

含氮纽结魔芋葡甘露聚糖分子链凝胶结构拓扑分析

李雪晖¹, 吴先辉², 袁键¹, 庞杰³

(1. 南阳师范学院 生命科学与技术学院, 河南 南阳 473061; 2. 宁德职业技术学院 生物技术学院, 福建 福安 355000; 3. 福建农林大学 食品科学学院, 福建 福州 350002)

摘要:以魔芋葡甘露聚糖分子链和氨基的相互作用为基础, 运用分子动力学模拟魔芋葡甘露聚糖分子和 KGM 纽结作用位点, 结合红外光谱图, 从理论上分析含氮魔芋葡甘露聚糖凝胶的高强度性, 结果表明含氮魔芋葡甘露聚糖凝胶的高强度性是因为氮与魔芋葡甘露聚糖通过偶合反应形成了可以相对滑动的“8”字型交联环, 由拓扑分析得到, KGM 由平凡纽结变换成“8”字型纽结后 Schultz 指数与修正 Schultz 指数变小, 加强了分子之间作用力, 得到了高强度不可逆凝胶。KGM“8”字型纽结的形成有利于魔芋葡甘露聚糖凝胶的机械强度和稳定性的提高。

关键词:魔芋葡甘露聚糖; 凝胶; 氮; 结构; 拓扑分析

中图分类号:TS201.1

文献标志码:A

水凝胶包括化学凝胶和物理凝胶两类, 其中高分子链以较为牢固的共价键通过化学交联构成的是化学凝胶, 而由线型分子通过物理作用力形成交联构成了物理凝胶, 新型智能高分子材料水凝胶在很多的领域都有着极好的应用前景, 但因其网络中含有大量的水, 机械强度很低等不足之处, 使其在各个领域的实际应用中受到很大的限制, 因此, 研究制备高强度的水凝胶是当前的研究重点^[1]。

多糖的生物活性与它们的链构象密切相关, 如果构象发生变化如改变取代基^[2]则直接影响其功能活性, 魔芋葡甘露聚糖由 D-葡萄糖和 D-甘露糖通过 $\beta-1,4$ 糖苷键聚合而成, 在某些糖残基 C-3 位上存在由 $\beta-1,3$ 糖苷键组成的支链的复杂的环形高分子^[2-6]。目前人们对魔芋葡甘露聚糖分离、提取及特性的研究较多, 但魔芋葡甘露聚糖环形高分子复杂多变, 功能性难以调控, 因此, 探讨魔芋葡甘露聚糖结构特别是溶液状态下的构象与功能的关系尤为重要。

拓扑学是研究图形经过拓扑变换后的不变性质的学科, 通过拓扑分析从分子的结构出发建立数学模型, 运用这些模型预测化学分子的结构和性质, 从而为合成化学提供新分子的微观基础, 用计算机模拟代替部分尝试性的实际操作, 本文以魔芋葡甘露聚糖分子链和氨基的相互作用为基础, 运用分子动力学模拟魔芋葡甘露聚糖分子和 KGM 纽结作用位点, 结合红外光谱图, 从理论上分析含氮魔芋葡甘露聚糖凝胶的高强度性。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

魔芋粉(KGM 含量 91.4%) 云南昭通市三艾公司提供; 2-氯乙胺盐酸盐、浓 HCl, NaOH、溴甲酚绿、乙醇、甲基红、无水碳酸钠、邻苯二甲基氢钾、酚酞等均为分析纯。

1.2 仪器与设备

BSZ-2 型自动双重蒸馏水器, 上海博通经贸有限公司; HG101-2 电热鼓风干燥箱, 南京实验仪器厂; BS210S 分析天平, Sartorius; KQ218 超声波清洗器(固定功率 100W), 昆山市超声仪器有限公司; 85-2 恒

收稿日期: 2017-04-10; 修回日期: 2017-09-10.

基金项目: 南阳师范学院校级项目(QN2016004); 福建省自然科学基金项目(2014J01384); 福建省教育厅科技计划项目(JA13440).

作者简介: 李雪晖(1987-), 女, 河南南阳人, 南阳师范学院助教, 研究方向: 食品生物工程.

通信作者: 庞杰(1965-), 男, 教授, 博士, E-mail: jpang@physics.harvard.edu.

温磁力搅拌器,江苏金坛市环宇科学仪器厂; Cary 670-FTIR+610-FTIR microscope 美国 Varian 公司.

1.3 方法

1.3.1 拓扑学分析方法

基于 P.C.Burns 等拓扑学分析,运用拓扑结构图把复杂的魔芋葡甘聚糖转变成了相对简单的平面拓扑结构,有利于对 KGM 结构的分析和研究.拓扑简化有以下要点:

- (1)用折点和端点分别代表结构中的碳原子和氧原子.
- (2)略去 KGM 分子基团中的 O-H 和 C-H 键.
- (3)用直线表示碳氧和碳碳之间的作用力.

1.3.2 含氮 KGM 的制备^[7-8]

KGM 首先浸泡在 KGM 质量为 5%~25% 的 2-氯乙胺盐酸盐(CEA)水溶液中 30 min,然后在 65 °C 干燥直至溶剂挥发,产物浸没在不同温度(50~90 °C) 5%~25% 弱碱溶液中 15~90 min.氨化 KGM 通过甲醇沉淀,氨化 KGM 用蒸馏水洗涤几次,65 °C 干燥 10 min.氨化程度以氨基含量表示,产物记为 AKGM.

1.3.3 红外光谱测试

采用 KBr 压片,分别测定 KGM、AKGM 的红外光谱.从 KGM 膜样品处理面上刮取适量粉末,碾细后采用溴化钾压片法制样,以空气为参比,进行傅立叶红外光谱仪扫描,扫描波长范围为 4 000~400 cm^{-1} ,仪器分辨率 0.5 cm^{-1} ,扫描次数为 32/64.

1.3.4 分子模型的建立

以 KGM 的最小重复单元结构(即由葡萄糖和甘露糖组成的 38 个糖环)为模型基础,单糖残基 C-2, C-3, C-6 位上羟基随机被氨化,由 $-\text{C}_2\text{H}_4-\text{NH}_2$ 随机取代,去掉乙酰基,用 chemoffice 2008 软件和 Hyperchem Release 7.0 软件(USA)中的建模模块构建 AKGM 不同取代度的结构模型.

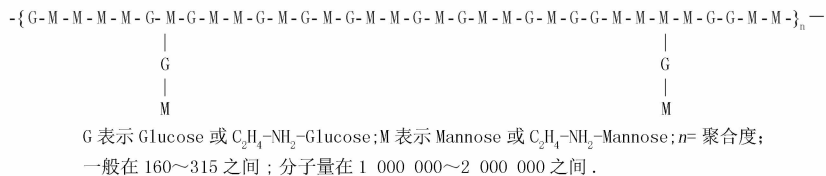


图 1 AKGM 的结构模型

2 结果

2.1 氨化产物(AKGM)红外光谱的分析和结构图

图 2 是氨化产物的红外光谱,由图 2 可知,KGM 在 3 444 cm^{-1} 处有一 OH 的特征吸收峰.在 AKGM 中,此峰变宽,并从 3 444 cm^{-1} 移向 3 425 cm^{-1} ,这是由于 $-\text{NH}_2$ 和 $-\text{OH}$ 的叠合产生强大的吸收峰.2 892 cm^{-1} 处吸收峰增强,说明引入新的 $-\text{CH}_2$ 或 $-\text{CH}_3$ 基团,这是由于 CEA 和 KGM 在碱性条件下反应,引入 $-\text{C}_2\text{H}_4$.1 727 cm^{-1} 吸收峰消失,是由于碱脱除了 KGM 分子链上的乙酰基团.在氨化改性样品的红外谱图中,同样可以观察到 808 cm^{-1} 和 893 cm^{-1} 的吸收峰,说明改性后 KGM 的主链一级结构没有改变.氨化 KGM 的可能结构如图 3.

2.2 氨基化魔芋葡甘聚糖不可逆凝胶形成机理

2.2.1 魔芋葡甘聚糖水凝胶的结构分析

魔芋葡甘聚糖水凝胶是具有三维网络结构的新型高分子聚合物材料,在其网状结构的空隙中充满了液体状的介质,其分子链上带有大量的亲水基团,因此可以吸收大量的水,在水中具有较高的溶胀性能,魔芋葡甘聚糖线型分子通过氢键作用力形成交联构成了物理凝胶而就物理缠结本身而言仅仅可说成是能够构成凝胶,但并没有形成交联.这种氢键交联在特定的条件下会被消除^[9-10].

2.2.2 氨化魔芋葡甘聚糖形成含氮 8 字形的结构

天然 KGM 呈伸展的链状结构,单股间有轻微的缠绕;由氨化产物(AKGM)红外光谱的图谱中和氨化

KGM 的结构可以知道,在 AKGM 中,峰变宽,这是由于 $-NH_2$ 和 $-OH$ 的叠合产生强大的吸收峰,引入新的 $-CH_2$ 或 $-CH_3$ 基团,由于 CEA 和 KGM 在碱性条件下反应,引入 $-C_2H_4$,发生了脱乙酰反应,PANG J^[11-12] 等研究发现,乙酰基是影响 KGM 凝胶稳定性的重要基团.分子链在去除乙酰基的斥力后 KGM 分子链螺旋链解开发生卷曲,成为柔性圆台状裸露的 KGM,KGM 以较为牢固的共价键通过化学交联,氨基通过与魔芋葡甘聚糖通过偶合反应直接得到了“8”字形聚合物,完成了将氢键作用力形成交联转换成 8 字形的交联加强了分子之间作用力.使得葡甘聚糖在水溶液中形成稳定的网络结构提高了魔芋葡甘聚糖凝胶的机械性能,克服了水凝胶的机械强度和稳定性差,得到了不可逆凝胶.

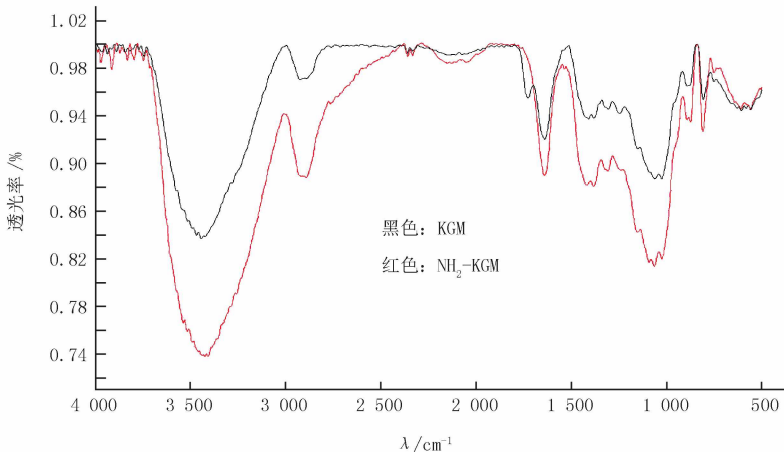


图2 AKGM 的红外光谱图

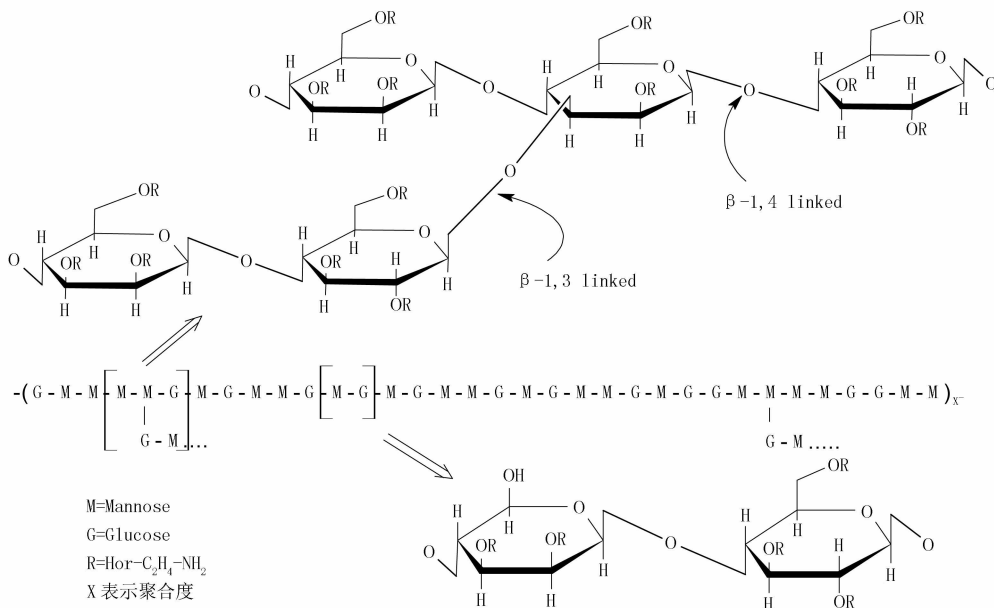


图3 AKGM 片段的结构图

2.2.3 含氮 8 字型组结 Schultz 指数变小增强氨基化 KGM 凝胶性质

组结被定义为三维空间中一条简单闭曲线“简单闭曲线就是连通的封闭的不自交的曲线”按照这个定义,在组结理论中称之为平凡组结.从俯视的角度观察螺旋链,KGM 的螺旋链都可看成组结理论中的平凡组结,如图 4 所示.

氨基化得到的 KGM 分子链发生脱乙酰基反应后,部分 KGM 分子由平面圆环的拓扑结构可以经过变换转变为同痕的 8 字型组结,KGM 螺旋链相互穿插到 8 字型 KGM 组结结构中,分子链靠拢并发生缠绕成

网状, KGM 由平凡纽结变换成 8 字型纽结后, Schultz 指数与修正 Schultz 指数变小, 即分子之间的度距离减少, 分子之间相互靠拢, 凝胶强度增强.

本文通过以下数学公式, 可以证明 KGM 由平凡纽结变换成 8 字型纽结后图的 Schultz 指数与修正 Schultz 指数变小, 即分子之间的度距离减少, 分子之间相互靠拢, 凝胶强度增强.

具体证明如下:

设 uv 为图 G_1uvG_2 的一条边, uv 连接 G 的两个连通分支 $G_1, G_2, G_1uG_2uK_2$ 是由 G_1uvG_2 收缩边 uv 为一个新的 $u(v)$ 点, 然后再在新点上连接一条新的悬挂边, 即

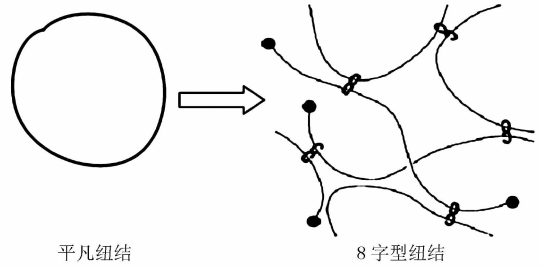


图 4 平凡纽结转换成 8 型交联环



设 uv 为图 G 的一条割边, G_1, G_2 为 $G - uv$ 的仅有的两个连通分支, 于是 $G = G_1uvG_2$. 并设 $G^* \square G_1uG_2uK_2$ 是由图 G 收缩边 uv 为一个新的 $u(v)$ 点, 然后再在新点上连接一条新的悬挂边 uw 所得.

设 $G = G_1uvG_2, G^* = G_1uG_2uK_2, G' = G_1 - u, G'_2 = G_2 - v$. 由 Schultz 指数的定义可得:

$$S(G) = \sum_{x,y \in I'(G_1)} [d(x) + d(y)]d(x,y) + \sum_{x,y \in I'(G_2)} [d(x) + d(y)]d(x,y) + \sum_{x \in I'(G_1)} \sum_{y \in I'(G_2)} [d(x) + d(y)]d_G(x,y) + \sum_{x \in I'(G_1)} [d(x) + dG(u)]d(x,u) + \sum_{x \in I'(G_2)} [d(x) + dG(v)]d(x,v) + \sum_{x \in I'(G_1)} [d(x) + dG(v)][d(x,u) + 1] + \sum_{x \in I'(G_2)} [d(x) + dG(u)][d(x,v) + 1] + dG(u) + dG(v).$$

$$S(G^*) = \sum_{x,y \in I'(G_1)} [d(x) + d(y)]d(x,y) + \sum_{x,y \in I'(G_2)} [d(x) + d(y)]d(x,y) + \sum_{x \in I'(G_1)} \sum_{y \in I'(G_2)} [d(x) + d(y)][d_G(x,y) - 1] + \sum_{x \in I'(G_1)} [d(x) + dG(u) + dG(v) - 1]d(x,u) + \sum_{x \in I'(G_2)} [d(x) + dG(u) + dG(v) - 1]d(x,v) + \sum_{x \in I'(G_1)} [d(x) + 1][d(x,u) + 1] + \sum_{x \in I'(G_2)} [d(x) + 1][d(x,v) + 1] + dG(u) + dG(v).$$

从而

$$S(G) - S(G^*) = \sum_{x \in I'(G_1)} \sum_{y \in I'(G_2)} (d(x) + d(y)) + \sum_{x \in I'(G_1)} (1 - d_G(v))d(x,u) + \sum_{x \in I'(G_2)} (1 - d_G(u))d(x,v) - \sum_{x \in I'(G_1)} (1 - d_G(v))(d(x,u) + 1) - \sum_{x \in I'(G_2)} (1 - d_G(u))(d(x,v) + 1) = \sum_{x \in I'(G_1)} \sum_{y \in I'(G_2)} (d(x) + d(y)) - \sum_{x \in I'(G_1)} (1 - d_G(v)) - \sum_{x \in I'(G_2)} (1 - d_G(u)) = \sum_{x \in I'(G_1)} \sum_{y \in I'(G_2)} (d(x) + d(y)) - (1 - d_G(v)) |I'(G_1)| - (1 - d_G(u)) |I'(G_2)| = |I'(G_2)| \sum_{x \in I'(G_1)} d(x) + |I'(G_1)| \sum_{y \in I'(G_2)} d(y) - (1 - d_G(v)) |I'(G_1)| - (1 - d_G(u)) |I'(G_2)| = |I'(G_2)| \cdot 2 |E(G_1)| + |I'(G_1)| \cdot 2 |E(G_2)| - (1 - d_G(v)) |I'(G_1)| - (1 - d_G(u)) |I'(G_2)| = |I'(G_2)| (2 |E(G_1)| + d_G(u) - 1) + |I'(G_1)| (2 |E(G_2)| + d_G(v) - 1) > 0.$$

说明: 公式中的 $E(G)$ 为图 G 的边集合; $I'(G)$ 为图 G 的顶点集合.

这就说明了在氨基条件下 KGM 脱乙酰之后, 用于衡量分子结构度距离的 Schultz 指数减小, 分子结构更加紧密, 从而使得 KGM 凝胶强度增强.

2.2.4 含氮 8 型交联环的相对滑动性质增强 KGM 凝胶性质

由以上分析可得到, 含氮 KGM 凝胶是拓扑结构凝胶, 氨基在魔芋葡甘聚糖的水溶液中是以化学交联的形式存在, 该凝胶具有 8 型交联的典型结构特征, 拓扑结构凝胶的 8 型交联环是可以沿着高分子链发生相

对的滑动,拓扑结构凝胶与普通化学凝胶和物理凝胶相区别的最大特征是 8 型交联环的相对滑动,如图 5 所示拉伸状态下化学凝胶(A)和拓扑结构凝胶(B)的对比模型.从图中可以看出对于化学凝胶来说,由于高分子链上的拉伸应力分散的极其不均匀,是高分子链逐渐发生断裂的关键所在;而拓扑结构凝胶的 8 型交联环是可以沿着高分子链发生相对的滑动,从而使高分子链上的拉伸应力的分散是相对均匀的,大大减少了局部的应力集中,使拉伸强度得到明显的提高,从而使得 KGM 凝胶具有较高的机械强度.

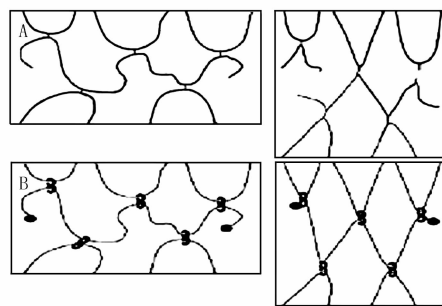


图 5 拉伸状态下的普通化学凝胶 (A) 和 KGM 凝胶 (B) 的对比模型示意图

3 讨 论

魔芋葡甘聚糖通过与氨基发生反应,形成含氮 8 型交联环 KGM 凝胶,该种化学凝胶是新型智能高分子材料研究而成的高强度的水凝胶,该水凝胶是典型的 8 字形拓扑凝胶,该拓扑凝胶具有很强的机械性能,避免了机械性能差、稳定性差.除了单一组分的单环聚合物外,越来越多的具有复杂结构的环形聚合物也被合成出来,包括组成成分上的多样化和结构上的复杂化,如环形嵌段聚合物和复杂拓扑结构的环形聚合物.常见的复杂拓扑结构有以下几种:蝌蚪形、O 形、刚铃形、太阳形等聚合物,多糖分子链在溶液中的构象主要有无规线团状、单螺旋、双螺旋、三螺旋、蠕虫状、棒状和聚集类等.多糖的生物活性与它们的链构象密切相关,如果构象发生变化如改变取代基(种类、取代位置、取代度)、糖苷键类型和分子链长短等^[2]则直接影响其功能活性,所以可以通过改变取代基的种类、取代位置、取代度、和分子链长短等来改变魔芋葡甘聚糖的环状结构来获得蝌蚪形、O 形、刚铃形、太阳形拓扑结构来获得高强度的凝胶是我们研究的重点.

天然 KGM 呈伸展的链状结构,单股间有轻微缠绕;脱乙酰后的 KGM 分子链发生卷曲,为柔性圆台状.分子链在去除乙酰基的斥力后,KGM 分子链螺旋链解开发生卷曲,氨基通过与魔芋葡甘聚糖通过偶合反应直接得到了“8”字形聚合物,KGM 以较为牢固的共价键通过化学交联,完成了将氢键作用力形成交联转换成 8 字形的交联,加强了分子之间作用力,纽结形状的改变,由平凡纽结转换成 8 字型纽结,形成拓扑结构,使得 Schultz 指数与修正 Schultz 指数变小,即分子之间的度距离减少,分子之间相互靠拢,从而形成不可逆凝胶使得葡甘聚糖在水溶液中形成稳定的网络结构,拓扑结构凝胶的 8 型交联环是可以沿着高分子链发生相对的滑动,从而使高分子链上的拉伸应力的分散是相对均匀的,大大减少了局部的应力集中,使拉伸强度得到明显的提高,通过 8 字形结构的作用大大提高氨基化魔芋葡甘聚糖凝胶的机械性能,克服水凝胶的机械强度和稳定性得到不可逆的高强度凝胶.

参 考 文 献

- [1] 石磊,韩龙,刘超.多糖的构象研究方法综述[J].曲阜师范大学学报(自然科学版),2012,38(3):78-84.
- [2] Fan L L, Peng S H, Wen C R, et al. Analysis of Influential Factors of Konjac Glucomannan (KGM) Molecular Structure on Its Activity [J]. Chin J Struct Chem, 2016, 31(4): 605-613.
- [3] Jeon C, Ho'll W H. Application of the surface complexation model to heavy metal sorption equilibria onto aminated chitosan [J]. Hydro-metallurgy, 2014, 71(3/4): 421-428.
- [4] Agulló E, Rodríguez M S, Ramos V, et al. Present and future role of chitin and chitosan in food [J]. Macromolecular Bioscience, 2013, 3(10): 521-530.
- [5] Soeda S, Ishida S, Honda O, et al. Aminated fucoidan promotes the invasion of 3 LL cells through reconstituted basement membrane; its possible mechanism of action [J]. Cancer Letters, 1994, 85(1): 133-138.
- [6] Wang J, Tabata Y, Morimoto K. Aminated gelatin microspheres as a nasal delivery system for peptide drugs; Evaluation of in vitro release and in vivo insulin absorption in rats [J]. Journal of Controlled Release, 2015, 113(1): 31-37.
- [7] Pang J, Sun Y J, Guan Y G, et al. Molecular dynamics simulation of glucomannan solution [J]. Chin J Struct Chem, 2015, 24, 841-845.

- [8] Pang J, Sun Y J, Zhuang Y, et al. Dynamics Study of the Influence of Temperature on Konjac Glucomannan Saline Solution's Viscosity[J]. *Chin J Struct Chem*, 2015, 27(4): 394-398.
- [9] Jian W J, Yao M N, Wang M, et al. Formation Mechanism and Stability Study of Konjac Glucomannan Helical Structure[J]. *Chinese J Struct Chem*, 2016, 29(4): 543-550.
- [10] 李斌, 谢笔钧. 脱乙酰基对天然魔芋葡甘聚糖分子形貌的影响[J]. *功能高分子学报*, 2012, 15(4): 447-450.
- [11] 冯观萍, 李美英, 林虹仪, 孙远明. 脱乙酰魔芋葡甘聚糖性质及其脂类结合能力研究[J]. *现代食品科技*, 2017(02): 1-11.
- [12] Pang J, Sun Y J. Studies on Hydrogen Bonding Network Structures of Konjac Glucomannan[J]. *Chinese J Struct Chem*, 2008, 27(4): 431-436.

Topology Analysis for the Gel of Konjac Glucomannan Molecular Chain with Nitrogen Knot

Li Xuehui¹, Wu Xianhui², Yuan Jian¹, Pang Jie³

(1. School of Life Science and Technology, Nanyang Normal University, Nanyang 473061, China;

2. Institute of biotechnology, Ningde Vocational and Technical College, Fujian 355000;

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

Abstract: Based on the interaction between the molecular chain of konjac glucomannan and amino, molecular dynamics was used to simulate konjac glucomannan molecules and the acting site of KGM. The high intensity of konjac glucomannan (KGM) gel containing nitrogen was theoretically analysed with infrared spectrum. The results showed that the high intensity of KGM gel with nitrogen was because that the relative sliding knot "8" was formed through the coupling reaction between nitrogen and KGM. The topological analysis showed that after the common KGM knot changed into the "8" type cross-linking ring, Schultz index and correction index become smaller strengthening the molecular interaction and the high strength reversible gel was got. KGM "8" type cross-linking knot was conducive to the improvement of mechanical strength and stability of konjac glucomannan gel.

Keywords: konjac glucomannan(KGM); gel; nitrogen; structure; topological analysis

[责任编辑 王凤产]