

# 不同方法提取的山楂果胶理化性质 及体外抗糖化活性的对比

侯玉婷, 苏金芳, 陈诗悦, 胡风庆, 祝儒刚

(辽宁大学轻型产业学院, 辽宁省食品生物加工工程技术研究中心, 沈阳市食品生物加工与质量控制技术重点实验室, 辽宁沈阳 110036)

**摘要:** 本研究以山楂粉为原料, 采用热水浸提、超声辅助热水浸提、酶法辅助热水浸提三种方法提取果胶, 探究不同提取方法对果胶得率、总糖含量、总酚含量、半乳糖醛酸含量、酯化度和粘度等理化性质及体外抗糖化活性的影响。结果表明, 酶法辅助热水提取果胶的得率最高, 达到 17.7%, 且相应酯化度和粘度最高, 但操作过程复杂; 热水浸提法果胶得率次之, 为 10.1%, 但总酚含量和酯化度最低; 超声辅助热水提取法得率最低, 仅有 6.4%, 但其总糖含量及多聚半乳糖醛酸量最高。体外抗糖化活性分析表明, 超声辅助热水法提取的果胶抗糖化活性最强, 在 BSA-果糖以及 BSA-丙酮醛模拟体系中的糖化抑制率分别为 82.7%和 79.8%, 抗糖化活性与半乳糖醛酸含量成正比。由此可见, 不同提取方法对山楂果胶得率、理化特性以及抗糖化活性均具有很大的影响。

**关键词:** 山楂; 果胶; 提取; 理化性质; 抗糖化

文章编号: 1673-9078(2018)04-159-166

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.04.025

## Effects of Different Extraction Methods on Physicochemical Properties and Anti-glycation Activity of Pectin Extracted from Hawthorn

HOU Yu-ting, SU Jin-fang, CHEN Shi-yue, HU Feng-qing, ZHU Ru-gang

(Shenyang Key Laboratory of Food Biology Processing and Quality Control Technology, Engineering Technology Research Center for Food Biology Processing of Liaoning Province, College of Light Industry, Liaoning University, Shenyang 110036, China)

**Abstract:** In this study, the pectin was extracted from dry hawthorn powder by three different extraction methods (hot water extraction, ultrasonic-assisted hot water extraction and xylanase-assisted hot water extraction) to investigate the effects of different extraction methods on the pectin extraction yield and physicochemical properties(including total sugar content, total phenol content, galacturonic acid content, degree of esterification and viscosity), and anti-glycation activity. The results showed that the enzyme-assisted hot water extraction had the highest extraction yield of 17.7%, and the corresponding degree of esterification and viscosity were also the highest. However the operation process of this method was tedious. The extraction yield of hot water extraction was the second highest (10.1%), and the total phenol content and the degree of esterification were the lowest. Although the ultrasonic-assisted hot water extraction had the lowest extraction yield of 6.4%, the contents of total sugar and polygalacturonic acid were the highest. *In vitro* anti-glycation activity of pectin extracted by ultrasonic-assisted hot water extraction was the strongest, and the inhibition rates of glycation in BSA-fructose and BSA-MGO analog system were 82.7% and 79.8%, respectively. The activity of anti-glycation was directly proportional to the content of galacturonic acid. Thus, the different extraction methods had great influence on the extraction yield, physicochemical properties and anti-glycation activity of hawthorn pectin.

**Key words:** Hawthorn; pectin; extraction; physicochemical properties; anti-glycation

山楂 (*Crataegus*) 属蔷薇科山楂属, 是我国特有

收稿日期: 2017-12-06

基金项目: 国家自然科学基金青年项目 (31301424); 沈阳市科技计划项目 (17-136-8-00)

作者简介: 侯玉婷 (1993-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 食品化学  
通讯作者: 祝儒刚 (1980-), 男, 博士, 副教授, 主要从事食品化学与营养学的研究

的药果兼用树种, 山楂果富含糖类、苹果酸、维生素 C、钙和铁等物质, 具有健脾开胃、消食化滞以及活血化痰的作用<sup>[1,2]</sup>。我国的山楂资源丰富, 主产于山东、河北、辽宁等地, 经济物廉。但一直以来, 以山楂为原料的加工产品较为单一, 且经济转换价值偏低, 成为我国山楂果品产业发展的瓶颈。

近年来, 山楂及其提取物在其生理活性及作用机

制的研究方面取得了重大进展<sup>[3-6]</sup>。研究发现,山楂果胶具有显著的体内外抗氧化活性,能够有效清除自由基,显著降低小鼠肝脏中过氧化物丙二醛的含量,起到抗肿瘤抗炎作用,在功能食品等领域具有良好的应用前景<sup>[5]</sup>。新鲜山楂中果胶含量高达6.4%,由于其独特的理化性质,使其作为胶凝剂、稳定剂和乳化剂等,广泛应用于食品和化妆品行业<sup>[7]</sup>;此外,果胶还具有较好的治疗便秘、抗腹泻、抗癌和减肥降脂等多种生理功能<sup>[8]</sup>,因此,越来越受到消费者和食品加工业者的高度重视。然而,果胶的理化性质不同,其功能及应用领域不同<sup>[9]</sup>。目前,果胶提取方法多达十余种,其中酶辅助热水提取法产品质量好,节约能源,超声波辅助热水提取法提取时间短,环境污染小<sup>[10,11]</sup>。然而,不同提取方法对果胶的理化性质以及功能活性的影响,至今仍不清楚。因此,本实验以山楂粉为原料,分别采用热水浸提法、超声辅助热水法、酶辅助热水法提取果胶,并对三种方法提取果胶的总糖、总酚、半乳糖醛酸含量、酯化度和粘度等理化性质以及BSA-果糖和BSA-丙酮醛模拟体系下的糖化抑制率进行对比,为山楂的精深加工利用以及果胶资源的综合利用,提供理论依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 材料与试剂

市售山楂,经去蒂、去核、切片、50℃烘箱干燥,粉碎(80目)后备用。

木聚糖酶、牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)、丙酮醛(methyglyoxal, MGO)、氨基胍(aminoguanidine)美国Sigma公司;半乳糖醛酸、没食子酸、果糖、福林酚试剂、吡啶,北京索莱宝公司;无水乙醇,沈阳市新化试剂厂;其他试剂,国产分析纯。

### 1.2 仪器与设备

HH.S21-6-S型电热恒温水浴锅,上海龙跃仪器设备有限公司;F-4500荧光分光光度计,美国Perin公司;HT12MM型台式高速离心机,湖南赫西仪器装备有限公司;DHG-9030A型电热恒温鼓风干燥箱,巩义市科瑞仪器有限公司;752型紫外可见分光光度计,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;KQ-500DE型数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;NDJ-1旋转粘度计,上海极泰电子科技有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 果胶的提取

##### 1.3.1.1 热提法提取山楂果胶

参照王娜等<sup>[12]</sup>的方法,略有修改。取一定量干燥的山楂粉,按料液比1:15(g/mL)加入蒸馏水,90℃充分搅拌提取4h后,离心(4000 r/min, 10 min)后收集上清液。

##### 1.3.1.2 超声波辅助法提取山楂果胶

参照de Oliveira<sup>[13]</sup>的方法,取一定量干燥的山楂粉,按料液比1:15(g/mL)加入蒸馏水,调节超声波最大功率500 W,80℃充分搅拌提取10 min后,离心(4000 r/min, 10 min)收集上清液。

##### 1.3.1.3 酶辅助法提取山楂果胶

参照Agnieszka<sup>[14]</sup>的方法,略作修改。取一定量干燥的山楂粉,按料液比1:15(g/mL)加入蒸馏水,用0.1 M NaOH溶液调节溶剂pH 6.0,按2.5%加入木聚糖酶,60℃充分搅拌提取3h后,灭酶(100℃, 10 min),冷却后离心(4000 r/min, 10 min),收集上清液。

#### 1.3.2 脱色沉淀

参照金山<sup>[15]</sup>的方法,将经过夜预处理的活性炭粉末按0.06%的比例加入到果胶提取液中,30℃条件下脱色40 min后离心(5000 r/min, 15 min),收集上清液蒸发浓缩至原体积的一半。将浓缩液搅拌的同时缓慢加入2倍体积的95%乙醇沉淀,静置30 min后离心(4000 r/min, 10 min),收集沉淀物。继续用无水乙醇、丙酮洗脱抽滤,得到的湿果胶在50℃烘箱中干燥至恒重,三次平行实验取平均值。

$$\text{果胶得率}/\% = \frac{\text{提取果胶质量}/\text{g}}{\text{山楂粉质量}/\text{g}} \times 100\% \quad (1)$$

#### 1.3.3 山楂果胶的理化性质测定

##### 1.3.3.1 总糖含量的测定

山楂果胶的总糖含量采用苯酚硫酸法测定<sup>[16]</sup>。

标准曲线的制作:分别取0.1%半乳糖醛酸标准溶液0、0.1、0.2、0.3、0.4以及0.5 mL于25 mL具塞试管中,加蒸馏水稀释至10 mL。再从中分别取0.4 mL,依次加入0.4 mL 5%苯酚,2 mL浓硫酸,振荡充分混合均匀,室温静置30 min,490 nm波长处测定吸光度。以半乳糖醛酸含量(μg/mL)为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线。样品测定:配制质量浓度为0.1 mg/mL的果胶溶液,测定步骤同上。根据标准曲线以半乳糖醛酸当量计算总糖含量。

##### 1.3.3.2 总酚含量的测定

山楂果胶的总酚含量(TPC)采用福林酚比色法<sup>[17]</sup>。将山楂果胶溶液100 μL(20 mg/mL)、0.2 mL福林酚试剂,2 mL H<sub>2</sub>O振荡混合均匀,室温静置3 min,

然后加入 1 mL 15% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 混合室温静置 2 h, 765 nm 波长处测定着色复合物的吸光度。空白用 100 μL 甲醇作对照, 用溶解在甲醇中的没食子酸标准品 (10 μg~50 μg/mL) 绘制标准曲线。

$$\text{TPC} = \frac{\text{GAE}}{V} \quad (2)$$

式中: TPC 为总酚含量, mg/mL; GAE 为没食子酸当量, mg; V 为果胶溶液体积, mL。

### 1.3.3.3 多聚半乳糖醛酸含量 (酸性糖) 的测定

酸性糖含量采用咔唑硫酸比色法进行测定<sup>[18]</sup>。标准曲线的制作: 依次吸取 0.1% 半乳糖醛酸标准溶液 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL 于 25 mL 具塞试管中, 加蒸馏水稀释至 10 mL。另取干燥的试管均加入 2 mL 浓硫酸 (事先预冷), 0.4 mL 不同浓度的半乳糖醛酸, 充分混合均匀, 沸水加热 10 min, 立即冷却, 加入 0.08 mL 咔唑, 沸水加热 15 min, 立即冷水冷却。在 530 nm 波长处测定吸光度。以半乳糖醛酸含量 (μg/mL) 为横坐标, 吸光度为纵坐标绘制标准曲线。样品测定: 配制质量浓度为 0.1 mg/mL 的果胶溶液, 测定步骤同上。根据标准曲线以半乳糖醛酸当量计算酸性糖含量。

### 1.3.3.4 酯化度的测定

山楂果胶酯化度 (Degree of esterification, DE) 的测定采用滴定法<sup>[19]</sup>。取干燥的果胶样品 (50 mg) 溶解在含 2 mL 乙醇的 100 mL 蒸馏水中。待溶解后, 加 5 滴酚酞, 用 0.05 mol/L NaOH 溶液滴定样品, 记录结果作为初始滴度。随后加入 10 mL 0.5 mol/L NaOH 溶液, 剧烈振荡样品, 在 30 °C 静置 15 min; 加入 10 mL 0.5 mol/L HCl, 振荡样品直到粉红色消失。加入酚酞 (5 滴), 用 0.05 mol/L NaOH 溶液滴定样品, 记录结果作为最终滴度。

$$\text{DE}/\% = \frac{V_2}{V_1 + V_2} \times 100\% \quad (3)$$

式中: V<sub>1</sub> 为样品的初始滴度, mL; V<sub>2</sub> 为样品溶液的皂化滴度, mL。

### 1.3.3.5 粘度的测定

参考王娜等<sup>[12]</sup>, 以 0.1% 的果胶溶液为基准, 用 NDJ-1 黏度计在室温下进行测定。

$$n = A * F \quad (4)$$

式中: n 为试样在 25 °C 时的粘度, mPa·s; A 为粘度计刻度盘上的读数; F 为随转子和转速变化的校正系数。

## 1.3.4 山楂果胶的抗糖化活性分析

### 1.3.4.1 BSA-果糖模拟反应体系的建立

将上述不同方法提取的果胶溶液 (0.1 mg/mL) 1 mL 分别与 1 mL 果糖溶液 (1.5 mol/L) 混合, 37 °C 孵育 2 h, 再加入 BSA 溶液 (30 mg/mL) 1 mL。以上反

应物均用含有 0.1% 叠氮化钠的磷酸缓冲液 (50 mmol/L, pH 7.4) 溶解。同质量浓度氨基胍替代果胶作为阳性对照, 磷酸缓冲液替代果胶溶液作为空白对照, 磷酸缓冲液替代果糖溶液作为 BSA 单独孵育组和 BSA-果胶共孵育组。将混合以后的样品置于培养箱中 37 °C 孵育 6 d 后, 在激发波长 370 nm 和发射波长 440 nm 条件下测定样品的荧光强度。不同方法提取的果胶对荧光性 AGEs 生成的抑制率 R 由公式 (5) 计算。

$$R/\% = \left(1 - \frac{F_A}{F_B}\right) \times 100 \quad (5)$$

式中: F<sub>A</sub> 为各样品组荧光强度; F<sub>B</sub> 为空白组的荧光强度。

### 1.3.4.2 BSA-MGO 模拟反应体系的建立

将上述不同方法提取的果胶溶液 (0.1 mg/mL) 1 mL 分别与 1 mL MGO 溶液 (60 mmol/L) 混合后, 37 °C 孵育 2 h, 再加入 BSA 溶液 (30 mg/mL) 1 mL。以上反应物均用含有 0.1% 叠氮化钠的磷酸缓冲液 (50 mmol/L, pH 7.4) 溶解。同质量浓度的氨基胍替代果胶作为阳性对照, 磷酸缓冲液替代果胶溶液作为空白对照, 磷酸缓冲液替代 MGO 溶液作为 BSA 单独孵育组和 BSA-果胶共孵育组。将混合以后的样品置于培养箱中 37 °C 孵育 6 d 后, 在激发波长 370 nm 和发射波长 440 nm 条件下测定和样品的荧光强度。不同方法提取的果胶对荧光性 AGEs 生成的抑制率 R 由公式 (5) 计算。

### 1.3.5 数据处理

所有实验均进行 3 次重复, 结果以平均数±标准偏差表示。采用单因素 Duncan 法进行多重比较, 以 DPS v7.55 软件进行显著性分析。显著水平为 p<0.05。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同提取方法对果胶得率的影响

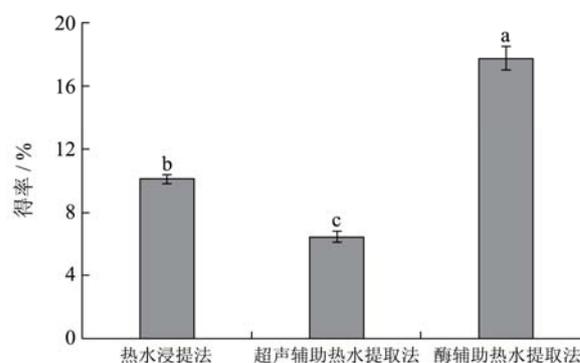


图 1 不同提取方法对果胶得率的影响

Fig.1 Effects of different extraction methods on the pectin yield

注: 字母不同表示差异显著 p<0.05。

热水浸提法、超声辅助热水提取法和酶辅助热水

提取法对果胶得率的影响如图1所示。由图可知,三种方法的果胶得率从约6%到18%不等,且均高于从苹果渣中提取的果胶<sup>[20]</sup>。其中,超声辅助热水提取法果胶得率最低,仅为6.4%;热水浸提法的得率次之,为10.1%;木聚糖酶辅助提取的山楂果胶得率最高,达到17.7%,是热水浸提法的1.8倍,是超声波辅助热水提取法的2.8倍。

研究表明,果胶的得率不仅受提取方法的影响,还会受到果胶原料来源的影响。徐雅琴<sup>[21]</sup>等分别采用超声波法、纤维素酶法和离子交换树脂法从南瓜果肉中提取果胶,通过正交实验确定三种方法的最佳提取工艺条件后,比较发现纤维素酶法提取的南瓜果胶得率最高,达9.6%。Yuliarti<sup>[22]</sup>等通过三种方法(酸、水和酶法)从两种不同成熟度的猕猴桃提取果胶,也发现酶提法获得的果胶含量最高(2.1%)。此外Panouille等<sup>[23]</sup>使用蛋白酶和纤维素酶制剂从花椰菜中提取的果胶含量达35%,并系统对比了酶提取法与传统酸法提取果胶的差别,发现酶法提取的果胶产率是酸法的1.3倍,这些结果与本实验的研究结果基本一致。对于提取方法对果胶得率的影响,究其原因,果胶与不溶性纤维素及部分半纤维素成分结合紧密,常规热水提取法仅能提取水溶性果胶,而在木聚糖酶的作用下,水解和破坏了果胶与纤维素半纤维素形成的网络结构,促进了果胶的释放<sup>[24]</sup>。尽管超声波的空化作用能够加速细胞的破碎和崩解,但由于原料处理时间较短,未能在有限的时间内使果胶溶出,长时间的处理,又会造成水溶性果胶的裂解,糖苷键的破坏导致其果胶提取率降低<sup>[25]</sup>。因此,本实验使用木聚糖酶可以提高果胶的得率。

## 2.2 不同提取方法对果胶总糖含量的影响

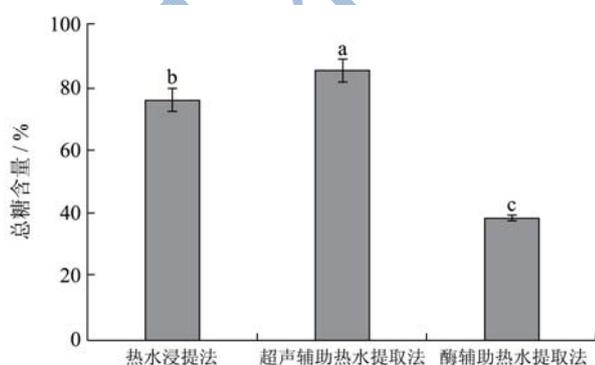


图2 不同提取方法对果胶总糖含量的影响

Fig.2 Effects of different extraction methods on the total sugar content of pectin

注:字母不同表示差异显著  $p < 0.05$ 。

采用苯酚硫酸法测定,得到半乳糖醛酸标准曲线

回归方程为  $y = 0.0042x - 0.0038$ ,  $R^2 = 0.9994$ 。其中  $y$  为吸光值,  $x$  为半乳糖醛酸含量 (mg/mL)。

热水浸提法、超声辅助热水提取法和酶辅助热水提取法对果胶总糖含量的影响如图2所示。由图可知,超声波辅助热水提取得到的果胶总糖含量最高,达到85.0%,热提法得率次之,为76.2%,酶辅助热水提取法总糖含量最低,仅有37.8%。超声波法辅助提取果胶的总糖含量是酶辅助提取法的2.3倍。分析原因,超声波通过空化作用,产生的冲击波和射流会破坏山楂细胞及细胞膜结构,提高细胞膜通透性,促进细胞内的糖向外扩散,因此总糖含量最高。酶辅助热水提取法尽管果胶得率最高,但是由于提取的果胶分支度高,其内部结合和包裹的蛋白以及酚类等杂质较多,导致其总糖含量偏低<sup>[26]</sup>。

## 2.3 不同提取方法对果胶总酚含量的影响

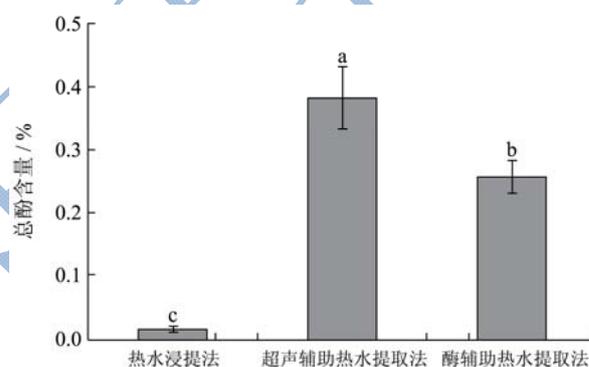


图3 不同提取方法对果胶总酚含量的影响

Fig.3 Effects of different extraction methods on the content of total phenol in pectin

注:字母不同表示差异显著  $p < 0.05$ 。

没食子酸标准曲线的建立采用福林酚比色法定,得到没食子酸标准曲线回归方程为  $y = 0.0046x + 0.0006$ ,  $R^2 = 0.999$ 。其中  $y$  为吸光值,  $x$  为没食子酸含量 (mg/mL)。

热水浸提法、超声辅助热水提取法和酶辅助热水提取法对果胶总酚含量的影响如图3所示。由图可知,超声辅助法和酶辅助提取的果胶中总酚含量均高于热水浸提法,且超声辅助热水提取法最高。但三种方法提取的果胶中酚类含量均不足1%,这与Agnieszka对苹果渣提取的果胶中总酚含量的结果一致<sup>[14]</sup>。分析原因,热水浸提法在90℃下高温进行,且作用时间较长,因此对果胶的酚类物质有所破坏。而超声辅助法提取时间很短,酚类物质在较短时间内未受破坏。有研究发现,在酶促提取过程中,特别是在木聚糖酶的作用下,与酚类物质相连的阿拉伯糖和半乳糖富集的果胶片段RG-I会产生共沉淀现象,因此会远远高于常规

酸提法的果胶酚类水平,而这些成分在酸性条件下容易降解<sup>[14]</sup>。

曲昊杨等<sup>[27]</sup>通过对苹果渣果胶提取工艺优化发现,碱性环境下果胶自身发生 $\beta$ -消去反应,引起聚合物的降解,导致提取的果胶产物组成较为复杂。因此,pH 较高条件下的酶提法加速了 $\beta$ -消去反应的去甲基化,但究其总酚含量低于超声波的原因尚不明确,有待进一步探究。

## 2.4 不同提取方法对果胶多聚半乳糖醛酸含量的影响

量的影响

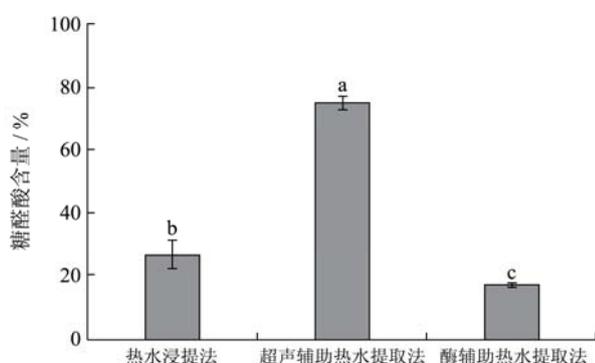


图4 不同提取方法对果胶多聚半乳糖醛酸含量的影响

Fig.4 Effects of different extraction methods on the content of polygalacturonic acid in pectin

注:字母不同表示差异显著 $p<0.05$ 。

热水浸提法、超声辅助热水提取法和酶辅助热水提取法对果胶多聚半乳糖醛酸含量的影响如图4所示。由图可知,超声波辅助法提取的山楂果胶糖醛酸含量最高,可达75.1%,而热水浸提法和酶辅助提取法得到的果胶其糖醛酸含量最高分别为26.3%和17.1%,不足超声辅助热水提取法的1/2。

研究表明,果胶多糖的活性与其单糖组成有着密切的关系<sup>[28]</sup>,不同提取方法对提取果胶的单糖组成有一定影响。在酸性条件下,原果胶主要通过中性糖苷键的断裂变为水可溶性果胶,而半乳糖醛酸区域耐酸性较强<sup>[29]</sup>。热水浸提法和超声波辅助法均是在强酸条件下(pH 2.0)进行果胶提取,与弱酸条件下酶法辅助提取的果胶相比,强酸环境对细胞壁结构中糖苷键的断裂有更好的促进作用,因此其多聚半乳糖醛酸含量要高于酶辅助提取法。此外超声波空化作用除有助于果胶分支中的中性糖苷键的断裂外,更好的保留主链中多聚半乳糖醛酸区域,因此其半乳糖醛酸含量较酶辅助热水提取法和热水浸提法高。

## 2.5 不同提取方法对果胶酯化度的影响

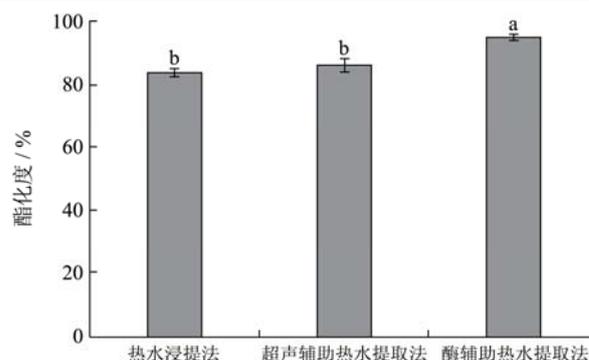


图5 不同提取方法对果胶酯化度的影响

Fig.5 Effects of different extraction methods on the degree of esterification in pectin

注:字母不同表示差异显著 $p<0.05$ 。

热水浸提法、超声辅助热水提取法和酶辅助热水提取法对果胶酯化度的影响如图5所示。由图可知,不同方法所提取的果胶酯化度均大于50%,其中酶辅助法提取的山楂果胶酯化度最高,可达到94.9%,其次是超声辅助热水提取法,其果胶酯化度为86.2%,热水浸提法果胶略低于超声波辅助法,为83.6%。

酯化度(DE)代表了半乳糖醛酸主链的羧基被甲基或乙酰基的酯化程度<sup>[30]</sup>。酯化度对果胶的胶凝特性影响很大,酯化度越高,果胶中含游离羧基的数目越少,与水分子形成水合离子后,脱水导致果胶的长分子链形成三维网状结构的凝胶速度越快<sup>[24]</sup>。张晓阳等<sup>[31]</sup>对比分析了水浴法、微波法及超高压方法提取胡萝卜皮渣果胶的酯化度差异,发现得到的果胶均为高甲基果胶,且各方法之间不存在显著性差异,这与本研究的研究结论基本一致,即果胶的酯化度受提取方法的影响不大。本实验中,酶辅助法提取果胶酯化度略高于其他两种方法,分析原因可能是酶辅助提取果胶是在pH 6.0的条件下,作用温和,不会影响天然果胶分子中存在的甲基酯基团,而热水浸提法、超声辅助热水提取法的强酸性环境会影响甲基酯基团的酸解。另外,有研究表明酯化度受到果胶来源的影响较大<sup>[32]</sup>。本研究从山楂中提取的果胶酯化度高于其他植物来源的果胶,如新鲜甜菜浆<sup>[33]</sup>(63%)、香蕉皮<sup>[34]</sup>(80%)和柑橘皮(68.1%)<sup>[35]</sup>等。

## 2.6 不同提取方法对果胶粘度的影响

热水浸提法、超声辅助热水提取法和酶辅助热水提取法对果胶粘度的影响如图6所示。由图可知,在相同果胶浓度的条件下,酶辅助热水提取法得到的果胶粘度最大(6.5 mPa·s),热水浸提法和超声波辅助热水提取法得到的果胶粘度最高分别为3.2 mPa·s和2.7 mPa·s。果胶的粘度与其分子量及分支度有很大关系,

而氢键及甲基的疏水相互作用会导致分子内或分子间距离的减少<sup>[36]</sup>,从而提高果胶的分支度,粘度也相应增大。此外,果胶的粘度随酯化度的增大而增大<sup>[14]</sup>。本实验中酶辅助提取法是在弱酸性条件下得到的中性果胶,与其他方法得到的酸性果胶相比,较高的中性糖含量(如甘露糖、半乳糖和阿拉伯糖),这导致果胶结构上的支化程度更高,更多的糖链通过氢键缔合,因此粘度更高<sup>[37]</sup>。

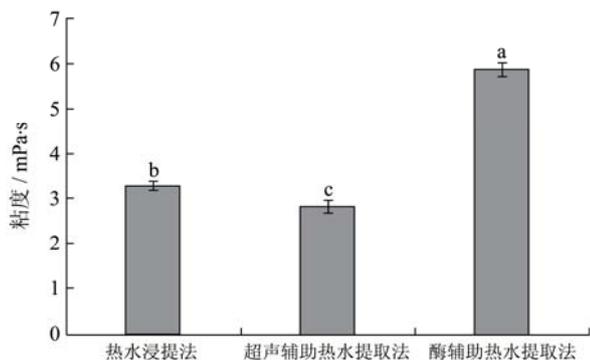


图6 不同提取方法对果胶粘度的影响

Fig.6 Effects of different extraction methods on the viscosity of pectin

注: 字母不同表示差异显著  $p < 0.05$ 。

## 2.7 不同方法提取果胶的体外抗糖化活性

BSA-果糖模拟反应体系用来评价果胶对整个非酶糖化过程中荧光性 AGEs 生成的影响,而 BSA-MGO 模拟反应体系用来评价果胶对通过中间产物形成荧光性 AGEs 的影响。经过 6 d 的孵育,相对于 BSA 单独孵育组和 BSA-果胶共孵育组,各实验组和空白组产物中荧光强度显著增加 ( $p < 0.05$ ),表明各实验组和空白组中 BSA 已经与果糖或者中间产物 MGO 发生非酶糖化反应,生成了荧光性 AGEs。由图 7a 可知,在 BSA-果糖模拟反应体系中,阳性对照氨基胍的糖化抑制率为 65.4%,实验组中超声辅助法提取的果胶的糖化抑制率显著高于氨基胍,达到 82.7%,而热水浸提法和酶辅助热水提取法果胶的糖化抑制率显著低于阳性对照氨基胍,分别为 43.8%和 35.7%。在 BSA-MGO 模拟反应体系中(图 7b),阳性对照氨基胍和超声辅助法提取果胶的糖化抑制率没有显著差异,分别为 75.4%和 79.8%,均高于热水浸提法(33.8%)和酶辅助热水提取法(30.7%)果胶的糖化抑制率。

本研究三种方法提取的果胶中,超声辅助法提取的果胶半乳糖醛酸含量最高,糖化抑制率也是最高。Chaouch 等人<sup>[38]</sup>(2015年)的研究表明,果胶多糖的抗氧化及其抗糖化活性与其分子大小成反比,与半乳糖醛酸含量成正比。2016年,该团队选取不同提取条

件从仙人掌中提取得到 6 种半乳糖醛酸含量不同的多糖,也得到同样的结果,这些结果与本研究得到的结果一致<sup>[39]</sup>。另外,果胶中的多酚类物质也具有体外抗氧化和抗糖化作用,但本研究中三种方法提取的果胶中总酚含量均很低,最高的也不超过 0.4%,这其中多酚含量就更低。因此,推测果胶中的半乳糖醛酸含量对抗糖化作用贡献更大,这需要后续实验进一步确认。

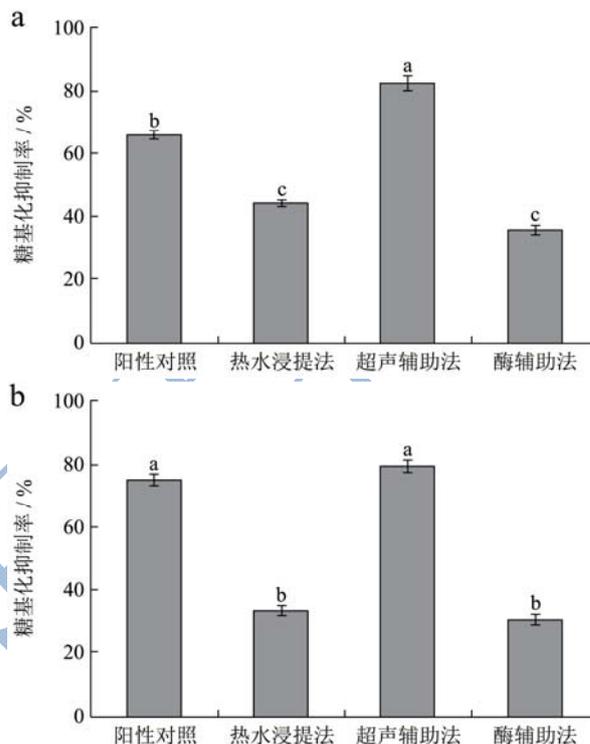


图7 不同方法提取的果胶以及阳性对照氨基胍在 BSA-果糖(a)和 BSA-MGO (b) 模拟反应体系下的糖化抑制率

Fig.7 Glycation inhibition rates of aminoguanidine and pectin extracted by different methods in BSA-fructose model (a) and BSA-MGO model (b)

注: 字母不同表示差异显著  $p < 0.05$ 。

## 3 结论

本研究对热水浸提法、超声波辅助热水法以及酶辅助热水法从山楂中提取果胶的得率、理化性质及体外抗糖化活性进行了比较研究。结果表明,酶辅助热水提取法果胶得率最高,达到 17.7%,热水浸提法的得率次之,为 10.1%;而超声波辅助法得率最低,仅有 6.4%。在对山楂果胶的理化性质分析中发现,超声波辅助热水提取法得到的果胶其总糖、总酚及半乳糖醛酸含量最高,酶辅助热水提取法得到的果胶其酯化度和粘度均最高。此外,超声辅助法提取的果胶半乳糖醛酸含量最高,达到 75.1%,糖化抑制率也是最高,分别为 82.7% (BSA-果糖)和 79.8% (BSA-MGO),而热水浸提法和酶辅助法果胶中半乳糖醛酸含量仅仅

只有 26.3%和 17.1%，而糖化抑制率分别为 43.8% (BSA-果糖) 和 33.8% (BSA-MGO)，以及 35.7% (BSA-果糖) 和 30.7% (BSA-MGO)，其体外抗糖化活性与果胶中半乳糖醛酸含量成正相关。

## 参考文献

- [1] 刘晓莉,姜少娟.山楂果胶提取工艺的研究[J].黑龙江农业科学,2014,10:107-112  
LIU Xiao-li, JIANG Shao-juan. Study on extraction technology of hawthorn pectin [J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2014, 10: 107-112
- [2] 国家药典委员会.中国药典[M].北京:中国医药科技出版社,2010  
Chinese Pharmacopoeia Commission. Chinese Pharmacopoeia [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 2010
- [3] Kwok C Y, Li C, Cheng H L, et al. Cholesterol lowering and vascular protective effects of ethanolic extract of dried fruit of *Crataegus pinnatifida*, hawthorn (Shan Zha), in diet-induced hypercholesterolaemic rat model [J]. Journal of Functional Foods, 2013, 5(3): 1326-1335
- [4] 王玲,吴军林,吴清平,等.山楂降血脂作用和机理研究进展[J].食品科学,2015,36(15):245-248  
WANG Ling, WU Jun-lin, WU Qing-ping, et al. The research progress of the effect and mechanism of hawthorn on reducing blood fat [J]. Food Science, 2015, 36(15): 245-248
- [5] 董银萍,李拖平.山楂果胶的抗氧化活性[J].食品科学,2014, 36(3):29-32  
DONG Yin-ping, LI Tuo-ping. Antioxidant activity of hawthorn pectin [J]. Food Science, 2014, 35(3): 29-32
- [6] 金山.山楂果胶寡糖的分离制备及其抗菌特性的研究[D].哈尔滨:东北农业大学, 2008  
JIN Shan. Hawthorn pectin oligosaccharide isolation preparation and antibacterial characteristics [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2008
- [7] 于铭章.果胶对山楂加工的影响[J].河北林果研究,2009,24 (3):309-310,323  
YU Ming-zhang. Effects of pectin on the processing of hawthorn [J]. Hebei Journal of Fruit Research, 2009, 24(3): 309-310, 323
- [8] Li T, Li S, DONG Y, et al. Antioxidant activity of penta-oligogalacturonide, isolated from haw pectin, suppresses triglyceride synthesis in mice fed with a high-fat diet [J]. Food Chemistry, 2014, 145(4): 335-341
- [9] 谢明勇,李精,聂少平.果胶研究与应用进展[J].中国食品学报,2013,13(8):1-14  
XIE Ming-yong, LI Jing, NIE Shao-ping. Progress in research and application of pectin [J]. Chinese Journal of Food Science, 2013, 13(8): 1-14
- [10] 高健,马路山,胡建军,等.果胶提取技术研究进展[J].食品工业科技,2014,35(6):368-372  
GAO Jian, MA Lu-shan, HU Jian-jun, et al. Research progress of pectin extraction technology [J]. Food Industry Technology, 2014, 35(6): 368-372
- [11] 韩冬梅,廖小军,李淑燕,等.酶法制取橙皮果胶的研究[J].食品工业科技,2011,32(2):183-186  
HAN Dong-mei, LIAO Xiao-jun, LI Shu-yan, et al. Study on enzymatic preparation of orange peel pectin [J]. Food Industry Technology, 2011, 32(2): 183-186
- [12] 王娜,张陈云,戚雨姝,等.山楂果胶的提取及其食品化学特性[J].食品工业科技,2007,11: 87-89,92  
WANG Na, ZHANG Chen-yun, QI Yu-da, et al. Extraction of hawthorn pectin and its food chemical properties [J]. Food Industry Science, 2007, 11: 87-89, 92
- [13] De Oliveira C F, Giordani D, Lutckemier R, et al. Extraction of pectin from passion fruit peel assisted by ultrasound [J]. LWT-Food Science and Technology, 2016, 71: 110-115
- [14] Wiktear A, Mika M, Stodolak B, et al. Endo-xylanase and endo-cellulase-assisted extraction of pectin from apple pomace [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 142: 199
- [15] 金山,王娜,孔保华,等.山楂果胶脱色工艺的研究[J].食品研究与开发,2008,29(3):105-108  
JIN Shan, WANG Na, KONG Bao-hua, et al. Study on decolorization of hawthorn pectin [J]. Food Research and Development, 2008, 29(3): 105-108
- [16] Li S, Li T, Jia Y, et al. Fractionation and structural characterization of haw pectin oligosaccharides [J]. European Food Research & Technology, 2011, 233(5): 731-734
- [17] Gao X, Ohlander M, Jeppsson N, et al. Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides L.*) during maturation [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2000, 48(5): 1485-1490
- [18] 王娜,李军,金山,等.山楂果胶寡糖生成诱导条件的研究[J].食品研究与开发,2008,29(4):1-4  
WANG Na, LI Jun, JIN Shan, et al. Study on induction conditions of hawthorn pectin oligosaccharide generation [J]. Food Research and Development, 2008, 29(4): 1-4
- [19] Bocek A M, Zabivalova N M, Petropavlovskii G A. Determination of the esterification degree of polygalacturonic

- acid [J]. Russian Journal of Applied Chemistry, 2001, 74(5): 796-799
- [20] Gama H, Mabon N, Robert C, et al. Effect of extraction conditions on the yield and purity of apple pomace pectin precipitated but not washed by alcohol [J]. Journal of Food Science, 2007, 72(1)
- [21] 徐雅琴,任建辉,崔崇士.南瓜果胶不同提取方法的研究[J].食品科学,2009,30(14): 91-93  
XU Ya-qin, REN Jian-hui, CUI Chong-shi. Study on different extraction methods of pumpkin pectin [J]. Food Science, 2009, 30(14): 91-93
- [22] Yuliartli O, Matia-Merino L, Goh K K T, et al. Effect of Celluclast 1.5 L on the physicochemical characterization of gold kiwifruit pectin [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2011, 12(10): 6407-6417
- [23] Panouille M, Thibault J F, Bonnin E. Cellulase and protease preparations can extract pectins from various plant byproducts [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2006, 54(23): 8926-8935
- [24] Yuliartli O, Matia-merino L, Goh K K T, et al. Characterization of gold kiwifruit pectin from fruit of different maturities and extraction methods [J]. Food Chemistry, 2015, 166: 479-485
- [25] 陈海明.超声对玉米淀粉聚集态结构的影响及其辅助化学改性研究[D].广州:华南理工大学,2012  
CHEN Hai-ming. Effects of ultrasound on aggregation structure of corn starch and its auxiliary chemical modification [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2012
- [26] Puri M, Sharma D, Barrow C J. Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants [J]. Trends in Biotechnology, 2012, 30(1): 37-44
- [27] 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):87-92  
QU-Hao Yang, ZHU-Wen xue LIU-Chen, et al. Optimization of extraction process of apple slag pectin and evaluation of the effect of alkali degradation [J]. Food science,2014,35(14): 87-92.
- [28] Yapo B M. Pectin quantity, composition and physicochemical behaviour as influenced by the purification process [J]. Food Research International, 2009, 42(8): 1197-1202
- [29] Yapo B M, Lerouge P, Thibault J F, et al. Pectins from citrus peel cell walls contain homogalacturonans homogenous with respect to molar mass, rhamnogalacturonan I and rhamnogalacturonan II [J]. Carbohydrate Polymers, 2007, 69(3): 426-435
- [30] Voragen A G J, Coenen G J, Verhoef R P, et al. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls [J]. Structural Chemistry, 2009, 20(2): 263-275
- [31] 张晓阳,袁驰,周春丽,等.不同提取方法对胡萝卜皮渣果胶理化性质影响[J].食品工业,2015,5:56-60  
ZHANG Xiao-yang, YUAN Chi, ZHOU Chun-li, et al. Effects of different extraction methods on physical and chemical properties of pectin from carrot peel [J]. Food Science, 2015, 5: 56-60
- [32] Leong C M, Noranizan M A, Kharidah M, et al. Physicochemical properties of pectin extracted from jackfruit and chempedak fruit rinds using various acids [J]. International Food Research Journal, 2016, 23(3): 973-978
- [33] Morris G A, Ralet M C, Bonnin E, et al. Physical characterisation of the rhamnogalacturonan and homogalacturonan fractions of sugar beet pectin [J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 82(4): 1161-1167
- [34] Emaga T H, Robertt C, Ronkart S N, et al. Dietary fibre components and pectin chemical features of peels during ripening in banana and plantain varieties [J]. Bioresource Technology, 2008, 99(10): 4346-4354
- [35] 田长城,许晖,孟海涛.不同提取方法对柑橘果皮胶组分和抗氧化性的影响[J].食品科学,2013,34(13):83-86  
TIAN-Chang cheng, XU-Hui, MENG-Hai tao. Effects of different extraction methods on the composition and antioxidation of citrus peel pectin [J]. Food science,2013,34(13):83-86.
- [36] Aguilera J M, Stanley D W. Microstructural principles of food processing and engineering [M]. Springer Science & Business Media, 1999
- [37] Guimaraes G C, Coelho Junior M C, GARCIA ROJAS E E. Density and kinematic viscosity of pectin aqueous solution [J]. Journal of Chemical & Engineering Data, 2008, 54(2): 662-667
- [38] Chaouch M A, Hafsa J, Rihouey C, et al. Depolymerization of polysaccharides from *Opuntia ficus indica*: Antioxidant and antiglycated activities [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 79: 779-786
- [39] Chaouch M A, Hafsa J, Rihouey C, et al. Effect of extraction conditions on the antioxidant and antiglycation capacity of carbohydrates from *Opuntia robusta cladodes* [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2016, 51(4): 1-9