

KGM/XG 复合凝胶的制备及性能研究

陈立贵, 蒋鹏 (陕西理工学院材料科学与工程学院, 陕西汉中 723003)

摘要 [目的] 确定 KGM/XG 复合凝胶的最佳合成条件。[方法] 以魔芋葡甘聚糖(KGM)和 黄原胶(XG) 为主要原料合成了生物可降解复合凝胶 KGM/XG, 探讨了 KGM 和 XG 的共混比例及反应温度对凝胶平衡溶胀比和凝胶强度的影响。[结果] KGM/XG 复合凝胶的溶胀比在溶胀初期增加很快, 随着溶胀时间的延长, 溶胀比增加变慢, 最后达到平衡; 凝胶的平衡溶胀比随着反应温度的升高逐渐增加, 而 KGM 含量对凝胶平衡溶胀比影响不大; 凝胶强度随 XG 含量的增加和反应温度的升高逐渐增加, 当 XG 含量为 70%、反应温度为 75 °C 时, 凝胶强度最大。[结论] KGM/XG 复合凝胶的最佳合成温度为 75 °C, XG 的适宜含量为 70%。

关键词 魔芋葡甘聚糖; 黄原胶; 溶胀比; 凝胶强度

中图分类号 TB324, TQ050.4⁺25 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)30-14576-02

Preparation of Complex Gel KGM/XG and Study on Its Performance

CHEN Li-gui et al (College of Materials Science and Engineering, Shaanxi University of Science and Technology, Hanzhong, Shaanxi 723003)

Abstract [Objective] The aim was to determine the optimum synthesis condition for complex gel KGM/XG. [Method] With Konjac Glucomannan (KGM) and xanthan gum (XG) as the main materials, the biological degradable complex gel KGM/XG was synthesized, and the effects of mixed ratio of KGM and XG and reaction temperature on equilibrium swelling ratio and gel strength of the complex gel were studied. [Result] The swelling ratio of the complex gel increased rapidly at the initial stage of swelling, and with the delay of swelling time, its swelling ratio increased slowly, and the swelling ratio reached the equilibrium finally. The equilibrium swelling ratio of the complex gel was increased gradually with the increase of the reaction temperature, but KGM content had little effect on it. The gel strength was increased with the increase of XG content and reaction temperature, when XG content was 70% and reaction temperature was 75 °C, the gel strength was the biggest. [Conclusion] The optimum synthesis temperature of complex gel preparation KGM/XG was 75 °C, and the suitable content of XG was 70%.

Key words KGM; XG; Swelling ratio; Gel strength

魔芋葡甘聚糖(KGM)是主链由 D-甘露糖和 D-葡萄糖以 β -1,4 吡喃糖苷键连接的杂多糖^[1], 具有化学稳定性、良好的生物相容性、吸湿性、亲水性和生物可降解性^[2-7], 在医药、食品、化工、农业等领域极具开发应用前景。黄原胶(XG)^[8]是由黄单胞菌经厌氧生物发酵产生的一种高分子阴离子生物多糖, 由 D-葡萄糖、D-甘露糖、D-葡萄糖醛酸、丙酮酸和乙酸组成的“五糖重复单元”聚合而成, 分子主链由 D-葡萄糖以 β -1,4-糖苷键连接而成, 具有类似纤维素式的骨架结构, 每 2 个葡萄糖中的 1 个 C₃ 上连接有 1 个由 2 个甘聚糖和 1 个葡萄糖醛酸组成的三糖侧链。其进入体内后对各脏器均不产生任何损害性效应, 是一种公认的安全高分子^[9-10]。黄原胶在药物控释、食用胶等方面均有广泛应用^[11-12]。

考虑到魔芋葡甘聚糖和黄原胶来源丰富、易生物降解且对机体无毒副作用, 以及两者易产生协同作用而形成凝胶。笔者以魔芋葡甘聚糖和黄原胶为主要原料制备了 KGM/XG 复合凝胶, 以期得到一种新型的生物可降解凝胶材料, 并讨论了主要合成条件、反应温度对凝胶溶胀性能及凝胶强度的影响。

1 材料与方法

1.1 试剂 魔芋精粉(陕西汉中, 葡甘聚糖含量 >95%, 粒度 80 目); 黄原胶(化学纯, 中国医药(集团)上海化学试剂公司); 其他试剂均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 魔芋葡甘聚糖/黄原胶复合凝胶的制备。 首先用苯/无水乙醇(4:1, V/V)混合液对魔芋精粉抽提脱脂 48 h, 然后

用氯仿/正丁醇(5:1, V/V)混合液脱脂脱蛋白 48 h, 得脱脂脱蛋白魔芋葡甘聚糖, 储存备用。

将 1.0 g 纯化魔芋葡甘聚糖和 1.0 g 黄原胶分别加入 25 ml 蒸馏水中搅拌均匀, 放置 1 h 后于 75 °C 水浴中共混并恒温 45 min, 然后取出室温放置 2 h, 最后于 60 °C 烘箱中干燥至恒重, 即得魔芋葡甘聚糖/黄原胶复合凝胶, 储存备用。

改变魔芋葡甘聚糖与黄原胶的混和比例(质量之和为 2 g)以及反应温度, 重复上述试验操作。

1.2.2 水凝胶溶胀动力学及平衡溶胀比的测定。 将质量为 W_0 的干凝胶浸泡在 25 °C、pH 值为 7.4 的磷酸缓冲溶液中, 每隔一定时间取出(用滤纸轻轻吸去表面带出的溶液)称重(设此时凝胶的质量为 W_t), 继续于溶液中溶胀, 直至凝胶质量不再增加(设此时凝胶的质量为 W_e), 即达到溶胀平衡。

通过测定不同时刻凝胶的质量 W_t , 考察其溶胀动力学, 用下式计算凝胶的平衡溶胀比:

$$Q_e = (W_e - W_0) / W_0$$

1.2.3 凝胶强度的测定。 将横截面积为 1 cm² 的有机玻璃棒垂直固定在 1 个支架上, 并使其与放在托盘天平左盘烧杯里的凝胶表面接触, 在天平右盘里慢慢添加砝码直至凝胶表面破裂, 此时砝码的质量(数值)为凝胶单位面积上所承受的压力, 即凝胶强度值。每样品测量 3 次取平均值。

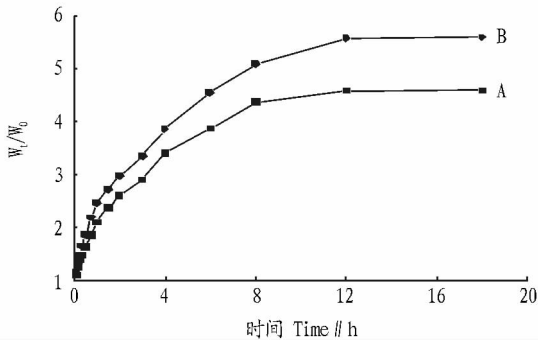
2 结果与分析

2.1 水凝胶的溶胀动力学 图 1 给出了魔芋葡甘聚糖/黄原胶不同混合比例所得复合凝胶在 25 °C、pH 值 7.4 磷酸缓冲溶液中的溶胀动力学曲线。由图 1 可知, 在溶胀初期, 溶胀比(W_t/W_0)增加很快, 随着溶胀时间的延长, 溶胀比增加变缓; 溶胀 12 h 后, 溶胀比基本不发生变化, 即达到溶胀平衡, 此时对应的溶胀比为平衡溶胀比 Q_e 。

基金项目 陕西理工学院科研基金资助项目(SLGQD0748)。

作者简介 陈立贵(1978-), 男, 湖北利川人, 硕士, 讲师, 从事可降解高分子材料的制备及性能测试和天然高分子改性研究。

收稿日期 2009-06-23



注:A. KGM 1.6 g, XG 0.4 g, 75 °C; B. KGM 1.4 g, XG 0.6 g, 75 °C。
Note: A. KGM 1.6 g, XG 0.4 g, 75 °C; B. KGM 1.4 g, XG 0.6 g, 75 °C。

图1 魔芋葡甘聚糖/黄原胶复合凝胶(25 °C, pH 值 7.5)的溶胀动力学曲线

Fig.1 Swelling kinetics of KGM/XG hydrogel in PBS buffer solution of pH 7.4 at 25 °C

2.2 不同反应条件对凝胶平衡溶胀比及凝胶强度的影响

为了优化凝胶的合成条件,探讨反应条件对合成凝胶溶胀性能的影响,该试验研究了共混比例、反应温度对凝胶溶胀行为的影响。

表1 不同魔芋葡甘聚糖/黄原胶混和比例对凝胶平衡溶胀比和强度的影响

Table 1 Influence of the ratio of KGM and XG on the equilibrium swelling ratio and the strength of hydrogel

序号 Code	魔芋葡甘聚糖/黄原 胶//g: g KGM / XG	凝胶强度//g/cm ² Strength of hydrogel	平衡溶胀比 Q _e Equilibrium swelling ratio
A1	0.4/1.6	300	6.8
A2	1.6/1.4	303	6.7
A3	0.8/1.2	226	6.5
A4	1.0/1.0	180	6.2
A5	1.2/0.8	130	5.9
A6	1.4/0.6	93	5.4
A7	1.6/0.4	50	5.0

由表1可知,随着黄原胶含量的增加,水凝胶的强度逐渐增加;当黄原胶含量达到70%时,凝胶强度达到最大值,继续增加黄原胶的用量,凝胶强度略有下降。说明魔芋葡甘聚糖与黄原胶共混比例合适时,分子间相互作用力才能达到最大,两者的协同效应才最明显。由表1还可知,随着魔芋葡甘聚糖含量的增加,凝胶的平衡溶胀比略有增加,但其变化不大。

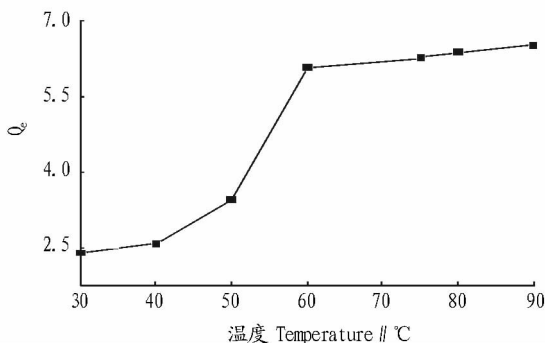


图2 反应温度对凝胶(KGM 0.6 g, XG 1.4 g)平衡溶胀比的影响
Fig.2 Influence of reaction temperature on hydrogel's low equilibrium swelling ratio(KGM 0.6 g, XG 1.4 g)

由图2可知,随着温度的升高,凝胶的平衡溶胀比逐渐增加,当温度低于50 °C时,溶胀率偏小,这主要是因为温度较低,凝胶强度不高,容易解体。而当温度高于60 °C时,凝胶的平衡溶胀比虽有所增加,但增加速率下降,说明温度高于60 °C时,凝胶的平衡溶胀比受温度影响不大。因此,复合凝胶的适宜反应温度应在60 °C以上。

由图3可知,随着反应温度的升高,凝胶强度逐渐增加。当温度达到75 °C时,凝胶强度达到最大值。若继续升高温度,凝胶强度反而下降。这主要是因为黄原胶从有序态(螺旋结构)到无序态(无规线团)的转变温度为42 °C左右,只有当温度大于42 °C时,无序分子才会增多,这种无序分子可与魔芋多糖分子绞合在一起,若温度继续升高达到75 °C时,多糖分子间的相互作用力达到最大。当温度高于75 °C时,多糖部分降解,凝胶强度反而有所下降。因此,复合凝胶的最适反应温度为75 °C。

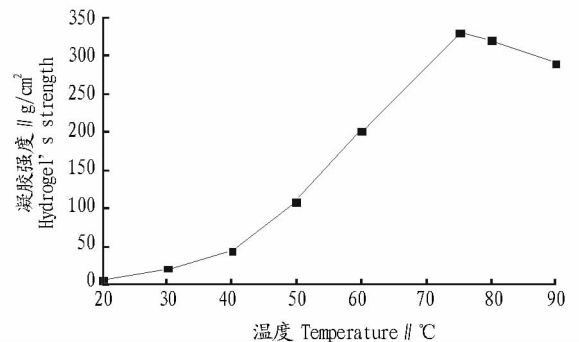


图3 反应温度对凝胶(KGM 0.6 g, XG 1.4 g)强度的影响
Fig.3 Influence of reaction temperature on hydrogel's strength (KGM 0.6 g, XG 1.4 g)

3 结论

(1) 该研究以天然高分子魔芋葡甘聚糖和黄原胶为主要原料,制备了一种新型的生物可降解的复合凝胶。

(2) 魔芋葡甘聚糖/黄原胶复合凝胶的溶胀比在溶胀初期增加很快,随着溶胀时间的延长,溶胀比增加逐渐变慢,最后达到平衡,溶胀比不再增加。

(3) 凝胶的平衡溶胀比随着反应温度的升高而逐渐增加,而魔芋葡甘聚糖的含量对凝胶的平衡溶胀比影响不大。

(4) 凝胶的强度随着黄原胶含量的增加和反应温度的升高逐渐增加,当温度达到75 °C时,凝胶强度最大。

参考文献

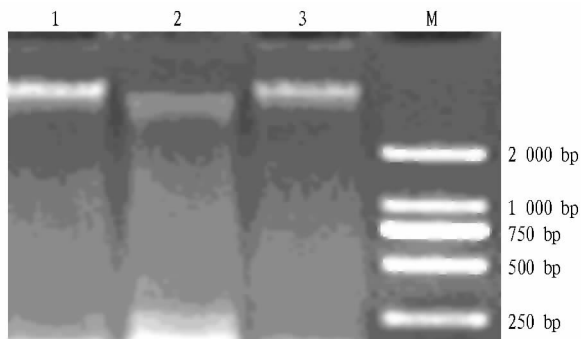
- [1] 陈秀敏,傅德贤,欧阳藩. 魔芋葡甘聚糖化学结构及改性研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2001, 14(2): 65-68.
- [2] LIU Z L, HU H, ZHUO R X. Konjac glucomannan-graft-acrylic acid hydrogels containing azo crosslinker for colon-specific delivery [J]. Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry, 2004, 42(17): 4370-4378.
- [3] CHEN L G, LIU Z L, ZHUO R X. Synthesis and properties of degradable hydrogels of konjac glucomannan grafted acrylic acid for colon specific drug delivery [J]. Polymer, 2005, 46(16): 6274-6281.
- [4] CHEN LG, LIU Z L, CHEN Y J, et al. Synthesis and characterization of phosphated konjac glucomannan hydrogels [J]. Chinese Chemical Letters, 2005, 16(12): 1652-1654.
- [5] 陈立贵, 王忠, 付蕾, 等. 魔芋葡甘聚糖聚丙烯酸水凝胶的溶胀动力学及性能影响因素[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(29): 9134-9135.
- [6] 陈立贵, 王忠, 付蕾, 等. 魔芋葡甘聚糖的磷酸酯化改性研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(33): 10841-10842.
- [7] 陈立贵, 袁新强, 王忠, 等. 三偏磷酸三钠对魔芋葡甘聚糖的改性研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(5): 1767-1769.

中;加入 180 μ l 预冷的异丙醇,混匀,然后于 -20°C 放置 15 ~ 30 min,再于 4°C 、8 000 r/min 离心 5 min,弃去上清液;加入 500 μ l TE,加入等体积的氯仿:异戊醇(24:1),混匀,于 4°C 、12 000 r/min 离心 5 min,转移上层水相于新管中;加入 1/10 体积 2.5 mol/L NaAc,2 倍体积无水乙醇, -20°C 放置 15 ~ 30 min,于 4°C 、12 000 r/min 离心 5 min,弃去上清液;用 70% 乙醇洗涤沉淀并干燥,加入 30 ~ 50 μ l 无菌水,溶解后于 -20°C 保存备用。

1.2.5 PCR 扩增。以 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 为引物进 PCR 扩增。

2 结果与分析

2.1 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测结果 3 种方法提取得到的 DFRKN-1 基因组 DNA 采用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳,紫外灯下观察 DNA 条带,结果见图 1。由图 1 可知, KI 法提取的 DNA 具有 1 条清晰明亮的条带,其他 2 种方法提取的 DNA 条带较模糊。



注: M 为标准 DNA; 1 表示 KI 法提取所得 DNA; 2 表示 CTAB 法提取所得 DNA; 3 表示 SDS 法提取所得 DNA。下图同。

Note: M. Standard DNA; 1. DNA extracted with KI method; 2. DNA extracted with CTAB method; 3. DNA extracted with SDS method.

图 1 琼脂糖凝胶电泳检测

Fig. 1 Agarose gel electrophoresis detection

2.2 PCR 产物电泳检测结果 以 3 种不同方法提取的基因组 DNA 作模板,用 ITS 引物进行特异性扩增,利用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳进行检测,紫外灯下观察 DNA 条带,结果见图 2。由图 2 可知,3 种方法提取的 DNA 均能扩增出目的片段,该片段大小约为 700 bp。

3 结论与讨论

高质量的基因组 DNA 是进行各项分子操作的基础。在提取基因组 DNA 的过程中,多糖、蛋白质及酚类等次生代谢物及 RNA 的去除,直接决定了 DNA 的质量。3 种基因组

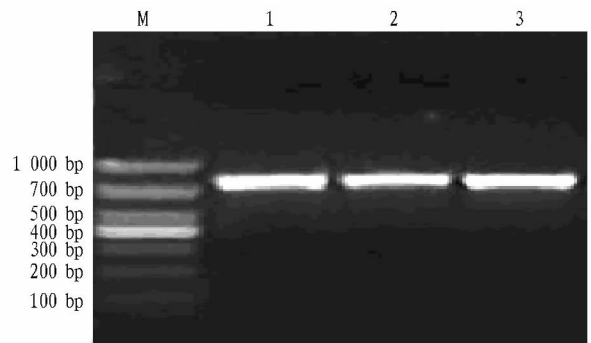


图 2 PCR 产物电泳检测

Fig. 2 PCR products electrophoresis detection

DNA 提取方法的主要差别在于提取液成分及样品与提取液混匀后的处理。提取液成分的差别主要在于细胞裂解的试剂不同,而样品与提取液混匀后处理方法的差异主要是处理的温度和时间不同。KI 法非常简便,常温混匀后即可添加 9 g/L NaCl 与氯仿:异戊醇(24:1)进行离心,而其余 2 种方法均需要 50°C 以上的温度进行处理,还需要较长时间的振荡混匀。3 种方法中, KI 法最为简便,全过程约 2.0 h; CTAB 法和 SDS 法则较为复杂,全过程需要 3.5 h 以上。该研究结果表明, KI 法是提取 DFRKN-1 基因组 DNA 的首选方法。

参考文献

- [1] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [2] 汪来发, 杨宝君, 李传道. 根结线虫生物防治研究进展[J]. 南京林业大学学报, 2002, 26(1): 64 - 68.
- [3] 付鹏. PGPR 菌株防治蔬菜根结线虫病的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2005.
- [4] 张靠稳, 刘军涛. 一株真菌分离物对根结线虫致病性的研究[J]. 北方园艺, 2008(12): 173 - 174.
- [5] 郝会海, 李燕玲, 杜志军, 等. 利用简化的 SDS 法提取杨树基因组 DNA[J]. 河北林果研究, 2006, 21(4): 363 - 366.
- [6] 段国峰, 肖千文. 杜鹃花属植物基因组 DNA RAPD-PCR 反应体系的优化[J]. 山西农业大学学报: 自然科学版, 2008, 28(2): 136 - 138.
- [7] 赵书平, 张俊洁, 杨玉红, 等. 用碘化钾提取基因组 DNA[J]. 临床检验杂志, 2000, 18(1): 38.
- [8] SHI K M, ZHOU Y F. An improved method of extracting *Artemisia abrotanum* genomic DNA[J]. Agricultural Science & Technology, 2008, 9(2): 36 - 38.
- [9] YAN M M, WEI G C, PAN X H, et al. A method suitable for extracting genomic DNA from animal and plant - Modified CTAB method[J]. Agricultural Science & Technology, 2008, 9(2): 39 - 41.
- [10] 孟淑春, 张海英, 郑晓鹰, 等. 大白菜基因组 DNA 的提取及 AFLP 反应体系的建立[J]. 分子植物育种, 2008, 6(2): 370 - 376.
- [11] WANG H Q, KONG Q J, REN X Y, et al. Isolation of *Chlorella vulgaris* and its DNA extraction methods[J]. Agricultural Science & Technology, 2008, 9(4): 44 - 46.
- [12] 陈华, 徐小彪, 易干军, 等. 猕猴桃基因组 DNA 不同提取方法的研究[J]. 江西农业大学学报, 2005, 27(1): 12 - 16.

(上接第 14577 页)

- [8] 崔孟忠. 生物高分子黄原胶的性能、应用及功能[J]. 高分子通报, 2003(3): 23 - 28.
- [9] 李兴存. 黄原胶性能与应用[J]. 牙膏工业, 2002(4): 48 - 51.
- [10] 杨永利. 槐豆胶的流变性及黄原胶协同性的研究[J]. 天然产物研究

与开发, 1995, 7(3): 29 - 32.

- [11] 许喜林, 司国海峰, 陈维均. 除细胞法产生黄原胶[J]. 食品科学, 1998, 25(1): 1.
- [12] 徐世艾. 黄原胶的制备[J]. 食品与发酵工业, 1999, 26(5): 56 - 61.