

气相色谱法测定羟丙基魔芋葡甘露聚糖的 摩尔取代度

郭雅楠¹, 陈相玉¹, 王滕斌¹, 郭友利², 许文廷¹, 吕兴霜¹, 王鹏博¹, 张永勤^{1*}

(1. 青岛科技大学化工学院, 青岛 266042; 2. 烟台天鹭食品有限公司, 烟台 264000)

摘要: **目的** 建立气相色谱法(gas chromatography, GC)测定羟丙基魔芋葡甘露聚糖(hydroxypropyl konjac glucomannan, HP-KGM)的摩尔取代度(molar substitution degree, MS)的方法。**方法** 首先制备不同 MS 的 HP-KGM 样品, 通过傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)和 ¹H 核磁共振(¹H nuclear magnetic resonance, ¹H NMR)对其进行结构表征, 然后利用 GC 测定氢碘酸与 HP-KGM 在高温密封环境下反应所产生的 2-碘丙烷, 以推算其羟丙基的 MS, 并将所得结果与 ¹H NMR 法得到的 MS 进行比较。**结果** FTIR 和 ¹H NMR 的结果表明, 羟丙基化过程中 HP-KGM 的原料—KGM 所固有的乙酰基已全部脱落, 因此对 HP-KGM 的 MS 测定无干扰, 由此所测得的 MS 与 ¹H NMR 法的结果呈线性关系, 单点法和标准曲线法校正系数分别为 1.159 ($R^2=0.9965$)和 1.164 ($R^2=0.9965$), 无显著性差异($P=0.862>0.05$)。**结论** 本研究测定的 HP-KGM 的羟丙氧基含量在 7.6%~40.8% (MS 0.16~1.33)之间, 低于美国药典规定的测定羟丙基纤维素中羟丙氧基含量的范围 53.4%~80.5% (MS 2.2~7.8), 由此拓宽了 GC 测定 HP-KGM 中羟丙基 MS 的范围, 这对于食品行业的低取代 HP-KGM 的质量控制具有重要意义。

关键词: 羟丙基魔芋葡甘露聚糖; 气相色谱法; 羟丙基; 摩尔取代度

Determination of the molar substitution of hydroxypropyl konjac glucomannan by gas chromatography

WU Ya-Nan¹, CHEN Xiang-Yu¹, WANG Teng-Bin¹, GUO You-Li², XU Wen-Ting¹,
LV Xing-Shuang¹, WANG Peng-Bo¹, ZHANG Yong-Qin^{1*}

(1. College of Chemical Engineering, Qingdao University of Science and Technology, Qingdao 266042, China;
2. Yantai Tianlu Food Co., Ltd., Yantai 264000, China)

ABSTRACT: Objective To develop a method for the determination of molar substitution (MS) of hydroxypropyl konjac glucomannan (HP-KGM) by gas chromatography (GC). **Methods** HP-KGM samples with different MS were firstly prepared, structurally characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and ¹H nuclear magnetic resonance (¹H NMR), and then GC method was used to determine the 2-iodopropane produced by the reaction between hydroiodic acid and HP-KGM at high-temperature in sealed condition. The MS of its hydroxypropyl group was calculated, and the obtained results were compared with the MS obtained by ¹H NMR

基金项目: 山东省重点研发计划项目(2019GSF107081)

Fund: Supported by the Key Research and Development Project of Shandong Province (2019GSF107081)

*通信作者: 张永勤, 博士, 教授, 主要研究方向为酶工程、糖工程及其在功能性食品、药物制剂中的应用。E-mail: zyzq0205@qust.edu.cn

*Corresponding author: ZHANG Yong-Qin, Ph.D, Professor, Qingdao University of Science and Technology, No.53 Zhengzhou Road, Shibei District, Qingdao 266042, China. E-mail: zyzq0205@qust.edu.cn

method. **Results** The results of FTIR and ^1H NMR indicated that the inherent acetyl group of KGM, the raw material of HP-KGM, had been completely removed during the hydroxypropylation process, thus there was no interference with the MS determination of HP-KGM. The MS results thus obtained showed a linear relationship with those of the ^1H NMR method, with correction coefficients of 1.159 ($R^2=0.9965$) and 1.164 ($R^2=0.9965$) for the single point method and standard curve method, respectively, with no significant difference ($P=0.862>0.05$).

Conclusion The hydroxypropoxy content of HP-KGM obtained here ranges from 7.6% to 40.8% (MS 0.16–1.33), which is lower than that ranges from 53.4% to 80.5% (MS 2.2–7.8) specified in the United States Pharmacopoeia for the hydroxypropoxy content in hydroxypropyl cellulose, which broadens the scope of GC method for determining MS in HP-KGM, which is of great significance for the quality control of low substitution HP-KGM applied in the food industry.

KEY WORDS: hydroxypropyl konjac glucomannan; gas chromatography; hydroxypropyl; molar substitution

0 引言

魔芋葡甘露聚糖(konjac glucomannan, KGM)是一种非离子型水溶性多糖, 分子量在 200~2000 kDa 不等^[1], 其主链由 β -D-葡萄糖和 β -D-甘露糖经 β -1,4-糖苷键连接而成, 其分支链接 C_3 、 C_6 位^[2], 分支频率约为 8%^[3]。在 KGM 中存在乙酰基, 以酯键形式链接在甘露糖残基的 C_2 、 C_3 位^[4]。由于来源于不同品种, KGM 中甘露糖残基与葡萄糖残基的摩尔比稍有差别, 其比例约为 1.5~1.7:1.0^[5], 且末端葡萄糖残基与末端甘露糖残基的摩尔比约为 2^[6]。KGM 具有强吸水性^[7]、高黏度^[8]、凝胶性^[9]、生物降解性^[10]和生物相容性^[11], 已广泛应用于食品^[12]、医药^[13]、精细化工^[14]等领域。例如, 将 KGM 加入到特殊膳食中, 用于控制脂肪肝^[15]和糖尿病^[16]。KGM 如此强的物化特性与其分子中的乙酰基密切相关, 但由于乙酰基极易脱落, 使 KGM 的应用稳定性大幅度降低^[17], 而将 KGM 羟丙基化, 以羟丙基代替乙酰基, 是解决上述问题的方法之一。

羟丙基化是多糖改性的一种常用方法, 所得多糖衍生物为非离子衍生物, 现已应用于壳聚糖、淀粉、纤维素的改性并应用于食品、医药行业^[18-20]。取代度是 KGM 羟丙基化衍生物质量控制的关键因素, 而且取代度的确定对羟丙基魔芋葡甘露聚糖(hydroxypropyl konjac glucomannan, HP-KGM)进一步的开发、应用具有重要的意义。其他羟丙基化多糖已有羟丙基取代度检测方法, 如 ^1H 核磁共振(^1H nuclear magnetic resonance, ^1H NMR)^[21]、傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)^[22-27]、分光光度法^[28]测定羟丙基壳聚糖取代度, 分光光度法测定羟丙基淀粉取代度^[29], MORGAN 串联法测定羟丙基半乳甘露聚糖取代度^[30]。但未见有关 KGM 羟丙基化的报道, 更未见其羟丙基取代度测定方法的研究。气相色谱法(gas chromatography, GC)操作简便, 仅需预处理样品即可自动进样, 可大批量测定, 适用于常规的质量控制。

本研究拟基于 GC 建立测定 HP-KGM 的羟丙基取代度的检测方法, 利用氢碘酸与 HP-KGM 在高温密封环境下发生反应, 测定其所产生的 2-碘丙烷, 由此推算其摩尔取代度(molar substitution degree, MS), 考虑到反应是否完全而影响测定的准确性, 本研究以公认的准确测定方法— ^1H NMR 法作为对照, 以提供测定的校正系数, 以期食品行业的低取代 HP-KGM 的质量控制提供新方法。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

魔芋葡甘露聚糖(纯度 $\geq 95\%$, 武汉市清江魔芋制品有限公司); 环氧丙烷、KBr(分析纯, 上海阿拉丁试剂有限公司); NaOH、无水乙醇、丙酮、盐酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 2-碘丙烷(纯度 99%)、甲基环己烷(纯度 $\geq 99.8\%$)、邻二甲苯(纯度 $\geq 96\%$)、氢碘酸(纯度 55.0%~58.0%)、己二酸(纯度 $\geq 99.5\%$)(上海麦克林生化科技有限公司); DCI (质量百分数 35%)、含 3-(三甲基硅基)丙酸-2,2,3,3- d_4 酸钠盐[3-(trimethylsilyl)propionic-2,2,3,3- d_4 acid sodium salt, TMSP]的 D_2O (纯度 99.9%, 西格玛奥德里奇贸易有限公司)。

1.2 仪器与设备

DB-1 毛细管柱(30 m \times 0.53 mm, 1.0 μm)[安捷伦科技(中国)有限公司]; GC-2010 Plus[配氢火焰离子化检测器(flame ionization detector, FID)检测器, 日本岛津公司]; CP3800 气相色谱仪(美国瓦里安公司); AL204 电子天平[精度 0.0001 g, 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]; DHG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司); IS10 傅里叶变换红外光谱仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]; JNM-ECZ600R/S1 核磁共振波谱仪(日本电子株式会社); Topolino 快速混匀器(德国艾卡 IKA 公司); TFDS0.25 食品真空冷冻干燥机(烟台中孚冷链设备

有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 HP-KGM 的制备及表征

(1) HP-KGM 的制备

称取 10 g KGM 置于三颈烧瓶中, 将 20 mL 20% 的 NaOH 溶液与 150 mL 70% 的乙醇溶液混合均匀, 向三颈烧瓶中加入 NaOH 与乙醇混合溶液, 迅速搅拌使 KGM 均匀分散, 然后置于常温碱化 30 min。碱化结束后, 将三颈烧瓶转移至水浴锅中, 边缓慢滴加环氧丙烷边搅拌使得环氧丙烷与 KGM 充分接触, 环氧丙烷的体积为 70 mL, 抽滤以终止反应。将产物先浸入乙醇中, 超声、搅拌、抽滤, 以去除杂质, 将滤饼溶于水中, 用盐酸调节 pH 至中性, 透析, 减压浓缩, 冻干, 得到 HP-KGM, 真空封口, 于 4°C 贮藏。因反应温度(35~40°C)和反应时间(1.0~6.5 h)不同, 得到 10 个不同 MS 的样品(HP-KGM-1~10)。HP-KGM-1 反应温度和反应时间分别为 35°C, 1.0 h; HP-KGM-2~HP-KGM-9 反应温度为 40°C, 反应时间分别为 1.0、2.0、3.0、3.5、4.0、4.5、5.0、6.5 h, HP-KGM-10 条件同 HP-KGM-9 (虽然 HP-KGM-9 与 HP-KGM-10 反应条件相同, 但由于人为操作误差, 使其取代度在误差范围内稍有差异)。

(2) FTIR 结构表征

将 KGM、HP-KGM 样品于 80°C 干燥 4 h, 105°C 干燥 2 h 以除去样品中的水分, 冷却后, 与 KBr 混合, 在研钵中碾碎至极细粉末, 压片, 用红外光谱仪测定。其检测条件为步进 4 cm⁻¹, 扫描次数 64 次, 扫描范围为 4000~400 cm⁻¹。

(3) ¹H NMR 结构表征

¹H NMR 样品按照张永勤等^[31]的方法, 称取 10.0 mg KGM 和制备的 HP-KGM 按照 1.3.1(2)的方法进行干燥, 将干燥后的样品与 1 mL 1.78 mol/L DCl/D₂O 混合, 密封, 静置, 直至其溶解。然后移至核磁管中, 置于核磁设备中获得 ¹H NMR 谱图。其条件为: 分辨率 600.20211 MHz, 环境温度 25°C, 化学位移基于 TMS (δ=0 ppm), 采集时间(acquisition time, AQ)为 5.52 μs, 弛豫时间(D₁)为 5.0 s, 共扫描了 32 次。

1.3.2 气相色谱法溶液的配制

根据美国药典测定羟丙基纤维素中羟丙氧基含量的测定方法^[32]并稍作修改。其中反应产生的 2-碘丙烷量同时使用单点法和 2-碘丙烷标准曲线进行测定。

(1) 内标溶液的配制

将 1 mL 甲基环己烷加入到含有 50 mL 邻二甲苯的试剂瓶中, 充分混匀, 置于 4°C 冰箱中保存备用。

(2) 标准溶液的配制及标准曲线的绘制

准确称取 60.0 mg 己二酸于反应瓶中, 加入 2 mL 内标溶液(1), 再加入 1 mL 氢碘酸, 密封瓶口, 准确称重。用注射器向反应瓶中注入 0、10、15、20、25、30 μL 的 2-碘丙

烷, 再准确称重。充分混匀, 待分相后, 取出上相作为标准溶液。以 2-碘丙烷物质的量(mmol)为横坐标, 2-碘丙烷与甲基环己烷的峰面积比为纵坐标, 绘制 2-碘丙烷标准对应关系曲线 $y=1.3318x$ ($r^2=0.9991$), 由此所得回归方程用于计算 HP-KGM 的 MS。

(3) 样品溶液的制备

按照 1.3.1(2)的方法干燥样品。精密称取干燥的 HP-KGM 样品 30.0 mg 于反应瓶中, 按照 1.3.2(2)的方法向反应瓶中加入己二酸、内标溶液和氢碘酸, 密封瓶口, 称重, 于 115°C 加热 70 min, 自然冷却至室温, 再次称重, 以检验反应瓶是否发生泄露, 若前后重量相差 10 mg 及以上则认为该反应瓶泄露, 不再进一步检测。待分相后, 取出上相作为样品溶液。

1.3.3 气相色谱条件

柱温: 程序升温, 初始温度 40°C, 保持 3 min, 以 10°C/min 的速率升温至 100°C, 再以 50°C/min 的速率升温至 250°C, 维持 3 min; 进样口温度: 180°C, 检测器温度: 180°C; 载气: 氮气, 线速度 52 cm/s, 分流比为 50:1, 自动进样 1 μL。

1.3.4 HP-KGM 取代度计算

美国药典收录的 GC 测定羟丙含量的方法是利用羟丙基与氢碘酸于高温密封环境下发生反应, 转化成为 2-碘丙烷, 生成的 2-碘丙烷被吸收到邻二甲苯中, 以甲基环己烷作为内标溶液, 以内标分析法计算生成的 2-碘丙烷含量, 进而计算羟丙基的含量, 即可求得羟丙基取代度。美国药典中使用单点法即以 25 μL 2-碘丙烷与甲基环己烷的面积比作为参照, 从而得到样品溶液中 2-碘丙烷量, 进而计算得到 HP-KGM 的 MS。但利用标准曲线计算产物量时, 包含范围广, 计算结果更加准确, 因此本研究引入标准曲线法计算 HP-KGM 的 MS。标准曲线法是依据 2-碘丙烷的标准曲线求得 2-碘丙烷的量进而计算得到 HP-KGM 的 MS。单点法计算 HP-KGM 取代度如公式(1)所示, 标准曲线法计算 HP-KGM 取代度如公式(2)所示:

$$MS = \frac{162.14 \times A_1' \times A_1' \times n}{1000 \times A_1' \times A_1' \times m - 58.08 \times A_1' \times A_1' \times n} \quad (1)$$

$$MS = \frac{162.14 \times A_1}{1000 \times mkA_1 - 58.08 \times A_1} \quad (2)$$

其中, MS 表示 HP-KGM 的摩尔取代度; A_1' 、 A_1' 、 n 分别表示标准溶液中的甲基环己烷的峰面积、2-碘丙烷的峰面积、2-碘丙烷的量, mmol; A_1 、 A_1 分别表示样品溶液中甲基环己烷的峰面积、2-碘丙烷的峰面积; 58.08 表示羟丙基的摩尔质量, g/mol; m 表示 HP-KGM 的干重质量, g; 162.14 表示脱水葡萄糖和甘露糖单元的摩尔质量, g/mol; k 表示 2-碘丙烷标准曲线的斜率, mmol⁻¹。

1.3.5 方法学考察

为了验证 GC 测定 HP-KGM 的 MS 的准确性, 本研究

采用向 HP-KGM 样品中加入标准物质 2-碘丙烷标准溶液的方法验证其回收率。向 HP-KGM 中分别添加 0.098、0.148、0.198 mmol 的 2-碘丙烷, 每个加量做 3 个平行, 按照 1.3.2 方法操作, 然后按照 1.3.3 测定 2-碘丙烷, 考察方法的回收率和精密度。同时以信噪比的 3 倍和 10 倍确定 2-碘丙烷检出限和定量限, 进而计算出 MS 的检出限和定量限。

1.3.6 ^1H NMR 法测定 HP-KGM 的取代度

按照 1.3.1(3)的方法获得各 HP-KGM 的 ^1H NMR 谱图, 然后根据公式(3)计算其 MS:

$$\text{MS} = \frac{2I_9}{I_{2-8} - I_9} \quad (3)$$

式中, I_{2-8} 、 I_9 分别为 $\text{H}_2\sim\text{H}_8$ 及 H_9 的积分面积。

1.4 数据处理

采用 OMNIC、MestReNova、LabSolutions、Microsoft Excel 2016 和 SPSS 26.0 软件对所获得的数据进行分析处理、作图及显著性分析。

2 结果与分析

2.1 FTIR 结构表征

由图 1 可知, 与 KGM 谱图相比, HP-KGM 的谱图中并无乙酰基 $\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动 (1734 cm^{-1})^[33], 说明它已在羟丙基化过程中被脱去, 取而代之的是羟丙基的特征吸收峰, 如羟丙基的甲基的 $\text{C}-\text{H}$ 不对称伸缩振动 2970 cm^{-1} 、不对称弯曲振动 1458 cm^{-1} 和对称弯曲振动 1376 cm^{-1} , 羟丙基化使醚键 $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ 伸缩振动 1155 cm^{-1} 大幅度增大, C_6 位伯羟基的 $\text{C}-\text{O}$ 伸缩振动 1027 cm^{-1} 被逐步削弱, 取而代之的是仲羟基的 $\text{C}-\text{O}$ 伸缩振动 1058 cm^{-1} 被逐步增强^[34], 说明羟丙基已成功引入 KGM 分子中。

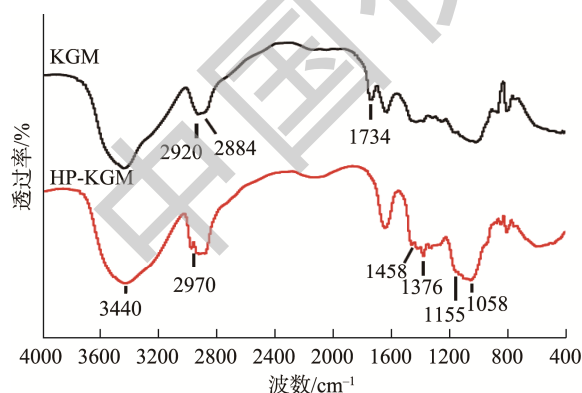


图 1 KGM 和 HP-KGM 的红外谱图
Fig.1 Infrared spectra of KGM and HP-KGM

2.2 ^1H NMR 结构表征

KGM 和 HP-KGM 的 ^1H NMR 谱图如图 2 所示。KGM 中 4.78 ppm 归属为甘露糖异头碳质子峰 $\text{H}_{1-\text{M}}$, 4.53 ppm 归属为葡萄糖异头碳质子峰 $\text{H}_{1-\text{G}}$, 4.13~3.73 ppm 为 KGM 中

$\text{C}_2\sim\text{C}_6$ 质子峰 H_{2-6} ^[35], 而 HP-KGM 中 4.28~3.24 ppm 为 HP-KGM 中 $\text{C}_2\sim\text{C}_8$ 质子峰 H_{2-8} 。由于所用溶剂为 $\text{DCl}/\text{D}_2\text{O}$, 导致 KGM 中部分酯键断裂, 从而出现两个乙酰基相关信号, 即 2.18 ppm 为乙酰基的甲基质子峰 H_A ^[36], 2.08 ppm 为乙酸的甲基质子峰 H'_A ^[37]。在 HP-KGM 中无乙酰基相关质子峰, 说明它已在羟丙基化过程中被脱去, 增加了羟丙基的甲基质子峰 1.16 ppm^[38], 因此使用 GC 测定 HP-KGM MS 时无乙酰基的干扰。

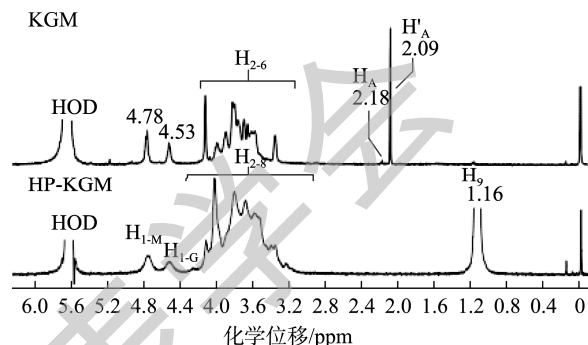


图 2 KGM 和 HP-KGM 的 ^1H NMR 谱图
Fig.2 ^1H NMR spectra of KGM and HP-KGM

2.3 气相色谱的谱图解析

在标准溶液和样品溶液气相色谱图(图 3)中均可观察到 2-碘丙烷、甲基环己烷、邻二甲苯的峰, 其保留时间分别为 2.536、3.651 和 7.210 min。此外, 还可观测到氢碘酸和己二酸的峰, 其保留时间分别为 1.420 min 和 11.209 min, 但二者都是水溶性物质, 仅有少量存在于上层有机相中, 所以观测到的峰较小。

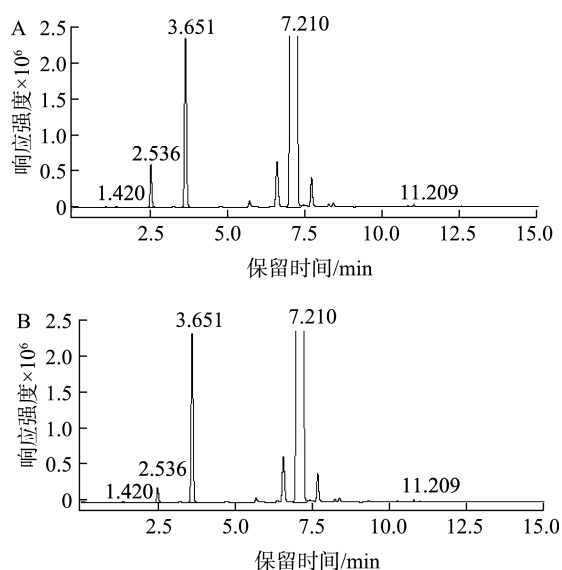
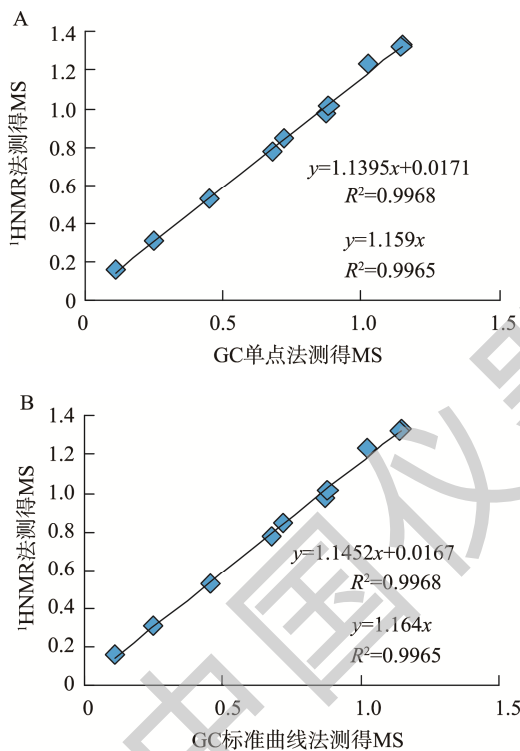


图 3 标准溶液(A)和 HP-KGM 样品溶液(B)气相色谱图
Fig.3 GC spectra of the standard solution (A) and sample solution of HP-KGM (B)

2.4 单点法及标准曲线法计算 HP-KGM 的 MS 及其与 ^1H NMR 法的比较

将 GC 单点法及标准曲线法所得结果如图 4 所示。与 ^1H NMR 法得到的 MS 进行对比, 首先, GC 的测定结果均低于 ^1H NMR 法, 实际反应过程中, 为使该反应彻底进行, 以最高 MS 的 HP-KGM 为例, 加入的氢碘酸与羟丙基的摩尔比为 64, 氢碘酸是超量的, 但反应仍不能彻底进行, 即 GC 测定的 MS 偏低, 因此需要对其进行校正; 其次, 单点法、标准曲线法与 ^1H NMR 法的测定结果均存在线性关系, 因此, 可以 ^1H NMR 法作为标准方法对 GC 进行校正; 单点法、标准曲线法与 ^1H NMR 法联立方程所得校正系数分别为 1.159、1.164, 无显著性差异($P=0.862>0.05$), 因此单点法和标准曲线法都可用于 HP-KGM 的 MS 的测定。



注: A: 单点法; B: 标准曲线法。

图 4 GC 与 ^1H NMR 法测得 MS 的比较

Fig.4 Comparison of MS measured by GC and ^1H NMR method

2.5 方法学考察

本研究考察了 GC 单点法和标准曲线法的检出限、定量限、回收率和精密度。结果表明, 在 0.098、0.148 和 0.198 mmol 3 个加标水平下, 单点法平均回收率为 97.9%, 相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD) 为 0.8%, 同时以信噪比的 3 倍和 10 倍确定 2-碘丙烷的检出限和定量限分别为 0.04 mmol 和 0.14 mmol, 对应 MS 的检出限和定量限分别为 0.26 和

1.08; 标准曲线法平均回收率为 104.0%, RSD 为 0.8%, 2-碘丙烷的检出限和定量限分别为 0.04 mmol 和 0.14 mmol, 对应的 MS 的检出限和定量限分别为 0.26 和 1.08。结果表明, 本研究建立的两种方法回收率高、精密度好, 可用于 HP-KGM 的 MS 的测定。

3 讨论与结论

本研究首先制备了 HP-KGM, 并通过 FTIR 和 ^1H NMR 对其进行表征, 然后通过 GC 的单点法和标准曲线法测定了 HP-KGM 的 MS, 并将所得结果与 ^1H NMR 法得到的 MS 进行对比, 构建了计算公式。结果发现, KGM 羟丙基化过程中不仅有羟丙基的引入还伴随着乙酰基的去除, 因此 GC 测定 HP-KGM 的 MS 时没有乙酰基的干扰; 其次, 以最高 MS 的 HP-KGM 为例, 加入的氢碘酸与羟丙基的摩尔比为 64, 远高于美国药典中的比例, 但是 GC 法测定的取代度结果仍低于 ^1H NMR 法, 说明样品制备过程中反应不完全, 因此需引入 ^1H NMR 法对其进行校正; 本研究提供单点法和标准曲线法两种 GC 法测定 HP-KGM 的 MS, 所得校正系数分别为 1.159、1.164, 无显著性差异 ($P=0.862>0.05$), 都可用于 HP-KGM 的 MS 的测定, 与美国药典中羟丙基纤维素中羟丙氧基含量的测定时存在校正系数的情况类似, 而中国药典中并未指定校正系数^[39]。方法学考察结果表明, 单点法和标准曲线法 2-碘丙烷的平均回收率分别为 97.9%、104.0%, RSD 都为 0.8%, 检出限都为 0.04 mmol, 定量限都为 0.14 mmol; 对应地, MS 的检出限都为 0.26, 定量限都为 1.08。表明两种方法均可用于 HP-KGM 的 MS 的测定。

虽然 ^1H NMR 法测定 HP-KGM 的 MS 结果准确, 但其对样品制备要求高, 成本高, 不适用于常规质量保证。而本研究建立的 GC 法操作简便, 仅需预处理样品即可自动进样, 可大批量测定, 使该法可直接应用于 HP-KGM 生产中的常规质量控制。在美国药典中, 特别说明了羟丙基纤维素的羟丙基含量的测定范围为 53.4%~80.5% (MS 2.2~7.8), 事实上, 本研究所测数据均小于此范围 (7.6%~40.8%, 即 MS 0.16~1.33), 但也可适用于 HP-KGM 样品中 MS 测定, 由此拓宽了 GC 法的测定范围, 这对于食品行业的低取代 HP-KGM 的质量控制具有重要意义。

参考文献

- [1] 李靖, 樊李红, 童泽鑫, 等. 魔芋葡甘露聚糖/聚乙烯醇复合海绵的制备及性能[J]. 武汉大学学报(理学版), 2021, 67(4): 353-358.
- LI J, FAN LH, TONG ZX, *et al.* Preparation and properties of konjac glucomannan/polyvinyl alcohol composite sponge [J]. J Wuhan Univ (Nat Sci Ed), 2021, 67(4): 353-358.
- [2] LIU Z, REN X, CHENG Y, *et al.* Gelation mechanism of alkali induced heat-set konjac glucomannan gel [J]. Trends Food Sci Technol, 2021, 116:

- 244–254.
- [3] KATSURAYA K, OKUYAMA K, HATANAKA K, *et al.* Constitution of konjac glucomannan: Chemical analysis and ^{13}C NMR spectroscopy [J]. *Carbohydr Polym*, 2003, 53(2): 183–189.
- [4] SHI XD, YIN JY, ZHANG LJ, *et al.* Studies on *O*-acetyl-glucomannans from amorphophallus species: Comparison of physicochemical properties and primary structures [J]. *Food Hydrocolloid*, 2019, 89: 503–511.
- [5] LI Z, ZHANG L, MAO C, *et al.* Preparation and characterization of konjac glucomannan and gum arabic composite gel [J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 183: 2121–2130.
- [6] SHI XD, YIN JY, CUI SW, *et al.* Studies on *O*-acetyl-glucomannans from amorphophallus species: Comparison of fine structure [J]. *Food Hydrocolloid*, 2020, 100: 105391.
- [7] ZHANG C, YANG X, HU W, *et al.* Preparation and characterization of carboxymethyl chitosan/collagen peptide/oxidized konjac composite hydrogel [J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 149: 31–40.
- [8] ZHU F. Modifications of konjac glucomannan for diverse applications [J]. *Food Chem*, 2018, 256: 419–426.
- [9] YAN W, YIN T, XIONG S, *et al.* Gelling properties of silver carp surimi incorporated with konjac glucomannan: Effects of deacetylation degree [J]. *Int J Biol Macromol*, 2021, 191: 925–933.
- [10] 颜吉强, 高红豆, 徐晓薇, 等. 魔芋葡甘露聚糖基活性纳米复合膜的构建及性能研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(24): 8135–8143.
YAN JQ, GAO HD, XU XW, *et al.* Construction and properties of konjac glucomannan-based active nanocomposite membranes [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(24): 8135–8143.
- [11] 田润苗, 罗晓宇, 王锦洋, 等. 魔芋葡甘露聚糖基复合物-葡萄灰霉的相互作用研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2022, 13(23): 7765–7772.
TIAN RM, LUO XY, WANG JY, *et al.* Study on the interaction between konjac glucomannan-based composites and grape *Botrytis cinerea* [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(23): 7765–7772.
- [12] MARTINO F, PUDDU PE, PANNARALE G, *et al.* Low dose chromium-polynicotinate or policosanol is effective in hypercholesterolemic children only in combination with glucomannan [J]. *Atherosclerosis*, 2013, 228(1): 198–202.
- [13] CHEN HL, FAN YH, CHEN ME, *et al.* Unhydrolyzed and hydrolyzed konjac glucomannans modulated cecal and fecal microflora in Balb/c mice [J]. *Nutrition*, 2005, 21(10): 1059–1064.
- [14] 王梅, 黄团, 陈恩发. 魔芋加工应用现状及其研究进展[J]. *农技服务*, 2019, 36(2): 59–61, 63.
WANG M, HUANG T, CHEN ENF. Application status and research progress of konjac processing [J]. *Agric Technol Ser*, 2019, 36(2): 59–61, 63.
- [15] SHANG W, LI H, STRAPPE P, *et al.* Konjac glucomannans attenuate diet-induced fat accumulation on livers and its regulation pathway [J]. *J Funct Foods*, 2019, 52: 258–265.
- [16] CHEN HL, SHEU WHH, TAI TS, *et al.* Konjac supplement alleviated hypercholesterolemia and hyperglycemia in type 2 diabetic subjects—A randomized double-blind trial [J]. *J Am Coll Nutr*, 2003, 22(1): 36–42.
- [17] GUO LP, YOKOYAMA W, CHEN L, *et al.* Characterization and physicochemical properties analysis of konjac glucomannan: implications for structure-properties relationships [J]. *Food Hydrocolloid*, 2021, 120: 106818.
- [18] PIRACCINI BM, IORIZZO M, LENCASTRE A, *et al.* Ciclopirox hydroxypropyl chitosan (HPCH) nail lacquer: A review of its use in onychomycosis [J]. *Dermatol Ther*, 2020, 10: 917–929.
- [19] SALIM A, CHIN S, PANG S. Hydroxypropyl starch nanoparticles as controlled release nanocarriers for piperine [J]. *J Nanostruct*, 2020, 10(2): 327–336.
- [20] CHEN Y, CHENG H, WANG W, *et al.* Preparation of carbon dots-hematite quantum dots-loaded hydroxypropyl cellulose-chitosan nanocomposites for drug delivery, sunlight catalytic and antimicrobial application [J]. *J Photoch Photobio B*, 2021, 219: 112201.
- [21] WANG PB, LV XS, ZHANG BQ, *et al.* Simultaneous determination of molar degree of substitution and its distribution fraction, degree of acetylation in hydroxypropyl chitosan by ^1H NMR spectroscopy [J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 263: 117950.
- [22] 张永勤, 张捷, 张坤, 等. 一种羟丙基壳聚糖取代度的测定方法: 中国, CN 105136710 B [P]. 2021-07-09.
ZHANG YQ, ZHANG J, ZHANG K, *et al.* A method for determining the degree of substitution of hydroxypropyl chitosan: China, CN 105136710 B [P]. 2021-07-09.
- [23] 张永勤, 张坤, 张捷, 等. 一种羟丙基壳聚糖取代度的测定方法: 中国, CN 105203493 B [P]. 2021-07-09.
ZHANG YQ, ZHANG K, ZHANG J, *et al.* A method for determining the degree of substitution of hydroxypropyl chitosan: China, CN 105203493 B [P]. 2021-07-09.
- [24] 张永勤, 张坤, 张捷, 等. 一种羟丙基壳聚糖取代度的测定方法: 中国, CN 105277507 B [P]. 2021-07-09.
ZHANG YQ, ZHANG K, ZHANG J, *et al.* A method for determining the degree of substitution of hydroxypropyl chitosan: China, CN 105277507 B [P]. 2021-07-09.
- [25] 张永勤, 张坤, 张捷, 等. 一种羟丙基壳聚糖取代度的测定方法: 中国, CN 105300916 B [P]. 2021-07-09.
ZHANG YQ, ZHANG K, ZHANG J, *et al.* A method for determining the degree of substitution of hydroxypropyl chitosan: China, CN 105300916 B [P]. 2021-07-09.
- [26] 张永勤, 张坤, 张捷, 等. 一种羟丙基壳聚糖取代度的测定方法: 中国, CN 105158193 B [P]. 2021-07-13.
ZHANG YQ, ZHANG K, ZHANG J, *et al.* A method for determining the degree of substitution of hydroxypropyl chitosan: China, CN 105158193 B [P]. 2021-07-13.
- [27] 张永勤, 张坤, 张捷, 等. 一种羟丙基壳聚糖取代度的测定方法: 中国, CN 105115927 B [P]. 2021-07-09.
ZHANG YQ, ZHANG K, ZHANG J, *et al.* A method for determining the degree of substitution of hydroxypropyl chitosan: China, CN 105115927 B [P]. 2021-07-09.
- [28] 张永勤, 张坤, 刘福胜, 等. 羟丙基壳聚糖取代度的测定方法: 中国, CN 104697944 B [P]. 2017-08-08.

- ZHANG YQ, ZHANG K, LIU FS, *et al.* Determination of hydroxypropyl chitosan substitution degree: China, CN 104697944B [P]. 2017-08-08.
- [29] JOHNSON DP. Spectrophotometric determination of the hydroxypropyl group in starch ethers [J]. *Anal Chem*, 1969, 41(6): 859–860.
- [30] 刘瑛, 牛春梅, 吴文辉, 等. 羟丙基香豆胶的合成及结构表征[J]. 河南大学学报: 自然科学版, 2007, 37(4): 361–364.
- LIU Y, NIU CM, WU WH, *et al.* Preparation and characterization of hydroxypropyl fenugreek gum [J]. *J Henan Univ (Nat Sci Ed)*, 2007, 37(4): 361–364.
- [31] 张永勤, 许文廷, 吕兴霜, 等. 一种降低粘度、使水峰偏移的多糖样品制备和测试方法: 中国, CN 111337529 B [P]. 2023-05-24.
- ZHANG YQ, XU WT, LV XS, *et al.* Polysaccharide sample preparation and test method capable of reducing viscosity and deviating water peak: China, CN 111337529 B [P]. 2023-05-24.
- [32] The United States Pharmacopieial Convention. United States Pharmacopoeia (USP43) [M]. America: The United States Pharmacopieial Convention, 2020.
- [33] BHULLAR KA, HORGAN MIM, LE A, *et al.* Assessing the quantification of acetylation in konjac glucomannan via ATR-FTIR and solid-state NMR spectroscopy [J]. *Carbohydr Polym*, 2022, 291: 119659.
- [34] JOSHI G, RANA V, NAITHANI S, *et al.* Chemical modification of waste paper: An optimization towards hydroxypropyl cellulose synthesis [J]. *Carbohydr Polym*, 2019, 223: 115082.
- [35] WAN X, WEI L, ZHANG W, *et al.* Production, characterization, and prebiotic activity of oligosaccharides from konjac glucomannan by *Bacillus amyloliquefaciens* WX-1 [J]. *J Fuent Foods*, 2022, 88: 104872.
- [36] ENOMOTO-ROGERS Y, OHMOMO Y, IWATA T. Syntheses and characterization of konjac glucomannan acetate and their thermal and mechanical properties [J]. *Carbohydr Polym*, 2013, 92(2): 1827–1834.
- [37] ZURIARRAIN A, ZURIARRAIN J, PUERTAS AI, *et al.* Quantitative determination of lactic and acetic acids in cider by ¹H NMR spectrometry [J]. *Food Control*, 2015, 52: 49–53.
- [38] FILIP D, MACOCINSCHI D, BALAN-PORCARASU M, *et al.* Biocompatible self-assembled hydrogen-bonded gels based on natural deep eutectic solvents and hydroxypropyl cellulose with strong antimicrobial activity [J]. *Gels*, 2022, 8(10): 666.
- [39] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[M].北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- National Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China: Four parts [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2020.

(责任编辑: 郑丽 张晓寒)

作者简介



邬雅楠, 硕士研究生, 主要研究方向为多糖标准化研究。

E-mail: 1747335237@qq.com



张永勤, 博士, 教授, 主要研究方向为酶工程、糖工程及其在功能性食品、药物制剂中的应用。

E-mail: zyzq0205@qust.edu.cn