

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250303006

引用格式: 周宏炫, 谭书明, 张容榕, 等. 八月瓜果果皮果胶提取工艺优化、结构表征及抗氧化活性研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(15): 222–231.

ZHOU HX, TAN SM, ZHANG RR, et al. Optimization of extraction process, structural characterization and antioxidation activity of pectin from *Akebia trifoliata* peel [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(15): 222–231. (in Chinese with English abstract).

八月瓜果果皮果胶提取工艺优化、结构表征及 抗氧化活性研究

周宏炫^{1,2}, 谭书明^{3,4}, 张容榕¹, 王 娅², 李正香¹, 熊文松¹, 陈隽杰¹,
佟沫儒¹, 孙宜春¹, 漆正方^{1,2*}

[1. 国药集团同济堂(贵州)制药有限公司, 贵阳 550025; 2. 国药集团贵州大健康产业发展有限公司, 贵阳 550025; 3. 贵州大学酿酒与食品工程学院, 贵阳 550025; 4. 贵州省刺梨研究院, 贵阳 550025]

摘要: **目的** 优化八月瓜果果皮果胶的混合酸提取工艺, 并评价果胶的结构特征和抗氧化活性。**方法** 以八月瓜果皮为原料, 采用混合酸提取八月瓜果果皮果胶, 研究无机酸种类、混合酸比例、固液比、pH、提取时间和温度对果胶提取率的影响, 在单因素试验的基础上采用 Box-Behnken 响应面法优化提取工艺参数, 采用紫外-可见分子吸收光谱法 (ultraviolet-visible spectroscopy, UV-Vis)、傅里叶变换红外光谱 (Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR) 对最优提取条件得到的八月瓜果果皮果胶进行结构表征, 并考察其抗氧化活性。**结果** 最佳提取条件为: 混合酸体积比 [V(柠檬酸):V(硫酸)] 2:1、固液比 1:30 (g:mL)、提取液 pH 1.0、提取时间 2.0 h、提取温度 94 °C, 在此条件下八月瓜果果皮果胶提取率最高, 可达到 14.22%, 比硫酸、柠檬酸单一提取分别增加 1.24%、4.17%。FT-IR 显示混合酸提取的果胶 (citric acid and sulfuric acid extraction of pectin, CSEP), 较硫酸提取果胶 (sulfuric acid extraction of pectin, SEP) 和柠檬酸提取果胶 (citric acid extraction of pectin, CEP) 吸收峰在 1754 cm⁻¹ 和 1624 cm⁻¹ 处更符合其结构特征, 具有较高的半乳糖醛酸含量 (81.94%) 和酯化度 (82.41%), CSEP 比商业果胶 (commercial pectin, CP) 的羟基自由基半数抑制浓度 (half maximal inhibitory concentration, IC₅₀) 更低, 分别为 2.248 mg/mL、4.114 mg/mL。**结论** 采用混合酸提取的八月瓜果果皮果胶提取率、半乳糖醛酸含量和体外抗氧化性都得到改善。**关键词:** 八月瓜果果皮果胶; 混合酸; 工艺优化; 结构表征; 抗氧化活性

Optimization of extraction process, structural characterization and antioxidation activity of pectin from *Akebia trifoliata* peel

ZHOU Hong-Xuan^{1,2}, TAN Shu-Ming^{3,4}, ZHANG Rong-Rong¹, WANG Ya², LI Zheng-Xiang¹,
XIONG Wen-Song¹, CHEN Jun-Jie¹, TONG Mo-Ru¹, SUN Yi-Chun¹, QI Zheng-Fang^{1,2*}

收稿日期: 2025-03-03

基金项目: 药食同源健康产品贵州省院士创新团队工作站项目 (黔科合平台 KX[2024]010)

第一作者: 周宏炫 (1996—), 女, 硕士, 助理工程师, 主要研究方向为天然产物开发及利用研究。E-mail: 3068389846@qq.com

*通信作者: 漆正方 (1981—), 男, 高级工程师, 主要研究方向为天然产物开发及利用研究。E-mail: 149935674@qq.com

[1. Sinopharm Group Tongjitang (Guizhou) Pharmaceutical Co., Ltd., Guiyang 550025, China; 2. Sinopharm Guizhou Healthcare Industry Development Co., Ltd., Guiyang 550025, China; 3. College of Brewery and Food Engineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 4. Guizhou Rosa Roxburghii Research Institute, Guiyang 550025, China]

ABSTRACT: Objective To optimize the mixed acid extraction process of pectin from *Akebia trifoliata* peel and evaluate the structure, and antioxidant properties of pectin. **Methods** Using *Akebia trifoliata* peel as raw material, which was extracted by the mixed acids hydrolysis. The effects of the types of inorganic acids, the volume ratio of the mixed acid, solid-to-liquid ratio, pH, extraction time and temperature were studied, and Box-Behnken response surface method was used to optimize the extraction process parameters on the basis of single factor experiment. The structure of the peel pectin of *Akebia trifoliata* obtained under the optimal extraction conditions was characterized by ultraviolet-visible spectroscopy (UV-Vis) and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), and its antioxidant activity was investigated. **Results** The optimal extraction conditions were: The volume ratio of the mixed acid [V(citric acid):V(sulfuric acid)] 2:1, solid-to-liquid ratio 1:30 (g:mL), pH value 1.0, extraction time 2.0 h and temperature 94 °C, and the extraction rate reached 14.22%, which were about 1.24% and 4.17% increase compared with single sulfuric acid and citric acid, respectively. FT-IR showed that the absorption peaks of sulfuric acid and citric acid extraction of pectin (CSEP) were more consistent with its structural characteristics than sulfuric acid extraction of pectin (SEP) and citric acid extraction of pectin (CEP) at 1754 cm^{-1} and 1624 cm^{-1} , and its content of galacturonic acid (81.94%) and degree of esterification (82.41%) more higher. CSEP own superior antioxidant biological activity, and the half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) for hydroxyl radical of CSEP was lower than that of commercial pectin (CP), which were 2.248 mg/mL and 4.114 mg/mL, respectively. **Conclusion** Using the mixed acid to extract pectin from *Akebia trifoliata* peel has good improved on extraction rate, content of galacturonic acid and antioxidant activity.

KEY WORDS: pectin from *Akebia trifoliata* peel; mixed acid; process optimization; structural characterization; antioxidant activity

0 引 言

果胶是一种主要存在于高等植物细胞壁和细胞间层的酸性多糖,由半乳糖醛酸聚糖(homogalacturonan, HG)、鼠李糖半乳糖醛酸聚糖 I 型(rhamnogalacturonan type I, RG-I)和第 II 型(rhamnogalacturonan type II, RG-II)结构域组成^[1],HG 是果胶的主要结构,约占果胶的 65%,由 α -1,4-糖苷键连接的半乳糖醛酸组成^[2]。果胶具有多种生物活性,如抗肿瘤、抗氧化、促进伤口愈合、促进胃肠蠕动、降低胆固醇、抗炎症等^[3-4]。果胶通常用作果酱、果冻、水果制剂、果汁、甜点和发酵乳制品中的凝胶和稳定剂,也可作为可食用和可生物降解的薄膜、生物医学植入材料和药物输送材料^[5]。目前,商业果胶(commercial pectin, CP)通常来源于柑橘皮、苹果渣、葵花籽和甜菜根^[6]。

八月瓜,又称三叶木通 [*Akebia trifoliata*(Thunb.) Koidz.],为木通科木通属落叶木质藤本植物,以药用名预知子收录于现行《中国药典》中^[7],所含化学成分包括三萜类、氨基酸类、黄酮类、苷类、迷迭类、有机酸类等^[5],具有消炎、消肿、抗氧化、抗癌等药用功效^[8]。因其形似香蕉,果皮成熟时期由绿色转变为紫色^[9],果实呈乳白色,口感甘甜味糯,故民间又称“野香蕉”。但八月瓜的可食率

较低,其鲜果皮占果实总重量的 60%~70%,且通常在食用后被丢弃而造成资源浪费和环境污染。张孟琴等^[10]发现,八月瓜果皮中营养成分较高,其中蛋白质为 8.16%、还原糖为 19.31%、总糖为 32.61%,而果皮中果胶含量可达到 20.08%左右,是提取果胶的优质原料。

果胶提取方法包括酸提醇沉法、酶解法、超声或微波辅助提取法等^[11-14],其中酸提醇沉法因其成本低、易于产业化而被广泛应用,其提取剂主要为硫酸、盐酸、柠檬酸等,单一酸提取不易溶出果胶,果胶得率欠佳。李雪峰等^[15]采用稀盐酸提取八月瓜果胶,提取率为 7.11%。石兵艳等^[16]以盐酸作提取剂加超声辅助提取八月瓜果胶,提取率提升至 8.924%。李加兴等^[17]采用硫酸提取八月瓜果胶,获得较高提取率 12.15%。无机酸具有极强的酸性和腐蚀性,可破坏果皮组织,对所得果胶结构有破坏,采用螯合性良好的柠檬酸可弥补这一不足。KERMANIZ 等^[18]分别以盐酸和柠檬酸作为提取剂提取八月瓜果胶,发现柠檬酸比盐酸更具有增溶效果,所得果胶酯化度(76.64%)比盐酸所得果胶酯化度(59.46%)高出 17.18%,是由于柠檬酸对果胶的去酯化作用较小所致。无机酸提取果胶可得到较高的得率,也会促使果胶链解聚而破坏分离出来的果胶的理化性质^[18];与强无机酸相比,柠檬酸的水解能力较低,能减少果胶链

的解聚,将无机酸与柠檬酸混合使用,其提取率和酯化度可能得到改善。因此,本研究筛选无机酸与有机柠檬酸混合提取八月瓜果皮果胶,经单因素实验、响应面法优化提取工艺后,以果胶提取率为指标,与单一硫酸、柠檬酸提取剂进行对比,对所得果胶进行紫外-可见分子吸收光谱法(ultraviolet-visible spectroscopy, UV-Vis)和傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FT-IR)表征,评价其半乳糖醛酸含量、酯化度和抗氧化能力,为八月瓜产业的综合开发和利用提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

干燥八月瓜果皮:原料由贵州柯康俐生物科技股份 有限公司提供。

果胶(半乳糖醛酸干基计 $\geq 74\%$)、2,2'-联氨-双-(3-乙 基-苯并噻唑啉-6-磺酸)二氨盐(2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid, ABTS)(纯度 $\geq 98\%$)、 咪唑(分析纯)[阿拉丁试剂(上海)有限公司];半乳糖醛酸 (纯度 $\geq 98\%$,上海源叶生物科技有限公司);柠檬酸、硫酸、 盐酸、磷酸、硝酸、无水乙醇[分析纯,重庆川东化工 (集团)有限公司];酚酞指示剂、氢氧化钠、水杨酸、双氧 水、硫酸镁(分析纯,天津市科密欧化学试剂有限公司)。

1.2 仪器与设备

Agilent Cary 630 傅里叶变换红外光谱仪(美国安捷伦 科技有限公司);UV2450 紫外可见分光光度计(日本岛津仪 器有限公司);SpectraMax M4 多功能酶标仪[美谷分子仪器 (上海)有限公司];FD-1A-50 冷冻干燥机(上海豫明仪器有 限公司);YR-500A 多功能粉碎机(永康市五瑞工贸有限公司); HH-600 数显恒温水浴箱(金坛区西城新瑞仪器厂); WT-C2002 电子天平(精密度 0.01 g,杭州万特衡器有限公 司);WP-RO-40B 超纯水机(四川沃特尔特水处理设备有限公 司)。

1.3 实验方法

1.3.1 八月瓜果皮粉制备

称取干净八月瓜果皮 50 g 在 800 W 微波中灭菌 1 min, 烘干粉碎至 40 目放于 1000 mL 烧杯中,加 20 倍超纯水,在 20 °C 下,浸泡 60 min,重复洗涤 5 次,直至滤液无色并在 Molish 反应中显示无糖为止,60 °C 下烘干,粉碎过 40 目筛 网,收集八月瓜果皮粉末备用。

1.3.2 无机酸筛选

分别称取处理好的果皮粉 10.0 g,分别加入 pH 为 1.5 的 盐酸、硫酸、硝酸、磷酸溶液中,以固液比 1:30 (g:mL) 加至 500 mL 烧杯中,搅拌至无团状,在 90 °C 水浴中搅拌 提取 2 h,趁热过滤,待滤液冷却至室温,每 100 mL 提取 液加入 0.8 g 活性炭,在 65 °C 下水浴中脱色 25 min,用

0.1 mol/L NaOH 溶液调节 pH 至 3.5,按体积比 1:1 加入 95%乙醇,静置醇沉 2 h,120 目筛网过滤,无水乙醇洗涤 3 次,冷冻干燥 12 h,分别得到盐酸、硫酸、硝酸、磷酸 提取样品盐酸提取果胶(hydrochloric acid extraction of pectin, HEP)、硫酸提取果胶(sulfuric acid extraction of pectin, SEP)、硝酸提取果胶(nitric acid extraction of pectin, NEP)、 磷酸提取(phosphoric acid extraction of pectin, PEP),其果 胶提取率计算公式见式(1):

$$w/\% = \frac{m}{M} \times 100\% \quad (1)$$

式中: w 为果胶提取率; m 为提取得到的果胶重量, g; M 为 待提取果皮粉重量, g。

1.3.3 单因素试验

根据无机酸种类筛选结果,确定混合酸为硫酸+柠檬 酸,按上述方法提取混合酸提取果胶(citric acid and sulfuric acid extraction of pectin, CSEP),固定固液比为 1:30 (g:mL)、pH 1.5、提取时间 2 h、提取温度 90 °C,考 察混合酸比例[V(柠檬酸):V(硫酸)]分别为 0:1、1:1、2:1、 3:1、4:1 (mL:mL)时对果胶提取率的影响;固定混合酸比例 [V(柠檬酸):V(硫酸)]为 2:1、pH 1.5、提取时间 2h、提取温 度 90 °C,考察固液比为 1:10、1:20、1:30、1:40、1:50 (g:mL) 时对果胶提取率的影响;固定混合酸比例[V(柠檬酸):V(硫酸)] 为 2:1、固液比为 1:30 (g:mL)、提取时间 2 h、提取温 度 90 °C,考察提取液 pH 为 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 时对 果胶提取率的影响;固定混合酸比例[V(柠檬酸):V(硫酸)] 为 2:1、固液比为 1:30 (g:mL)、pH 1.0、提取温度 90 °C,考 察提取时间为 1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 h 时对果胶提取率 的影响;固定混合酸比例[V(柠檬酸):V(硫酸)]为 2:1、固液 比为 1:30 (g:mL)、pH 1.0、提取时间为 2 h,考察提取温度 为(80、85、90、95、97 °C,地区大气压导致水温 97 °C 达 到沸腾)对果胶提取率的影响。实验重复 3 次,取平均值。

1.3.4 响应面试验设计

基于单因素试验结果,采用 3 因素 3 水平的试验设计, 以对八月瓜果皮果胶提取率影响较高的 3 个因素:混合酸 比例(A)、时间(B)、温度(C)为主要考察对象,以果胶提取 率为主要指标。试验因素与水平见表 1。

表 1 响应面试验因素水平
Table 1 Factor level of response surface test

水平	A: 混合酸比例 (mL:mL)	B: 时间/h	C: 温度/°C
-1	1:1	1.5	90
0	2:1	2.0	95
1	3:1	2.5	97

1.3.5 八月瓜果皮果胶结构表征

按照 1.3.2 方法提取柠檬酸提取果胶(citric acid extraction of pectin, CEP)后,各称取 1 mg CEP、SEP、CSEP

粉末溶于 25 mL 超纯水, 以超纯水为参比, 在 200~800 nm 处进行 UV-Vis 扫描。采用溴化钾压片对 CEP、SEP、CSEP 干燥粉末进行 FT-IR 表征, 波数范围为 4000~400 cm^{-1} 。

1.3.6 八月瓜果皮果胶理化指标测定

(1) 半乳糖醛酸含量测定

以咔唑硫酸法测定半乳糖醛酸。配制质量浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 半乳糖醛酸标准溶液, 分别吸取 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 于 25 mL 具塞管中, 超纯水定容 1.0 mL, 然后沿壁缓慢加入 6 mL 浓硫酸溶液, 充分摇匀, 沸水加热 20 min, 取出冷却至室温, 各加 0.2 mL 1.5 g/L 咔唑-乙醇溶液混合均匀, 在暗处放置 30 min, 在 530 nm 处测定吸光度值, 以半乳糖醛酸质量浓度为横坐标(c , $\mu\text{g}/\text{mL}$), 吸光度值为纵坐标(A)绘制标准曲线, 得标准曲线方程 $A=1.6111c+0.0198$ ($r^2=0.9994$)。称取 CEP、SEP、CSEP 果胶样品各 0.05 g 配制成 0.10 g/L 果胶溶液, 取 1 mL 果胶溶液, 按上述步骤测定吸光值; 每个样品作 3 组平行, 半乳糖醛酸含量计算公式见式(2):

$$W/\% = \frac{cV}{M} \times 100\% \quad (2)$$

式中: W 为半乳糖醛酸含量; c 为待测液半乳糖醛酸质量浓度, $\mu\text{g}/\text{mL}$; V 为待测液体积, mL; M 为待测果胶质量, g。

(2) 酯化度测定

参考李加兴等^[17]方法, 分别称取 CEP、SEP、CSEP 0.05 g 于 500 mL 锥形瓶中, 加入 100 mL 水, 滴加酚酞指示剂, 用 0.1 mol/L NaOH 溶液滴定至溶液呈浅粉色为滴定终点, 记录消耗的 NaOH 溶液体积为 V_1 。再加入 0.5 mol/L NaOH 溶液 70 mL, 搅拌 15 min 后, 加入 0.5 mol/L 盐酸 20 mL, 搅拌至粉红色消失。再次滴加酚酞指示剂, 用 0.1 mol/L NaOH 溶液滴定至出现粉红色为终点。记录消耗的 NaOH 溶液体积为 V_2 (皂化滴定值)。平行 3 次, 酯化度计算公式见式(3):

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

式中: DE 为酯化度; V_1 为样品的初始滴定体积, mL; V_2 为样品溶液的皂化滴定体积, mL。

1.3.7 八月瓜果皮果胶抗氧化活性研究

(1) ABTS 自由基清除率测定

参考 SARIKURKCU 等^[19]的方法略作修改。配制 7.4 mmol/L ABTS 储备液、2.6 mmol/L 过硫酸钾储备液各 50 mL, 分别量取 25 mL 定容至 50 mL, 调整避光反应时间为 12 h 得到 ABTS 工作母液, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。取 10 mL ABTS 工作母液超纯水稀释 50 倍, 避光反应 30 min 后得 ABTS 工作液, 在 734 nm 波长处的吸光度为(0.70 \pm 0.02)备用, 样品溶剂作空白。吸取 2 mL ABTS 工作液、1 mL 样品溶剂作对照组 A_0 , 2 mL ABTS 工作液、1 mL 不同浓度样品溶液作实验组 A , 平行实验 3 组, 室温静置 6 min 后, 在 734 nm 波长处测定吸光度, 计算公式见式(4):

$$\text{ABTS 阳离子自由基清除率}/\% = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100\% \quad (4)$$

式中: A_0 为样品溶剂在 734 nm 波长处的吸光度; A 为样品溶液在 734 nm 波长处的吸光度。

(2) 羟基自由基测定

水杨酸-比色法测定羟基自由基清除率, 参照王雅楠等^[20]的方法。依次吸取 1 mL 9 mmol/L 硫酸铁溶液、1 mL 9 mmol/L 水杨酸-乙醇溶液、1 mL 不同浓度样品溶液, 充分摇匀, 加入 1 mL 8.8 mmol/L H_2O_2 溶液, 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 15 min, 于 510 nm 处测定吸光度 A , 平行 3 次。超纯水代替 H_2O_2 溶液作空白组 A_0 , 超纯水代替样品溶液作对照组 A_1 。计算公式见式(5):

$$\text{羟基自由基清除率}/\% = \frac{A_0 + A_1 - A}{A_1} \times 100\% \quad (5)$$

式中: A_0 为不加显色剂的吸光值; A 为加样品的吸光值; A_1 为空白对照的吸光值。

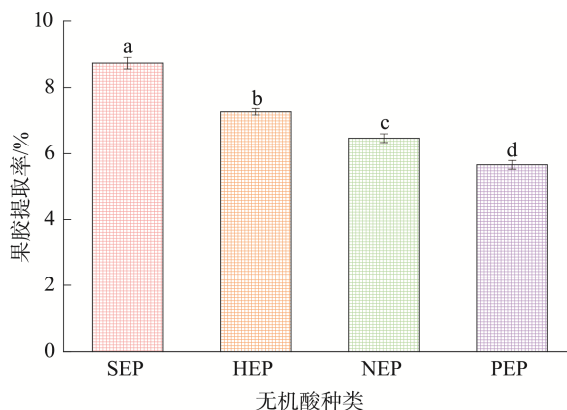
1.4 数据处理

采用 Box-Behnken 响应曲面法进行实验设计, 并进行数据分析。实验数据运用方差分析进行显著性分析, 置信区间为 95%。选用 Descriptive Statistics 功能计算数据的统计量, 并绘制相应的图表。本研究中实验结果以平均值 \pm 标准偏差表示, 实验重复 3 次, 取平均值。

2 结果与分析

2.1 无机酸种类确定

不同类型的酸化剂对于八月瓜果皮果胶提取率的影响如图 1 所示。果胶提取率从高到低依次为 SEP (8.74%)>HEP (7.28%)>NEP (6.48%)>PEP (5.66%), 可见果胶提取过程中, 不同酸的破坏强度存在差异, 相较盐酸、硝酸和磷酸, 硫酸的酸性更强, 提取的果胶得率也更高。与文献[21]对比硫酸、盐酸和硝酸提取芹菜茎中果胶所得结果一致。故选取硫酸与柠檬酸混合提取八月瓜果皮果胶。



注: 不同小写字母表示组间具有显著性差异, $P < 0.05$ 。图 2、4 同。

图 1 不同无机酸对果胶提取率的影响

Fig.1 Effects of different inorganic acids on the extraction ratio of pectin

2.2 单因素试验结果

从图 2A 可知,当只有硫酸溶液时,八月瓜果皮果胶提取率为 8.61%;添加柠檬酸后提取率呈现上升趋势,柠檬酸含量增加为硫酸的 1 至 2 倍时,果胶提取率逐渐增大,2 倍时,峰值达到 10.56%;柠檬酸含量再增加,果胶提取率出现下降。这可能是柠檬酸与果胶有结合作用,使果胶更容易从果皮中溶出^[18],柠檬酸过多使硫酸的酸解作用减弱,果皮受到保护,从而抑制果胶的溶出。

从图 2B 可知,八月瓜果皮果胶提取率在固液比 1:10~1:30 (g:mL)时呈增大趋势,最高值达到 10.51%。在固液比 1:30 (g:mL)之后,八月瓜果皮果胶提取率出现下降趋势。原因可能是溶剂增加到 1:30 (g:mL)时,促进水溶性果胶的溶出;而溶剂量过高时,溶液中的果胶被稀释,导致醇沉不完全,使得果胶提取率下降。

从图 2C 可知,随着 pH 的增加,八月瓜果皮果胶提取率先上升后下降,pH 为 0.5 时,果胶被部分降解,pH 为 1.0

时,八月瓜果皮果胶提取率达到峰值,为 11.76%。说明合适的 H^+ 可以促进原果胶转化为水溶性果胶;后随着提取液 pH 进一步增大,酸性减弱,果胶的溶出度随之降低。

从图 2D 可知,八月瓜果皮果胶提取率在提取时间 1.0~2.0 h 时呈增大趋势,提取时间为 2.0 h 时,果胶提取率达到最高,为 12.25%。在 2.0 h 之后,果皮中的色素等其他物质也可能逐渐溶出,且果胶溶解时间过长,导致部分降解。

从图 2E 可知,随着提取温度在 80~97 °C 范围内的升高,八月瓜果皮果胶提取率呈明显上升趋势,说明温度对果胶的提取影响较大。在 95 °C 时的果胶提取率为 14.14%,95 °C 之后,果胶提取率增加趋缓,为节省能源,故采用 95 °C 作为提取温度。温度对八月瓜果皮果胶提取率影响也较大。

综上所述,通过上述 5 种单因素考察显示混合酸比例、提取时间和温度影响较大。因此设 A:混合酸比例(1:1, 2:1, 3:1, mL:mL)、B:时间(1.5、2.0、2.5 h)、C:温度(90.0、93.5、97.0 °C)为主要考察对象,进行响应面正交试验设计。

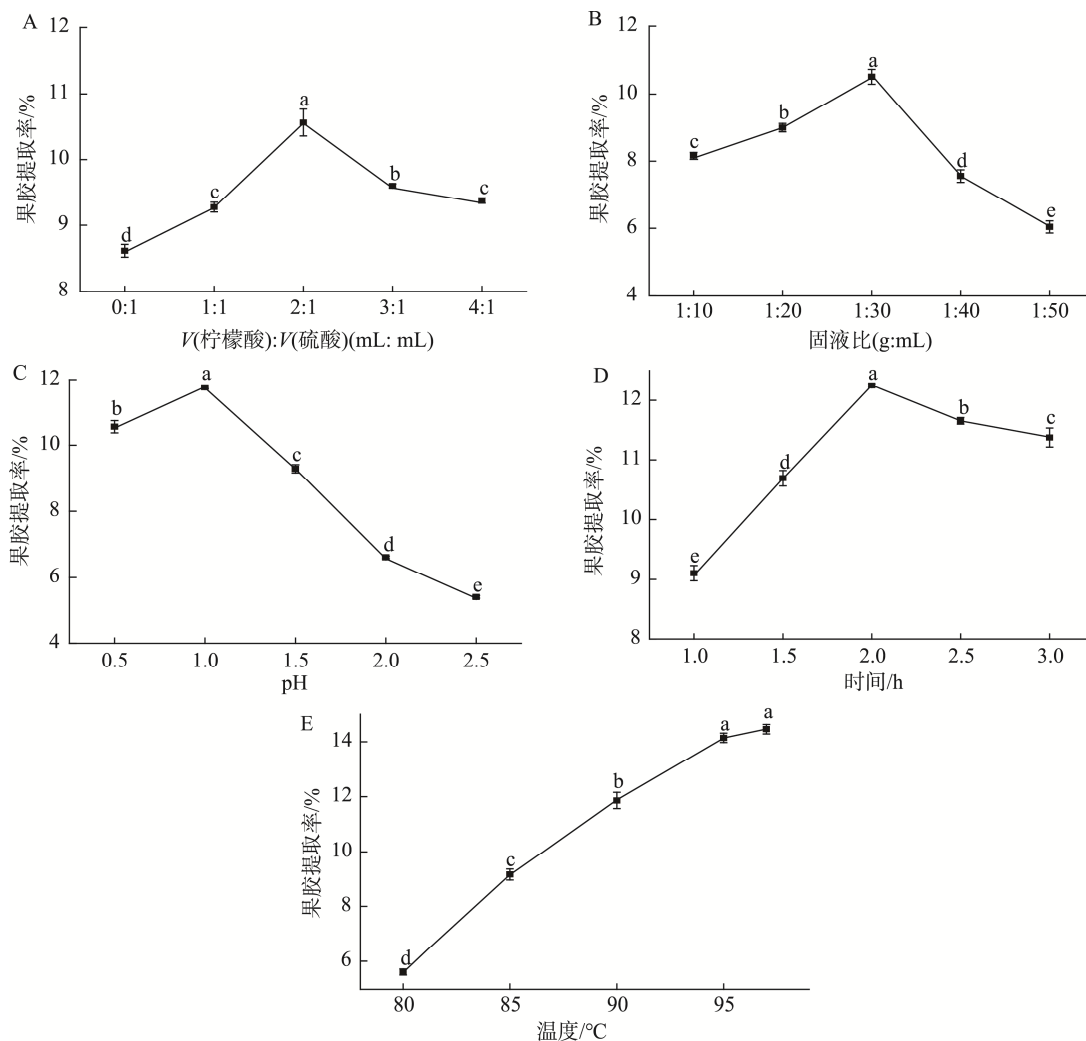


图 2 不同因素对果胶提取率的影响

Fig.2 Effects of different factors on the extraction ratio of pectin

2.3 响应面试验设计

2.3.1 响应面试验结果

响应面试验设计及结果见表 2, Design-Expert 8.0.6 软件对各组处理得到的果胶提取率进行二次回归分析, 建立多元二次响应面回归模型: $Y=14.05+0.43A+0.5625B+1.86C+0.07AB-0.22AC-0.16BC-2.34A^2-1.65B^2-0.0315C^2$, 由回归方程的一次项变量系数可知, 各因素主效应关系为 $A>B>C$, 即混合酸比例>提取时间>提取温度。

表 2 响应面试验设计及结果
Table 2 Design and results of response surface test

试验号	因素			果胶提取率/%	
	A: 混合酸比 (mL:mL)	B: 提取 时间/h	C: 提取温度 /°C	试验值	预测值
1	2	2.0	93.5	13.81	14.05
2	3	1.5	93.5	9.89	9.86
3	1	1.5	93.5	9.13	9.14
4	2	2.0	93.5	14.13	14.05
5	3	2.0	90.0	10.33	10.48
6	2	2.0	93.5	14.12	14.05
7	2	2.0	93.5	14.21	14.05
8	1	2.0	97.0	13.47	13.33
9	2	2.0	93.5	13.97	14.05
10	1	2.0	90.0	9.07	9.18
11	2	2.5	97.0	14.51	14.63
12	3	2.0	97.0	13.85	13.75
13	2	1.5	97.0	13.69	13.82
14	2	1.5	90.0	9.91	9.79
15	3	2.5	93.5	11.14	11.13
16	1	2.5	93.5	10.10	10.13
17	2	2.5	90.0	11.37	11.24

方差分析见表 3。由表 3 可知, 该模型 $F=231.54$, $P=0.0001$ (<0.05), 说明模型极显著。相关系数 $R^2=0.9967$, 与校正 R^2 值接近, 表明 99.67% 的响应面变化可以通过拟合模型来解释, 预测值与实际值存在较高相关性。回归方程的系数检验表明, A 、 B 、 C 、 A^2 、 B^2 对果胶提取率的影响极显著, AC 对果胶提取率的影响显著, 而 AB 、 BC 、 C^2 果胶提取率的影响不显著。

从图 3 可看出, 果胶提取率的最大值在中间点处出现, 该模型的最大值存在稳定点。通过模型优化后, 八月瓜果皮果胶的最佳提取条件为: 混合酸比例[V(柠檬酸):V(硫酸)] 2:1 (mL:mL)、提取时间 2.0 h、温度 93.5 °C、固液比 1:30 (g:mL)、pH 1.0, 该预测果胶提取率为 14.018%。考虑到实际情况, 将最佳提取条件调整为混合酸比例 2:1 (mL:mL)、提取时间 2.0 h、温度 94 °C、固液比 1:30 (g:mL)、pH 1.0。该条件下以柠檬酸、硫酸以及混合酸作为提取剂, 重复 3 次试验。

表 3 果胶提取率响应值二次模型的方差分析
Table 3 Analysis of variance for response surface quadratic model for the extraction rate of pectin

来源	平方和	自由度	均方	F	P
模型	68.33	9	7.59	231.8	<0.0001**
A	1.48	1	40.410	45.11	0.0003**
B	2.53	1	4.200	77.20	<0.0001**
C	27.53	1	14.690	839.53	<0.0001**
AB	0.0196	1	0.100	0.5977	0.4647
AC	0.1936	1	1.040	5.90	0.0454*
BC	0.1024	1	0.480	3.12	0.1205
A ²	22.99	1	40.230	701.01	<0.0001**
B ²	11.41	1	2.010	348.11	<0.0001**
C ²	0.0042	1	0.180	0.1274	0.7316
残差	0.2295	7	0.120		
失拟项	0.1286	3	0.220	1.70	0.3037
纯误差	0.1009	4	0.043		
总变异	68.56	16			
标准差	0.1811		R ²	0.9967	
均值	12.16		校正 R ²	0.9923	
变异系数 /%	1.49		预测 R ²	0.9677	

注: *差异显著, $P<0.05$; **差异极显著, $P<0.001$ 。

2.3.2 响应面分析及优化

从图 4 中可以看出, 响应面优化条件下得到 CSEP 提取率平均值为 14.22%, 与模型预测提取率(14.05%)基本相符, 其中相比 SEP (12.98%)、CEP (10.05%), 分别增加 1.24%、4.17%。由此, 提取率从高到低为 CSEP>SEP>CEP, 说明该模型对于八月瓜果皮果胶提取工艺具有可行性。

2.4 结构表征

图 5 是 CSEP、SEP、CEP 的紫外光谱图, 图 6 是 CSEP、SEP、CEP 红外光谱图。从图 5 可知, CEP、SEP、CSEP 的紫外图谱趋势基本一致, 于 202 nm 波长处存在最大吸收峰, 符合果胶的特征吸收峰, 且在 210~220、260、280 nm 处未见有多肽、核酸和蛋白质的吸收峰, 说明 3 种果胶中杂质少^[22]。从图 6 可知, CEP、SEP、CSEP 在 3300~3500 cm^{-1} 处未出现双峰说明果胶中无蛋白, 与紫外光谱结果一致, CSEP 在 3358 cm^{-1} 处较宽、较强的吸收峰是其结构中少量 O-H 键的伸缩振动, 在 2925 cm^{-1} 处的吸收峰是 C-H 键的伸缩振动, CSEP 在 1754、1624、1412 cm^{-1} 处的吸收峰更强, 为—COO—键的对称伸缩振动, 分别表示该果胶中被酯化和游离的羧基更多, 在 1300~800 cm^{-1} 处的吸收峰为果胶分子的指纹区, 1069 cm^{-1} 处强的吸收峰为糖苷键 C-O-C 键的弯曲振动峰, CSEP 果胶样品与文献[23]果胶图谱基本吻合。

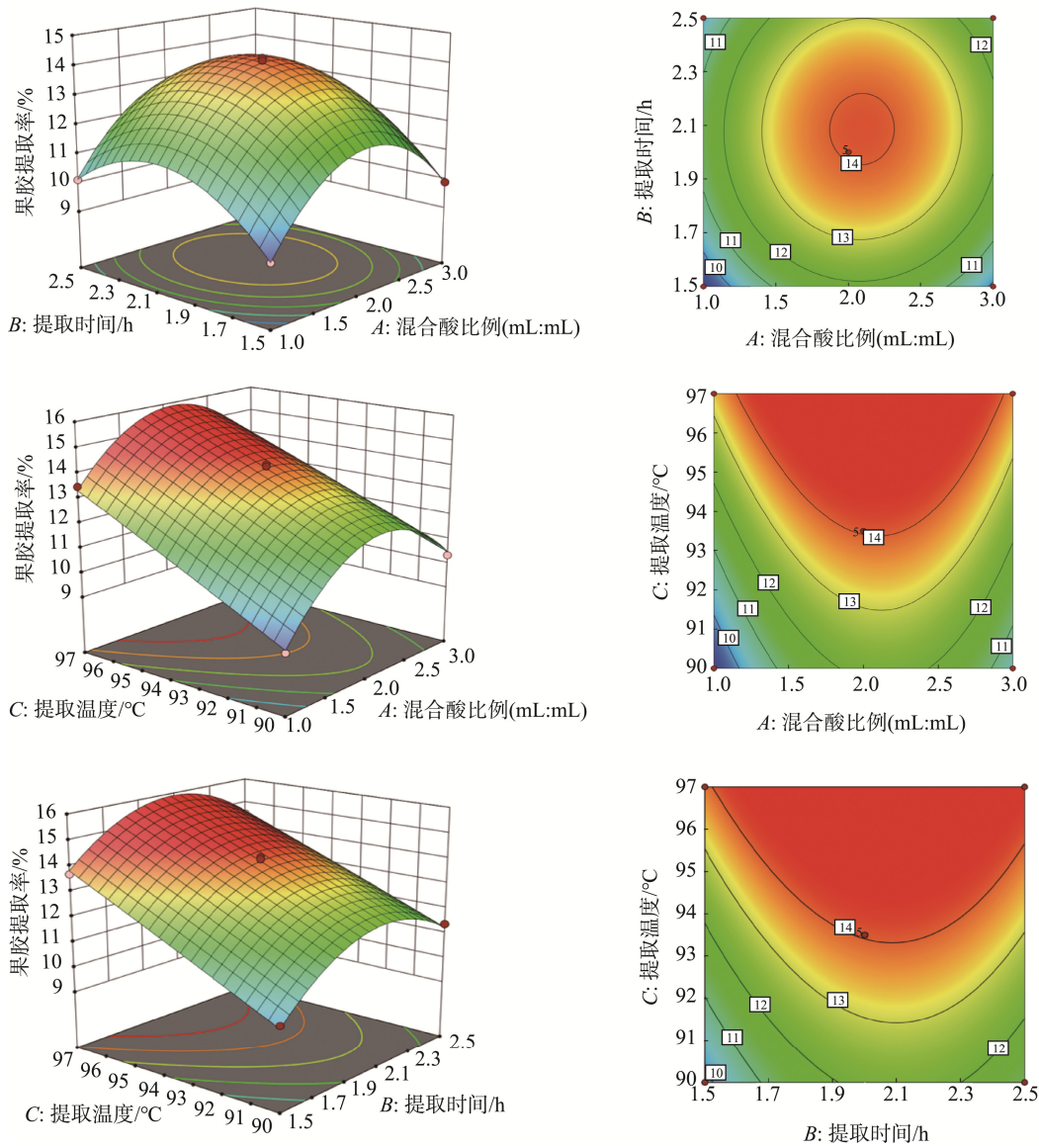


图3 两因素的交互作用对果胶提取率影响的响应面图和等高线图

Fig.3 Response surface plot and contour plots illustrating the effects of the interaction of the 2 factors on the extraction ratio of pectin

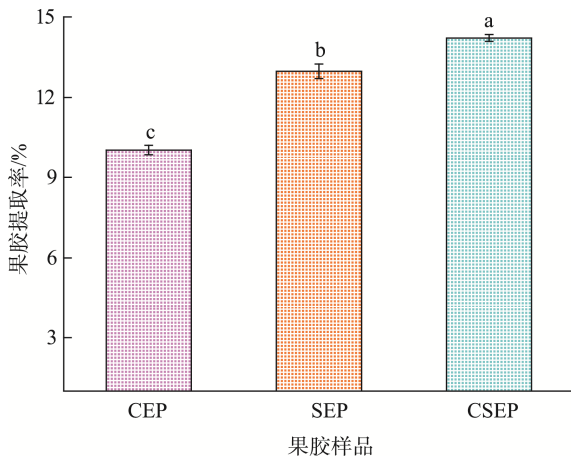


图4 果胶提取率对比

Fig.4 Comparison of pectin extraction ratio

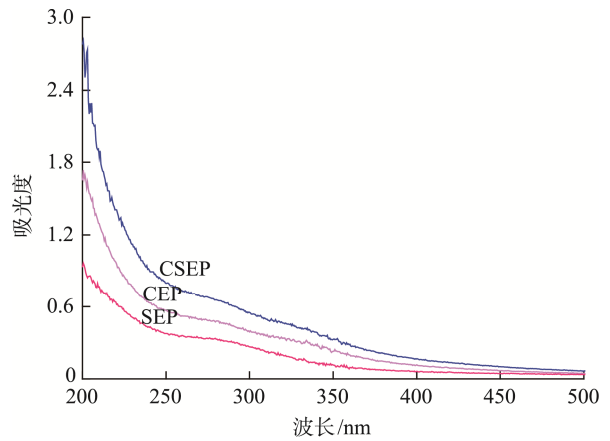


图5 CSEP、SEP、CEP的UV-vis图

Fig.5 UV-vis spectra of CSEP, SEP and CEP

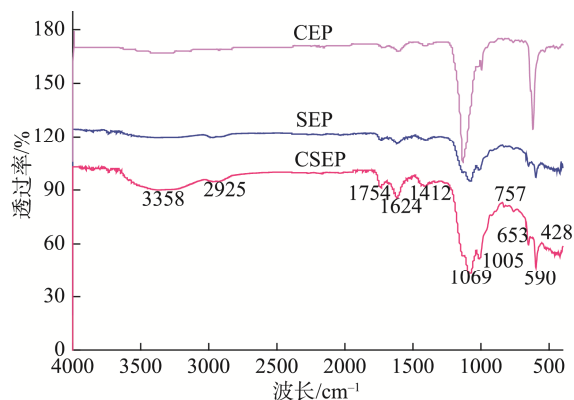


图 6 CSEP、SEP、CEP 红外光谱图
Fig.6 FT-IR spectra of CSEP, SEP and CEP

2.5 理化指标分析

果胶 HG 区中半乳糖醛酸的羧基会部分甲氧基酯化 ($-\text{COOCH}_3$), 由酯化度可分为低酯果胶和高酯果胶, 果胶的酯化度对其凝胶强度有显著影响^[1]。参照 GB 25533—2010《食品安全国家标准 食品添加剂 果胶》标准, 酯化度 $\geq 50\%$ 的果胶为高酯果胶, 如柑橘、甜菜果胶等可用于凝胶果糖、果酱和果冻中^[24-27]; 从无花果、西瓜皮中酸法提取的果胶大多为低酯果胶^[28-30], 适用于酸奶、饮料、果汁等。从表 4 中可以看出, 果胶半乳糖醛酸含量从高到低依次为 CSEP>SEP>CEP, SEP、CEP 酯化度分别为 $(79.23\pm 0.28)\%$ 、 $(71.55\pm 0.21)\%$, 相比 CEP、SEP 果胶, 混合酸提取果胶 CSEP 的半乳糖醛酸含量和酯化度更高, 分别达到 $(81.94\pm 0.43)\%$ 、 $(82.41\pm 0.35)\%$, 这一现象与 SEN 等^[30]采用双酸提取大蒜果胶结果一致。可见, 与单一有机酸或无机酸提取相比, 混合酸提取得到的果胶半乳糖醛酸含量更高, 且为甲氧基较高的果胶。

表 4 八月瓜果皮果胶理化指标(%)
Table 4 Physicochemical indexes of pectin from *Akebia trifoliolate* peel (%)

指标	半乳糖醛酸	酯化度
GB 25533—2010	≥ 65	≥ 50 (高酯)
CEP	71.55 ± 0.21^c	73.01 ± 0.32^c
SEP	79.23 ± 0.28^b	80.67 ± 0.12^b
CSEP	81.94 ± 0.43^a	82.41 ± 0.35^a

注: 同一列不同上标字母代表具有显著性差异($P<0.05$)。

2.6 八月瓜果皮果胶的抗氧化活性分析

图 7 是 CSEP、SEP、CEP 的 ABTS 阳离子自由基、羟基自由基清除能力随着浓度的变化关系图。从图 7A 可知, 4 种果胶对 ABTS 阳离子自由基的清除率显示出浓度依赖性, 其中 CSEP 的清除率最大, 其质量浓度为 5 mg/mL 时抑制率为 54.89%, 比 CP 高出 40%。半数抑制浓度(half

maximal inhibitory concentration, IC_{50}) 值越低, 果胶对 ABTS 阳离子自由基的抑制强度越高。CSEP、SEP、CEP 及 CP 的 IC_{50} 值分别为 3.668、9.778、54.289、121.858 mg/mL, 可见, CSEP 清除 ABTS 阳离子自由基的能力最强。

从图 7B 可知, 羟基自由基清除率与果胶浓度呈量效关系, 且清除能力均较好。CSEP、SEP、CEP 及 CP 的 IC_{50} 值分别为 2.248、2.953、3.571、4.114 mg/mL, 4 种果胶的羟基自由基清除能力从高到低依次为 CSEP>SEP>CEP>CP, 与其半乳糖醛酸含量顺序相同, 这一现象与 WANG 等^[31]实验结果一致, 半乳糖醛酸含量越高的果胶, 其羟基清除能力越强, 可能因为半乳糖醛酸含量高的果胶具有更多的亲电基团(羧基), 加速了 O-H 键中氢的释放。

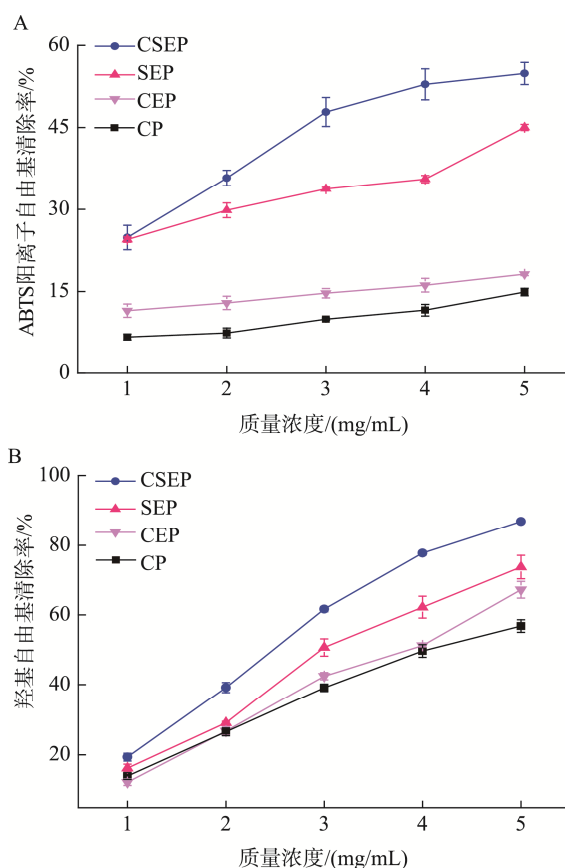


图 7 CSEP、SEP、CEP、CP 对 ABTS 阳离子自由基、羟基自由基清除能力

Fig.7 Scavenging ability of CSEP, SEP CEP and CP for ABTS cationic radicals and hydroxyl radicals

3 讨论与结论

本研究采用混合酸-响应面法对八月瓜果皮果胶进行提取。在混合酸体积比[V(柠檬酸):V(硫酸)] 2.0:1 (mL:mL)、固液比 1:30 (g:mL)、pH 1.0、时间 2.0 h、温度 94 °C 最优条件下, 果胶提取率达到 14.22%。目前国内混合酸提取果胶报道较少, 比文献^[16-17]盐酸、硫酸提取法分别提高

5.30%、2.07%。CSEP 结构特征向有益变化,半乳糖醛酸含量、酯化度较高,分别为 81.94%、82.41%。

抗氧化实验结果表明,CSEP 的 ABTS 阳离子自由基、羟基自由基清除能力优于 CP, ABTS 阳离子自由基、羟基自由基 IC₅₀ 值分别为 3.668 mg/mL、2.248 mg/mL。硫酸与柠檬酸有机结合使得果胶半乳糖醛酸含量提高,其抗氧化能力也得以提升。NING 等^[32]同样发现具高半乳糖醛酸残基和 HG 结构域的苦参果胶多糖对不同自由基的清除能力表现出更强的抗氧化活性,表明果胶的酯化程度对其抗氧化活性有显著影响。

本研究中 CEP、SEP 和 CSEP 都显现出一定的抗氧化性,八月瓜果皮果胶的抗氧化活性与其 HG、RG-I 和 RG-II 结构域间的协同作用有关,而不同酸法提取的 CEP、SEP 和 CSEP 半乳糖醛酸含量和结构域的甲基酯化程度导致其抗氧化活性存在显著差异。八月瓜果皮果胶中不同结构域的结构差异对其抗氧化活性的影响是值得进一步探索的方向。此外,八月瓜果皮中抗氧化的潜在成分丰富,包括多酚类、黄酮类、三萜皂苷类、齐墩果酸等活性成分与其抗氧化能力存在一定的相关性,后续将进一步探究潜在成分对其八月瓜果皮果胶性能的影响。

参考文献

- ZHAO JY, HONG T, HOU YJ, *et al.* Comparison of structures and emulsifying properties between water-extracted pectins from *Fructus aurantia* [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 242(2). DOI: 1016/j.ijbomac.2023.125005
- SUN W, BU K, MENG H, *et al.* Physicochemical properties of pectin-Fe (III) gained by HG-type hawthorn with different esterification degree [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 274(1): 14.
- 刘雅迪, 郭凯越, 高阿秀, 等. 天然生物质材料的制备、性质与应用 (XII)——多功能酸性植物杂多糖: 果胶[J]. *日用化学工业(中英文)*, 2024, 54(12): 1414–1422.
LIU YD, GUO KY, GAO AX, *et al.* Preparation, properties and applications of natural biomass materials (XII) multifunctional acidic heteropolysaccharide: Pectin [J]. *China Surfactant Detergent & Cosmetics*, 2024, 54(12): 1414–1422.
- 黄海东, 杨宁线, 吴洪丽, 等. 狐臭柴叶果胶的酸法提取工艺优化及其理化性质、抗氧化性和结构研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(13): 309–317.
HUANG HD, YANG NX, WU HL, *et al.* Optimization of acid extraction process and study on physicochemical properties, antioxidant properties, and structure of pectin from *Premna puberula* Pamp. Leaves [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(13): 309–317.
- XIANG T, YANG R, LI L, *et al.* Research progress and application of pectin: A review [J]. *Journal of Food Science*, 2024, 89(11): 6985–7007.
- ZHANG X, CHEN X, DAI J, *et al.* Edible films of pectin extracted from dragon fruit peel: Effects of boiling water treatment on pectin and film properties [J]. *Food Hydrocolloids*, 2024, 147(Feb. Pt.A): 1.1–1.10.
- 江顺, 郭莹莹, 赵利军, 等. 预知子化学成分、抗消化系统肿瘤药理作用及其药对临床应用研究进展[J]. *药物评价研究*, 2024, 47(5): 1131–1145.
- JIANG S, GUO YY, ZHAO LJ, *et al.* Research progress in chemical compounds, pharmacology in anti-digestive system cancers, and herbal pairs of *Akebia fructus* [J]. *Drug Evaluation Research*, 2024, 47(5): 1131–1145.
- LI X, WEI J, LIN L, *et al.* Structural characterization, antioxidant and antimicrobial activities of polysaccharide from *Akebia trifoliata* (Thunb.) Koidz stem [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2023, 231: 9.
- NIU J, SHI Y, GAO Z, *et al.* The β -galactosidase gene AtrBGAL2 regulates *Akebia trifoliata* fruit cracking [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 275(1): 12.
- 张孟琴, 徐路, 张俊波, 等. 三叶木通果皮主要营养成分、活性成分含量测定及果皮提取物抗氧化活性评价[J]. *食品工业科技*, 2022, 43(10): 388–394.
ZHANG MQ, XU L, ZHANG JB, *et al.* Determination of contents of the main nutritional components, functional components of *Akebia trifoliata* pericarp and the antioxidant activity of its extracts [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2022, 43(10): 388–394.
- 费丛璇, 付美玲, 张迪, 等. 果胶的提取、生理功能及应用研究进展[J]. *食品与机械*, 2024, 40(3): 233–240.
FEI CX, FU ML, ZHANG D, *et al.* Research progress on extraction, physiological function and application of pectin [J]. *Food & Machinery*, 2024, 40(3): 233–240.
- 孙静, 王宇滨, 王丹, 等. 果胶提取方法、结构和改善慢性疾病研究进展[J]. *食品工业科技*, 2024, 45(22): 371–382.
SUN J, WANG YB, WANG D, *et al.* Research progress on extraction methods, structure and improvement of chronic diseases of pectins [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2024, 45(22): 371–382.
- JIANG Y, DU YX, ZHU XM, *et al.* Physicochemical and comparative properties of pectins extracted from *Akebia trifoliata* var. *australis* peel [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2012, 87(2): 1663–1669.
- YU Y, LU P, YANG Y, *et al.* Differences in physicochemical properties of pectin extracted from pomelo peel with different extraction techniques [J]. *Scientific Reports*, 2024, 14(1): 9182.
- 李雪峰, 符智荣, 欧阳玉祝, 等. 响应面法优化八月瓜果皮中果胶的酸提取工艺[J]. *应用化工*, 2014, 43(12): 2198–2201.
LI XF, FU ZR, OUYANG YZ, *et al.* Optimum on acid-extraction technology of pectin in *Stauntonia latifolia* pericarp by response surface methodology [J]. *Applied Chemical Industry*, 2014, 43(12): 2198–2201.
- 石兵艳, 李祥, 抗新新, 等. 响应面优化超声提取八月瓜果皮果胶工艺[J]. *应用化工*, 2019, 48(6): 1306–1310, 1316.
SHI BY, LI X, KANG XX, *et al.* Optimization of pectin extraction assisted by ultrasound from *Akebia trifoliata* pericarp by response surface methodology [J]. *Applied Chemical Industry*, 2019, 48(6): 1306–1310, 1316.
- 李加兴, 吴萍, 吴越, 等. 八月瓜果皮果胶提取工艺优化及理化特性研究[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(1): 275–277, 283.
LI JX, WU P, WU Y, *et al.* Optimization of extraction conditions and analysis of physicochemical property of pectin from *Akebia trifoliata* peel [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2016, 37(1): 275–277, 283.
- KERMANIZ J, SHPIGELMAN A, KYOMUGASHO C, *et al.* The impact of extraction with a chelating agent under acidic conditions on the cell

- wall polymers of mango peel [J]. *Food Chemistry*, 2014, 161(15): 199–207.
- [19] SARIKURKCU C, ZENGIN G, AKTUMSEK A, *et al.* Screening of possible *in vitro* neuroprotective, skin care, antihyperglycemic, and antioxidative effects of *Anchusa undulata* L. subsp. *hybrida* (Ten.) coutinho from turkey and its fatty acid profile [J]. *International Journal of Food Properties*, 2015, 18(7): 1491–1504.
- [20] 王雅楠, 黄姗, 尹玉云, 等. 山楂叶类保健食品中总黄酮的提取及抗氧化活性研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(13): 89–98.
WANG YN, HUANG S, YIN YY, *et al.* Extraction and study on antioxidant activity analysis of total flavonoids from hawthorn leaf health food [J]. *Journal of Food Safety & Quality*, 2024, 15(13): 89–98.
- [21] 李丹锋. 硫酸辅助提取芹菜果胶技术研究及其产品性能表征[D]. 南京: 南京林业大学, 2023.
LI DF. Sulphuric acid-assisted extraction of celery pectin and its product properties characterisation [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2023.
- [22] 任佳琦, 刘昕, 雷琳, 等. 苹果多酚/果胶相互作用及其对浊汁体系理化特性和稳定性的影响[J]. *食品科学*, 2021, 42(10): 14–22.
REN JQ, LIU X, LEI L, *et al.* Interaction between apple polyphenols and pectin and its effect on the physicochemical properties and stability of turbid juices [J]. *Food Science*, 2021, 42(10): 14–22.
- [23] GNANANSAMBANDAM R, PROCTOR A. Determination of pectin degree of esterification by diffuse reflectance Fourier transform infrared spectroscopy [J]. *Food Chemistry*, 2000, 68(3): 327–332.
- [24] BEDZO OKK, GOTTUMUKKALA LD, SASSO GL, *et al.* Process development for efficient pectin extraction from tobacco residues and its characterisation [J]. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 2024, 14(23): 29481–29501.
- [25] ARORA S, KATARIA P, AHMAD W, *et al.* Microwave assisted green extraction of pectin from *Citrus maxima* albedo and flavedo, process optimization, characterisation and comparison with commercial pectin [J]. *Food Analytical Methods*, 2024, 17(1): 105–118.
- [26] DRANCA F, MIRONIASA S. Hot-air drying vs. lyophilization of sugar beet flakes for efficient pectin recovery and influence of extraction conditions on pectin physicochemical properties [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 265. DOI: 10.1016/j.ijbomac.2024.131063.
- [27] LV D, CHEN F, YANG X, *et al.* Spontaneous gelation behaviors and mechanism of *Ficus awkeotsang* Makino pectin [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 247. DOI: 10.1016/j.ijbomac.2023.125712
- [28] MAJID M, FALLAH-JOSHAQAN S, DALVI-ISFAHAN M, *et al.* Comparison of conventional and microwave-assisted extraction of pectin from watermelon rind [J]. *Journal of Polymers and the Environment*, 2023, 31(8): 3363–3371.
- [29] ALDEMIR H, KAMILOGLU A, ÇAKIR Ö. Optimization of pectin extraction from crab apple peel and usage in a model meat emulsion system [J]. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2024, 18(5): 3827–3838.
- [30] ŞEN E, GOKTURK E, UGUZDOGAN E. Pectin extraction from garlic waste under dual acid condition [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2022, 46(12): e17150.
- [31] WANG MM, WANG F, LI G, *et al.* Antioxidant and hypolipidemic activities of pectin isolated from citrus canning processing water [J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2022, 159. DOI: 10.1016/j.lwt.2022.113203.
- [32] NING X, LIU Y, JIA M, *et al.* Pectic polysaccharides from *Radix Sophorae Tonkinensis* exhibit significant antioxidant effects [J]. *Carbohydrate Polymer*, 2021, 262(2): 117925.

(责任编辑: 韩晓红 蔡世佳)