 mg 作为最佳的反应量。

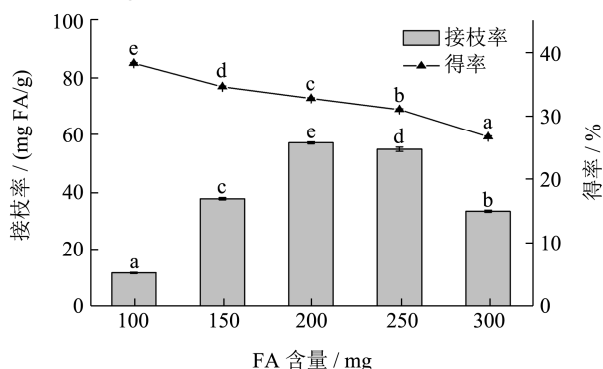


图 2 FA 添加量对可德兰多糖-FA 接枝共聚物的接枝率和得率的影响

Fig.2 Effect of FA amount on grafting rate and yield of FA-grafted curdlan conjugates

注:不同字母表示显著性差异,  $p < 0.05$ , 图 3~5、8 同。

### 2.2.2 Vc 添加量的影响

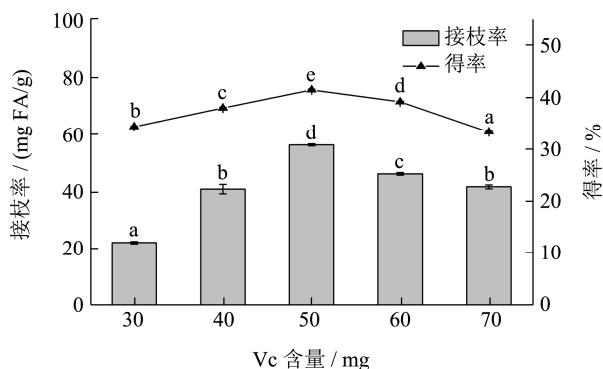


图 3 Vc 添加量对可德兰多糖-FA 接枝共聚物的接枝率和得率的影响

Fig.3 Effect of Vc amount on grafting rate and yield of FA-grafted curdlan conjugates

由图 3 可知,在其他条件不变的情况下,可德兰多糖-FA 接枝共聚物的接枝率随着 Vc 添加量的增加,呈现先增加后减小的趋势,在 50 mg 时,接枝率达到最大,为 56.03 mg FA/g。接枝共聚物的得率随着 Vc 添加量的增加,也呈现先增加后减小的趋势,在 50 mg 时,接枝共聚物的得率最大为 56.03 mg FA/g。因此,选取 Vc 添加量为 50 mg 进行正交优化试验。

### 2.2.3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度的影响

由图 4 可知, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的浓度对接枝共聚物的接枝率和得率均有影响。随着 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度的增加,接枝共聚物的接枝率呈现先增大后减小的趋势,在浓度为 5 mol/L 时,接枝率达到最大,为 78.87 mg FA/g。然而,当 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的浓度大于 5 mol/L 时,接枝率会骤然下降,这可能是因为过量的·OH 存在,会通过氧化阻碍接枝反应,或者降解可德兰多糖的分子链<sup>[23]</sup>,从而降低了接枝共聚物的接枝率。此外,接枝共聚物的得率也呈现先缓慢增加后减小的趋势。因此,选取 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度为 5 mol/L 作为最佳条件进行正交优化试验。

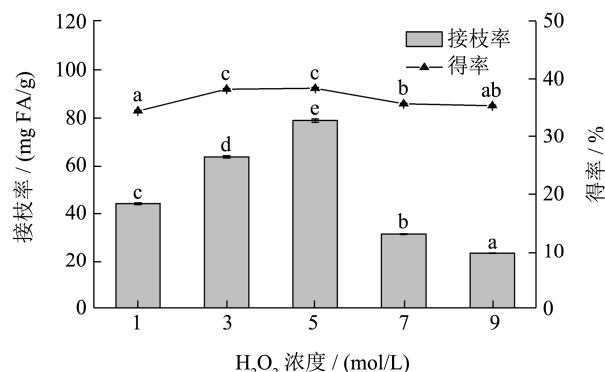


图 4 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度对可德兰多糖-FA 接枝共聚物的接枝率和得率的影响

Fig.4 Effect of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration on grafting rate and yield of FA-grafted curdlan conjugates

### 2.2.4 反应时间的影响

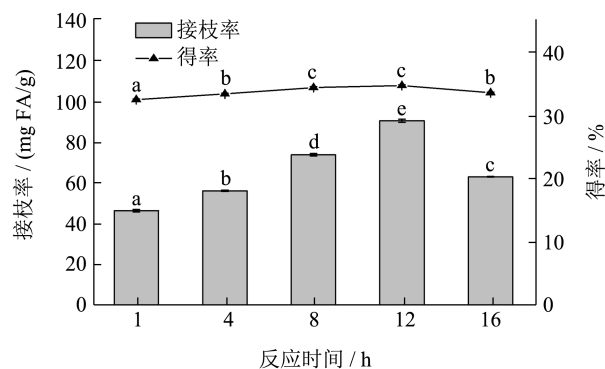


图 5 反应时间对可德兰多糖-FA 接枝共聚物的接枝率和得率的影响

Fig.5 Effect of reaction time on grafting rate and yield of FA-grafted curdlan conjugates

表1 因素水平表

Table 1 Factor level table

水平	A	FA 添加量/mg	B	Vc 添加量/mg	C	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 浓度/(mol/L)	D	反应时间/h
1		150		40		3		8
2		200		50		5		12
3		250		60		7		16

表2 正交试验与结果

Table 2 Orthogonal experiment and results

试验号	A	FA 添加量/mg	B	Vc 添加量/mg	C	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 浓度/(mol/L)	D	反应时间/h	接枝率/(mg FA/g)
1		1(150)		1(40)		1(3)		1(8)	37.46
2		1		2(50)		2(5)		2(12)	71.36
3		1		3(60)		3(7)		3(16)	45.05
4		2(200)		1		2		3	50.97
5		2		2		3		1	36.35
6		2		3		1		2	52.85
7		3(250)		1		3		2	69.46
8		3		2		1		3	96.85
9		3		3		2		1	66.96
K <sub>1j</sub>		153.87		157.89		187.16		140.77	
K <sub>2j</sub>		140.17		204.56		189.29		193.67	
K <sub>3j</sub>		233.27		150.86		150.86		192.87	
$\bar{K}_{1j}$		51.29		52.63		62.39		46.92	
$\bar{K}_{2j}$		46.72		68.19		63.10		64.56	
$\bar{K}_{3j}$		77.76		50.29		50.29		64.29	
R <sub>j</sub>		31.04		17.90		12.81		17.64	
主次顺序	A>B>D>C								
优水平	A <sub>3</sub>		B <sub>2</sub>		C <sub>2</sub>		D <sub>2</sub>		
优组合	A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub> D <sub>2</sub>								

由图5可知,接枝共聚物的接枝率和得率随着反应时间的延长,均呈现先增大后减小的趋势,当反应时间为12 h时,接枝率和得率均达到最大,分别为90.87 mg FA/g和34.67%。这说明反应时间适当的延长,有助于增加接枝共聚物的合成量,但反应时间过长,可能会加速反应物或接枝产物的降解,从而使得接枝率和得率都呈现下降趋势<sup>[24]</sup>。Liu等<sup>[25]</sup>曾报道制备壳聚糖-没食子酸接枝共聚物的最佳反应时间为12 h,这与本研究结果相类似。因此,选择12 h为最佳的反应时间。

### 2.3 正交试验结果分析

以单因素试验选取的FA添加量、Vc添加量、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度和反应时间(分别以A、B、C、D表示)四个因素为自变量,以接枝率为指标,进行四因素三水平正交试验。正交试验因素水平表见表1。

表2为试验结果以及极差分析。由表2中的极差

分析可知,对可德兰多糖-FA接枝共聚物的接枝率影响因素从大到小的顺序依次为FA添加量、Vc添加量、反应时间、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度。根据表2中接枝率平均数据分析可得接枝率最高的因素组合为A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>,即FA添加量为250 mg、Vc添加量为50 mg、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>浓度为5 mol/L、反应时间为12 h。采用最优组合A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>C<sub>2</sub>D<sub>2</sub>,进行三次验证试验,得到可德兰多糖-FA接枝共聚物的接枝率为98.62 mg FA/g,得率为40.84%,高于正交表中的最高值(96.85 mg FA/g),因此选择最优组合,制备可德兰多糖-FA接枝共聚物。

### 2.4 光谱分析

图6和图7分别为可德兰多糖、FA和可德兰多糖-FA接枝共聚物的紫外光谱和红外光谱图。从图6可以看出,与原始可德兰多糖相比,可德兰多糖-FA接枝共聚物分别在295 nm和312 nm处出现了与FA相似的特征吸收峰,这说明FA成功接枝到可德兰多糖

链上,这与 Woranuch 等<sup>[26]</sup>的研究结果相一致。从图 7 也可以看出,FA 在 1517 cm<sup>-1</sup>有特征吸收峰<sup>[27]</sup>,而原始可德兰则没有,与可德兰多糖的光谱图相比,可德兰多糖-FA 接枝共聚物的光谱图(图 7c)在 1514 cm<sup>-1</sup>处而出现了一个新的特征吸收峰,归属于 FA 的 C=C 芳环的振动,这与紫外光谱的分析结果相一致,进一步说明 FA 共价接枝到可德兰多糖链上。

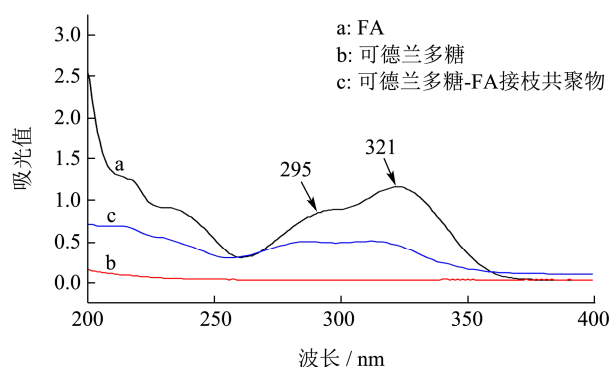


图 6 可德兰多糖、FA 和可德兰多糖-FA 接枝共聚物的紫外光谱

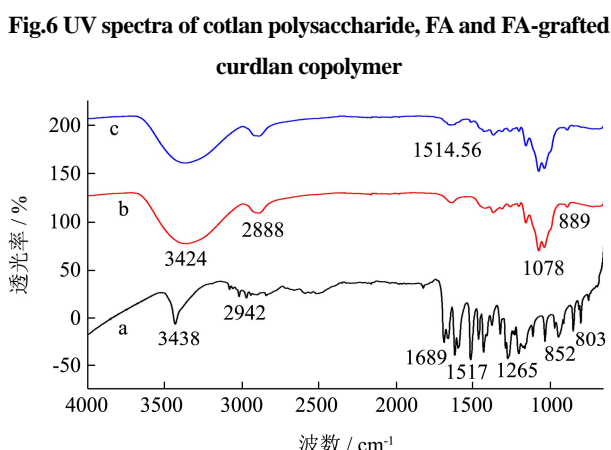


图 7 可德兰多糖、FA 和可德兰多糖-FA 接枝共聚物的红外光谱

Fig.7 Infrared spectra of curdlan, FA and FA-grafted curdlan copolymer

注: a: 阿魏酸; b: 可德兰多糖; c: 可德兰多糖-FA 接枝共聚物。

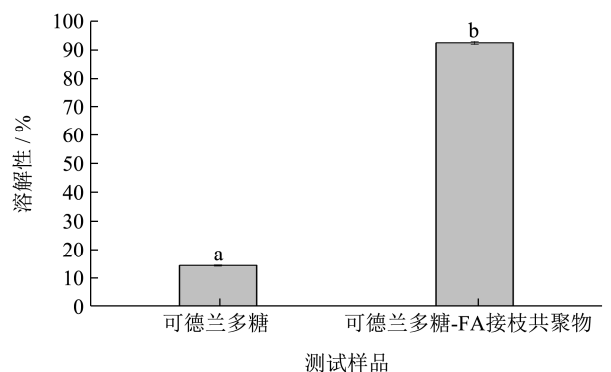


图 8 可德兰多糖及其接枝共聚物样品水溶性分析图

Fig.8 Water solubility analysis diagram of the samples of curdlan polysaccharide and its graft copolymer

## 2.5 水溶性分析

图 8 为可德兰多糖及其接枝共聚物的水溶性变化情况。从图中可以看出,经碱溶酸中和处理的可德兰多糖在常温下表现出一定的水溶性,其水溶性为 14.30%。而经过接枝反应后,接枝共聚物表现出很好的水溶性,为 92.5%,这一结果表明,接枝反应可以大大的改善可德兰多糖的溶解性。

## 3 结论

3.1 通过 Vc/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 氧化还原体系,在氮气保护下,能够成功地将 FA 分子接枝到可德兰多糖的分子链上,形成可德兰多糖-FA 接枝共聚物。

3.2 单因素试验研究表明,FA 添加量为 200 mg, Vc 添加量为 50 mg, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度为 5 mol/L,反应时间为 12 h 时,可德兰多糖-FA 接枝共聚物的接枝率达到最高为 90.87 mg FA/g,此时,接枝共聚物的得率为 40.84%。

3.3 正交试验设计结果表明,可德兰多糖-FA 接枝共聚物制备的最佳工艺条件为:FA 添加量 250 mg, Vc 添加量 50 mg, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度 5 mol/L,反应时间 12 h,此时,可德兰多糖-FA 接枝共聚物的接枝率为 98.62 mg FA/g。

3.4 紫外光谱和红外光谱分析表明,FA 共价接枝到可德兰多糖分子链上,并且经溶解性分析,知接枝共聚反应可提高多糖的水溶性。

## 参考文献

- [1] 丛峰松,张洪斌,张维杰.可德胶及其在食品和医药领域上的应用[J].食品科学,2004,25(11):432-435  
CONG Feng-song, ZHANG Hong-bin, ZHANG Wei-jie. The properties of curdlan and its applications in food and pharmaceutical fields [J]. Food Science, 2004, 25(11): 432-435
- [2] CHEN Ji-zhong, Seviour R. Medicinal importance of fungal  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3), (1 $\rightarrow$ 6)-glucans [J]. Mycological Research, 2007, 111(6): 635-652
- [3] Deslandes Y, Marchessault R H, Sarko A. Packing analysis of carbohydrates and polysaccharides. 13. Triple-helical structure of (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glucan [J]. Macromolecules, 1980, 13(6): 1466-1471
- [4] Marchessault R H, Deslandes Y. Fine structure of (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glucans: curdlan and paramylon [J]. Carbohydrate Research, 1979, 75: 231-242
- [5] YANG Jin, ZHANG Hong-bin, YIN Yi-mei, et al.

- Comparison of curdlan and its carboxymethylated derivative by means of rheology, DSC, and AFM [J]. Carbohydrate Research, 2006, 341(1): 90-99
- [6] YAN Jing-kun, MA Hai-le, CAI Pan-fu, et al. Structural characteristics and antioxidant activities of different families of 4-acetamido-TEMPO-oxidised curdlan [J]. Food Chemistry, 2014, 143: 530-535
- [7] Takashi Y, Yuichi Y, Uryu T, et al. Synthesis and structural analysis of curdlan sulfate with a potent inhibitory effect *in vitro* of AIDS virus infection [J]. Macromolecules, 1990, 23(16): 3717-3722
- [8] 金毅明.硫酸化可德兰多糖作为树突状细胞疫苗佐剂在实验性肝癌免疫治疗中的作用及机制研究[D].济南:山东大学,2019
- JIN Yi-ming. Study on the effect and mechanism of curdlan sulfate used as an dendritic cell vaccine adjuvant in the experimental hepatocellular carcinoma immunotherapy. [D]. Jinan: Shandong University, 2019
- [9] LIU Jun, PU Hui-min, LIU Shuang, et al. Synthesis, characterization, bioactivity and potential application of phenolic acid grafted chitosan: a review [J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 174: 999-1017
- [10] Curcio M, Puoci F, Iemma F, et al. Covalent insertion of antioxidant molecules on chitosan by a free radical grafting procedure [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(13): 5933-5938
- [11] Daniel A C, Rosa M, Octavio D, et al. Electron paramagnetic resonance study of hydrogen peroxide/ascorbic acid ratio as initiator redox pair in the inulin-gallic acid molecular grafting reaction [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 136: 350-357
- [12] 濮慧敏.自由基介导的壳聚糖-咖啡酸接枝共聚物的合成机理及抗氧化活性研究[D].扬州:扬州大学,2018
- PU Hui-min. Reaction mechanisms and antioxidant activity of caffeic acid grafted chitosan mediated by free radicals [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2018
- [13] Chatterjee N S, Anandan R, Navitha M, et al. Development of thiamine and pyridoxine loaded ferulic acid-grafted chitosan microspheres for dietary supplementation [J]. Journal of Food Science and Technology, 2016, 53(1): 551-560
- [14] 黄对对,韦庆益,袁尔东,等.阿魏酸-普鲁兰多糖接枝共聚物的制备及其抗氧化活性研究[J].现代食品科技,2016,32(4): 150-155
- HUANG Dui-dui, WEI Qing-yi, YUAN Er-dong, et al. Preparation, characterization, and antioxidant properties of ferulic acid-grafted-pullulan [J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 32(4): 150-155
- [15] LI Jing, ZHU Li, ZHENG Zhi-yong, et al. A new effective process for production of curdlan oligosaccharides based on alkali-neutralization treatment and acid hydrolysis of curdlan particles in water suspension [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, 97(19): 8495-8503
- [16] LIU Jun, LU Jian-feng, KAN Juan, et al. Preparation, characterization and antioxidant activity of phenolic acids grafted carboxymethyl chitosan [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 62: 85-93
- [17] Chatterjee N S, Panda S K, Navitha M, et al. Vanillic acid and coumaric acid grafted chitosan derivatives: improved grafting ratio and potential application in functional food [J]. Journal of Food Science and Technology, 2015, 52(11): 7153-7162
- [18] Bai W, Shah F, Wang Q, et al. Dissolution, regeneration and characterization of curdlan in the ionic liquid 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 130: 922-927
- [19] LIU Jun, WEN Xiao-yuan, LU Jian-fu, et al. Free radical mediated grafting of chitosan with caffeic and ferulic acids: structures and antioxidant activity [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 65(5): 97-106
- [20] CAI Wu-dan, ZHU Jie, WU Li-xia, et al. Preparation, characterization, rheological and antioxidant properties of ferulic acid-grafted curdlan conjugates. [J]. Food Chemistry, 2019, 300: 125221
- [21] LIU Jun, LU Jian-fu, KAN Juan, et al. Synthesis of chitosan-gallic acid conjugate: structure characterization and *in vitro* anti-diabetic potential [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013, 62: 321-329
- [22] WU Chun-hua, WANG Li-ping, FANG Zhong-xiang, et al. The effect of the molecular architecture on the antioxidant properties of chitosan gallate [J]. Marine Drugs, 2016, 14(5): 95
- [23] Naim A A, Umar A, Sanagi M M, et al. Chemical modification of chitin by grafting with polystyrene using ammonium persulfate initiator [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 98(2): 1618-1623
- [24] LIU Jun, WANG Xing-chi, YONG Hui-min, et al. Recent advances in flavonoid-grafted polysaccharides: synthesis, structural characterization, bioactivities and potential applications [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 116: 1011-1025

