

不同溶解性面包果果胶的理化、结构性质及抗氧化活性的比较

陈立莉^{1,2}, 陈小爱², 徐飞², 刘荣^{1*}, 王旭², 张彦军^{2*}

(1. 东北林业大学生命科学学院, 黑龙江哈尔滨 150040) (2. 中国热带农业科学院香料饮料研究所, 海南省特色热带作物适宜性加工与品质控制重点实验室, 国家热带植物种质资源库木本粮食种质资源分库, 国家重要热带作物工程技术研究中心, 海南万宁 571533)

摘要: 该研究以面包果为原料, 提取了水溶性果胶 (Water-soluble Pectin, WSP)、螯合剂可溶性果胶 (Chelate-soluble Pectin, CSP)、碳酸钠可溶性果胶 (Sodium Carbonate-soluble Pectin, SSP), 分析并比较了三者的理化性质、结构特性和抗氧化活性。结果表明: WSP 具有高粘度 (145.80 mPa·s)、高分子量 (1 241.3 ku) 和高酯化度 (86.33%) 的特点, CSP 具有低粘度 (17.88 mPa·s)、低分子量 (218.6 ku) 和低酯化度 (45.73%) 的特点, SSP 具有提取率高 (47.73%)、溶解性好 (96.20%)、粘度低 (4.63 mPa·s) 和分子量低 (186.3 ku) 的特点。三种果胶都主要由鼠李糖、阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、半乳糖醛酸组成, 红外分析光谱和扫描电镜结果表明这三种果胶的结构存在显著差异。抗氧化结果表明, WSP、CSP 和 SSP 对羟自由基、ABTS⁺ 自由基和 DPPH 自由基的清除能力随质量浓度增加而增强。其中 SSP 对自由基的清除能力最强, 在质量浓度为 0.5 mg/mL 时, 对 ABTS⁺ 自由基的清除率达到了 96.56%。综上所述, SSP 果胶表现出较好的抗氧化活性是由其较小分子量、支链丰富、低粘度以及光滑表面导致的。

关键词: 面包果; 溶解性; 碳酸钠可溶性果胶; RG-I 结构; 抗氧化活性

文章编号: 1673-9078(2024)09-160-168

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.9.1092

Physicochemical, Structural, and Antioxidant Properties of Breadfruit (*Artocarpus altilis*) Pectin with Different Solubility

CHEN Lili^{1,2}, CHEN Xiaoi², XU Fei², LIU Rong^{1*}, WANG Xu², ZHANG Yanjun^{2*}

(1. College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

(2. Spice and Beverage Research Institute of Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Key Laboratory of Processing Suitability and Quality Control of the Special Tropical Crops of Hainan Province, Woody Grain Germplasm Resource Center of National Tropical Plant Germplasm Resource, National Center of Important Tropical Crops Engineering and Technology Research Wanning, Hainan 571533, China)

引文格式:

陈立莉, 陈小爱, 徐飞, 等. 不同溶解性面包果果胶的理化、结构性质及抗氧化活性的比较[J]. 现代食品科技, 2024, 40(9): 160-168.

CHEN Lili, CHEN Xiaoi, XU Fei, et al. Physicochemical, structural, and antioxidant properties of breadfruit (*Artocarpus altilis*) pectin with different solubility [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(9): 160-168.

收稿日期: 2023-09-12

基金项目: 海南省重点研发计划项目 (ZDYF2022SHFZ122); 中国热带农业科学院基本科研业务费专项资金 (1630142022007)

作者简介: 陈立莉 (1998-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 食品科学与工程, E-mail: 172457544@qq.com

通讯作者: 刘荣 (1971-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 食品营养与功能性食品, E-mail: lrwxh123@163.com; 共同通讯作者: 张彦军 (1982-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 热带作物加工, E-mail: zhangyanjun0305@163.com

Abstract: Water-soluble pectin (WSP), chelate-soluble pectin (CSP), and sodium carbonate-soluble pectin (SSP) were extracted from breadfruit and their physicochemical properties, structural characteristics, and antioxidant activities were analyzed and compared. The results showed that WSP was characterized by high viscosity (145.80 mPa·s), high molecular weight (1241.3 ku), and high degree of esterification (86.33%). CSP was characterized by low viscosity (17.88 mPa·s), low molecular weight (218.6 ku), and low degree of esterification (45.73%), while SSP was characterized by a high extraction rate (47.73%), good solubility (96.20%), low viscosity (4.63 mPa·s), and low molecular weight (186.3 ku). The main monosaccharide compositions of the three kinds of pectin were rhamnose, arabinose, galactose, glucose, xylose, and galacturonic acid. The results of Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) and scanning electron microscopy (SEM) indicated significant differences among the three types of pectin. The antioxidant results showed that the scavenging ability of WSP, CSP, and SSP on hydroxyl free, ABTS⁺ free and DPPH free radicals increased with the increase in mass concentration of each pectin. SSP had the strongest radical scavenging activity, reaching a scavenging rate of 96.56% of ABTS radicals at a concentration of 0.5 mg/mL. In conclusion, SSP pectin exhibited good antioxidant activity due to its small molecular weight, rich branched chains, low viscosity, and smooth surface.

Key words: breadfruit; solubility; sodium carbonate-soluble pectin; RG-I structure; antioxidant activity

果胶是一种可溶性膳食纤维,我国每年果胶需求量在 4 000 t 以上,其中 80% 依靠国外进口。据统计,果胶需求量在较长时间内仍以每年 5%~10% 的速度增长^[1]。然而市售国产果胶多以柑橘皮和苹果渣为原料,种类较少,规格单一,大部分果胶资源未被充分开发利用,因此需要寻找新的果胶来源。面包果是一种大型的热带经济作物^[2],具有产量大(盛产期年株产量可达 100 kg 以上)、膳食纤维含量丰富、果胶含量高的特点。在原产地,如印度尼西亚面包果年产量可以达到 19 万 t,产业规模大。面包果渣是生产面包果淀粉后的废渣,如果处理不当,会污染环境且造成资源的浪费。将面包果渣作为生产果胶的原料,不仅能增加面包果加工的附加值,而且能丰富果胶的来源。

果胶主要由半乳糖醛酸、鼠李糖、半乳糖、阿拉伯糖和其他 13 种单糖组成^[3]。根据果实中果胶的溶解度的不同,又可以分为三种不同键合状态的果胶多糖,可通过去离子水、反式 1,2- 环己二胺四乙酸(CDTA)、碳酸钠溶液依次提取^[4,5]。水溶性果胶是一种能溶解在细胞质和细胞间隙的果胶;螯合剂可溶性果胶(又称离子型果胶)是指与钙和稀酸相互作用的果胶,而碳酸钠可溶性果胶(又称共价结合型果胶)是与初生壁共价结合的果胶^[6]。传统酸法提取的果胶忽略了键态的差异,会改变果胶的结构特征,破坏其 RG-I 型区域,而不同溶解性的果胶更容易保留 RG-I 型结构。富含 RG-I 结构的果胶多糖具有较高的健康功能活性(抗癌、抗氧化、肠道益生等)^[7]。

本研究采用了水、CDTA、碳酸钠提取面包果三种溶解性果胶,结合红外光谱、扫描电镜和离子色谱分析三种果胶的初级结构,并对比三种果胶抗氧化能力;采用相关性分析,探究三种果胶结构组成与抗氧化能力之间的关系,为后续面包果果胶生产加工及功能性应用提供思路。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

面包果鲜果(香饮所 1 号品种),由中国热带农业科学院香料饮料研究所(兴隆热带植物园)提供。反式-1,2-环己二胺四乙酸(CDTA)、透析袋(3 500 u)、考马斯亮蓝 G-250 溶液,上海源叶生物科技有限公司;溴化钾(色谱纯),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;葡聚糖系列标准品,北京索莱宝科技有限公司;单糖标准品,扬州博睿糖生物技术有限公司;其他试剂或药品均为分析纯。

1.2 仪器与设备

Buchi R-220 SE 旋转蒸发仪,瑞士 Buchi 公司;Voshin-1500C 低温超声波萃取仪,无锡沃信仪器制造有限公司;TFDX0.25 食品真空冷冻干燥机,烟台中孚冷链设备有限公司;SynergyH 1 酶标仪,美国 BioTek 公司;DV2T 粘度计, Brookfield 有限公司;Mastersizer 3000 马尔文粒度仪,英国 Malvern 公司;Nicolet6700 傅里叶变换红外光谱仪,美国赛默飞世尔科技公司;渗透凝胶色谱仪,美国 Waters 公司;ICS5000 型离子色谱仪,美国赛默飞世尔科技公司;

Phenom ProX 型台式显微能谱一体机, 荷兰 Phenom 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 果胶的提取

面包果渣的获取: 采用 Murayama 等^[8]的方法制备, 并进行了一些修改。将面包果去皮切丁, 50 g 面包果和 100 mL 去离子水 (<4 °C) 置于多功能料理机中磨浆 1 min, 再加入 300 mL 的冷去离子水, 用均质机以 10 000 r/min 的速度均质 10 s。所得的浆液过 400 目筛, 然后用冷去离子水洗涤。残渣悬浮在 50 mL 的冷去离子水中, 在 200 W 下超声 3 min。用 200 mL 去离子水冲洗过筛, 冷冻干燥。在样品的制备过程中, 浆液的温度保持低于 10 °C, 以减少果胶分子的降解和去甲基化。干燥后的样品用乙醇和丙酮进行洗涤, 40 °C 下烘干, 获得面包果渣。

果胶的提取: 采用 Koh 等^[9]的方法。称取 2 g 面包果渣, 与蒸馏水按照 1:100 (m/m) 充分混合, 在室温下搅拌 12 h, 然后将混合物进行真空过滤, 收集滤液为水溶性果胶 (WSP) 滤液。将 WSP 提取后的残渣加入 200 mL 含有 0.05 mol/L CDTA 的醋酸钠缓冲液 (0.05 mol/L, pH 值为 6.5) 中, 在室温下搅拌 12 h, 然后进行真空过滤, 滤液为螯合剂可溶性果胶 (CSP) 滤液。将提取 CSP 后的残渣与 200 mL 含 0.02 mol/L 硼氢化钠的 0.05 mol/L 碳酸钠混合, 混合溶液在 4 °C 下提取 16 h, 然后在常温下搅拌 4 h, 真空过滤, 收集为碳酸钠可溶性果胶 (SSP) 滤液。WSP 和 SSP 滤液用去离子水透析 48 h。而 CSP 滤液则先用 0.1 mol/L 氯化钠透析 24 h, 然后再用去离子水透析 24 h。透析后的果胶溶液浓缩后冻干。

1.3.2 基本组分的测定

面包果渣进行成分的测定, 其水分、灰分、蛋白质、脂肪、淀粉含量的测定方法分别参照国标 GB 5009.3-2016、GB 5009.4-2016、GB 5009.5-2016、GB 5009.6-2016、GB 5009.9-2016。果胶含量参照农业行业标准 NY/T 2016-2011、半纤维素、纤维素含量参照农业行业标准 NY/T 3494-2019。

1.3.3 面包果果胶得率和提取率

WSP、CSP 和 SSP 的得率按照式 (1) 进行计算:

$$A = \frac{M_1}{M} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

A —果胶得率, %;

M —面包果渣质量, g;

M_1 —不同溶解性的果胶质量, g。

WSP、CSP 和 SSP 的提取率按照式 (2) 进行计算:

$$B = \frac{M_1}{M} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

B —果胶提取率, %;

M —总果胶质量, g;

M_1 —不同溶解性的果胶质量, g。

1.3.4 面包果果胶理化性质的测定

(1) 酯化度的测定: 参考万力^[10]的方法。

(2) 溶解度的测定: 参考田宝明等^[11]的方法。

(3) 粘度的测定: 参考庄远红等^[12]的方法稍作修改。配制质量浓度为 15 mg/mL 的果胶溶液, 用 DV2T 粘度计在室温下进行测量, 选用 LV-02 转子, 设置转速为 100 r/min, 样品测量时间为 1 min。

(4) 粒径的测定: 参考陶雯等^[13]的方法, 用马尔文粒度仪进行测量。

(5) 多酚和蛋白质含量的测定: 参考马丽苹等^[14]的方法。

1.3.5 红外光谱分析

参考 Li 等^[15]的方法。

1.3.6 分子量的测定

参考 Chen 等^[16]的方法。

1.3.7 单糖组成分析

采用离子色谱对果胶的单糖组成进行测定。将 5 mg 样品溶解在 3 mL 2 mol/L 的三氟乙酸溶液中, 转移至安瓿管中, 真空封管后 120 °C 水解 3 h 后, 氮气吹干液体, 复溶于 1 mL 去离子水中, 稀释溶液过 0.45 μm 滤膜上机检测。取各单糖标准溶液精密配置质量浓度标准品作为混标。根据绝对定量方法, 测定不同单糖质量, 根据单糖摩尔质量计算出摩尔比。

1.3.8 微观形貌的测定

采用扫描电镜对样品的微观形貌进行研究。将干燥的果胶样品粉碎后粘在黑色碳胶金属桩上, 用氮气进行吹扫, 溅射喷金。测试条件: 加速电压 10 kV, 在 1 000 放大倍数下观察果胶多糖的微观结构。

表 1 面包果渣的基本组分(%, 干基)

Table 1 Basic components of the breadfruit crumbs

成分	总果胶	淀粉	蛋白质	脂肪	灰分	半纤维素	纤维素	其他
面包果渣	27.91 ± 0.77	6.76 ± 0.28	1.45 ± 0.13	0.19 ± 0.04	5.90 ± 0.25	16.96 ± 0.83	35.86 ± 1.23	4.97 ± 0.50

表 2 面包果果胶理化性质

Table 2 Physicochemical properties of breadfruit pectin

果胶	得率/%	提取率/%	酯化度/%	溶解度/%	粘度/(mPa·s)	粒径/ μm	多酚/(mg/g)	蛋白质/(mg/g)
WSP	5.24 ± 0.43 ^c	17.82 ± 1.45 ^c	86.33 ± 3.71 ^a	75.85 ± 1.49 ^e	145.80 ± 2.29 ^a	31.90 ± 0.71 ^c	1.89 ± 0.05 ^a	6.93 ± 0.29 ^a
CSP	8.69 ± 0.51 ^b	29.56 ± 1.74 ^b	45.73 ± 1.45 ^b	91.80 ± 1.17 ^b	17.88 ± 0.25 ^b	81.60 ± 1.05 ^a	0.59 ± 0.03 ^b	6.30 ± 0.25 ^a
SSP	14.04 ± 0.94 ^a	47.73 ± 3.19 ^a	—	96.20 ± 1.02 ^a	4.63 ± 0.09 ^c	60.10 ± 0.98 ^b	—	7.37 ± 0.23 ^a

注：“—”表示未检测到。同列不同字母表示存在显著差异 ($P < 0.05$)。

1.3.9 抗氧化活性的测定

羟基自由基清除活性的测定：参考 Tang 等^[17]的方法。

ABTS⁺ 自由基清除活性的测定：参考刘盈^[18]的方法。

DPPH 自由基清除活性的测定：参考 Chen 等^[19]的方法。

1.4 数据处理

以上所有指标测定均重复 3 次，采用 SPSS (26.0) 数据分析软件进行数据统计、差异显著性和相关系数分析，采用 Origin 2023 作图。

2 结果与分析

2.1 面包果渣成分

面包果渣的成分见表 1，面包果渣中果胶和纤维素的含量相对较高，说明面包果是一种很好的果胶原料。面包果渣中的蛋白质和淀粉含量都较低，说明在水洗和超声的过程中除去了大部分的淀粉和蛋白质。

2.2 面包果果胶得率及理化性质分析

采用水、CDTA 和碳酸钠分别获得了 WSP、CSP 和 SSP 果胶，三种溶解性的果胶的理化性质见表 2。WSP、CSP、SSP 的提取率分别为 17.82%、29.56%、47.73%，其中 WSP 的提取率较低，说明面包果果胶多以水不溶性果胶的状态存在。水不溶性果胶通常与半纤维素和纤维素结合，使组织具有一定的强度，并起着黏连细胞的作用，有助于细胞壁维持完整性^[20]，因此这一部分的果胶含量较高。酯化度结果表明 WSP 为高甲氧基果胶，CSP 为低

甲氧基果胶，而 SSP 的酯化度并未被检测到。不同类型果胶的酯化度有一定的差异，SSP 没有酯化度可能是提取过程中甲氧基的皂化所致^[6]。WSP 的酯化度大于 CSP 的酯化度^[15,21]，较低酯化度的 CSP 可能比 WSP 果胶更容易形成凝胶。

由表 2 可知，原料相同采取不同试剂提取的果胶，其溶解度、粘度和粒径具有显著性差异 ($P < 0.05$)，这可能会导致其抗氧化活性的变化。WSP 和 CSP 的多酚含量均较低 ($< 2 \text{ mg/g}$)，SSP 没有检测到多酚，说明其抗氧化活性主要由果胶多糖引起的。而三者的蛋白质含量较低且差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.3 傅里叶变换红外光谱分析

面包果不同溶解性果胶的红外特征吸收光谱如图 1 所示。其中，3 700~3 000 cm^{-1} 区域的峰是由羟基伸缩振动引起的，3 000~2 800 cm^{-1} 处的峰是由果胶甲基、亚甲基以及次甲基组中的 C-H 键弯曲振动和伸缩导致的 (如 2 931、2 860 cm^{-1})^[22]。果胶在 1 760~1 730 cm^{-1} 处的酯化羰基吸收峰 (1 746 cm^{-1}) 和 1 630~1 600 cm^{-1} 处自由羧基吸收峰 (1 620 cm^{-1}) 可以用来判断果胶酯化度 (DE) 的高低^[23]。三个组分在 1 440~1 200 cm^{-1} 处的吸收峰来自 C-H 的变角振动；1 200~800 cm^{-1} 之间为果胶分子的指纹区域，含有多个果胶多糖特征吸收峰。

在 WSP 和 CSP 的光谱中，在 1 746 cm^{-1} 和 1 620 cm^{-1} 处的峰分别对应于果胶的甲酯化和非酯化羧基；由于 DE 值的差异，在 WSP 和 CSP 的光谱中，这两个波段的强度并不相似。WSP 组分中在 1 746 cm^{-1} 处出现了强吸收峰，被认为是羧基和酯羰基中 C=O 键的伸缩振动^[24]，表明存在着大量酯键，这与前面的酯化度分析结果一致；而 SSP

在碱性的提取过程中去酯化^[25], 故在 $1\ 746\ \text{cm}^{-1}$ 处未检测到吸收峰。但一些报道中, 碳酸钠可溶性果胶在 $1\ 746\ \text{cm}^{-1}$ 处有吸收峰^[26], 可能是在提取的过程中甲基并未被完全皂化。此外, 在 CSP 中没有观察到属于 CDTA 盐的特征吸收峰 ($1\ 704$ 、 $1\ 579$ 、 $1\ 206\ \text{cm}^{-1}$)^[27], 说明透析成功消除了 CDTA。

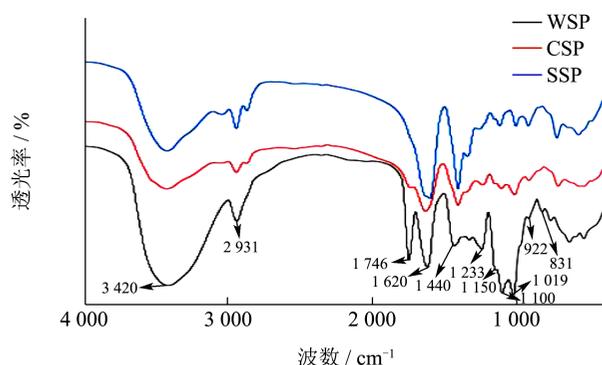


图1 面包果果胶红外吸收光谱图

Fig.1 The FT-IR spectrum of breadfruit pectin

2.4 分子量

图2为面包果三个果胶组分的高效液相凝胶渗透色谱图。将根据标准品分子量和洗脱时间, 得到三阶拟合方程 $\log Mw = 0.002\ 2x^2 - 0.137\ 9x^2 + 1.931\ 3x - 1.524\ 4$, $R^2 = 0.998\ 9$ 。根据回归方程, WSP、CSP、SSP的重均分子量分别为1241.3、218.6、186.3 ku。

WSP具有很高的分子量, 可能是长的碳水化合物链溶解在水中导致的^[28]。相比之下, CSP和SSP的分子量极低于WSP, 这可能是CDTA和碳酸钠溶液破坏果胶结构导致的^[15]。从图2b中可以看出, 在保留时间为8.71 min的时候, 出现了一个较小的峰, 说明CSP中含有一部分分子量较高的果胶。这可能是因为CSP具有较高含量的侧链(图4), 果胶分子之间可能存在纠缠, 导致其拥有部分较高摩尔质量的果胶。

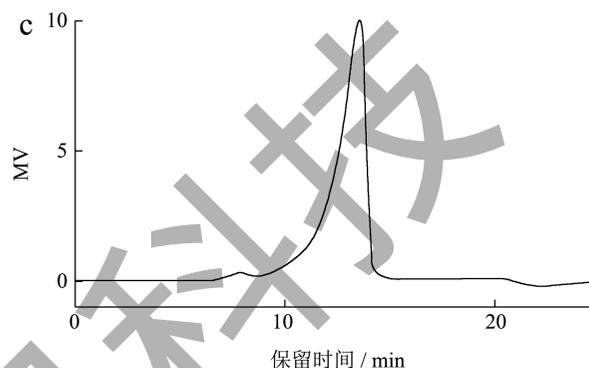
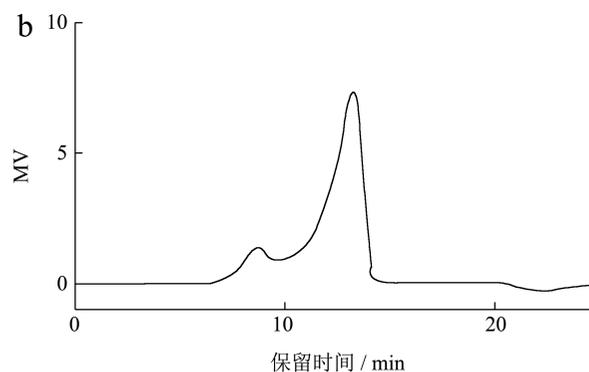
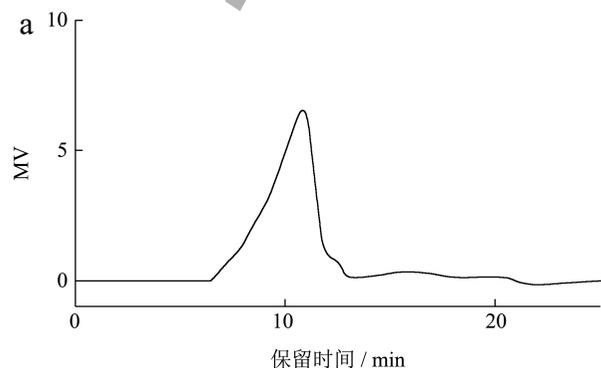


图2 面包果果胶的 HP-GPC 图

Fig.2 The HP-GPC plots of breadfruit pectin

注: a、b、c 分别对应水溶性果胶、螯合剂可溶性果胶、碳酸钠可溶性果胶。

2.5 单糖组成

表3给出了面包果细胞壁3种溶解性果胶的单糖组成。3种果胶多糖以Rha、Ara、Gal、Glc、Xyl为主要的中性单糖, 其中半乳糖含量最高(19.49%~23.47%)。半乳糖醛酸在WSP和SSP组分中分别占总单糖的33.53%和31.16%, CSP组分占总单糖的23.32%。本实验提取的果胶半乳糖醛酸含量较传统酸法制备的果胶低, 因为酸类试剂可以破坏RG-I区域, 包括中性糖侧链的水解和主链断裂, 从而增加HG结构域的含量^[29]。WSP、CSP、SSP中发现了较多的葡萄糖(5.95%~16.51%)和木糖(11.67%~15.59%), 这可能是来源于面包果中的非果胶多糖^[30], 如半纤维素和纤维素^[24]。

面包果不同溶解性果胶的糖比率见表3。(Ara+Gal)/Rha比较了RG-I型的侧链糖与鼠李糖的数量, 比值越大说明RG-I分支程度越大; GalA/(Fuc+Rha+Ara+Gal+Xyl)比较了果胶主要的糖GalA与涉及侧链的中性果胶糖的比例, 比值越大说明果胶的线性程度越高; Rha/GalA为鼠李糖和半乳糖醛酸的比例, 比值越大即RG结构越多^[6]。

由图3可知,三个果胶均具有较低的线性,其中CSP的线性度低但RG-I分支程度高,表明CSP的果胶聚合物具有丰富的分支域,且分支较长,说明提取的CSP果胶聚合物在RG-I侧链中相对富集。据Ngouemazong等^[31]研究表明,具有高度分支的果胶可以形成具有较高的G'(存储模量)值和更好的粘弹性特性的钙凝胶,因而CSP可能更容易形成粘弹性好的凝胶。

Rha/GalA比值越接近1, RG-I占比越高,越接近0,则HG占比越高^[32],且以RG-I结构为主的果胶多糖Rha/GalA的值一般在0.05~1之间。WSP、CSP和SSP的Rha/GalA比值在0.14~0.22之间,表明三者都是以RG-I型结构为主的果胶。与本研究结果相似, Koubala等^[30]在木瓜果皮的水溶性果胶具有较低的线性和丰富的分支域,其主要分支结构域可能是RG-I; Li等^[15]在番茄中提取CDTA可溶性果胶和碳酸钠可溶性果胶具有大量RG结构域的聚合物。半乳糖和阿拉伯糖形成了RG-I的侧链,因此Ara/Gal可以用来判断RG-I两种侧链的比例^[33]。三个果胶中, SSP的Ara/Gal值最小,表明其具有丰富的半乳糖侧链, Pan等^[21]在甜瓜中提取的碳酸钠可溶性果胶也具有丰富的半乳糖糖侧链。

表3 面包果果胶的单糖组成及侧链分析

Table 3 Monosaccharide composition and side chain analysis of breadfruit pectin

单糖组成/(mol/%)	WSP	CSP	SSP
Fuc	0.96 ± 0.03 ^a	—	0.92 ± 0.13 ^a
Rha	7.41 ± 0.08 ^a	3.25 ± 0.18 ^c	5.80 ± 0.14 ^b
Ara	15.35 ± 0.12 ^b	18.41 ± 0.25 ^a	13.40 ± 0.26 ^c
Gal	19.49 ± 0.37 ^b	23.19 ± 0.42 ^a	23.47 ± 0.09 ^a
Glc	9.43 ± 0.45 ^b	16.51 ± 0.24 ^a	5.95 ± 0.33 ^c
Xyl	11.67 ± 0.57 ^c	13.21 ± 0.35 ^b	15.59 ± 0.14 ^a
Man	2.16 ± 0.07 ^b	2.10 ± 0.12 ^b	3.70 ± 0.33 ^a
GalA	33.53 ± 1.16 ^a	23.32 ± 0.23 ^b	31.16 ± 0.44 ^a
(Ara+Gal)/Rha	4.80 ± 0.28 ^c	12.17 ± 0.76 ^a	6.33 ± 0.36 ^b
GalA/(Fuc+Rha+Ara+Gal+Xyl)	0.61 ± 0.04 ^a	0.41 ± 0.02 ^b	0.53 ± 0.02 ^a
Rha/GalA	0.22 ± 0.03 ^a	0.14 ± 0.04 ^a	0.19 ± 0.02 ^a

注:“—”表示未检测到。同一行不同字母表示存在显著性差异($P < 0.05$)。

2.6 扫描电镜

由图3可以观察到,WSP是由细丝状连接而成,连接部分构成了大面积的片状,片状表面有很多的

褶皱;CSP呈不规则的薄片状,断面不整齐,表面弯曲有褶皱,片状相互堆叠或连接,形成镂空的块状;SSP相较于WSP和CSP而言,表面更加平整、光滑,整体呈厚片状。与WSP对比,后两者的片状结构较小,很可能是螯合剂和碱溶液将紧密连接的多糖分解为了细小的片段^[15]。从扫描电镜结果可以看出,不同的溶剂提取会导致果胶的表面微观结构发生变化。Chen等^[34]使用柠檬酸提取的覆盆子果胶与WSP呈现了较为相似的细丝状缠绕连接的状态。

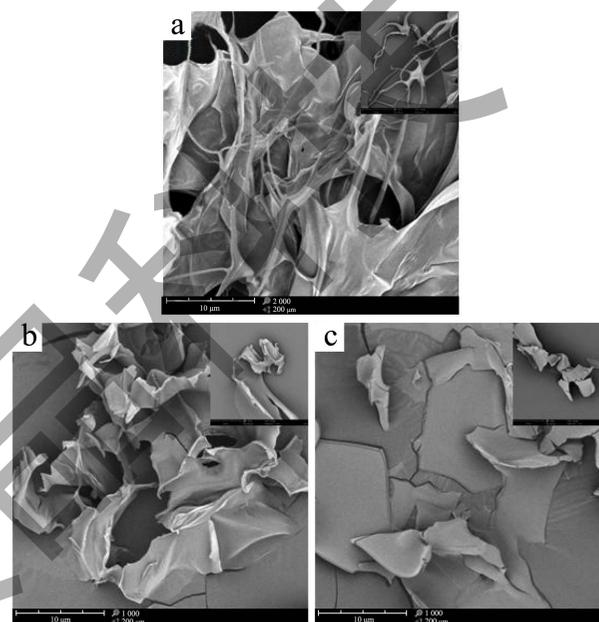


图3 面包果果胶的扫描电镜图

Fig.3 Scanning electron microscopy of breadfruit pectin

注: a、b、c 分别为水溶性果胶、螯合剂可溶性果胶、碳酸钠可溶性果胶在1000倍下的扫描电镜图。

2.7 抗氧化活性分析

不同溶解性的面包果果胶的抗氧化能力如图4所示。在0.5~10 mg/mL质量浓度范围内,三个果胶对羟基自由基的清除能力都随着质量浓度的增加而增加;在相同质量浓度下, SSP的羟基自由基清除能力要优于另外两种果胶。在图4b中, SSP组分在质量浓度为1 mg/mL的时候对ABTS⁺自由基的清除率就已经达到了100%,但WSP在质量浓度为10 mg/mL的时候,清除率仅为32%。DPPH的清除能力被广泛用于评价生物大分子清除自由基的能力^[35]。在0.5~10 mg/mL质量浓度范围内,三个果胶对DPPH自由基的清除能力都随着质量浓度的增加而增加,其中CSP的清除能力较好。EC₅₀值是半抑制浓度(半抑制率), EC₅₀值越小说明

样品的抗氧化效果越好。表 4 为降低或加大上述浓度 (0.5~10 mg/mL) 后, 根据 SPSS 计算出的 EC₅₀ 值, 结果显示, 羟基自由基和 ABTS⁺ 自由基清除能力为: Vc>SSP>CSP>WSP, DPPH 自由基的清除能力为: Vc>CSP>WSP>SSP。说明, 不同溶解性的果胶其抗氧化能力不同。马丽苹等^[14] 研究结果表明苹果果胶在 1 mg/mL 的质量浓度下对 ABTS⁺ 自由基的清除率达到 30%, 即使经过热改性和酸碱改性, 清除率也仅上升了 5% 和 10%, 而本研究在相同质量浓度下, SSP 果胶的清除率达到了 100%, CSP 果胶清除率达到了 68%。

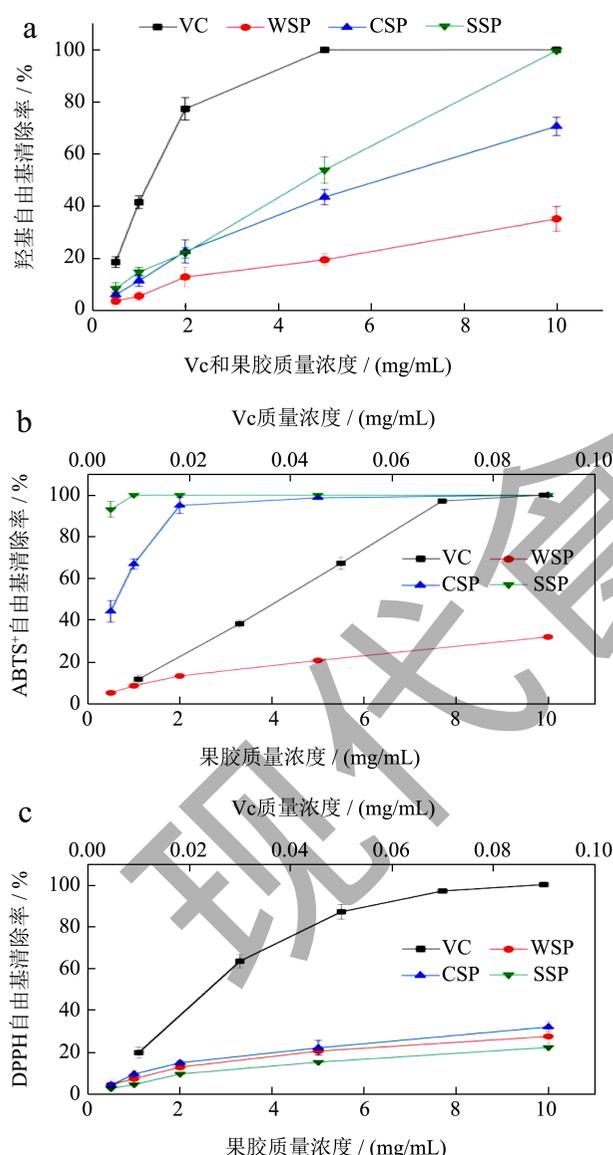


图 4 不同溶解性的果胶的体外抗氧化活性

Fig.4 *In vitro* antioxidant activity of pectin with different soluproperties

已有研究表明, 果胶组分结构中高含量的半乳糖醛酸具有较强的供氢能力, 其抗氧化活性

更好^[36, 37]; 分子量适中的多糖具有较高的抗氧化活性^[38]; 含有丰富侧链的果胶多糖有助于提高抗氧化活性^[24]; 表面结构光滑的多糖可促进抗氧化活性^[16]; 相反, 果胶分子量过高或粘度高可能不利于氢氧根和自由基之间的反应。Li 等^[15] 和 Qin 等^[39] 在番茄和温柏中提取的 CDTA 可溶性组分和碳酸钠可溶性组分同样表现出了较强的抗氧化活性, 值得注意的是番茄中的 CDTA 可溶性组分的半乳糖醛酸含量是三个组分中最低的 (31.78%), 说明它较高的抗氧化活性不仅是因为它富含半乳糖醛酸, 更多的是因为它具有较高含量的分支以及光滑圆润的表面。在本实验中, SSP 具有较高的抗氧化活性可能是因为它分子量较低, 粘度小, 且表面光滑; CSP 较高的抗氧化活性可能是因为它具有丰富的侧链和相对较低的分子量。相比之下, WSP 的抗氧化能力较低, 可能是因为它具有很高的分子量, 且粘度较大, 不利于发挥抗氧化活性^[13]。

表 4 果胶组分的体外抗氧化活性的 EC₅₀ 值

Table 4 EC₅₀ values for *in vitro* antioxidant activity of pectin components

样品	EC ₅₀ /(mg/mL)		
	羟基	ABTS	DPPH
Vc	1.232 ± 0.061 ^d	0.040 ± 0.002 ^b	0.027 ± 0.001 ^d
WSP	14.872 ± 0.896 ^a	17.065 ± 0.845 ^a	36.895 ± 2.652 ^b
CSP	6.548 ± 0.013 ^b	0.617 ± 0.052 ^b	28.078 ± 0.585 ^c
SSP	4.668 ± 0.188 ^c	0.258 ± 0.005 ^b	69.615 ± 2.012 ^a

注: EC₅₀ 为半最大效应质量浓度; 同一列不同字母表示存在显著性差异 (P<0.05)。

2.8 相关性分析

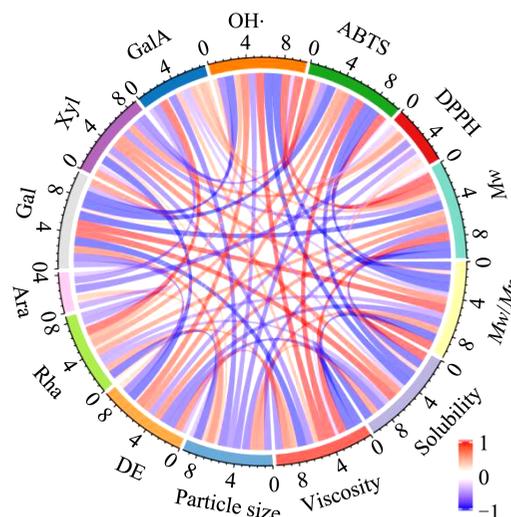


图 5 相关性分析

Fig.5 Correlation analysis

通过相关性分析,研究果胶多糖的结构与其抗氧化活性之间的关系。从图5中可以看出,果胶抗氧化活性与多个因素相关。分子量、粘度和酯化度与 $ABTS^+$ 自由基和羟基自由基的 EC_{50} 值呈正相关,说明分子量越小、粘度越低、酯化度越小的果胶可能抗氧化活性越好^[40,41]。溶解度和粒径与 $ABTS^+$ 自由基和羟基自由基的 EC_{50} 值呈负相关,且溶解度与分子量等也呈负相关,说明果胶的不同性质可能相互影响,共同作用于抗氧化活性。半乳糖和木糖与 $ABTS^+$ 自由基和羟基自由基的 EC_{50} 值呈负相关,说明半乳糖和木糖含量越多,样品的抗氧化能力越好。果胶多糖的理化性质和结构与DPPH的 EC_{50} 值没有显著的相关性。结合果胶多糖的单糖组成及体外抗氧化活性分析可知,即便是单糖组成类似,但摩尔比差异较大,也会导致体外抗氧化活性的显著差异。

3 结论

本研究采用了水、CDTA、碳酸钠依次从面包果中提取了WSP、CSP、SSP果胶。其中,WSP具有高分子量、高酯化度和高粘度的特点,CSP的分子量次之且为低甲氧基果胶,SSP分子量最小、粘度低、没有检测到酯化度。单糖组成结果显示,三个果胶都具有较为丰富的侧链和分支,且均以RG-I型结构域为主。扫描电镜发现WSP的表面粗糙有褶皱,而CSP和SSP的表面光滑平整。三种面包果果胶对羟基自由基、 $ABTS^+$ 自由基和DPPH自由基的清除率均呈质量浓度依赖效应,且这三种果胶对羟基自由基和 $ABTS^+$ 自由基表现出了较强的抗氧化活性,其中,SSP的清除能力最强。当SSP的质量浓度为10 mg/mL时,对羟基自由基的清除率为99.67%,当质量浓度为0.5 mg/mL时,对 $ABTS^+$ 自由基的清除率达到93.13%。根据实验结果和相关性分析结果表明,CSP和SSP的抗氧化活性较好,可能与较低的分子量、较低的粘度、光滑的表面及丰富的侧链有关。综上所述,采用碳酸钠提取能获得高提取率、高抗氧化活性的面包果果胶,本研究结果为面包果果胶的高效提取提供了参考,为面包果的高价值利用提供理论依据。

参考文献

- [1] 苏东林,李培骏,李高阳,等.果胶提取及其银纳米粒子制备技术概述[J].中国食品学报,2019,19(10):331-341.
- [2] 吴刚,朱科学,王颖倩,等.面包果主要营养成分研究初报[J].中国热带农业,2018,2:39-44.
- [3] LIN D, MA Y, QIN W, et al. The structure, properties and potential probiotic properties of starch-pectin blend: A review [J]. Food Hydrocolloids, 2022, 129: 107644.
- [4] MANRIQUE G D, LAJOLO F M. Cell-wall polysaccharide modifications during postharvest ripening of papaya fruit (*Carica papaya*) [J]. Postharvest Biology and Technology, 2004, 33(1): 11-26.
- [5] 李倩倩,付佳璇,赵玉梅,等.果胶降解与采后果实质地变化研究进展[J].中国食品学报,2019,19(9):298-307.
- [6] HOUBEN K, JOLIE R P, FRAEYE I, et al. Comparative study of the cell wall composition of broccoli, carrot, and tomato: Structural characterization of the extractable pectins and hemicelluloses [J]. Carbohydrate Research, 2011, 346(9): 1105-1111.
- [7] WU D, ZHENG J, MAO G, et al. Rethinking the impact of RG-I mainly from fruits and vegetables on dietary health [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2020, 60(17): 2938-2960.
- [8] MURAYAMA D, TANI M, IKEDA S, et al. Effects of calcium concentration in potato tuber cells on the formation of cross-links between pectin molecules by Ca^{2+} [J]. American Journal of Potato Research, 2017, 94(5): 524-533.
- [9] KOH J, XU Z, WICKER L. Blueberry pectin extraction methods influence physico-chemical properties [J]. Journal of Food Science, 2018, 83(12): 2954-2962.
- [10] 万力.超高压辅助酶法果胶低酯化改性及其凝胶性能研究[D].武汉:华中农业大学,2021.
- [11] 田宝明,彭林,吴金松,等.柚皮果胶理化性质的研究[J].食品工业科技,2014,35(8):313-317.
- [12] 庄远红,曾培.酸水解-乙醇沉淀法中pH调节对柚皮果胶品质的影响[J].福建农林大学学报(自然科学版),2020, 49(2):266-271.
- [13] 陶雯,张瑞,杨宁,等.碘化低分子果胶的制备与结构表征及抗氧化活性[J].食品科学,2022,43(12):66-73.
- [14] 马丽苹,焦昆鹏,罗磊,等.改性苹果果胶性质及抗氧化活性[J].食品科学,2017,38(23):121-128.
- [15] LI Q, LI J, LI H, et al. Physicochemical properties and functional bioactivities of different bonding state polysaccharides extracted from tomato fruit [J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 219: 181-190.
- [16] CHEN C, YOU L, ABBASI A M, et al. Characterization of polysaccharide fractions in mulberry fruit and assessment of their antioxidant and hypoglycemic activities *in vitro* [J]. Food & Function, 2016, 7(1): 530-539.
- [17] TANG Q, HUANG G. Preparation and antioxidant activities of cuaurbit polysaccharide [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 117: 362-365.
- [18] 刘盈.百合和玉竹果胶的结构及抗氧化活性比较分

- 析[D].长春:东北师范大学,2022.
- [19] CHEN F, HUANG G. Extraction, derivatization and antioxidant activity of bitter melon polysaccharide [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 141: 14-20.
- [20] 陈光静,郑炯,汪莉莎,等.大叶麻竹笋腌制过程中质地变软原因探究[J].食品科学,2014,35(1):56-61.
- [21] PAN X, ZHAO W, WANG Y, et al. Physicochemical and structural properties of three pectin fractions from muskmelon (*Cucumis melo*) and their correlation with juice cloud stability [J]. Food Hydrocolloids, 2022, 124: 107313.
- [22] WU D, HE Y, FU M, et al. Structural characteristics and biological activities of a pectic-polysaccharide from okra affected by ultrasound assisted metal-free Fenton reaction [J]. Food Hydrocolloids, 2022, 122: 107085.
- [23] WU Z, QIN D, LI H, et al. Physicochemical and functional properties of *Lycium ruthenicum* pectin by different extraction methods [J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 946606.
- [24] WANG W, MA X, JIANG P, et al. Characterization of pectin from grapefruit peel: A comparison of ultrasound-assisted and conventional heating extractions [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 61: 730-739.
- [25] CHYLINSKA M, SZYMANSKA-CHARGOT M, ZDUNEK A. FT-IR and FT-Raman characterization of non-cellulosic polysaccharides fractions isolated from plant cell wall [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 154: 48-54.
- [26] YU C, AHMADI S, SHEN S, et al. Structure and fermentation characteristics of five polysaccharides sequentially extracted from sugar beet pulp by different methods [J]. Food Hydrocolloids, 2022, 126: 107462.
- [27] POSE S, KIRBY A R, MERCADO J A, et al. Structural characterization of cell wall pectin fractions in ripe strawberry fruits using AFM [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 88(3): 882-890.
- [28] NIU Y G, LI N, XIA Q, et al. Comparisons of three modifications on structural, rheological and functional properties of soluble dietary fibers from tomato peels [J]. LWT-Food Science and Technology, 2018, 88: 56-63.
- [29] MARIC M, GRASSINO A N, ZHU Z, et al. An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction [J]. Trends in Food Science & Technology, 2018, 76: 28-37.
- [30] KOUBALA B B, CHRISTIAENS S, KANSCI G, et al. Isolation and structural characterisation of papaya peel pectin [J]. Food Research International, 2014, 55: 215-221.
- [31] NGOUEMAZONG D E, KABUYE G, FRAEYE I, et al. Effect of debranching on the rheological properties of Ca²⁺-pectin gels [J]. Food Hydrocolloids, 2012, 26(1): 44-53.
- [32] ZHANG H, CHEN J, LI J, et al. Extraction and characterization of RG-I enriched pectic polysaccharides from mandarin citrus peel [J]. Food Hydrocolloids, 2018, 79: 579-586.
- [33] YANG J, MU T, MA M. Extraction, structure, and emulsifying properties of pectin from potato pulp [J]. Food Chemistry, 2018, 244: 197-205.
- [34] CHEN Y, WANG Y, XU L, et al. Ultrasound-assisted modified pectin from unripe fruit pomace of raspberry (*Rubus chingii* Hu): Structural characterization and antioxidant activities [J]. LWT-Food Science and Technology, 2020, 134: 110007.
- [35] LI C, HUANG Q, FU X, et al. Characterization, antioxidant and immunomodulatory activities of polysaccharides from *Prunella vulgaris* Linn [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2015, 75: 298-305.
- [36] EZZATI S, AYASEH A, GHANBARZADEH B, et al. Pectin from sunflower by-product: Optimization of ultrasound-assisted extraction, characterization, and functional analysis [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 165: 776-786.
- [37] HUANG Y, XIE W, TANG T, et al. Structural characteristics, antioxidant and hypoglycemic activities of polysaccharides from *Mori Fructus* based on different extraction methods [J]. Frontiers in Nutrition, 2023, 10: 1125831.
- [38] YOU R, WANG K, LIU J, et al. A comparison study between different molecular weight polysaccharides derived from *Lentinus edodes* and their antioxidant activities *in vivo* [J]. Pharmaceutical Biology, 2011, 49(12): 1298-1305.
- [39] QIN Z, LIU H, LV T, et al. Structure, rheological, thermal and antioxidant properties of cell wall polysaccharides from Chinese quince fruits [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 147: 1146-1155.
- [40] LIU N, YANG W, LI X, et al. Comparison of characterization and antioxidant activity of different citrus peel pectins [J]. Food Chemistry, 2022, 386: 132683.
- [41] JIANG C, XIONG Q, GAN D, et al. Antioxidant activity and potential hepatoprotective effect of polysaccharides from *Cyclina sinensis* [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 91(1): 262-268.