

交联菊糖制备工艺的优化及理化性质

Optimization on preparation of cross-linked inulin by response surface analysis and its physicochemical properties

马小涵 刘雄 邓婧 赵丹 田俊青 赵天天

MA Xiao-han LIU Xiong DENG Jing ZHAO Dan TIAN Jun-qing ZHAO Tian-tian

(西南大学食品科学学院, 重庆 400715)

(College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China)

摘要:以制备交联菊糖为目的,在单因素试验基础上,根据 Central-composite 设计原理和响应面法优化交联菊糖制备的工艺参数。结果表明,菊糖质量浓度、交联剂用量、体系 pH 值和反应时间对交联菊糖交联度影响显著;交联菊糖最佳制备工艺为 pH 10.19、交联剂用量 12.04 g/100 g(基于菊糖干基)、菊糖质量浓度 4.63%、反应时间 3.59 h、反应温度 45 °C。在该工艺条件下交联菊糖交联度为 0.0137 ± 0.0012 ,与理论预测值 0.0140 相符。与普通菊糖相比,交联菊糖平均聚合度提高,平均粒径增大,溶解度下降,具有较高黏度和较好凝胶特性。

关键词:菊糖;交联菊糖;理化性质

Abstract: In order to find optimal conditions for the preparation of cross-linked inulin, the effects of inulin concentration, cross-linking agent dosage, pH, reaction temperature and reaction time on the degree of cross-linking were investigated by single factor experiment. The preparation conditions of the cross-linked inulin were optimized according to central-composite design principles and response surface analysis. The result showed that the concentration of inulin, cross-linking agent dosage, pH and reaction time had significant effects on cross-linking degree of cross-linked inulin. The optimal conditions were the concentration of inulin 4.63%, cross-linking agent dosage 12.04 g/100 g, pH 10.19 and reaction time 3.59 h. Under the optimum conditions, the cross-linking degree of cross-linked inulin was 0.0137 ± 0.0012 , which was well consistent with the predicted value of 0.0140. It can be found that the average degree of polymerization of cross-linked inulin increased and it has higher viscosity, larger average particle size, lower solubility and better gel properties compared with inulin, that means cross-linked can well improve the

food texture and rheological properties.

Keywords: inulin; cross-linked inulin; physical and chemical properties

菊糖又称菊粉、土木香粉,多存在于菊科植物中,如菊芋、大丽菊等的块茎和菊苣、牛蒡等的根^[1-2]。菊糖是一种天然果糖聚合物,由 β -(2,1)糖苷键连接 D-呋喃果糖分子组成,每个菊糖分子末尾以 α -(1,2)糖苷键连接一个葡萄糖残基。菊糖分子的聚合度变化从 2~70,主要取决于植物的类型、生长期天气条件和植物生理年龄。菊苣、大丽花和菊芋中菊粉的平均聚合度分别为 10~14, 20, 6^[3-4]。菊糖作为一种生物多糖,具有改善肠道微环境^[5-7]、促进矿物质吸收^[8]、抗氧化、降血糖^[9]、降血脂^[10]和促进维生素合成^[11]等多种生理功能。同时,菊糖具有良好的溶解性、凝胶特性、保湿性和较高黏度,能够改善食品质构、提高食品流变学特性和营养学特性^[12-15],因而,菊糖成为近几年研究热点之一。

然而,目前菊糖大多采用直接提取的天然菊糖。天然菊糖分子量跨度很大,平均聚合度较低,导致其性质不稳定,例如形成凝胶状态不稳定^[16-17]。通过交联等化学改性的方法制备成交联菊糖,可以提高菊糖平均聚合度,增强稳定性。目前,国内外对交联菊糖的制备方法和性质鲜有研究,但制备交联淀粉方法较为成熟,常用的有干法交联^[18]、水散法交联^[19]、微波法交联^[20]。因菊糖具有良好的溶解性,且超声、微波等会使高聚合度菊糖分子发生降解、平均聚合度降低^[21],所以交联菊糖的制备均采用水散法,Paula 等^[22]和 Li 等^[23]曾分别以三氯氧磷、环氧树脂作交联剂水散法制备出交联菊糖。本研究选用水散法,以六偏磷酸钠为交联剂,对菊糖分子进行磷酸基交联,制备菊糖磷酸酯,提高菊糖平均聚合度,使其具备更高黏度和更好的凝胶特性,旨在为交联菊糖作为食品添加剂更好地改善食品质构、提高食品流变学特性提供理论依据。

作者简介:马小涵,女,西南大学在读硕士研究生。

通信作者:刘雄(1970—),男,西南大学教授,博士。

E-mail: liuxiong848@hotmail.com

收稿日期:2017-12-28

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

菊糖:食品级,西安瑞林生物科技有限公司;

六偏磷酸钠、无水碳酸钠、无水磷酸二氢钠、盐酸、硫酸、硝酸、高氯酸、亚硫酸钠、对苯二酚等:分析纯,成都市科龙化工试剂厂。

1.2 仪器与设备

数显恒温水浴磁力搅拌器:HH-6D型,惠州市宏业仪器有限公司;

精密酸度计:PHS-3型,上海大普仪器有限公司;

真空冷冻干燥机:LGJ-10型,北京松源华兴科技发展有限公司;

马尔文激光粒度分析仪:ZEN3690型,英国马尔文仪器有限公司;

紫外分光光度计:UV-2450型,日本岛津公司;

高效液相色谱仪:LC-20A型,日本岛津公司。

1.3 方法

1.3.1 交联菊糖的制备 取一定质量的菊糖原料,配成一定浓度的菊糖溶液,加入一定量的六偏磷酸钠,充分搅拌使其溶解。向体系中逐滴加入 Na_2CO_3 溶液,调节体系 pH。然后将整个体系置于恒温水浴中,在一定温度和一定搅拌速度下反应一段时间。反应结束后,用一定浓度的 HCl 溶液调节 pH 至 7.0 ± 0.2 ,加入 95% 的乙醇在 4°C 下充分沉淀,离心 ($4\ 000\ \text{r/min}$),再用 95% 的乙醇洗涤沉淀,真空冷冻干燥得到交联菊糖。

1.3.2 试验设计

(1) 反应 pH 值的确定:固定菊糖质量浓度 5.0%,交联剂用量 11%,反应温度 45°C ,分别在 pH 值 7,8,9,10,11 下反应 2.5 h,确定最佳反应 pH 值。

(2) 菊糖质量浓度的确定:固定交联剂用量 11%,反应温度 45°C ,pH 10,分别在 2.5%,5.0%,7.5%,10.0%,12.5% 菊糖质量浓度下反应 2.5 h,确定反应菊糖质量最佳浓度。

(3) 反应时间的确定:固定菊糖质量浓度 5.0%,交联剂用量 11%,反应温度 45°C ,pH 10,分别反应 0.5,1.5,2.5,3.5,4.5 h,确定最佳反应时间。

(4) 交联剂用量的确定:固定菊糖质量浓度 5.0%,反应温度 45°C ,pH 10,分别在 2%,5%,8%,11%,14% 交联剂用量下反应 2.5 h,确定反应交联剂最佳用量。

(5) 反应温度的确定:固定菊糖质量浓度 5.0%,pH 10,交联剂用量 11%,分别在 15,30,45,60,75 $^\circ\text{C}$ 反应温度下反应 2.5 h,确定最佳反应温度。

(6) 响应面优化试验:根据单因素试验结果,筛选对交联菊糖交联度影响较大的因子,以交联菊糖交联度为响应值,对交联菊糖的制备条件进行优化。根据 Central-composite 设计原理,运用 Design-Expert (V 8.0.6) 试验设计原理,通过试验数据建立数学回归模型,确定最佳试验条件,并进行实验验证。

1.4 取代度的测定

1.4.1 结合磷含量测定 按 GB 5009.256—2016 执行。

1.4.2 交联度(DCL)的计算 交联度是指每个菊糖分子中葡萄糖残基环上的羟基被磷酸基团取代的平均值,交联菊糖的反应交联度按式(1)计算^[24]:

$$DCL = \frac{W \times 162}{(100 - 3.873 \cdot 4W) \times 30.974}, \quad (1)$$

式中:

DCL——试样交联度;

W——取代基质量分数,%;

162——葡萄糖残基的相对分子质量;

30.974——磷的相对原子质量;

3.873 4——换算系数。

1.5 交联菊糖的理化性质

1.5.1 交联菊糖的红外光谱 将红外光谱仪预热稳定后,采用样品与溴化钾比例 1:100 压片,扫描溴化钾空白片和溴化钾样品片,扣除空白,扫描范围 $400 \sim 4\ 000\ \text{cm}^{-1}$,分辨率 $4\ \text{cm}^{-1}$,共扫描 8 次。

1.5.2 聚合度 采用高效凝胶过滤色谱法(HPGFC)检测菊糖分子量(M_w),选用示差折光检测器(RID),TSKgel GMP-W_{XL} 色谱柱,超纯水做流动相,流速 $0.7\ \text{mL/min}$,柱温 30°C ,聚乙二醇标准品(分子量 M_w 分别为 600,1 000,2 000,4 000,10 000 Da)。样品聚合度(DP)根据 $M_w = 162\ DP + 180$ 计算可得。

1.5.3 溶解度 参考文献[25]。

1.5.4 特性黏度 采用乌氏黏度计($\Phi\ 0.57\ \text{mm}$,4 mL)测定交联菊糖特性黏度,测量温度(25 ± 0.5) $^\circ\text{C}$,以纯水为空白,重复 3 次取平均值。

1.5.5 粒径 采用马尔文激光粒度分析仪测定交联菊糖粒径。测量温度 25°C ,折射率 1.33,超纯水稀释,溶液浓度 $2\ \text{mg/mL}$ 。

1.5.6 凝胶指数 参考文献[26]。

1.5.7 凝胶形成时间 将交联菊糖溶液在沸水下加热 15 min 并加以搅拌,冷却,放入 4°C 恒温相中静置至交联菊糖完全成胶并记录凝胶形成所用的时间。

1.5.8 凝胶保水性 参考文献[27]。

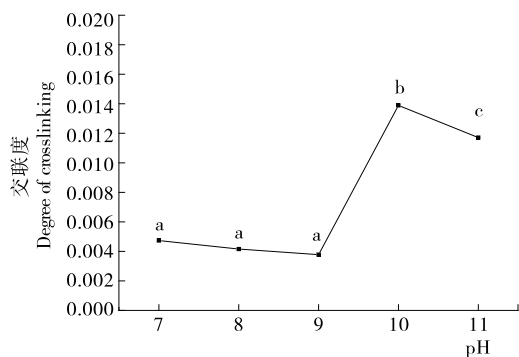
1.6 数据统计与分析

利用 SPASS 22.0 软件对试验结果进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 反应条件的确定

2.1.1 反应 pH 值的确定 从图 1 可以看出,交联菊糖形成中,交联度随反应体系 pH 值增加而升高,当反应体系 pH 值超过 10 时,交联度呈现下降趋势。这是因为该反应体系 pH 值由 Na_2CO_3 调节, Na_2CO_3 的作用一方面是活化菊糖分子上的羟基,失去氢原子变成氧负离子形式,产生可以发生交联反应的菊糖—ONa 活化分子^[28],使其更容易发生亲核取代,使得六偏磷酸钠对菊糖分子的渗透能力提升,进而提高菊糖分子中的羟基与六偏磷酸钠的反应几率,增大了交联剂六偏磷酸钠的利用率和交联反应的活性^[29]。另一方面保证反应体系维持在碱性环境下,较高的 pH 有利于提高反应速



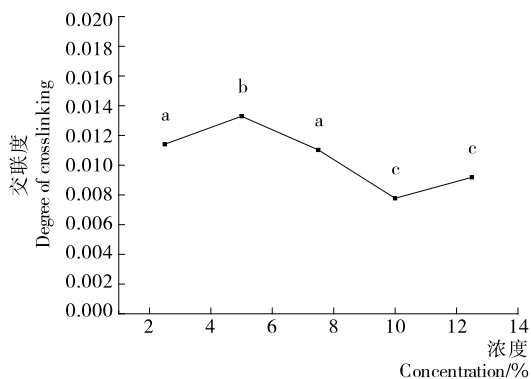
不同字母代表差异显著($P < 0.05$)

图 1 pH 对交联度的影响

Figure 1 Effect of pH on the DCL of cross-linked inulin

率^[30]。但是 pH 值超过 10 时,菊糖容易发生碱解,导致交联度下降。当体系 pH 值为 10,交联度最大,因此选择 pH 值 9~11 做最佳工艺筛选试验。

2.1.2 菊糖质量浓度的确定 由图 2 可以看出,当菊糖质量浓度 $< 5.0\%$ 时,交联度随其质量浓度的增加而增大,当菊糖质量浓度达到 5.0% 时,交联菊糖的交联度达到最高。随后,随着菊糖质量浓度进一步增大,交联度随之减小。这可能是菊糖质量浓度较低时,交联剂与菊糖分子的接触几率降低,反应效率低,交联度较低,随着菊糖质量浓度的升高,交联剂与菊糖分子的接触几率增加^[28],菊糖分子与交联剂发生亲核取代反应发生率增强。但是,菊糖质量浓度过高时,反应体系太过黏稠,菊糖分子不能与交联剂充分结合,降低交联程度。因此,选择 $2.5\% \sim 7.5\%$ 做最佳工艺筛选试验。

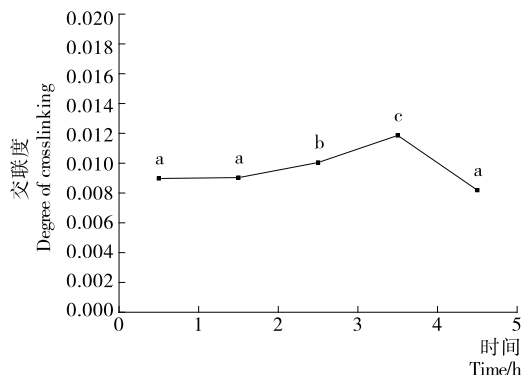


不同字母代表差异显著($P < 0.05$)

图 2 菊糖质量浓度对交联度的影响

Figure 2 Effect of the concentration of inulin on the DCL of cross-linked inulin

2.1.3 反应时间的确定 由图 3 可以看出,随着反应时间延长,交联菊糖交联度逐步增大,当反应时间为 3.5 h 时,交联度达到最大。接着,交联菊糖交联度随反应时间延长而降低。这是因为随着反应时间的延长,交联剂与菊糖分子充分接触,反应程度增强,交联度上升,当交联度达到最大时,继续延长反应时间,不仅浪费能源,而且长时间的搅拌导致菊糖分子碱化降解,使得交联度不增反降。因此,选择 2.5~4.5 h 做最佳工艺筛选试验。

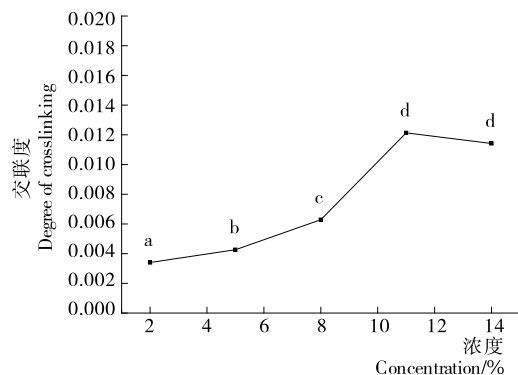


不同字母代表差异显著($P < 0.05$)

图 3 反应时间对交联度的影响

Figure 3 Effect of reaction time on the DCL of cross-linked inulin

2.1.4 交联剂用量的确定 由图 4 可以看出,当交联剂用量 $< 11\%$ 时,交联度随交联剂的增多而增大;当交联剂用量为 11% 时,交联菊糖具有最高的交联度;随后,交联度随交联剂增多略有下降。这是因为随着交联剂浓度的增大,交联剂与菊糖分子碰撞几率增加,交联反应效率增加,交联度呈增高趋势。但是,当六偏磷酸钠的量增加到 11% 时,已达到交联反应所需的用量,菊糖反应完全,交联菊糖的交联程度趋于稳定。并且,若体系中交联剂浓度过高,逆向反应增强,使菊糖交联程度略有下降。因此,选择 $8\% \sim 14\%$ 做最佳工艺筛选试验。

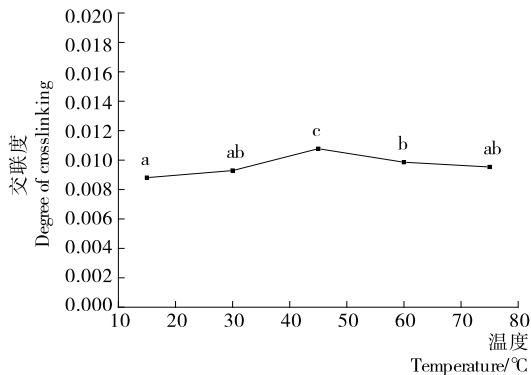


不同字母代表差异显著($P < 0.05$)

图 4 交联剂用量对交联度的影响

Figure 4 Effect of cross-linking agent dosage on the DCL of cross-linked inulin

2.1.5 反应温度的确定 由图 5 可以看出,当体系反应温度为 $45\text{ }^\circ\text{C}$ 时,菊糖的交联程度最大;低于 $45\text{ }^\circ\text{C}$ 时,交联度随反应温度的升高略有增大;超过 $45\text{ }^\circ\text{C}$ 时,交联度随反应温度的升高略有下降。这是因为温度升高菊糖分子受热,更容易发生亲核取代,使得六偏磷酸钠对菊糖分子的渗透能力提升^[29]。同时,温度升高可以提高分子运动速度,增加反应物之间的碰撞几率,进而提高磷酸菊糖分子中的羟基与六偏磷酸钠的反应几率,有利于交联反应,使交联度增大。然而,随着反应温度继续升高,交联剂会发生分解反应,温度越高,分解程度越大,导致与菊糖分子进行交联反应的交联剂减少,对



不同字母代表差异显著(P<0.05)

图5 温度对交联度的影响

Figure 5 Effect of temperature on the degree of cross-linking

交联反应产生不利影响^[31]。因此,适宜的反应温度为45℃,在此温度下进行最佳筛选试验。

2.2 最佳制备工艺的确定

2.2.1 建立回归模型与方差分析 根据单因素试验结果,选取对交联度影响较显著的体系 pH、交联剂用量、菊糖质量浓度、反应时间 4 个因素进行响应面优化。其因素水平设计见表 1,结果见表 2。

表 1 Central-composite 设计因素水平表

Table 1 Factors and levels for Central Composite Design

水平	A pH	B 交联剂用量/%	C 菊糖质量浓度/%	D 反应时间/min
-2	9.0	8.0	2.50	2.5
-1	9.5	9.5	3.75	3.0
0	10.0	11.0	5.00	3.5
1	10.5	12.5	6.25	4.0
2	11.0	14.0	7.50	4.5

采用响应面分析法对表 2 数据进行回归拟合,得到交联度(Y)的二次多项回归方程:

$$Y = 0.014 + 3.623 \times 10^{-4} A + 6.497 \times 10^{-4} B - 5.656 \times 10^{-4} C + 2.275 \times 10^{-4} D + 3.779 \times 10^{-4} AB + 1.406 \times 10^{-4} AC + 2.479 \times 10^{-4} AD - 1.798 \times 10^{-4} BC + 3.606 \times 10^{-4} BD + 2.717 \times 10^{-4} CD - 8.684 \times 10^{-4} A^2 - 6.136 \times 10^{-4} B^2 - 1.069 \times 10^{-4} C^2 - 7.588 \times 10^{-4} D^2 \quad (2)$$

对中心组合设计试验结果进行方差分析,结果见表 3。

由表 3 可知,该回归二次方程模型总回归项极显著(P<0.000 1),失拟项不显著,说明该回归模型选择正确,可以用来分析交联菊糖交联度。模型决定系数 R² 值为 0.980 4,与校正决定系数 R²_{Adj} 值 0.962 1 接近,说明交联菊糖交联度预测值与试验真实值之间相关性较好,可达 98.04%,且仅有 3.79% 的方差不能被该模型解释,拟合度良好。信噪比为 22.959>4.0,表明该模型可以在这个设计空间中运行;CV 值为 3.06%,说明试验准确度和可靠性较好,误差低。因此,该回归二次方程模型可以用来预测交联菊糖的交联度。

表 2 中心组合设计方案及结果

Table 2 Program and results for Central Composite Design

试验号	A	B	C	D	Y
1	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	0.010 255
2	1.000	-1.000	-1.000	-1.000	0.009 665
3	-1.000	1.000	-1.000	-1.000	0.010 834
4	1.000	1.000	-1.000	-1.000	0.012 442
5	-1.000	-1.000	1.000	-1.000	0.008 880
6	1.000	-1.000	1.000	-1.000	0.008 507
7	-1.000	1.000	1.000	-1.000	0.009 047
8	1.000	1.000	1.000	-1.000	0.009 960
9	-1.000	-1.000	-1.000	1.000	0.009 585
10	1.000	-1.000	-1.000	1.000	0.010 482
11	-1.000	1.000	-1.000	1.000	0.010 950
12	1.000	1.000	-1.000	1.000	0.012 464
13	-1.000	-1.000	1.000	1.000	0.009 413
14	1.000	-1.000	1.000	1.000	0.009 997
15	-1.000	1.000	1.000	1.000	0.009 543
16	1.000	1.000	1.000	1.000	0.012 073
17	-2.000	0.000	0.000	0.000	0.009 610
18	2.000	0.000	0.000	0.000	0.010 416
19	0.000	-2.000	0.000	0.000	0.009 766
20	0.000	2.000	0.000	0.000	0.012 298
21	0.000	0.000	-2.000	0.000	0.010 291
22	0.000	0.000	2.000	0.000	0.008 132
23	0.000	0.000	0.000	-2.000	0.010 316
24	0.000	0.000	0.000	2.000	0.010 587
25	0.000	0.000	0.000	0.000	0.013 598
26	0.000	0.000	0.000	0.000	0.012 977
27	0.000	0.000	0.000	0.000	0.013 780
28	0.000	0.000	0.000	0.000	0.013 473
29	0.000	0.000	0.000	0.000	0.013 903
30	0.000	0.000	0.000	0.000	0.013 505

同时,根据表 3 中 F 值大小可知,A、B、C、A²、B²、C²、D² 对响应值有极显著影响(P<0.0001),D、AB、AD、CD 对响应值影响高度显著(P<0.001),BC 对响应值影响显著(P<0.05),其它项系数影响均不显著(P>0.05)。根据系数估计值 A=3.623×10⁻⁴,B=6.497×10⁻⁴,C=-5.656×10⁻⁴,D=2.275×10⁻⁴ 可知,影响因素的主效应关系为:交联剂用量>菊糖质量浓度>pH>反应时间。

2.2.2 各因素交互作用分析 通过响应面曲面图可以直观看出各试验因素及其之间的交互作用对交联度的影响。曲线越陡,因子对交联度影响越大,曲线越缓,因子对交联度影响越小^[32]。由图 6~9 中响应面的陡峭程度可知,各因素对交联度影响程度为:交联剂用量>菊糖质量浓度>pH>反应时间,该结果与方差分析相同。

由方差分析可知,交互项 AB、AD、CD 高度显著,BC 显著。由图 6 可以看出,交联度随着 pH 的增大先增加后减

表 3 回归模型方差分析[†]

Table 3 Analysis of variance for regression model

来源	总和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	8.330×10^{-5}	14	5.950×10^{-6}	53.65	<0.000 1	极显著
A	3.150×10^{-6}	1	3.150×10^{-6}	28.41	<0.000 1	极显著
B	1.013×10^{-5}	1	1.013×10^{-5}	91.35	<0.000 1	极显著
C	7.678×10^{-6}	1	7.678×10^{-6}	69.24	<0.000 1	极显著
D	1.242×10^{-6}	1	1.242×10^{-6}	11.20	0.004 4	高度显著
AB	2.285×10^{-6}	1	2.285×10^{-6}	20.61	0.000 4	高度显著
AC	3.164×10^{-9}	1	3.164×10^{-9}	0.029	0.868 1	
AD	9.836×10^{-7}	1	9.836×10^{-7}	8.87	0.009 4	高度显著
BC	5.173×10^{-7}	1	5.173×10^{-7}	4.66	0.047 4	显著
BD	2.081×10^{-8}	1	2.081×10^{-8}	0.19	0.671 1	
CD	1.181×10^{-6}	1	1.181×10^{-6}	10.65	0.005 2	高度显著
A ²	2.068×10^{-5}	1	2.068×10^{-5}	186.51	<0.000 1	极显著
B ²	1.033×10^{-5}	1	1.033×10^{-5}	93.13	<0.000 1	极显著
C ²	3.133×10^{-5}	1	3.133×10^{-5}	282.51	<0.000 1	极显著
D ²	1.579×10^{-5}	1	1.579×10^{-5}	142.39	<0.000 1	极显著
残差	1.663×10^{-6}	15	1.109×10^{-7}			
失拟项	1.148×10^{-6}	10	1.148×10^{-7}	1.11	0.481 6	不显著
纯误差	5.154×10^{-7}	5	1.031×10^{-7}			
总和	8.496×10^{-5}	29				

[†] P<0.001,表示差异极显著;P<0.01,表示差异高度显著;P<0.05,表示差异显著; $R^2=0.980 4$;
 $R^2_{adj}=0.962 1$;CV%=3.06;信噪比为 22.959。

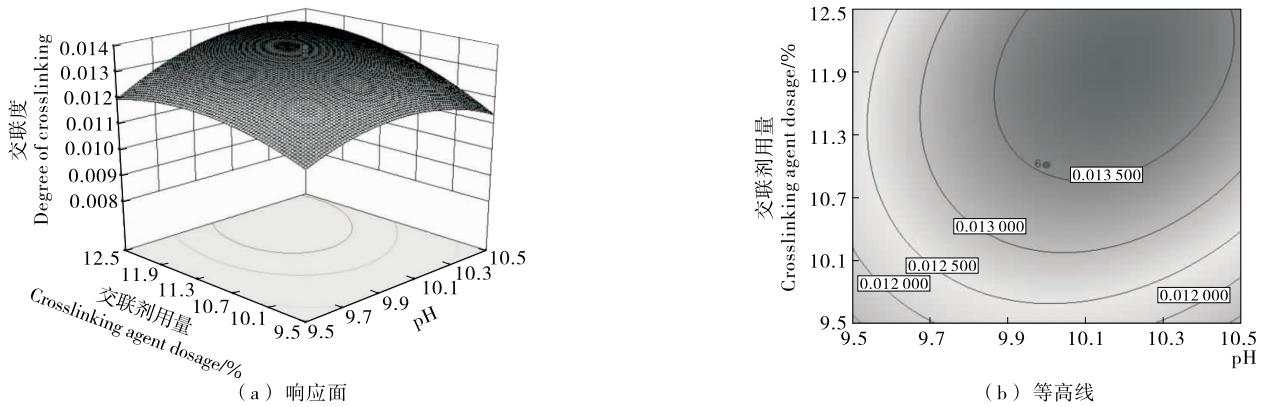


图 6 pH 和交联剂用量对交联菊糖交联度影响的响应面和等高线

Figure 6 Response surface and counter plots of the effects on the DCL of cross-linked inulin of pH and cross-linking agent dosage

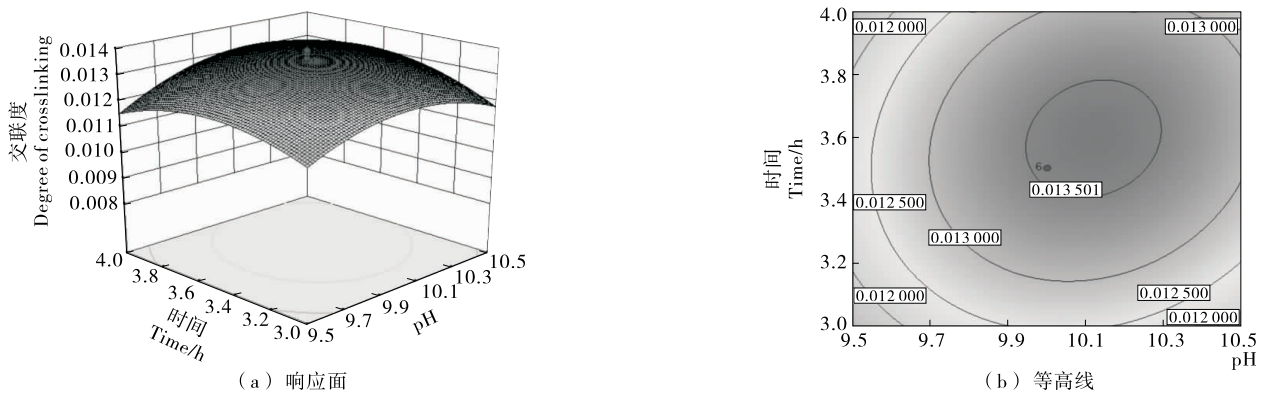
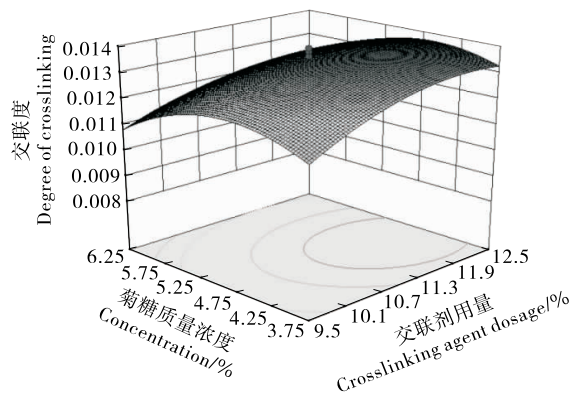
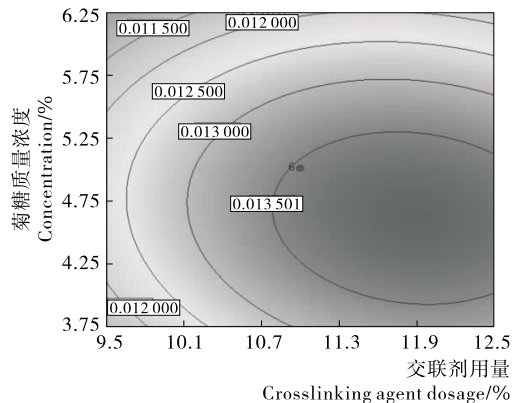


图 7 反应时间和 pH 对交联菊糖交联度影响的响应面和等高线

Figure 7 Response surface and counter plots of the effects on the DCL of cross-linked inulin of pH and reaction time



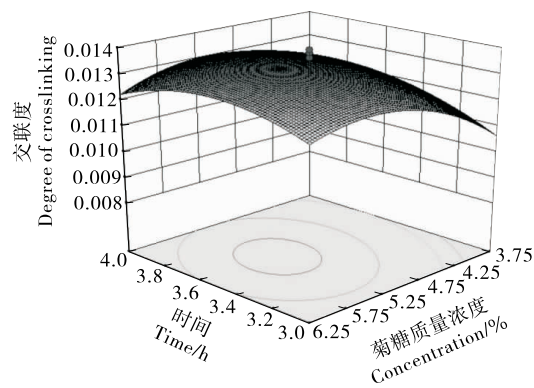
(a) 响应面



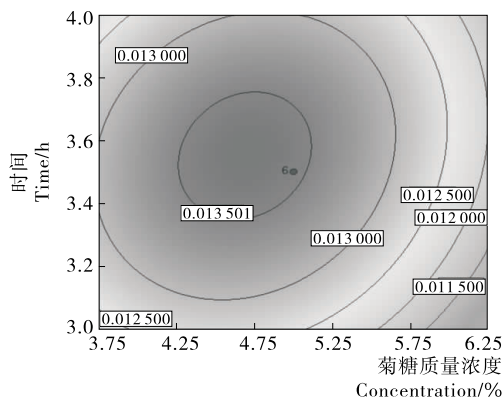
(b) 等高线

图 8 菊糖质量浓度和交联剂用量对交联菊糖交联度影响的响应面和等高线

Figure 8 Response surface and counter plots of the effects on the DCL of cross-linked inulin of the concentration of inulin and cross-linking agent dosage



(a) 响应面



(b) 等高线

图 9 反应时间和菊糖质量浓度对交联菊糖交联度影响的响应面和等高线

Figure 9 Response surface and counter plots of the effects on the DCL of cross-linked inulin of the concentration of inulin and reaction time

小,随交联剂用量的增加而增加并趋于平稳,两因素交互作用较强,影响高度显著。由图 7 可以看出,随反应时间和 pH 值的增加,交联度上升,当反应时间和 pH 值达到一定水平时,交联度上升到最大,之后有所下降而不是更进一步上升,这可能是 pH 值较高、时间较长使交联剂和菊糖分子发生分解,两因素交互作用较强,影响高度显著。由图 8 可以看出,交联度随着菊糖质量浓度的增大先增加后减小,随交联剂用量的增加而增加并趋于平稳,反应体系中菊糖质量浓度和交联剂的用量影响着菊糖—ONa 活化分子浓度,进而影响菊糖钠盐与六偏磷酸钠发生亲核反应几率,两因素交互作用较强,影响显著。由图 9 可以看出,随反应时间和菊糖质量浓度的增加,交联度增大,当反应时间和菊糖质量浓度达到一定水平时,交联度上升到最大值,之后有所下降而不是更进一步上升,两因素交互作用较强,影响高度显著。因此,在一定温度条件下,可以通过控制交联剂用量、菊糖质量浓度、pH 和反应时间以获得较高交联度的交联菊糖。

2.2.3 最佳条件的确定与验证实验 从 CCD 试验设计得到的最优工艺参数为:pH 10.19、交联剂用量 12.04 g/100 g、菊

糖质量浓度 4.63%、反应时间 3.59 h。此条件下取代度的预测值为 0.014 0。

验证实验结果证实:在响应面优化的最佳工艺条件下,交联度的实测值为 0.0137 ± 0.0012 ,预测精度高达 98.02%,证明该模型可用于交联菊糖交联度的预测。

2.3 交联菊糖的理化性质

2.3.1 交联菊糖的红外光谱 菊糖分子中存在较多羟基,通过发生酯化反应,形成酯化键与六偏磷酸钠交联起来,所得的衍生物称为菊糖磷酸酯,即交联菊糖。交联菊糖的傅立叶红外扫描结果见图 10,与天然菊糖相比,交联菊糖在 $1200 \sim 1350 \text{ cm}^{-1}$ 有吸收峰,该波段为酯基的特征吸收峰^[33],由此说明菊糖发生了酯化交联反应。菊糖分子上的羟基,失去氢原子变成氧负离子形式,产生可以发生交联反应的菊糖—ONa 活化分子,与六偏磷酸钠分子上的磷酸基团发生亲核取代反应,所得产物应为菊糖磷酸酯。

2.3.2 交联菊糖的基本理化性质 菊糖分子经过与六偏磷酸钠形成酯化键交联起来后,理化性质发生一定改变。由表 4 可以看出,交联菊糖平均聚合度上升,分子粒径略有增

大,溶解度明显下降,这是因为两个或两个以上菊糖分子通过磷酸键链接起来,形成一个较大的菊糖分子,分子量增大,聚合度增加,分子粒径增大。菊糖溶解度随分子量的增加而降低^{[34]21-22},故交联后菊糖溶解度明显下降。同时,交联菊糖特性黏度增加至 (5.92 ± 0.23) mL/g 比未反应菊糖特性黏度提高 1.29 倍,这是因特性黏度会随聚合度的增大而增大^{[34]18-20},且磷酸基团具有良好的亲水性能,进一步提高了菊糖的特性黏度,故菊糖经过交联具有较高黏度。

由表 5 可以看出,随溶液浓度的升高,凝胶指数增大,成胶时间缩短,保水性提高,这是因为当溶液温度降低时,随菊糖浓度的增加,菊糖更容易沉淀析出,并更易在溶液中相互纠缠,形成固态与液态之间的中间结构,成胶趋势更明显,形成的凝胶更稳定,保水效果更好。同时,菊糖经交联处理后,

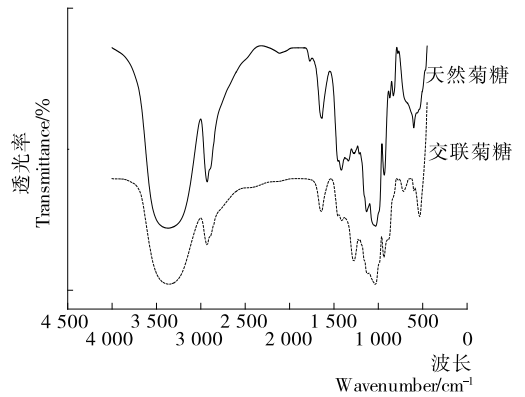


图 10 天然菊糖和交联菊糖的红外光谱图

Figure 10 FT-IR spectra of inulin and cross-linked inulin

表 4 菊糖和交联菊糖基本理化性质[†]

Table 4 Basic physical and chemical properties of inulin and cross-linked inulin

样品	平均聚合度	粒径/nm	特性黏度/(mL·g ⁻¹)	溶解度(25℃)/%
菊糖	8 ^a	1 039.97±43.75 ^a	2.31±0.13 ^a	7.34±0.22 ^a
交联菊糖	13 ^b	1 426.00±43.75 ^b	5.92±0.23 ^b	0.98±0.15 ^b

† 同列不同字母代表差异显著(P<0.05)。

表 5 菊糖和交联菊糖凝胶特性[†]

Table 5 Glue properties of inulin and cross-linked inulin

浓度/%	凝胶指数(VGD)		成胶时间/h		保水性/%	
	菊糖	交联菊糖	菊糖	交联菊糖	菊糖	交联菊糖
20	0±0 ^a	12±2 ^b	—	—	—	—
30	40±5 ^a	70±4 ^b	—	—	—	—
40	75±3 ^a	100±0 ^b	—	8.17±0.29 ^a	—	53.68±4.43 ^a
50	100±0 ^a	100±0 ^a	1.15±0.12 ^a	0.41±0.06 ^b	53.40±3.08 ^a	70.53±2.73 ^b

† 同行不同字母代表差异显著(P<0.05)。

凝胶指数明显上升,完全形成凝胶浓度下降至 40%,成胶时间明显缩短,且保水性提高。这是因为菊糖经过交联后,平均聚合度上升,加上磷酸基团有较好的亲水性能,使得交联菊糖与水结合能力增强,形成凝胶时间缩短且性质稳定。通过以上结果可以看出,交联菊糖平均聚合度有所提高,具有较高黏度和较好凝胶特性,可以更好地作为食品添加剂改善食品品质构、提高食品的流变学特性。

3 结论

本试验通过水散法制备交联菊糖,在单因素试验基础上,根据 Central-composite 设计原理和响应面法优化交联菊糖制备的工艺参数。确定交联菊糖最优制备工艺为 pH 10.19、交联剂用量 12.04 g/100 g、菊糖质量浓度 4.63%、反应时间 3.59 h。该工艺条件下交联菊糖交联度为 0.0137 ± 0.0012 ,平均聚合度超过 13,特性黏度可达 (5.91 ± 0.23) mL/g,质量浓度 40%、50%凝胶指数均为 100,凝胶保水性分别为 $(53.68 \pm 4.43)\%$ 、 $(70.53 \pm 2.73)\%$ 。所得产品具有较高黏度和较好凝胶特性,可以作

为食品添加剂更好地改善食品品质构、提高食品的流变学特性。同时,本研究还有一些需要进一步研究解决的问题,如对交联菊糖的毒理学研究、交联菊糖作为食品添加剂的具体应用效果。

参考文献

- [1] 初敏, 齐锡祥. 多糖研究概述[J]. 中药研究与信息, 2003, 2(4): 18-20.
- [2] 王月霞, 周佳栋, 曹飞, 等. 盐碱滩涂菊芋菊糖的提取纯化及聚合度分布[J]. 食品科学, 2011, 32(12): 164-168.
- [3] CHRISTIAN V S, ALESSIA M, KARL B. Chemical Modification of Inulin, a Valuable Renewable Resource, and Its Industrial Applications[J]. Biomacromolecules, 2001, 2(1): 1-16.
- [4] 曾小宇, 罗登林, 刘胜男, 等. 菊糖的研究现状与开发前景[J]. 中国食品添加剂, 2010(4): 222-227.
- [5] 黄亮, 肖开庆, 郑菲. 菊糖对小白鼠消化吸收免疫功能及血糖的影响评价[J]. 食品与机械, 2009, 25(1): 90-92.
- [6] 谭晓琼, 董全, 丁红梅. 功能保健食品菊糖的研究进展与发展前

- 景[J]. 中国食物与营养, 2007(1): 22-24.
- [7] 周文辉. 菊糖及低聚果糖的代谢及生理特性[J]. 广州食品工业科技, 2004, 20(2): 155-157.
- [8] 张名涛, 顾宪红, 杨琳. 菊粉的原生素作用研究进展[J]. 动物营养学报, 2003, 15(4): 12-18.
- [9] NINESS K R. Inulin and oligofructose; what are they? [J]. Journal of Nutrition, 1999, 29: 1 402S-1 406S.
- [10] KIM Y, FAQIH M N, WANG S S. Factors affecting gel formation of inulin[J]. Carbohydrate Polymers, 2001, 46(2): 135-145.
- [11] KAUR N, GUPTA A K. Applications of inulin and oligo fructose in health and nutrition[J]. Journal of Biosciences, 2002, 27: 703-714.
- [12] 刘宏. 菊粉的功能特性与开发应用[J]. 中国食物与营养, 2010(12): 25-27.
- [13] LOPEZ-MOLINA D, NAVARRO-MARTINEZ M D, ROJAS-MELGAREJO F, et al. Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*Cynarascolumus*, L.) [J]. Phytochemistry, 2005, 66(12): 1 476-1 484.
- [14] 胡娟. 菊芋菊糖的纯化及在植物搅奶油中的应用[D]. 无锡: 江南大学, 2007: 33-35.
- [15] 陈光鹏. 菊芋酸奶工艺优化及营养学评价[D]. 郑州: 郑州大学, 2011: 36-43.
- [16] RONKART S N, PAQUOT M, DEROANNE C, et al. Development of gelling properties of inulin by microfluidization[J]. Food Hydrocolloids, 2010, 24(4): 318-324.
- [17] 罗登林, 许威, 袁海丽, 等. 菊粉加工性质的研究[J]. 粮油加工, 2009(9): 142-144.
- [18] 方志林. 马铃薯交联淀粉的制备及理化性质的研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2009: 9-11.
- [19] 肖昱. 变性淀粉湿法生产工艺与影响产品质量和稳定的重要因素探讨[J]. 食品工业科技, 2003(3): 60-62.
- [20] 邬应龙, 王瑶. 抗性淀粉的结构及生理功能研究[J]. 中国粮油学报, 2008, 23(3): 63-72.
- [21] 张宏志, 马燕弘, 黄开红, 等. 菊芋菊糖的提取、聚合度分布及抗氧化活性的研究[J]. 食品与生物技术学报, 2015, 34(10): 1 069-1 077.
- [22] PAULA G, CRISTINA V, PAZ R. Release kinetic in yogurt from gallic acid microparticles with chemically modified inulin[J]. Journal of Food Science, 2015, 80(10): 2 147-2 152.
- [23] LI Su-ping, HU Tao, CHEN Ya-li, et al. Cross-linked inulin as a potential plasma expander; Biochemical properties and physiological characterization in a rabbit model[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 82: 1 054-1 060.
- [24] KIM M, LEE S J. Characteristics of crosslinked potato starch and starch filled linear low-density polyethylene films[J]. Carbohydrate Polymers, 2002, 50: 331-337.
- [25] 许威. 菊粉物化特性的研究[D]. 洛阳: 河南科技大学, 2012: 10-12.
- [26] 于济洋, 李新华, 王琳, 等. 菊芋全粉凝胶特性的比较研究[J]. 核农学报, 2014, 28(3): 478-484.
- [27] SIBGH J, SINGH N, SHARMA T R, et al. Physicochemical, rheological and cookie making properties of corn and potato flours[J]. Food Chemistry, 2003, 83(3): 387-393.
- [28] 崔媛, 罗菊香, 崔国星. 马铃薯交联淀粉的制备及交联剂的影响分析[J]. 化学与生物工程, 2011, 28(2): 33-35.
- [29] 方志林. 马铃薯交联淀粉的制备及理化性质的研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2009: 17.
- [30] 季佳佳. 三偏磷酸钠交联玉米淀粉的理化性质测定[D]. 天津: 天津科技大学, 2009: 23-25.
- [31] 刘丽君. 脱支交联马铃薯淀粉的制备及性能研究[D]. 沈阳: 沈阳工业大学, 2015: 23-27.
- [32] 程亚娇, 郭婷, 李本姣, 等. 改性纳米薯渣纤维素的制备优化及其形貌表征[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(3): 142-149.
- [33] 王思远, 刘学铭, 杨晓泉, 等. 交联大豆多糖的制备及性能研究[J]. 中国粮油学报, 2013, 28(12): 33-36.
- [34] 刘言佳. 不同聚合度菊粉的制备及对乳酸杆菌生长的影响[D]. 大连: 大连工业大学, 2013.

(上接第 131 页)

- [17] DE SOUSA J P, DE AZEREDO G A, TORRES R D, et al. Synergies of carvacrol and 1, 8-cineole to inhibit bacteria associated with minimally processed vegetables [J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 154(3): 145-151.
- [18] ODDS F C. Synergy, antagonism, and what the checkerboard puts between them[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2003, 52(1): 1.
- [19] SWAN G, DEAN G, HOCKRIDGE M, et al. Antimicrobial susceptibility in terms of the minimal inhibitory concentration (MIC) of LAE and Mirenat-N[J]. Journal of Applied Microbiology, 2004, 17(1): 28-39.
- [20] BECERRIL R, MANSO S, NERIN C, et al. Antimicrobial activity of Lauroyl Arginate Ethyl (LAE), against selected food-borne bacteria[J]. Food Control, 2013, 32(2): 404-408.
- [21] SONI K A, NANNAPANENI R, SCHILLING W, et al. Bactericidal activity of lauric arginate in milk and Queso Fresco cheese against *Listeria monocytogenes* cold growth[J]. Journal of Dairy Science, 2010, 93(10): 4 518-4 525.
- [22] CORONEL-LEON J, LOPEZ A, ESPUNY M J, et al. Assessment of antimicrobial activity of N-alpha-lauroyl arginate ethyl-ester (LAE (R)) against *Yersinia enterocolitica* and *Lactobacillus plantarum* by flow cytometry and transmission electron microscopy[J]. Food Control, 2016, 63: 1-10.
- [23] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. GB 2760—2014 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 2014: 201-268.
- [24] SHAW D, SWAN G, HOCKRIDGE M, et al. N^α-lauroyl-L-arginine ethyl ester monohydrochloride *In vitro* stability[J]. Food and Chemical Toxicology, 2003, 30(2): 145-159.
- [25] RUCKMAN S A, ROCABAYERA X, BORZELLECA J F, et al. Toxicological and metabolic investigations of the safety of N-alpha-lauroyl-L-arginine ethyl ester monohydrochloride (LAE) [J]. Food and Chemical Toxicology, 2004, 42(2): 245-259.