

高取代度魔芋葡甘聚糖磷酸酯的干法制备

王洋^{1,2}, 叶阳², 李斌^{2*}, 谢笔钧² (1. 武汉循环经济研究院, 湖北武汉 430081; 2. 华中农业大学食品科技学院, 湖北武汉 430070)

摘要 [目的] 研究高取代度魔芋葡甘聚糖磷酸酯的干法制备, 为其多糖衍生物实际应用于絮凝、离子交换等领域提供参考。[方法] 以细化的魔芋粉为原料, 以 NaH_2PO_4 和 Na_2HPO_4 混合物为磷酸酯化试剂, 在干法条件下, 制备魔芋葡甘聚糖磷酸酯, 并采用正交试验法优化魔芋葡甘聚糖磷酸酯最佳工艺。[结果] 正交试验结果表明, 影响魔芋葡甘聚糖磷酸酯取代度因素次序依次为磷酸盐用量 > 反应温度 > 反应时间 > 磷酸盐配比 > 催化剂用量 > pH 值。制备高取代度魔芋葡甘聚糖磷酸酯的最佳工艺条件: 磷酸盐用量为 3.50%, 反应温度为 170 °C, 反应时间为 4 h, NaH_2PO_4 和 Na_2HPO_4 摩尔比为 1:2, 催化剂用量为 3.00%, pH 值为 4.00; 魔芋葡甘聚糖磷酸酯取代度达 0.17。[结论] 该方法获得较高取代度的魔芋葡甘聚糖磷酸酯可以应用于实际生产。

关键词 魔芋葡甘聚糖; 磷酸酯化; 取代度; 干法制备

中图分类号 TS211 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)25-12173-03

Dry Preparation of Konjac Glucomannan Phosphate Ester with High Degree of Substitution

WANG Yang et al (Wuhan Circular Economy Institute, Wuhan, Hubei 430070)

Abstract [Objective] The aim was to research the dry preparation of konjac glucomannan phosphate ester with high degree of substitution, and provide reference for application of its polysaccharide derivatives in flocculation, ion exchange and other fields. [Method] Taking refined konjac powder as raw material, taking the mixture of NaH_2PO_4 and Na_2HPO_4 as phosphate esterification reagent, the konjac glucomannan phosphate ester was prepared under the dry condition, and the optimal process of konjac glucomannan phosphate ester was optimized by orthogonal test method. [Result] The result of orthogonal test showed that the factor orders of affecting the substitution degree of konjac glucomannan phosphate ester were that: phosphate amount > reaction temperature > reaction time > ratio of phosphate > catalyst amount > pH value. The optimal process condition of preparing the konjac glucomannan phosphate ester with high degree of substitution was that: the phosphate amount was 3.50%, the reaction temperature was 170 °C, the reaction time was 4 h, the ratio of NaH_2PO_4 and Na_2HPO_4 was 1:2, the catalyst amount was 3.00% and pH value was 4.00. The substitution degree of konjac glucomannan phosphate ester reached to 0.17. [Conclusion] This method can get konjac glucomannan phosphate ester with high degree of substitution and can be applied in practical production.

Key words Konjac glucomannan; Phosphate esterification; Degree of substitution; Dry preparation

目前, 关于淀粉的磷酸化改性已有较多报道, 但对魔芋葡甘聚糖(KGM)的磷酸化改性研究尚不多见。Liu 利用三偏磷酸钠对 KGM 进行交联改性, 将其作为结肠靶向药物载体^[1], Cuna 则利用磷酸化 KGM 包覆壳聚糖制备蛋白质药物的纳米载体^[2]; Xie 利用磷酸酯化 KGM 制备获得了絮凝剂, 絮凝效果随酯化度的提高而增大^[3-5]; Chen 利用三偏磷酸钠改性 KGM 获得了降解性能优异的水凝胶^[6-8]。这些都说明对于魔芋这一林产作物, 经磷酸化改性可以大大扩展其用途。然而, 上述研究大都采用湿法改性, 成本相对较高, 受 KGM 水溶性的限制, 对酯化反应的规律性缺乏探讨, 取代度不高, 均低于 0.02^[3-4,9]。因此, 笔者直接以细化的魔芋微粉为原料, 以 NaH_2PO_4 和 Na_2HPO_4 混合物为磷酸酯化试剂, 在干法条件下, 实现了较高取代度 KGM 磷酸酯的低成本制备, 取代度高达 0.17, 旨在促进其在絮凝剂、离子交换剂等领域的实际应用。

1 材料与方

1.1 材料与试剂 魔芋微粉(KF), 160~200 目, 产自湖北建始农泰产业有限责任公司, KGM 含量 95.60%; NaH_2PO_4 、 Na_2HPO_4 、尿素、钼酸铵等均为国产分析纯。

1.2 主要仪器设备 PHS-25 型数字酸度计; DZF-6050 型真空干燥箱; SHB-III 循环水式多用真空泵。

1.3 试验方法

1.3.1 样品的制备。 一定配比的 NaH_2PO_4 和 Na_2HPO_4 溶

于 60.00 ml 35.00% 乙醇(V/V)中, 以 H_3PO_4 调节 pH 值为 2.00~7.00, 加入 20.00 g 纯化魔芋微粉, 40 °C 水浴中恒温浸泡 1 h, 将滤饼于 90 °C 下真空干燥至水份含量为 10.00%~15.00%, 再置于 120~170 °C 下反应 1~6 h。热反应结束后的产品用 50.00%~90.00% 乙醇(V/V)梯度洗脱^[10], 60 °C 热风干燥后, 置于干燥器中保存。

1.3.2 KGM 磷酸酯化工艺的优化。 选取反应温度、反应时间、反应 pH 值、磷酸化试剂量、催化剂量、磷酸化试剂配比 6 个因素, 采用 $L_{18}(3^7)$ 正交试验法, 优化 KGM 磷酸酯化最佳工艺。试验因素及水平设计见表 1。

表 1 $L_{18}(3^7)$ 正交试验因素水平Table 1 Factors and levels of $L_{18}(3^7)$ orthogonal experiment

水平 Level	因素 Factor					
	温度//°C Temperature	时间//h Time	pH 值 pH value	试剂量//% Reagent quantity	催化剂//% Catalyzer	配比 Proportion
1	150	3.0	4.00	2.50	1.00	1:1
2	160	3.5	4.50	3.00	2.00	1:2
3	170	4.0	5.00	3.50	3.00	1:3

1.3.3 取代度的测定。 KGM 磷酸酯磷含量的测定参考 GB 12092-89, 取代度按以下公式计算:

$$DS = \frac{P/30.97}{(100 - 3.32 \times P)/162} = \frac{5.23 \times P}{100 - 3.32 \times P}$$

其中, P 代表结合磷质量分数。

2 结果与分析

2.1 各因素对 KGM 磷酸酯化的影响

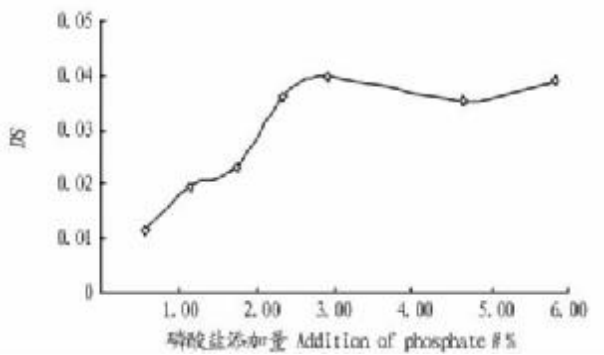
2.1.1 磷酸盐用量对取代度的影响。 由图 1 可知, 当磷酸盐添加量低于 2.91% 时, 随着磷酸盐添加量的增加, 取代度显著增加, 反应效率较高; 当磷酸盐添加量高于 2.91%, 再增加磷酸盐添加量, 取代度基本维持不变。这是由于当浓度增

基金项目 国家“863”项目(2007AA10Z310)。

作者简介 王洋(1982-), 男, 湖北黄冈人, 硕士研究生, 研究方向: 天然高分子改性。*通讯作者, 教授, 博士生导师, E-mail: libinfood@mail.hzau.edu.cn。

收稿日期 2009-05-04

加到 2.91% 时, KGM 磷酸酯化反应所需的磷酸盐达到饱和, 再增加试剂量取代度也不会增加。因此, 选定磷酸盐添加量为 KGM 的 2.91%。



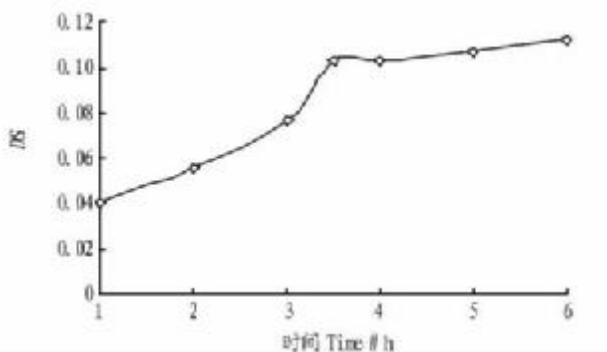
注: 反应时间为 3 h; 尿素为 2%; pH 值为 6.00; NaH_2PO_4 与 Na_2HPO_4 摩尔比为 5.7:1.0^[11]; 反应温度为 150 °C。

Note: Reaction time is 3 h, urea amount is 2%, pH value is 6.00, the molar ratio of NaH_2PO_4 to Na_2HPO_4 is 5.7:1.0^[11] and the reaction temperature is 150 °C.

图 1 磷酸盐添加量对取代度的影响

Fig.1 Effect of phosphate addition on DS

2.1.2 反应时间对取代度的影响。反应时间对 KGM 磷酸酯取代度的影响如图 2 所示, 随着反应时间的延长, 取代度也随之增加。这是由于反应时间越长, 酯化反应进行得越充分, 取代度也越高。但在 3.5 h 以后, 取代度增加幅度趋于平缓, 此时, 反应物浓度减小, 反应效率降低。



注: 磷酸盐添加量为 2.91%; 尿素为 2%; pH 值为 6.00; 反应温度为 150 °C。

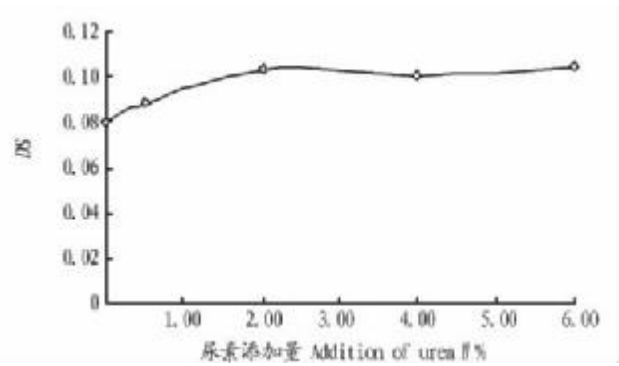
Note: The addition of phosphate is 2.91%, urea amount is 2%, pH value is 6.00, the reaction temperature is 150 °C.

图 2 反应时间对取代度的影响

Fig.2 Effect of reaction time on DS

2.1.3 催化剂(尿素)用量对取代度的影响。由图 3 可知, 加入一定量的尿素可以加快反应速率, 但尿素的添加量超过 KGM 的 2.00% 时, KGM 磷酸酯取代度维持不变。该试验之所以选择尿素为催化剂, 是因为尿素在反应过程中能促使 KGM 分子中的葡萄糖、甘露糖残基打开 H 键, 游离出 -OH, 可加快反应速度, 但随着尿素量的增加, 尿素也与 KGM 分子反应, 从而与磷酸盐试剂争夺 -OH, 取代度也不会增加^[12]。

2.1.4 pH 值对取代度的影响。pH 值对 KGM 磷酸酯取代度的影响如图 4 所示, 在较低 pH 值情况下, 取代度相对较低, pH 值为 2.00 时, KGM 甚至出现较严重的碳化现象; 在较



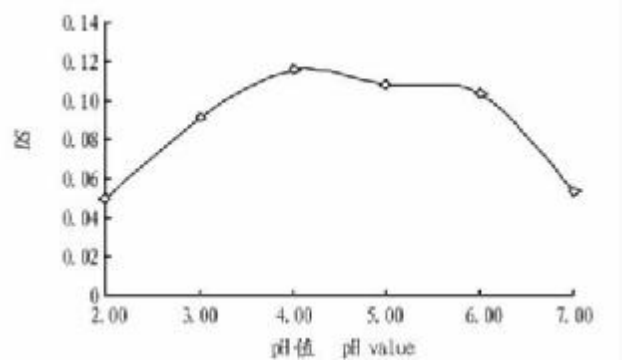
注: 磷酸盐添加量为 2.91%; 反应时间为 3.50 h; pH 值为 6.00; 反应温度为 150 °C。

Note: Phosphate addition is 2.91%, reaction time is 3.50 h, pH value is 6.00, the reaction temperature is 150 °C.

图 3 尿素添加量对取代度的影响

Fig.3 Effect of urea addition on DS

高 pH 值情况下, 取代度也相对较低。根据多糖酯化反应的机理, 在合适 pH 值时, 合适浓度的 H^+ 能促进酯化反应的发生, 过低过高的 pH 值都不利于酯化反应的进行, 在该反应条件下, 最适宜的酸度条件为 pH = 4.00。



注: 磷酸盐添加量为 2.91%; 反应时间为 3.50 h; 尿素为 2%; 反应温度为 150 °C。

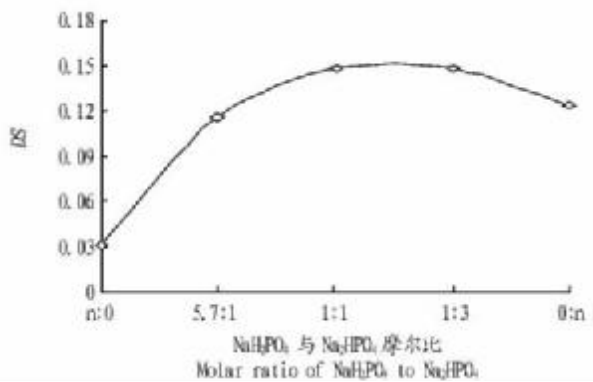
Note: Phosphate addition is 2.91%, reaction time is 3.50 h, urea amount is 2%, the reaction temperature is 150 °C.

图 4 反应 pH 值对取代度的影响

Fig.4 Effect of reaction pH value on DS

2.1.5 正磷酸盐配比对取代度的影响。 NaH_2PO_4 与 Na_2HPO_4 的摩尔比对 KGM 磷酸酯的取代度的影响如图 5 所示, 取代度随着 NaH_2PO_4 所占比例的减少先增加后缓慢减少; 只使用 NaH_2PO_4 作磷酸化试剂时, 取代度最小, DS 为 0.03; NaH_2PO_4 与 Na_2HPO_4 的摩尔比为 1:3 时, 取代度最大, DS 为 0.148, 可能是在此比例下, 体系中 H^+ 浓度达到一个最适宜值, 底物反应活性最强。

2.1.6 反应温度对取代度的影响。由图 6 可知, 随着温度的升高, 取代度也随之增加。温度对 KGM 磷酸酯化反应的影响包括 2 个方面: ①反应温度升高会促使 KGM 分子间的 H 键断裂, 从而使更多的磷酸酯化试剂分子接触 KGM 的 -OH, 有利于亲核酯化反应的进行; ②温度的升高会使分子运动速率加快, 使磷酸盐试剂与 KGM 分子的碰撞几率增加, 有利于磷酸基团与 KGM 的 -OH 结合, 故取代度也相应增加。但并不是温度越高越好, 温度过高 KGM 焦化严重, 影响产品质量。为了得到高取代度的 KGM 磷酸酯, 但又要让产



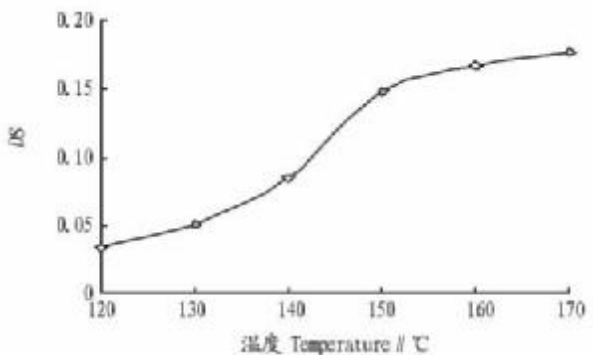
注:磷酸盐添加量为 2.91%;反应时间为 3.50 h;pH 值为 4.00;尿素为 2%;反应温度为 150 ℃。

Note:Phosphate addition is 2.91%, reaction time is 3.5 h, urea amount is 2%, pH value is 4.00, reaction temperature is 150 ℃.

图 5 NaH₂PO₄ 与 Na₂HPO₄ 摩尔比对取代度的影响

Fig. 5 Effect of molar ratio of NaH₂PO₄ to Na₂HPO₄ on DS

品的颜色不至于太深,反应温度不能超过 170 ℃。



注:磷酸盐添加量为 2.91%;反应时间为 3.5 h;尿素为 2%;pH 值为 4.00;磷酸盐摩尔比为 1:3。

Note:Phosphate addition is 2.91%, reaction time is 3.5 h, urea amount is 2%, pH value is 4.00, molar ratio of NaH₂PO₄ to Na₂HPO₄ is 1:3.

图 6 反应温度对取代度的影响

Fig. 6 Effect of reaction temperature on DS

2.2 正交试验结果 正交试验结果见表 2。对正交试验结果进行极差分析表明,影响 KGM 磷酸酯取代度因素次序依次为磷酸盐用量 > 反应温度 > 反应时间 > 磷酸盐配比 > 催化剂用量 > pH 值。最佳工艺条件:磷酸盐用量为 3.5%,反应温度为 170 ℃,反应时间为 4 h,磷酸盐配比为 1:2,催化剂用量为 3%,pH 值为 4.00。在此条件下,制备 KGM 磷酸酯取代度可达 0.17。

3 结论

采用 NaH₂PO₄ 和 Na₂HPO₄ 对魔芋微粉进行磷酸化干法改性制备 KGM 磷酸酯,单因素试验结果表明,磷酸盐用量、反应温度、反应时间、磷酸盐配比、催化剂用量及 pH 值均对 KGM 磷酸酯的取代度有较大影响。正交试验结果表明,影响 KGM 磷酸酯取代度因素次序依次为磷酸盐用量 > 反应温度 > 反应时间 > 磷酸盐配比 > 催化剂用量 > pH 值。制备高取代度 KGM 磷酸酯的最佳工艺:磷酸盐用量为 3.5%,反应

温度为 170 ℃,反应时间为 4 h,NaH₂PO₄ 与 Na₂HPO₄ 摩尔比 1:2,催化剂用量为 3%,pH 值为 4.00 时,产品取代度可达 0.17。

表 2 正交试验结果

Table 2 The results of the orthogonal experiment

序号 No.	因素 Factor							DS
	温度 ℃ Temperature	时间 h Time	pH 值 pH value	试剂量 % Regent quantity	催化剂 % Catalyzer	配比 Proportion		
1	150	3.0	4.00	2.50	1.00	1:1	0.070 2	
2	150	3.5	4.50	3.00	2.00	1:2	0.123 1	
3	150	4.0	5.00	3.50	3.00	1:3	0.134 5	
4	160	3.0	4.00	3.00	2.00	1:3	0.132 9	
5	160	3.5	4.50	3.50	3.00	1:1	0.134 0	
6	160	4.0	5.00	2.50	1.00	1:2	0.109 3	
7	170	3.0	4.50	2.50	3.00	1:2	0.118 5	
8	170	3.5	5.00	3.00	1.00	1:3	0.142 4	
9	170	4.0	4.00	3.50	2.00	1:1	0.146 1	
10	150	3.0	5.00	3.50	2.00	1:2	0.089 3	
11	150	3.5	4.00	2.50	3.00	1:3	0.076 4	
12	150	4.0	4.50	3.00	1.00	1:1	0.100 2	
13	160	3.0	4.50	3.50	1.00	1:3	0.104 2	
14	160	3.5	5.00	2.50	2.00	1:1	0.070 5	
15	160	4.0	4.00	3.00	3.00	1:2	0.128 3	
16	170	3.0	5.00	3.00	3.00	1:1	0.121 6	
17	170	3.5	4.00	3.50	1.00	1:2	0.141 3	
18	170	4.0	4.50	2.50	2.00	1:3	0.099 7	
K1	0.593 6	0.636 7	0.695 1	0.544 6	0.667 6	0.642 5	-	
K2	0.679 3	0.687 6	0.679 7	0.748 4	0.661 6	0.709 7	-	
K3	0.769 5	0.718 1	0.667 5	0.749 4	0.713 1	0.690 1	-	
R	0.175 9	0.081 4	0.027 6	0.204 8	0.051 5	0.067 2	-	

参考文献

[1] LIU M M, FAN J Y, WANG K, et al. Synthesis, characterization, and evaluation of phosphated cross-linked konjac glucomannan hydrogels for colon-targeted drug Delivery [J]. Drug delivery, 2007, 14: 397 - 402.

[2] CUNA M, ALONSO-SANDE M, REMUNAN-LOPEZ G, et al. Development of phosphorylated glucomannan-coated chitosan nanoparticles as nanocarriers for protein delivery [J]. Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 2006, 6 (9/10): 2887 - 2895.

[3] XIE C X, FENG Y J, CAO W P, et al. Novel biodegradable flocculating agents prepared by phosphate modification of Konjac [J]. Carbohydrate Polymers, 2007, 4: 566 - 571.

[4] 奉平, 陈旭东, 杨大成, 等. 魔芋葡甘聚糖磷酸酯对高岭土悬浊液的絮凝研究 (I) [J]. 化学研究与应用, 1995 (3): 326 - 328.

[5] 张昌军, 杨志孝, 于敏, 等. 新型絮凝剂魔芋葡甘聚糖磷酸酯的研制与应用 [J]. 化学世界, 1994 (2): 83 - 84.

[6] CHEN L G, LIU Z L, CHEN Y J, et al. Synthesis and characterization of phosphated Konjac glucomannan hydrogels [J]. Chinese Chemical Letters, 2005, 12: 1652 - 1654.

[7] 陈立贵. 磷酸酯化魔芋葡甘聚糖水凝胶的降解性能影响因素研究 [J]. 安徽农业科学, 2008 (23): 9842 - 9843, 9879.

[8] 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 (5): 1767 - 1769.

[9] 胡敏, 胡慰望, 谢笔钧. 魔芋葡甘聚糖磷酸酯化反应的研究 (I) [J]. 天然产物研究与开发, 1990 (2): 8 - 14.

[10] 李斌. 高强度魔芋葡甘聚糖及其衍生物——无机复合材料、结构与性能研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2002.

[11] 何传波. 甘薯淀粉磷酸单酯制备机理及最有参数研究 [D]. 合肥: 合肥工业大学, 2002.

[12] 李书华, 刘亚伟, 王恺, 等. 高取代度玉米磷酸单酯淀粉的制备 [J]. 粮油加工, 2006 (11): 87 - 90.