

网络出版时间:2017-10-09 09:39

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2017.11.014

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20171009.0939.028.html>

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, arabiasugar, 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]。但由于其分子质量较大,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 分子质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 分子质量^[5],结合膜过滤器处理收集一定分子质量果胶片段,经过硝酸酸化后所得的低分子质量果胶(LM-CP)。果胶分子质量稳定,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 具有高亲和性与生物相容性,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,调节果胶分子质量的大小,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、分子质量、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 膜过滤器、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),SXXW-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,截留分子质量 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,即得低分子质量果胶。

取低分子质量果胶加 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。

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

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]快速测定甲氧化果胶的方法,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。

$$\text{甲醇含量}(X1) = \frac{c_{\text{样}} \times D}{M_{\text{样}}} \times 100\%$$

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。

$$\begin{aligned} \text{酯化度} &= \frac{m(\text{甲醇})}{m(\text{总})} \times 100\% = \\ &= \frac{32X1}{208X1 + (1-X1) \times 194} \times 100\% = \\ &= \frac{32X1}{194 + 14X1} \times 100\% \end{aligned}$$

式中: $X1$ 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 ℃;进样口温度 200 ℃;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 ℃,5 ℃/min 升温至 180 ℃,保持 2 min,4 ℃/min 升温至 214 ℃,1 ℃/min 升温至 217 ℃,保温 4 min,3 ℃/min 升温至 229 ℃,保持 2 min,20 ℃/min 升温至 250 ℃。

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
低分子质量果胶 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;低分子质量果胶、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
低分子质量果胶 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)	3765.42	0.530	42.64
低分子质量果胶 Low molecular weight pectin(LMCP)	2458.74	0.350	28.16
PLMCP	693.44	0.097	7.99

2.3 精制橘皮果胶的分子质量

分子排阻色谱法是依据分子质量大小进行分离,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 不同分子质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

葡聚糖分子质量/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	$\lg M = -0.4608T + 12.096$	$R^2 = 0.9975$
12	17.518		
25	16.801		
50	16.211		
150	14.967		

表 5 不同果胶分子质量测定结果

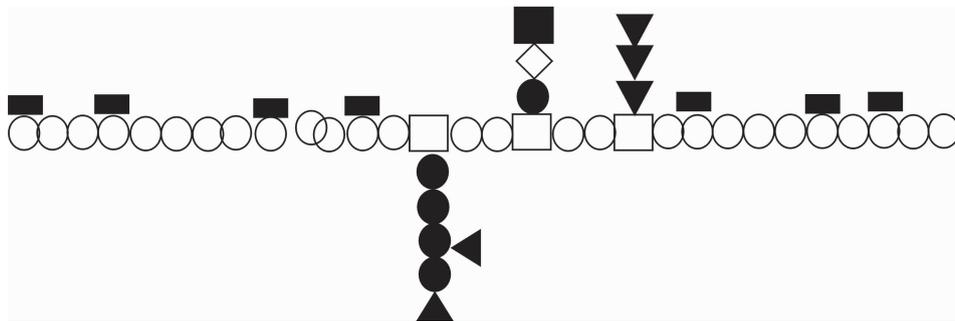
Table 5 Results of pectin with different molecular weights

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。

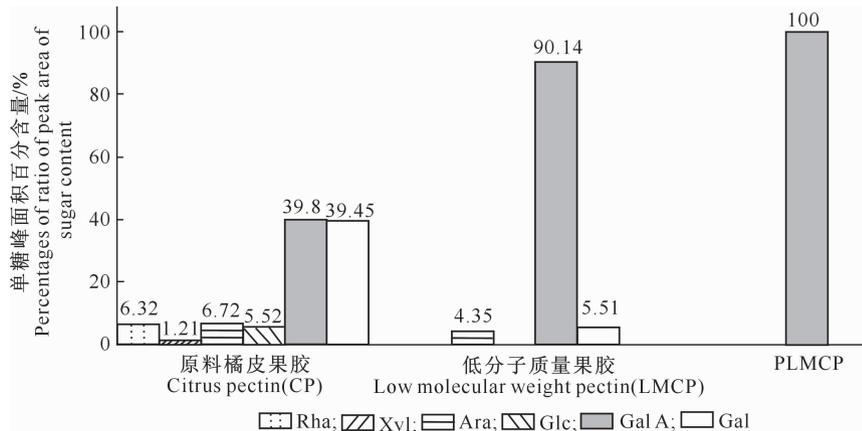


图 2 果胶中各单糖峰面积百分含量

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-

PLMCP 的组分为半乳糖醛酸,无鼠李糖等中性糖存在,CP 制备 PLMCP 的过程中中性单糖被破坏,中性糖聚合形成的侧链、支链结构被完全水解,形成直链结构。结合半乳糖醛酸含量、酯化度、分子质量结果综合分析,PLMCP 是酯化度极低的果胶,为分子质量分布均一、结构单一的直链半乳糖醛酸。

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 Processing, 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.