

假酸浆籽胶质多糖的结构及凝胶特性研究

牛庆凤¹, 王斌^{1,2}, 李涛¹, 金鑫¹, 陈荫¹

(1. 浙江海洋学院食品与医药学院, 浙江舟山 316022)

(2. 浙江省海洋生物医用制品重点工程技术研究中心, 浙江舟山 316022)

摘要: 用热水从假酸浆籽中提取胶质多糖(NPG), 对其结构和成胶特性进行研究。采用高效液相色谱、高效凝胶渗透色谱、红外光谱、核磁共振碳谱对其化学结构特征进行解析。通过原子力学显微镜观察和透射电镜对假酸浆胶质多糖的成胶特性进行研究。结果表明假酸浆胶质多糖分子量为 1.6×10^6 u, 主要由半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖和鼠李糖这四种单糖构成, 其摩尔比为 12:4:1:1。该胶质多糖的主链是由半乳糖醛酸通过 1→4 糖苷键连接而成。假酸浆胶质多糖分子的空间结构为球形结构, 在钙离子存在下, 多糖分子首尾相连, 成带分支状结点的链状结构, 分支相互交联形成具有空间的网状结构。随着钙离子浓度的升高, 交联进一步加深, 多糖纤维状结构加厚聚集, 形成凝胶。

关键词: 胶质多糖; 假酸浆籽; 结构; 凝胶

文章编号: 1673-9078(2015)9-68-73

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.9.012

Structure and Gel Characterization of Pectic Polysaccharide from

Nicandra physaloides (L.) Gaertn Seeds

NIU Qing-feng¹, WANG Bin^{1,2}, LI Tao¹, JIN Xin¹, CHEN Yin¹

(1.School of Food and Pharmacy, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China) (2.Zhejiang Provincial Key Engineering Technology Research Center of Marine Biomedical Products, Zhoushan 316022, China)

Abstract: A pectic polysaccharide (named NPG) was isolated from the seed of *Nicandra physaloides* (L.) Gaertn by hot water extraction. Its structural characteristics were investigated and elucidated by HPLC, HPGPC, IR, and 1D ¹³C-NMR, while gelatinization properties were studied by atomic force microscopy (AFM) and transmission electron microscopy (TEM). The results indicated that NPG had a molecular weight of 1.6×10^6 u and was mainly composed of galacturonic acid, glucose, galactose, and rhamnose at a molar ratio of 12:4:1:1. ¹³C-NMR spectrum analysis showed that NPG had a backbone composed of 1→4 linked galacturonic acid. NPG presented a regular spherical structure. In the presence of calcium ions, the spherical molecules of NPG linked end-to-end, forming a chain structure with branching nodes. The chain structure cross-linked further with an increase in calcium ions and integrated to form a network of fibrous structures. Subsequently, the fibrous structures were accumulated and dehydrated, thereby forming the gel.

Key words: NPG; seed; *Nicandra physaloides* (L.) Gaertn; structure; gelatinization

假酸浆(*Nicandra physaloides* (L.) Gaertn)又名鞭打绣球, 为茄科假酸浆属一年生草本植物, 假酸浆籽味甘、平, 有清热退火、利尿、祛风、消炎等功效, 治发烧、风湿性关节炎、疮痈肿痛等症^[1,2]。假酸浆籽外有一层无毒、无色、无味、可食的胶质, 在民间是一种消炎利尿、消暑解渴的夏季保健食品, 深受广大民众的喜爱^[3]。涂国云^[4]等对假酸浆籽的胶质部分做过

收稿日期: 2014-10-17

基金项目: 浙江省自然科学基金(Q14H300001); 国家自然科学基金项目(41406142)

作者简介: 牛庆凤(1990-), 女, 硕士研究生, 研究方向为天然产物的提取与应用

通讯作者: 陈荫(1984-), 男, 博士, 讲师, 研究方向为糖化学与糖生物学

研究, 认为假酸浆胶质速溶易提, 具有良好的吸湿和保湿性能, 其保水量高达胶质重量的 100 倍以上, 与魔芋粉相当, 可开发成为天然保湿产品。他们对假酸浆籽中的胶质部分做了大量研究, 但主要研究其流变性、影响其流变性的因素, 其化学成份和成胶特性有待进一步研究研究中。彭斌等^[5]对假酸浆籽果胶类物质的化学成分及其结构进行了初步的研究, 研究发现该胶质可能是一种以 α -糖苷键相连接的, 以吡喃型糖环为基本结构单元的多糖, 不含蛋白质成分。

研究发现假酸浆胶质多糖的黏度随体系温度的升高而降低, 在强酸下粘度最高, 所以可以作为酸性食品的增稠剂^[6-8]。二价金属离子对胶溶液有显著的增稠效应, 1%的 CaCl_2 溶液即可使胶质溶液发生胶凝,

但这种胶凝过程伴有离析现象,且一旦凝胶结构遭到破坏即不能恢复,根据这一特性可以作为药物缓释材料。假酸浆胶质多糖在成胶时不需要添加额外的单糖作为脱水剂,所以也可以制作成低糖、低热值食品,供糖尿病及肥胖病患者食用。另外,也有关于假酸浆糖胶作为乳化剂及乳化稳定剂的研究^[9]。和果胶相比,假酸浆胶质多糖具有自己独特的理化性质和成胶特性,在食品工业和医药领域均具有良好的应用前景。

依据假酸浆胶质多糖溶液在酸性条件下粘度增加,碱性条件下粘度下降,能与 Ca^{2+} 结合成凝胶的特性推断,该胶质多糖是带负电荷的大分子多糖类物质。目前对假酸浆籽胶质多糖的凝胶形成过程鲜有报道,大多都集中在研究其流变性及其在食品和化妆品等行业的应用上。本文旨在对胶质多糖的结构进行研究,并结合原子力学显微镜和透射电镜的方法研究其成胶特性。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

假酸浆籽购于云南蒙自农贸市场;甘露糖(Man)、氨基葡萄糖(GlcN)、氨基半乳糖(GalN)、鼠李糖(Rha)、葡萄糖醛酸(GlcUA)、半乳糖醛酸(GalUA)、乙酰氨基半乳糖(GalNAc)、葡萄糖(Glc)、半乳糖(Gal)、木糖(Xly)、阿拉伯糖(Arb)和岩藻糖(Fuc)均为分析纯生化试剂,购于 sigma 公司;其他试剂均为色谱纯或化学纯级别。

1.2 主要仪器设备

Nicolet 5700 型电子傅里叶红外光谱仪,美国 Thermo Nicolet; CF16RXII 型高速冷冻离心机,日本 HITACHI; Bruker ADVANCE DMX500 型超导核磁共振仪,德国 Bruker; 安捷伦高效液相色谱仪 1260; Veeco MultiMode, Nanoscope IIIa controller 型原子力学显微镜,德国 Bruker; JEM 1200EX 型透射电子显微镜,日本电子株式会社。

1.3 实验方法

1.3.1 假酸浆胶质多糖的提取^[9-10]

称 100 g 假酸浆籽,用双层纱布包起。用 50 °C 蒸馏水快速浸泡 30 s。浸泡使假酸浆籽溶胀后立即用纱布包好,浸入水中 2~3 min,水量以淹没种子为度,待胶质吸胀溶出后用手加压将其挤出,重复多次直至浸提干净。所提胶质多糖通过冷冻干燥得到黄色疏松絮状物,得率约为 6%,命名为 NPG。

1.3.2 单糖组成分析^[11-12]

NPG 水解:精密称取 5.0 mg NPG 样品,置于安瓿瓶中,加入 2 mol/L 的三氟乙酸(TFA) 1.0 mL。封管后 105 °C 下水解 6 h。水解后反复加入甲醇蒸出 TFA,最后将样品溶于水中,配成 5 mg/L 的溶液,备用^[13]。

单糖标准品溶液制备:分别精确称取等摩尔干燥至恒重的 Man、GlcN、GalN、Rha、GlcUA、GalUA、GalNAc、Glc、Gal、Xyl、Ara 和 Fuc 12 种单糖标准品,加水充分溶解,配制成 1.0 mg/mL 的溶液。

单糖 PMP 柱前衍生:分别取 100 μL 单糖标准品和多糖完全水解后的样品、120 μL 0.5 mg/mL 的 PMP 甲醇溶液与 100 μL 0.3 mg/mL 的 NaOH 溶液置于具塞试管中混合均匀,于 70 °C 水浴锅中加热反应 1 h,冷却后加 100 μL 0.3 mg/mL 的 HCl 中和,再加 700 μL 三氯甲烷,振摇,静置,弃去三氯甲烷相,如此萃取 3 次,离心,取上清液过 0.25 μL 微孔滤膜进行高效液相色谱分析。

色谱条件:Agilent XDB-C18 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm);流动相:磷酸盐缓冲液(pH 6.7)/ CH_3CN (82:18, V/V);流速:1.0 mL/min;柱温:30;进样量:20 μL ;检测器:DAD (245 nm)。

1.3.3 NPG 纯度分析以及分子量测定^[14]

采用高效凝胶渗透色谱法(HPGPC)测定。

色谱条件:色谱柱:Shodex Ohpak SB-804HQ 凝胶色谱柱(300 mm \times 7.8 mm);柱温:35;流动相:0.1 mol/L 的 Na_2SO_4 ;流速:0.5 mL/min;检测器:示差检测器(RID)。

标准品:已知分子量的系列标准葡聚糖(2.0×10^7 u、 10.7×10^6 u、 4.71×10^6 u、 2.11×10^6 u、 9.6×10^6 u 和 5.9×10^6 u,中国药品生物制品检定所)。

1.3.4 红外光谱分析^[15]

将适量 NPG 与干燥的色谱纯 KBr 粉末在玛瑙研钵中研磨均匀,经压片机压制成透明薄片,在红外光谱仪下进行测定。红外光谱仪测定参数如下:扫描次数:32 次;扫描范围为 4000~400 cm^{-1} ;分辨率:4.0 cm^{-1} ;检测器:DTGS。

1.3.5 ^{13}C -NMR 分析^[16]

将 50 mg 多糖样品用 1 mL D_2O 溶解,旋转蒸发干燥反复交换 2 次,将活泼氢用氘置换。用约 0.5 mL D_2O 溶解离心后置于核磁管,以氘代丙酮为内标测定。测定参数:扫描频率:150 MHz;扫描次数:12000 次;温度:24 °C。

1.3.6 NPG 空间结构和凝胶特性分析

1.3.6.1 Ca^{2+} 对胶质多糖溶液成胶性的作用^[3]

称取适量 NPG 样品,配制成 10 mg/mL 的溶胶溶

液, 测试前将样品放置过夜, 并用磁力搅拌器搅拌 2 h 以上, 以保证胶质充分溶解。配制 200 mg/mL 的 CaCl₂ 溶液。在本次实验中分别向质量浓度为 10 mg/mL 的胶质多糖溶液中加入不同浓度的 Ca²⁺, 考察 Ca²⁺ 浓度对凝胶的影响。

1.3.6.2 原子力显微镜观察^[17,18]

用去离子水配制质量浓度为 10 μg/mL 的样品溶液并冷却至室温, 标记为 a, 然后取适量 a 分为两份, 分别滴入 2.0 mg/mL、8.5 mg/mL 浓度的 CaCl₂ 溶液, 使溶液状态分别呈现半凝胶与凝胶状态, 标记为 b, c 号。取适量样品滴于新鲜剥离的云母片表面, 在干燥器中室温干燥过夜, 取准备好的云母片进行原子力显微镜(横向分辨率为 0.1 nm, 垂直分辨率为 0.01 nm) 观察。

1.3.6.3 透射电镜^[19~20]

透射电镜: 最大放大倍数: 100 万倍(1,000,000×), 分辨率: 0.14 nm, 加速电压: 120 KV。先将配制好的 NPG 样品溶液进行超声分散(超声 5 min), 然后将其滴于有支撑膜的铜网上, 常温下放置至干燥后进行观察。

2 结果与讨论

2.1 单糖组成分析

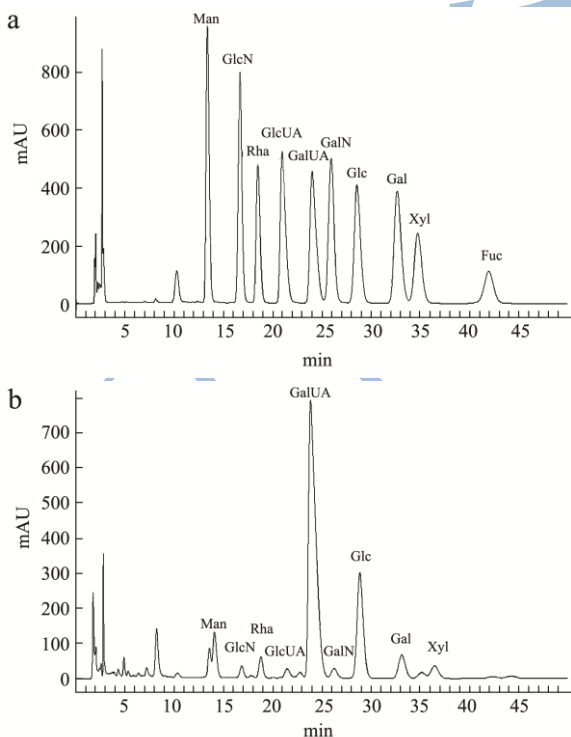


图 1 液相色谱图

Fig.1 HPLC chromatogram

注: a: 单糖标准品; b: NPG。

将 NPG 完全酸水解后进行 PMP 柱前衍生后液相

色谱与单糖标准图谱(图 1)相比较, 可以看出 NPG 由甘露糖(3.25%)、氨基葡萄糖(1.69%)、鼠李糖(4.74%)、葡萄糖醛酸(2.63%)、半乳糖醛酸(55.18%)、氨基半乳糖(2.01%)、葡萄糖(20.64%)、半乳糖(5.9%)、木糖(3.05%)、阿拉伯糖(0.91%)组成。而半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖及鼠李糖是 NPG 四种主要单糖, 其摩尔比为: 12:4:1:1。这与木泰华^[21]等研究的甘薯果胶中的单糖组成特征相似, 而且 D-半乳糖醛酸是果胶大分子的主要组成部分。

2.2 分子量测定

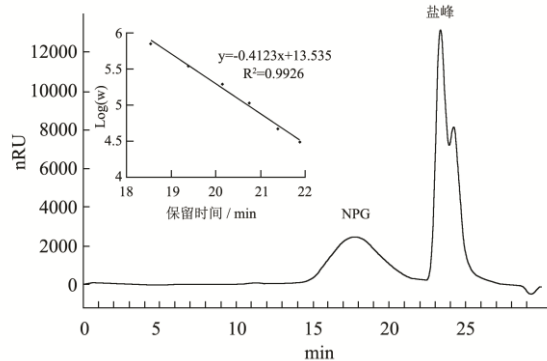


图 2 NPG 的高效凝胶色谱图

Fig.2 HPGPC chromatogram of NPG

利用高效凝胶色谱法, 根据已知分子量的标准品的出峰时间即可推算出多糖的分子量, 由 NPG 的高效凝胶色谱图计算得到其分子量为 1.6×10^6 u。由色谱图可以看出, NPG 分子量分布呈单一对称峰, 分布较为单一。高建华等^[22]研究了柚子皮、榴莲皮、石榴皮、向日葵盘、西番莲皮、脐橙皮 6 种果皮果胶的物化性质, 其分子量分别为 7.5×10^5 u、 6.2×10^5 u、 1.1×10^6 u、 4.8×10^5 u、 1.07×10^6 u。由此可见 NPG 同为大分子物质, 比一般植物来源的果胶分子量要大。

2.3 红外光谱分析^[23]

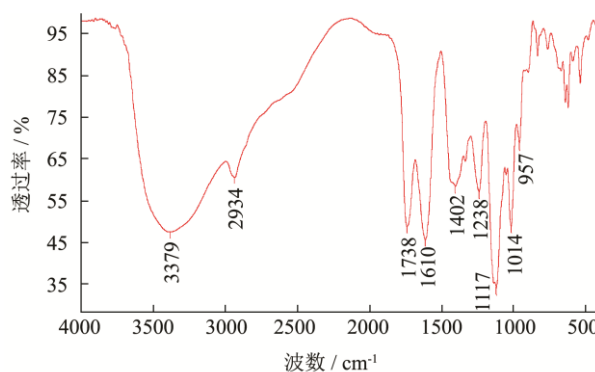


图 3 NPG 的红外吸收光谱

Fig.3 IR spectrum of NPG

红外光谱可以直观的给出多糖官能团、取代基及

结构相关信息。NPG 的红外吸收光谱见图 4。3379 cm^{-1} 有强烈的 O-H 伸缩振动的特征吸收带; 2934 cm^{-1} 是糖类 C-H 伸缩振动吸收峰; 1402 cm^{-1} 是 C-H 变角振动峰^[23]; 1610 cm^{-1} 的特征峰是 -H 附近的 -O- 的伸缩振动峰; 1238 cm^{-1} 处出现的弱峰为不对称的多糖的 C-O-C 伸缩振动峰; 1014 cm^{-1} 为多糖的环醚 C-O-C 的伸缩振动, 以上可判断该物质为多糖类化合物。1117 cm^{-1} (强) 为 O-H 的变角振动峰; 1738 cm^{-1} (强) 为羰基中的 C=O 伸缩振动峰, 主要来自 GalUA 羧酸上的羰基^[24]; 957 cm^{-1} (弱) 为糖类分子振动的特征吸收带, 由于聚合度增加, 吸收峰向高波数移动的羧基结果。

2.4 ^{13}C -NMR 分析

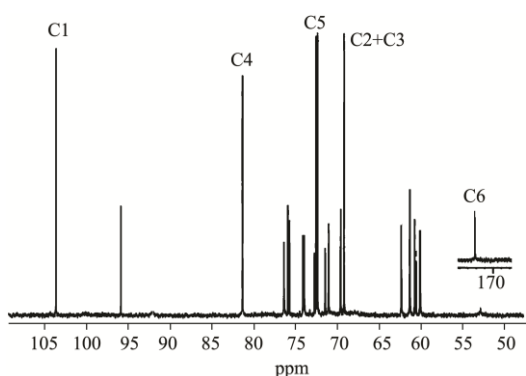


图 4 NPG 的 ^{13}C -NMR 谱图

Fig.4 ^{13}C -NMR spectrum of NPG

NPG 的 ^{13}C -NMR 如图 6 所示, 在异头碳区域出现了 2 个端基碳信号, 分别为 103.6 和 95.8 ppm, 说明 NPG 主要由两种糖苷键组成。与文献^[25,26]相互比较之后表明, 103.6 ppm 为 α -GalUA(1 \rightarrow 4)-的端基碳信号, 而 81.3, 72.5 和 69.5 ppm 强的信号分别为 α -GalUA(1 \rightarrow 4)-连接的 C4、C5、C2、C3 的碳信号, 而 172.4 ppm 处为 GalUA C6 羧基的信号。95.8 ppm 可能为非还原末端 α -Glc(1 \rightarrow)的信号。从碳谱中我们可以推测出 NPG 主要含有 α -GalUA(1 \rightarrow 4)的连接方式, 而支链主要是 α -Glc(1 \rightarrow)。

2.5 Ca^{2+} 浓度对假酸浆糖胶溶液凝胶的影响

由表 1 可以看出, 随着 Ca^{2+} 质量浓度的增大, 胶质多糖溶液粘度逐渐变大, 并由开始的溶胶状态变为强度大的凝胶状态。

表 1 Ca^{2+} 浓度对假酸浆糖胶溶液凝胶的影响

Table 1 Effects of Ca^{2+} on gelatinization of NPG

Ca^{2+} 浓度/(mg/mL)	0	2.0~4.0	≥ 8.0
溶液状态	溶胶状, 流动性好	半凝胶状, 流动性差, 无渗出液	凝胶状, 强度大, 放置后有渗出液

2.6 原子力显微镜观察

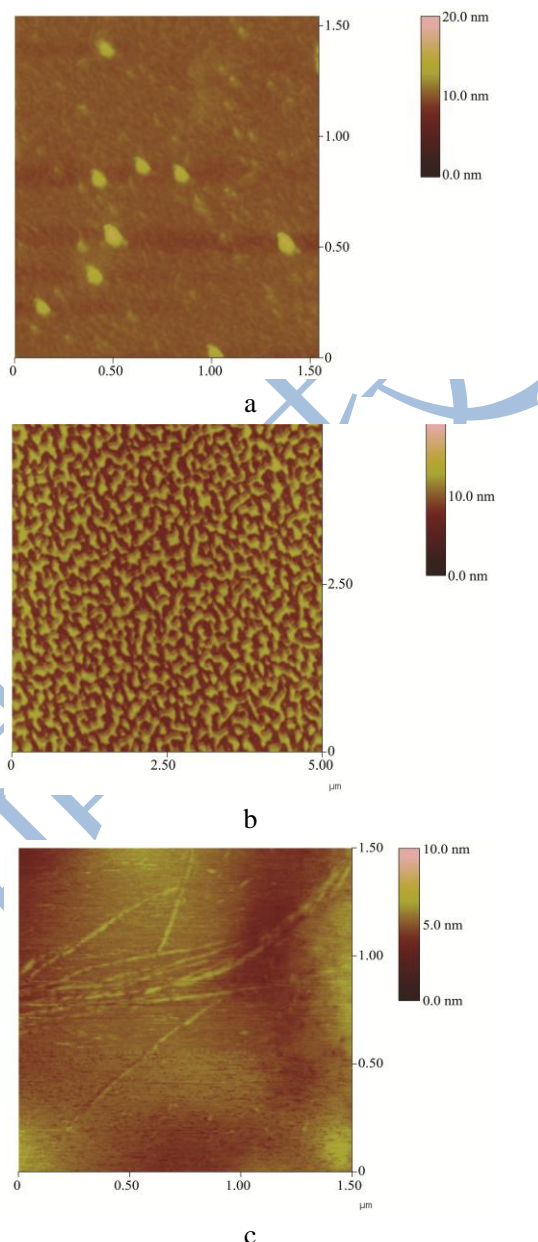


图 5 NPG 在不同 Ca^{2+} 浓度下的 AFM 图像

Fig.5 AFM images of NPG in different concentrations of Ca^{2+}

注: a: 0 mg/mL, b: 2.0 mg/mL, c: 8.5 mg/mL。

通过 AFM 可以观察假酸浆胶质多糖单个分子状态和聚集的过程。NPG 在水溶状态下呈球形, 分布稀疏且不规律, 直径在 150 nm 左右(图 5a)。在 NPG 水溶液中加入 Ca^{2+} (2 mg/mL) 后(图 5b), 分子排布相对比较规律而且排列紧密, 呈现交联的网状结构, 已开始出现脱水现象。从图中可以明显看出由于阳离子存在而使多糖分子相互交联而形成的结状区域, 通过结状区域, 分子之间首尾相接或者一头和另一分子中间相接, 形成分支状结构, 此结构为凝胶状态的前体结构。

当在 NPG 水溶液中加入足量 Ca^{2+} 使 NPG 分枝状结构进一步交联加厚, 排列更为紧密, 并呈现凝胶状态时, 分子进一步脱水排列成纤维状(图 5c)。

2.7 透射电镜观察

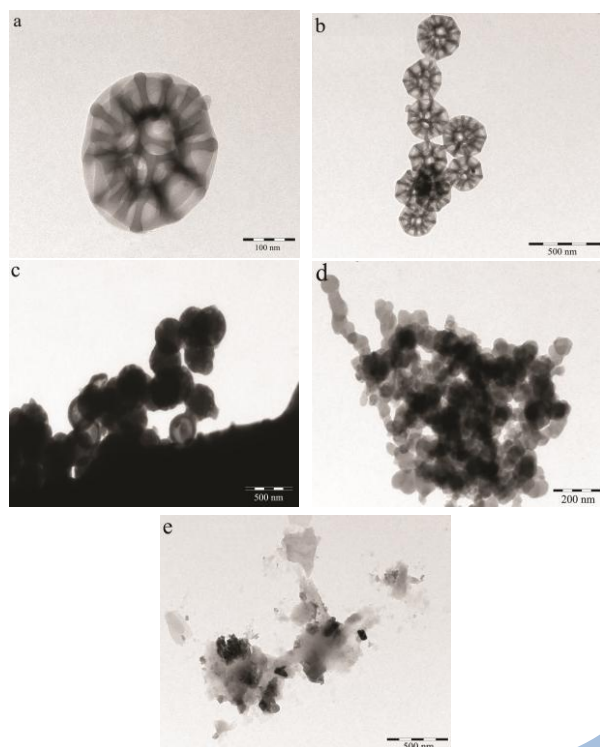


图 6 假酸浆胶质多糖成胶过程图

Fig.6 Image of the NPG gelatinization process

注: a: 0 mg/mL, b: 2.0 mg/mL, c: 4.0 mg/mL, d: 8.5 mg/mL, e: 8.5 mg/mL。

电镜观察可知(图 6), 假酸浆胶质多糖双螺旋结构并卷曲形成球状结构, 在钙离子作用下, 假酸浆胶质多糖形成的球形结构首尾相接形成链状结构, 在链状结构的中间也会交联多糖分子而形成分支状结点, 而结点如树的分支具有空间立体性。而随着钙离子浓度的升高, 交联进一步加深, 多糖纤维状结构延长加厚聚集, 而形成凝胶。TEM 与 AFM 的分析进行了很好的印证。

本实验结果表明假酸浆胶质多糖与大多数果胶的特征相同, 其主要成分为半乳糖醛酸, 是由半乳糖醛酸为主链聚合而成的大分子物质。由 ^{13}C -NMR 谱可以看出, NPG 主链是由 α -GalUA 通过 1→4 糖苷键连接并聚合而成的, 分支较少, 主要由葡萄糖组成。所以相对于其他果胶分子, 假酸浆胶质多糖的组成相对简单, 主要含有半乳糖醛酸和少量葡萄糖。加入适量钙离子, 多价离子的存在起到了中和电荷及分子间的桥梁作用, 所以改变了胶分子的聚集状态。胶分子排列规则成网状结构, 呈现出凝胶状态。这是由于 Ca^{2+}

浓度的增大使胶质多糖分子排列从无序到有序状态, 这种有序的分子排列方式以凝胶的形式表现出来。假酸浆胶质多糖分子是一种可以形成凝胶的天然高分子, 其分子间的相互作用受到金属离子的影响。二价正离子的存在可以起到中和电荷以及分子间的桥梁作用, 从而改变胶质多糖分子的排列状态。

由于假酸浆胶质多糖作为高分子量, 组成相对均一且分支较少的聚半乳糖醛酸结构, 所以其在钙离子作用下成胶状态更为典型。并且通过透射电镜清晰的观察到糖胶分子的球状结构是在糖链螺旋卷曲后进一步形成的。

3 结论

对假酸浆籽进行浸泡挤压提取胶质多糖, 并对其结构进行研究。研究表明该胶质多糖是一种分子量为 1.6×10^6 u 的均一大分子果胶多糖。由 GalUA、Glc、Gal 及 Rha 四种单糖组成, 其摩尔比例为 12:4:1:1。NPG 主链是由 α -GalUA 通过 1→4 糖苷键连接而成的, 支链是由 α -Glc 通过 1→糖苷键连接而成。红外光谱结果显示, NPG 分子中存在羰基中的 C=O 伸缩振动峰, 与 ^{13}C -NMR 分析结果结合可推断出该羰基主要来自 GalUA 羧酸上的羰基。该胶质多糖的粘度受 Ca^{2+} 浓度影响, Ca^{2+} 质量浓度的增大使 NPG 分子排列从无序到有序状态, 这种有序的分子排列方式以凝胶的形式表现出来。通过原子力学显微镜及透射电镜进一步观察得知 NPG 分子的空间结构为球形结构, 在钙离子存在下会相互交联聚集成网状结构, 并形成凝胶, 在微观上进一步印证了 NPG 凝胶的形成过程。

参考文献

- [1] 周雨, 谢春阳. 假酸浆果籽油口服液的工艺研制[J]. 农产品加工, 2014, 2: 37-41
ZHOU Yu, XIE Chun-yang. Development of the oral liquid from *Nicandra physaloides* of seed oil [J]. Academic Periodical of Farm Products Processing, 2014, 2: 37-41
- [2] 董宝生, 和承尧, 梅文泉. 假酸浆籽油的理化性质指标及其脂肪酸组成分析[J]. 中国油脂, 2006, 31(12): 59-60
DONG Bao-sheng, HE Cheng-yao, MEI Wen-quan. Physicochemical indexes and fatty acid composition of *Nicandra physaloides*(L.) Gaertn seed oil [J]. China Oils and Fats, 2006, 31(12): 59-60
- [3] 涂国云, 王正武, 顾瑾. 假酸浆子胶溶液的流变特征[J]. 林产化学与工业, 2008, 28(2): 38-42
TU Guo-yun, WANG Zheng-wu, GU Jin. Rheological properties of gum from seed of *Nicandra physaloides*(L.)

- Gaertn [J]. Chemistry and Industry of Forest Products, 2008, 28(2): 38-42
- [4] 涂国云,王正武,唐波.假酸浆子胶的吸湿性及动力学研究[J].华北农学报,2008,23(增刊):377-379
TU Guo-yun, WANG Zheng-wu, TANG Bo. Kinetic analysis of moisture absorption gum in seed of *Nicandra physaloides*(L.) Gaertn [J]. Acta Agriculturae Boreali-sinica, 2008, 23(to a periodical): 377-379
- [5] 彭斌,周仁超,唐丽素,等.假酸浆种子果胶类物质化学成分及其结构的初步研究[J].天然产物研究与开发, 1994, 6(2): 53-55
PENG Bin, ZHOU Ren-chao, TANG Li-su, et al. Studies on the composition and structure of the seed pectin of *Nicandra physaloides* [J]. Natural Product Research and Development, 1994, 6(2): 53-55
- [6] 张学杰,郭科,苏艳玲.果胶研究新进展[J].中国食品学报, 2010,10(1):167-174
ZHANG Xue-jie, GUO Ke, SU Yan-ling. A review on the recent advance in pectin research [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2010, 10(1): 167-174
- [7] 蔡为荣,孙元琳,汤坚.果胶多糖结构与降血脂研究进展[J].食品科学,2010,31(5):307-311
CAI Wei-rong, SUN Yuan-lin, TANG Jian. Research progress in structure and hypolipidmic mechanisms of pectic polysaccharides [J]. Food Science, 2010, 31(5): 307-311
- [8] 魏子昊,杨伟,刘夫国,等.改性柑橘果胶研究进展[J].中国食品添加剂,2014,3:194-199
WEI Zi-hao, YANG Wei, LIU Fu-guo, et al. Advances in modified citrus pectin [J]. China Food Additives, 2014, 3: 194-199
- [9] 涂国云,王正武,唐波.假酸浆子胶质的乳化性评价[J].精细化工,2009,26(1):63-67
TU Guo-yun, WANG Zheng-wu, TANG Bo, et al. Evaluation of emulsion properties of gum in seed of *Nicandra Saloides* (L.) Gaertn [J]. Fine Chemicals, 2009, 26(1): 63-67
- [10] 张帅.正交试验优选假酸浆籽中果胶提取工艺的研究[J].湖南中医药大学学报,2010,30(7):42-44
ZHANG Shuai. Optimization on extracting of seeds of *Nicandra physaloides* by orthogonal experiment [J]. Journal of Traditional Chinese Medicine University of Hunan, 2010, 30(7): 42-44
- [11] Chen Y, Mao W, Yang Y, et al. Structure and antioxidant activity of an extracellular polysaccharide from coral-associated fungus, *Aspergillus versicolor* LCJ-5-4 [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 87(1): 218-226
- [12] Xie J H, Shen M Y, Nie S P, et al. Analysis of monosaccharide composition of *Cyclocarya paliurus* polysaccharide with anion exchange chromatography [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 98: 976-981
- [13] 陈荫.四株不同来源海洋微生物胞外多糖的结构及抗氧化活性研究[D].青岛:中国海洋大学,2012
CHEN Yin. Structural characterization and antioxidant properties of exopolysaccharides produced by 4 marine microbe with different sources [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012
- [14] 殷秀红,赵峡,张紫恒,等.紫贻贝多糖的提取分离和基本理化性质分析[J].中国海洋药物杂志,2011,30(2):12-17
YIN Xiu-hong, ZHAO Xia, ZHANG Zi-heng, et al. Extraction, purification and physicochemical properties analyses of *Mytilusedul is Linnaeus* polysaccharides [J]. Chinese Journal of Marine Drugs, 2011, 30(2): 12-17
- [15] 张惟杰.糖复合物生化研究技术[M].杭州:浙江大学出版社,1999
ZHANG Wei-jie. The glycoconjugates biochemical research techniques [M]. Hang Zhou: Zhejiang University Press, 1999
- [16] Liu C H, Li X D, Li Y H, et al. Structural characterization and antimutagenic activity of a novel polysaccharide isolated from *Sepiella maindroni* ink [J]. Food Chemistry, 2008, 110: 807-813
- [17] Morris V J, Gromer A, Kirby A R, et al. Using AFM and force spectroscopy to determine pectin structure and(bio) functionality [J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25: 230-237
- [18] Jing Y S, Cui X L, Chen Z Y, et al. Elucidation and biological activities of a new polysaccharide from cultured *Cordyceps militaris* [J]. Carbohydrate Polymers, 2014, 102: 288-296
- [19] Fundo J F, Fernandes R, Almeida P M, et al. Molecular mobility, composition and structure analysis in glycerol plasticised chitosan films [J]. Food Chemistry, 2014, 144: 2-8
- [20] Zhang Y F, Chen C, Wang J G, et al. Polysaccharide-based polyelectrolytes hollow microcapsules constructed by layer-by-layer technique [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 96: 528-535
- [21] 木泰华,魏海香,曹媛媛,等.甘薯果胶物化特性的研究[J].食品工业科技,2007,28(9):178-181
MU Tai-hua, WEI hai-xiang, CAO Yuan-yuan, et al. Study on properties of sweet potato pectin substance [J]. Science and Technology of Food Industry, 2007, 28(9): 178-181
- [22] 高建华,戴思齐,刘家明,等.六种果皮原料果胶的理化及凝胶特性比较[J].农业工程报,2012,28(16):288-292

- GAO Jian-hua, DAI Si-qi, LIU Jia-ming, et al. Comparison of physicochemical and gelation properties of pectins extracted from six pericarps [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2012, 28(16): 288-292
- [23] 田玉霞,乔书涛,仇农学,等.苹果果胶的结构、单糖组分和稳定性研究[J].食品工业科技,2009,30(11):160-163
- TIAN Yu-xia, QIAO Shu-tao, CHOU Nong-xue, et al. Study on the structure, monosaccharide composition and stability of apple pectin [J]. Science and Technology of Food Industry, 2009, 30(11): 160-163
- [24] 吴国利,扶雄,孟赫诚,等.超滤分级甜菜中果胶的理化性质及乳化特性研究[J].现代食品科技,2013,29(6):1237-1242
- WU Guo-li, FU Xiong, MENG He-cheng, et al. Structure and emulsifying properties of sugar beet pectin fractionated by ultrafiltration [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(6): 1237-1242
- [25] Catoire L, Goldberg R, Pierron M, et al. An efficient procedure for studying pectin structure which combines limited depolymerization and ^{13}C NMR [J]. European Biophysics Journal with Biophysics Letters, 1998, 27: 127-136
- [26] Zhang L F, Ye X Q, Ding T, et al. Ultrasound effects on the degradation kinetics, structure and rheological properties of apple pectin [J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2013, 20(1): 222-231