

精制橘皮果胶的结构分析

廖春美^{1,2}, 唐小海^{1,2}, 黎霞¹, 冉茂盛², 毛华蓉², 杨金梅²

(1 四川师范大学 生命科学学院, 四川 成都 610101; 2 重庆莱美药业股份有限公司, 重庆 401336)

[摘要] **【目的】**分析精制橘皮果胶(purified low molecular citrus pectin, PLMCP)的结构, 为靶向性抗癌药物载体的研究提供参考。**【方法】**以橘皮果胶为原料, 制备精制橘皮果胶, 采用改良间羟联苯法测定其半乳糖醛酸含量, 酸碱滴定法和气相色谱法测定其酯化度, 分子排阻色谱法测定其分子量, 单糖乙酰化法测定其单糖含量, 分析精制橘皮果胶的主要结构。**【结果】**精制橘皮果胶半乳糖醛酸含量为 95.40%, 酯化度为 7.99%, 分子量在 13.69~24.58 ku, 重均分子质量为 17.94 ku; 单糖只检出半乳糖醛酸, 鼠李糖、阿拉伯糖、木糖、葡萄糖和半乳糖均未检出, 推测 PLMCP 为直链结构同型聚半乳糖醛酸。**【结论】**精制橘皮果胶的结构单一、分布均一、分子量稳定, 可作为新型靶向性抗癌药物的载体。

[关键词] 橘皮果胶; 分子量; 半乳糖醛酸; 酯化度

[中图分类号] Q949.95

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2017)11-0107-07

Structure analysis on purified low molecular citrus pectin (PLMCP)

LIAO Chunmei^{1,2}, TANG Xiaohai^{1,2}, LI Xia¹, RAN Maosheng²,
MAO Huarong², YANG Jinmei²

(1 College of Life Science, Sichuan Normal University, Chengdu, Sichuan 610101, China;

2 Chongqing Lummy Pharmaceutical Co., Ltd, Chongqing 401336, China)

Abstract: **【Objective】** The structure of purified low molecular citrus pectin (PLMCP) was analyzed to provide basis for the study of targeted anticancer drug carriers. **【Method】** Purified low molecular citrus pectin was came from the citrus pectin which was purification of raw pectin, the main structure of it was a analysis by using the modified hydroxyldiphenyl method for determination the content of galacturonic acid, acid-base titration and gas chromatography the determination the degree of esterification, used the mass size exclusion chromatography determination of the molecular and acetylation method determination the monosaccharide content. **【Result】** The content of galacturonic acid in PLMCP was 95.40%, with esterification degree of 7.99%. The molecular weight of PLMCP was 13.69—24.58 ku, and the weight-average molecular weight was 17.94 ku. Only glucuronic acid was detected in monosaccharides, while rhamnose, arabisugar, xylose, glucose, and galactose were not detected. In summary, PLMCP has a straight chain structure with combined galacturonic acids. **【Conclusion】** PLMCP has a stable molecular weight, uniform distribution and simple structure. Thus, it can be used as a carrier for new anticancer drugs.

Key words: citrus pectin; molecular weight; galacturonic acid; degree of esterification

橘皮果胶(Citrus pectin, CP)是从柑橘科植物 果皮中提取的一种复杂多糖, 分子量一般在 100

[收稿日期] 2016-08-12

[基金项目] 国家“十二五”重大专项(2011ZX09102-001)

[作者简介] 廖春美(1989—), 女, 四川成都人, 在读硕士, 主要从事植物学、药用植物化学分析研究。E-mail: 954938507@qq.com

[通信作者] 唐小海(1963—), 男, 四川成都人, 教授, 主要从事靶向抗肿瘤药物研究。E-mail: pharmmateceo@aliyun.com

ku 以上^[1]。CP 作为一种复杂多糖其本身具有一定的抗癌活性,其半乳糖醛酸可竞争肿瘤相关蛋白半乳糖凝集素(Galectin-3)结合位点,抑制肿瘤细胞的生长与分化^[2]。但由于其分子量较大,食用后不易被消化吸收,因此在人体内很难发挥其抗癌功效^[3-4],所以将 CP 分子量降低有助于提高其利用率,从而更好地发挥其药用价值。

精制橘皮果胶(Purified low molecular citrus pectin, PLMCP)是运用化学方法降低 CP 分子量^[5],结合膜过滤器处理收集一定分子量果胶片段,经过硝酸酸化后所得的低分子量果胶(LM-CP)。果胶分子量稳定,为 10~30 ku,其经硝酸酸化后 PLMCP 羧基含量较 CP 有所增加,在生物降解性、相容性、凝胶性、稳定性^[6-7]等方面有明显提高。PLMCP 具有较强的金属螯合性能,可作为金属螯合剂去除血液中的重金属;与药物配合使用,能有效降低药物中重金属在体内的沉积^[8]。PLMCP 具有高亲和力与生物相容性,可用作缓、控释放药物的载体,这类载体具有定位准确,不受体内因素影响,缓释易控等优点。欧金来等^[9]以果胶为载体,制备了果胶阿霉素纳米粒,其靶向性强、缓释效果好,可有效降低阿霉素的细胞毒性。有研究表明,调节果胶分子量大小,可控制其作用位点,增强其靶向性;增加果胶羧基含量,有利于药物的结合,形成稳定化学结构,也可提高其水溶性,有利于药物的释放与代谢^[10]。

本研究以市售工业橘皮果胶为原材料,采用酸法高温处理 CP 制备 PLMCP,收集 10~30 ku 果胶片段,检测其半乳糖醛酸、酯化度、分子量、单糖含量,推测其结构,以期制备出靶向性强、结合位点多的果胶载体,为靶向性抗癌药物载体的开发提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

橘皮果胶(浙江省衢州汇龙果胶有限公司,1A-13),半乳糖醛酸标准品、葡聚糖标准品(美国 Sigma 公司),D-葡萄糖、D-木糖、D(-)-阿拉伯糖、D-半乳糖、L-鼠李糖(成都科龙化工试剂厂,生物纯),甲醇(德国 Merck 公司,色谱纯);其他试剂均为分析纯级试剂。

1.2 仪器及设备

Agilent 1100 高效液相色谱仪、Agilent 7694E 顶空进样器、Agilent 7890A 高效气相色谱仪(安捷伦科技(中国)有限公司),Waters ultrahydrogel linear 凝胶色谱柱(美国 waters 公司),UV1901 紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限公司),JM-

1812-1 膜过滤机、膜元件(PES10-1812、PES30-1812)(大连屹东膜工程设备有限公司),R-201 旋转蒸发器、W201 恒温水浴锅(上海申顺生物科技有限公司),SXKW-2000 智能控温电热套(北京中兴伟业仪器有限公司)。

1.3 试验方法

1.3.1 PLMCP 的制备及精制 称取 300 g 甲酸倒入 0.5 L 反应釜中,开始搅拌;再称取 25 g 橘皮果胶(高酯果胶),缓慢加入到上述反应釜中,搅拌均匀,升温到 90 °C 反应 9 h,反应结束后,冷却至 40 °C 减压浓缩至干燥除去甲酸,加入二次蒸馏水 1 L 搅拌至全部溶解,加入 2 mol/L NaOH 调节 pH 至 7。将上述反应产物抽滤去除不溶性颗粒转入膜过滤器过滤,截留分子量 10~30 ku 滤液,GPC 监控膜过滤过程。将滤液在 40 °C 减压浓缩,收集棕色浓缩物干燥,即得低分子量果胶。

取低分子量果胶加 2 L 二次蒸馏水复溶后,室温下滴加 0.5 mol/L NaOH 溶液至 pH 12 进行降酯处理^[11],3 h 后加入 0.5 mol/L HCL 调节 pH 至 7,继续滴加 0.2 mol/L HNO₃ 溶液至 pH 为 3,85 °C 反应 4 h,反应结束后加入 0.5 mol/L NaOH 调节 pH 至 7,40 °C 减压浓缩至原体积的 1/5。室温下按照体积比 1:5 在滤液中加入乙醇,搅拌 1 h 形成絮状沉淀,将反应液离心(3 500 r/min),收集底层固体,真空干燥(40 °C,0.09 Pa)16 h,得到果胶产品 PLMCP(产品得率为 35.74%)。

1.3.2 半乳糖醛酸(Gal A)含量的测定 采用改良间羟联苯法测定 Gal A 含量^[12-13]。称取 25.0 mg 半乳糖醛酸于 250 mL 容量瓶中,加入二次蒸馏水溶解并定容至刻度,作为 Gal A 标准溶液;另取 7 只 20 mL 试管依次加入 0,0.2,0.35,0.5,0.65,0.8 和 1.0 mL Gal A 标准溶液,不足 1.0 mL 者补加蒸馏水至 1.0 mL,充分混匀后,分别加入 5 mL 四硼酸钠-硫酸(Na₂B₄O₇-H₂SO₄)溶液立即混匀,80 °C 水浴 5 min,取出冷却至室温,加 100 μL 体积分数 0.15% 间羟联苯(m-hydroxydiphenyl, mHDP)溶液混匀,30 min 后于 520 nm 处测定吸光度(A)。以 Gal A 质量浓度(mg/mL)为横坐标,吸光度 A 为纵坐标,绘制标准曲线。

分别称取待测样品 25 mg,置于 250 mL 容量瓶中,取 1 mL 加入 20 mL 试管中,按标准曲线制作方法进行 Gal A 含量的测定。

$$\text{半乳糖醛酸含量} = \frac{p_{\#} \times D}{W_{\#}} \times 100\%$$

式中: $p_{\text{样}}$ 为样品中 Gal A 质量浓度,mg/mL; D 为稀释倍数; $W_{\text{样}}$ 为样品质量,mg。

1.3.3 酯化度(DE)的测定 (1)采用酸碱滴定法测定。称取 5 g 果胶样品,参考尹颖等^[8]低分子橘皮果胶样品前处理与中国药典 2015 版四部^[14]中果胶甲氧基的测定方法,记录滴定游离羧基所消耗氢氧化钠体积 V_1 (0.1 mol/L NaOH 体积)与滴定甲氧基化羧基所耗 NaOH 体积 V_2 (0.5 mol/L NaOH 体积)。

$$\text{酯化度} = V_2 / (V_1 + V_2) \times 100\%$$

(2)采用气相色谱法检测。果胶精制过程中加入硝酸酸化,以去除降酯过程中形成的羧酸盐,提高 PLMCP 游离羧基含量,使甲氧基化羧基含量降低。而酸碱滴定法常用于果胶酯化度 30% 以上样品^[15]的检测,PLMCP 的酸化度低下 10%,采用酸碱滴定法误差较大,因此参考 Maatsch 等^[16]和 Huisman 等^[17]快速测定甲氧基果胶的方法,运用顶空-气相色谱仪测定果胶酯化度。通过 NaOH 溶液降解 CP 中半乳糖醛酸甲氧基生成甲醇,测定甲醇质量折算为 CP 的酯化度。

称取 125.0 mg 甲醇于 25 mL 容量瓶中,再加 2 mol/L NaOH 溶液定容至刻度,混匀后分别取 0.2, 0.4, 0.6, 1.0, 1.2, 1.5 mL 置于 10 mL 容量瓶中,加 2 mol/L NaOH 溶液定容至刻度,混匀后迅速取 2 mL 加入顶空瓶中,压盖,气相色谱检测,记录色谱图,以甲醇峰面积(A)对甲醇质量浓度(mg/mL)进行线性回归分析,制备甲醇含量标准曲线。

Agilent 7890A 气相色谱仪色谱条件:色谱柱:Agilent DB-624 毛细管柱(30 m × 0.53 mm × 3.0 μm);检测器:氢火焰离子化检测器(flame ionization detector, FID); H_2 : 40 mL/min; O_2 : 400 mL/min;检测器温度:250 °C;进样口温度:200 °C;载气: N_2 ;流速:6 mL/min;分流比:1:1;程序升温:50 °C 保持 3 min 后,以 15 °C/min 升温至 150 °C 保持 2 min,再以 20 °C/min 升温至 200 °C 保持 5 min。

用 Agilent 7694E 顶空进样器处理样品;顶空瓶保温温度:80 °C;定量环保温温度:100 °C;传输线保温温度:110 °C;进样循环时间:40 min;顶空瓶平衡时间:30 min;加压时间:0.5 min;定量环填充时间:0.2 min;定量环平衡时间:0.05 min;进样时间:0.2 min。

称取原料橘皮果胶、低分子质量果胶、PLMCP,分别加入 2 mol/L NaOH 溶液配制为 10 mg/mL 的待测样品,分别取 2 mL 加入顶空瓶中按标准曲线制作方法进行样品酯化度的测定。

$$\text{甲醇含量}(X_1) = \frac{c_{\text{样}} \times D}{M_{\text{样}}} \times 100\%$$

式中: $c_{\text{样}}$ 为样品中甲醇质量浓度,mg/mL; D 为稀释倍数; $M_{\text{样}}$ 为样品质量,mg。

$$\begin{aligned} \text{酯化度} &= \frac{m(\text{甲醇})}{m(\text{总})} \times 100\% = \\ &= \frac{32X_1}{208X_1 + (1-X_1) \times 194} \times 100\% = \\ &= \frac{32X_1}{194 + 14X_1} \times 100\% \end{aligned}$$

式中: X_1 为甲醇含量,%;194 为聚半乳糖醛酸平均分子质量,g/mol;208 为甲酯化聚半乳糖醛酸平均分子质量,g/mol;32 为甲醇分子质量,g/mol。

1.3.4 分子质量的测定 采用分子排阻色谱法测定分子质量。果胶作为生物大分子聚合物,其分子质量大小不均一,通过数均分子量(Number-average molecular weight, M_n)、重均分子量(Weight-average molecular weight, M_w)、Z 均分子量(Z-average molecular weight, M_z)与分散度(Dispersibility, D)表征果胶分子质量。由于 PLMCP 分子质量设计为 10~30 ku,根据中国药典 2015 版四部通则(0514)^[18]中大分子物质检测规定,选用与供试品分子质量大小相适应的多糖标准品作对照。参考袁辛娅等^[19]、张文博等^[20]大分子多糖的分子质量检测条件,采用高效分子排阻色谱法测定精制橘皮果胶分子质量。

色谱条件:选用 Agilent 1100 高效液相色谱仪、凝胶色谱柱 Waters ultrahydrogel linear(7.8 mm × 300 mm, 10 μm)、0.05 mol/L 硝酸钠溶液、流速 0.5 mL/min,进样量 20 μL、示差折光检测器检测。选择与果胶结构相似的葡聚糖作为对照,采用 5, 12, 25, 50, 150 ku 的葡聚糖标准品进行试验,按照分子质量测定要求 5~25 ku 样品浓度不超过 0.25%^[17]进行配制,按照分子质量由小到大检测,记录各样品色谱图及相应的出峰时间,以葡聚糖分子质量的常用对数($\lg M$)为纵坐标、出峰时间 T 为横坐标,应用 GPC 软件绘制标准曲线,计算 PLMCP 分子质量。

1.3.5 单糖含量的测定 采用单糖乙酰化法测定单糖含量。参考 Belen 等^[21]与 Maatsch 等^[16]的单糖含量检测方法,分别配制鼠李糖(Rha)、阿拉伯糖(Ara)、葡萄糖(Glc)、半乳糖(Gal)、木糖(Xyl)和半乳糖醛酸(Gal A)梯度液,制备标准曲线。原料橘皮果胶、低分子质量果胶、PLMCP 中单糖含量的测定方法与标准单糖相同。

色谱条件:Agilent 7890A 气相色谱仪,Agilent HP-5(30 m × 0.32 mm × 0.25 μm)型色谱柱和 FID

检测器;H₂:40 mL/min;O₂:400 mL/min;检测器温度:250 °C;进样口温度 200 °C;载气:N₂;流速:6 mL/min;分流比:不分流;进样量 1 μL;程序升温:起始温度 140 °C,5 °C/min 升温至 180 °C,保持 2 min,4 °C/min 升温至 214 °C,1 °C/min 升温至 217 °C,保温 4 min,3 °C/min 升温至 229 °C,保持 2 min,20 °C/min 升温至 250 °C。

2 结果与分析

2.1 精制橘皮果胶的半乳糖醛酸含量

果胶分子主链为带负电荷的半乳糖醛酸链,Gal A含量影响 CP 的钙离子集合能力。Gal A 含量上升可有效降低 CP 氢键、离子键与分子间作用力的相互作用,减小 CP 分子间团聚、交联,使其暴露更多的结合位点,从而与钙离子结合的能力更强。研究表明,直链果胶与钙离子结合能力明显高于含有支链的果胶^[1]。本试验中 PLMCP 由 CP 经过一系列反应所得,测定其 Gal A 含量用于分析 PLMCP 的链状结构。以半乳糖醛酸标准品质量浓度(mg/mL)对吸光度(A)绘制的标准曲线,回归方程为 $y = 0.01331x + 0.00992$,相关系数 $R^2 = 0.9988$ 。如表 1 所示,PLMCP 的 Gal A 含量明显上升,比 LMCP 高 11.45%,比 CP 高 18.07%,表明在制备 PLMCP 的过程中 CP 内部作用力减弱,果胶链发生解聚,甲酯化半乳糖醛酸变为游离半乳糖醛酸,使得 Gal A 含量上升,果胶的链状结构发生改变。

表 1 果胶半乳糖醛酸含量的测定结果

Table 1 Galacturonic acid content in pectin

样品 Sample	吸光度 Absorbance	半乳糖醛酸含量/% Galacturonic acid content
原料橘皮果胶 Citrus pectin(CP)	0.589	80.8±0.87
低分子量果胶 Low molecular weight pectin(LMCP)	0.620	85.6±0.65
PLMCP	0.683	95.4±0.98

2.2 精制橘皮果胶的酯化度

果胶的酯化度影响其溶解度和凝胶能力。如表 2 和表 3 所示,PLMCP 比 CP 的酯化度明显降低,

虽然 2 种检测方法的结果存在差异,但以平均值进行计算,PLMCP 的酯化度降低 83.65%。原料橘皮果胶为市售高酯果胶,酸碱滴定时消耗 0.5 mol/L NaOH 的体积较多,其滴定结果与气相色谱法结果有显著差异;低分子量果胶、PLMCP 为低酯果胶,消耗的 0.5 mol/L NaOH 的体积较小,其滴定结果与气相色谱法结果有极显著差异。通过比较原料橘皮果胶酯化度与酸碱滴定法、GC 法的测定结果发现,GC 法测定结果更接近理论值,因此采用气相色谱法对 PLMCP 果胶进行检测。结果显示,PLMCP 的酯化度为 7.99%,为极低酯化度果胶。PLMCP 的极低酯化度是氢氧化钠降酯和硝酸酸化的结果。在降酯过程中,果胶的甲氧基被水解形成羧酸盐和甲醇;硝酸酸化形成羧基,使羧基含量增加,提高 PLMCP 的溶解度。

表 2 基于酸碱滴定法的果胶酯化度测定结果

Table 2 Degree of esterification of pectin determined by acid-base titration

样品 Sample	V ₁ /mL	V ₂ /mL	酯化度/% Degree of esterification
原料橘皮果胶 Citrus pectin(CP)	26.37	15.65	48.87
低分子量果胶 Low molecular weight pectin(LMCP)	11.65	4.30	26.96
PLMCP	7.65	0.56	6.82

表 3 基于气相色谱法的果胶酯化度测定结果

Table 3 Degree of esterification of pectin determined by GC

样品 Sample	峰面积 Peak area	折算后质量浓度/ (mg·mL ⁻¹) Concentration after conversion	酯化度/% Degree of esterification
原料柑橘果胶 Citrus pectin(CP)	3 765.42	0.530	42.64
低分子量果胶 Low molecular weight pectin(LMCP)	2 458.74	0.350	28.16
PLMCP	693.44	0.097	7.99

2.3 精制橘皮果胶的分子量

分子排阻色谱法是依据分子量大小进行分离,分子质量为 5~150 ku 的葡聚糖标准品在凝胶色谱柱上出峰时间如表 4 所示,PLMCP 测定结果如表 5 所示。

表 4 不同分子量葡聚糖标准品出峰时间及线性关系

Table 4 Peak time and linear relationship of dextran standards with different molecular weights

葡聚糖分子量/ku Dextran molecular weight	平均保留时间/min Mean retention time	线性方程 Linear equation	相关系数 R ² Correlation coefficient
5	18.221		
12	17.518		
25	16.801	$\lg M = -0.4608T + 12.096$	$R^2 = 0.9975$
50	16.211		
150	14.967		

表 5 不同果胶分子质量测定结果

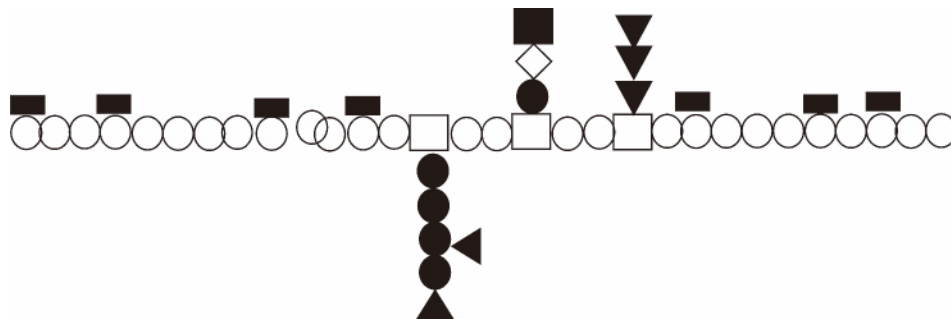
Table 5 Results of pectin with different molecular weights

样品 Sample	数均分子质量/ku Number-average molecular weigh	重均分子质量/ku Weight-average molecular weight	Z 均分子质量/ku Z-average molecular weight	分散度 Dispersibility
原料柑橘果胶 Citrus pectin(CP)	106.87	176.89	212.44	2.65
低分子质量果胶 Low molecular weight pectin(LMCP)	24.37	36.58	45.69	1.58
PLMCP	14.16	17.94	23.06	1.43

表 4 显示,葡聚糖分子质量的常数对数 (lg M) 与出峰时间 (T) 呈线性,线性方程为 $\lg M = -0.4608T + 12.096$, 相关系数 $R^2 = 0.9975$ 。表 5 显示, CP 在经过甲酸处理后数均分子质量、重均分子质量、Z 均分子质量快速降低, 所得低分子质量果胶重均分子质量为 CP 的 20.68%; 降酯和硝酸酸化过程果胶分子质量变化较缓慢, 形成的 PLMCP 重均分子质量为 CP 的 10.14%。果胶分子质量由 95.13~237.7 ku 变为 13.69~24.58 ku, 分散度由 2.65 降至 1.43, 分布更为集中、均一。

2.4 精制橘皮果胶的单糖含量

同型半乳糖醛酸聚糖(HG)和鼠李半乳糖醛酸聚糖(RG)为目前公认的以主成分划分的果胶结构模型^[15]。HG 是半乳糖醛酸通过 α -1,4-糖苷键连接形成的直链结构, 无中性糖支链; RG 由 $[-\alpha$ -D-Gal-A-1,2- α -L-Rha-1-4D-] 双糖单元连接而成, 其半乳糖醛酸、鼠李糖侧链残基上连有鼠李糖(Rha)、阿拉伯糖(Ara)、木糖(Xyl)、葡萄糖(Glc)、半乳糖(Gal)等中性糖, 如图 1 所示。



(○)半乳糖醛酸; (●)半乳糖; (▲)阿拉伯糖; (□)鼠李糖; (◇)木糖; (■)葡萄糖; () 甲氧基
(○)Gal A; (●)Gal; (▲)Ara; (□)Rha; (◇)Xyl; (■)Glc; ()Methoxy group

图 1 果胶的分子结构示意图

Fig. 1 Schematic diagram of molecular structure of pectin

GC 检测乙酰化样品结果如图 2 所示, 原料橘皮果胶中含有 Gal A、Rha、Ara、Xyl、Glc 和 Gal; 低

分子质量果胶含有 Gal A、Ara、Gal; PLMCP 只有 Gal A。

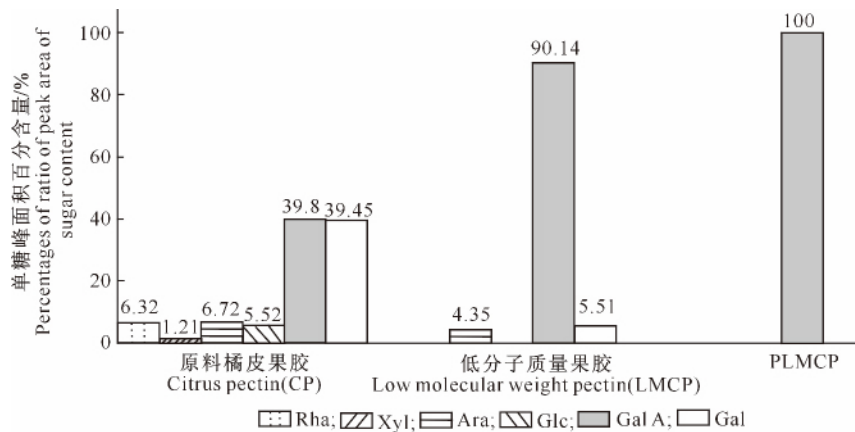


图 2 果胶中各单糖峰面积百分含量

Fig. 2 Percentages of ratio of peak area of different monosaccharides in pectin

通过表 6 对其出峰面积进行数据处理后,原料橘皮果胶的单糖含量为 2.85% Rha, 1.01% Ara, 0.18% Xyl, 2.22% Glc 和 8.25% Gal; 低分子质量果胶的单糖含量为 0.38% Ara 和 0.53% Gal。由于 Gal A 乙酰化效果较差, 不适合采用 GC 检测, 通过 GC 检测确定果胶中其他单糖含量后, 再选用改良间羟联苯法测定 Gal A。通过测定结果分析

表 6 PLMCP 各单糖线性关系及线性范围

Table 6 Linear relationship and linear range of each monosaccharide

组分 Component	线性方程 Linear equation	相关性系数(R^2) Correlation coefficient	线性范围/ $(\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1})$ Linear range
Rha	$y=4.826x+0.0040$	0.9916	5.17~25.80
Ara	$y=3.844x+0.0155$	0.9870	3.85~19.20
Glc	$y=7.213x+0.0070$	0.9942	6.06~30.30
Gal	$y=8.595x-0.0152$	0.9928	32.60~163.0
Xyl	$y=12.798x+0.0004$	0.9828	2.05~10.30

注: x 为质量浓度(Ng/mL); y 为峰面积。

Note: x is mass concentration(Ng/mL), y is the peak area.

3 结 论

原料橘皮果胶经过高温酸法降解所得 PLMCP, 实现果胶分子质量的降低, 所得产物易分离, 甲酸回收利用, 减少环境污染。PLMCP 的性质与结构受半乳糖醛酸含量、酯化度、分子质量与单糖等因素影响。半乳糖醛酸含量升高果胶的负电荷含量增加, 分子内作用力降低, 果胶链的团聚、交联性减弱, 果胶呈链状结构。甲氧基的水解可增加半乳糖醛酸羧基含量, 降酯破坏中性糖, 打断中性糖聚合形成的支链, 果胶的分子质量降低, 结合单糖含量结果确定 PLMCP 为直链 HG 型果胶, 该方法与尹颖等^[8]采用的 FT-IR 测定低分子橘皮果胶所得结果基本一致。PLMCP 与 CP 相比具有更大的优势, 其分子质量更加均一, 分布较集中, 溶解度更好, 具有更大的应用前景。对商业果胶进行改性, 运用果胶的亲水性连接亲水性基团, 在亲水性基团分子上连接毒副作用较大的抗癌药物, 可延缓药物的释放时间, 减少用药频率、降低病人用药副作用减轻病人的痛苦^[11]。PLMCP 克服了 CP 分子质量大、不易消化吸收等问题, 具有更好的溶解度, 且 PLMCP 的直链结构具有很强的阳离子结合能力, 较 CP 具有更强的靶向性。PLMCP 的结构分析在进一步了解果胶的结构基础上, 开发果胶的新型应用, 从而扩展果胶的应用领域, 同时为多糖类不均一分子的结构分析提供参考。

[参考文献]

[1] Wicker L, Kim Y, Kim M, et al. Pectin as a bioactive polysac-

charide-extracting tailored function from less [J]. Food Hydrocolloids, 2014, 42: 251-259.

[2] Zhang T, Lan Y, Zheng Y, et al. Identification of the bioactive components from PH-modified citrus pectin and their inhibitory effects on galectin-3 function [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 58: 113-119.

[3] Ellen G M, Nigel J B, Keith W W, et al. Pectine an emerging new bioactive food polysaccharide [J]. Trends in Food Science & Technology, 2012, 24: 64-73.

[4] 唐会周, 秦刚. 修饰柑橘果胶生理功能研究进展 [J]. 食品与发酵科技, 2010, 46(2): 6-9.

Tang H Z, Qin G. Progress on physiological function of modified citrus pectin [J]. Food and Fermentation Technology, 2010, 46(2): 6-9.

[5] 谢明勇, 李精, 聂少平. 果胶研究及应用进展 [J]. 中国食品学报, 2013, 13(8): 1-14.

Xie M Y, Li J, Nie S P. Progress in research and application of pectin [J]. Chinese Journal of Food Science, 2013, 13(8): 1-14.

[6] Munarin F, Tanzi M C, Petrini P. Advances in biomedical applications of pectin gels [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2012, 51: 681-689.

[7] 叶兴乾, 陈健乐, 金妙仁, 等. 果胶改性方法及生物学作用机理研究进展 [J]. 中国食品学报, 2015, 15(7): 1-9.

Ye X Q, Chen J L, Jin M R, et al. Research progress on modification methods of pectin and its biological mechanism [J]. Chinese Journal of Food Science, 2015, 15(7): 1-9.

[8] 尹颖, 陆胜, 陈剑兵. 柑橘皮渣制备低分子果胶及其抗癌活性的评价 [J]. 浙江农业学报, 2013, 25(3): 614-618.

Yin Y, Lu S, Chen J B. Evaluation on the preparation of low molecular weight pectin from citrus peel residue and its anti-cancer activity [J]. Zhejiang Agricultural Journal, 2013, 25(3): 614-618.

[9] 欧金来, 洪宝贤, 叶小翠, 等. 阿霉素果胶纳米粒的制备及体外

- 抗肿瘤活性 [J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2014, 35(3): 330-336.
- Ou J L, Hong B X, Ye X C, et al. Preparation of doxorubicin loaded pectin nanoparticles and its antitumor in vitro activity [J]. Journal of Jinan University (Natural Science and Medicine), 2014, 35(3): 330-336.
- [10] Tang X H, Xie P, Ding Y. Synthesis, characterization and *in vivo* evaluation of a novel pectin-adriamycin conjugate [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2010, 18: 1599-1609.
- [11] 曲昊杨, 朱文学, 刘琛, 等. 苹果渣果胶提取工艺优化及碱法降酯效果评价 [J]. 食品科学, 2014, 35(14): 85-92.
- Qu H Y, Zhu W X S, Liu C, et al. Optimization of extraction technology of pectin from apple pomace and evaluation of alkaline lipid-lowering effect [J]. Food Science, 2014, 35(14): 85-92.
- [12] Osamu K, Yuko M, Eiji Y. Chemical modification of citrus pectin to improve its dissolution into water [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 87: 1720-1727.
- [13] Agnan M M C, Mario A, Dorothée G, et al. Enzymatic production of pectic oligosaccharides from polygalacturonic acid with commercial pectinase preparations [J]. Food and Bioprocess Technology, 2012, 90: 588-596.
- [14] 药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部 [M]. 北京: 中国医药科学出版社, 2015: 521-522, 附录 63-64.
- National Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of People's Republic of China; 4 part [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015: 521-522, appendix: 63-64.
- [15] Yoo S H, Fishman M L, Hotchkiss A, et al. Behavior of high-methoxy and low-methoxy pectin solutions [J]. Food Hydrocolloids, 2006, 1: 62-67.
- [16] Maatsch J M, Caligiani A, Tedeschi T, et al. Simple and validated quantitative ^1H NMR method for the determination of methylation, acetylation, and feruloylation degree of pectin [J]. Agric Food Chem, 2014, 62: 9081-9087.
- [17] Huisman M, Oosterveld A, Schols H. Fast determination of degree of methyl esterification of pectins by head-space GC [J]. Food Hydrocolloids, 2004, 4: 665-668.
- [18] 药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部 [M]. 北京: 中国医药科学出版社, 2015, 通则 0514: 62-63.
- National Pharmacopoeia Committee. Pharmacopoeia of People's Republic of China; 4 part [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015, general rule 0514: 63-64.
- [19] 袁辛娅, 黄莎莎. 高效凝胶渗透色谱法测定羟乙基淀粉 200/0.5 氯化钠注射液的分子量 [J]. 华西药理学杂志, 2010, 25(1): 83-84.
- Yuan X Y, Huang S S. Determination the molecular weight of hydroxyethyl starch 200/0.5 and sodium chloride by high performance gel permeation chromatography [J]. West China J Pharm Sci, 2010, 25(1): 83-84.
- [20] 张文博, 高林, 施秀芳. 高效体积排阻色谱法测定改性柑橘果胶的分子量 [J]. 色谱, 2007, 25(5): 711-714.
- Zhang W B, Gao L, Shi X F. Determination of molecular weight of modified citrus pectin by high performance size exclusion chromatography [J]. Chromatogram, 2007, 25(5): 711-714.
- [21] Belen G, Beatriz G, Remedios Y, et al. Pectic oligosaccharides from lemon peel wastes: production, purification, and chemical characterization [J]. Agric Food Chem, 2013, 61: 10043-10053.