

多酚—果胶复合物的合成表征 及生物活性研究进展

李培骏^{1,2,3} 曹兴业^{1,2} 谢闰生^{1,2} 唐辉³ 钟瑞敏¹

(1. 韶关学院广东省粤北食药资源利用与保护重点实验室, 广东 韶关 512005; 2. 桂林理工大学化学与生物工程学院, 广西 桂林 541004; 3. 韶关学院食品学院, 广东 韶关 512005)

摘要: 果胶由于其优良的理化性质, 在食品、医药、化妆品等众多领域被广泛应用。多酚具有很强的生物活性, 但大部分的多酚自身溶解度差, 生物利用率低, 而将多酚接枝到果胶上可以提高果胶和多酚的利用价值。文章论述了多酚—果胶复合物的合成方法(非共价结合和共价结合)、结构表征(紫外可见光谱、傅里叶红外光谱、核磁共振氢谱、扫描电子显微镜、X射线衍射、差示扫描量热法和热重分析)、生物活性(抗氧化活性、抗菌活性和抗肿瘤活性), 阐述了多酚—果胶复合物的应用, 并对其应用前景进行了展望。

关键词: 果胶; 多酚; 复合物; 合成方法; 生物活性

Progress in the synthesis, characterization, and biological activity of polyphenol pectin complexes

LI Peijun^{1,2,3} CAO Xingye^{1,2} XIE Runsheng^{1,2} TANG Hui³ ZHONG Ruimin¹

(1. Provincial Key Laboratory for Utilization and Conservation of Food and Medicinal Resources in Northern Guangdong, Shaoguan University, Shaoguan, Guangdong 512005, China; 2. College of Chemistry & Bioengineering, Guilin University of Technology, Guilin, Guangxi 541004, China; 3. College of Food Science & Technology, Shaoguan University, Shaoguan, Guangdong 512005, China)

Abstract: Pectin, known for its excellent physical properties, is widely utilized across various fields, including food, medicine and cosmetics. Polyphenols, although highly bioactivity, often suffer from poor solubility and low bioavailability. Grafting polyphenols onto pectin enhances the functional value of both pectin and polyphenols. The synthesis method of polyphenols-pectin complex (non-covalently bound and covalently bound), structural characterization (ultraviolet-visible spectroscopy, Fourier transform infrared spectroscopy, nuclear magnetic resonance hydrogen spectroscopy, scanning electron microscope, X-ray diffraction, differential scanning calorimetry, and thermogravimetric analysis), biological activity (antioxidant activity, antibacterial activity, and antitumor activity). Lastly, the diverse applications of polyphenol-pectin complexes in multiple fields and their potential for future development are explored.

Keywords: pectin; polyphenols; complexes; synthesis method; biological activity

果胶是一种从植物细胞壁中提取的结构性多糖, 是高等植物细胞壁的主要多糖之一^[1], 具有生物可降解性、生物相容性、安全性、可食性和生物活性等特点^[2]。果胶来源丰富、含量大, 是所有陆地植物细胞壁中第二丰富的成分^[3]。果胶起着提供细胞间的黏附、刚性和植物细胞壁

的机械阻力的作用^[4]。果胶作为一种良好的柔性生物高分子材料, 被广泛应用于各个领域^[5]。然而果胶在实际应用中容易结块且难溶解, 生物活性低^[6]。为了解决这些问题, 需对果胶进行改性, 包括取代、链延长和解聚^[7], 而多糖接枝共聚物的合成被认为是改善果胶理化性质和功能

基金项目: 广西自然科学基金项目(编号: 2020GXNSFAA297198); 广东省基础与应用基础研究基金委员会面上项目(编号: 2022A1515011362); 韶关市支持科研工作者项目(编号: 230324098034896); 韶关学院人才引进项目(编号: 142-9900064701)

通信作者: 李培骏(1978—), 男, 韶关学院副教授, 博士。E-mail: peijunli@sgu.edu.cn

收稿日期: 2024-03-11 **改回日期:** 2024-10-13

性质最有效的途径之一^[8]。

多酚是植物的次生代谢产物,广泛存在于种子、树皮、叶、根和果实中。自然界中大约有 8 000 种酚类物质,其共同特征为芳香环中至少含有一个羟基取代基^[9]。根据酚环的数量和键合方式,酚类化合物可分为酚酸类、类黄酮类、单宁类、苯乙烯类和木脂素类^[10]。其中,黄酮类含量最多,约占总酚类化合物的 60%。类黄酮又可分为几个亚类,其中最具代表性的有黄酮、黄酮醇、黄烷酮、黄烷醇、异黄酮和花青素^[11]。富含多酚的饮食通常有益于人体健康,但多酚的吸收量相对较低,需改善其生物利用率^[12]。部分多酚由于溶解度低,生物利用率低,限制了其在食品、医药等相关领域中健康功效的充分发挥^[13]。文章拟阐述多酚—果胶复合物的合成方法、结构表征、生物活性及其在多种领域的应用,并对多酚—果胶复合物的应用前景进行展望,旨在拓展多酚与果胶的应用范围,提高其生物利用率。

1 多酚—果胶复合物的合成方法

果胶的功能特性与其分子结构和官能团密切相关。对果胶的分子结构进行修饰,可以改变其部分性质或赋予其新的功能性质^[14]。而果胶接枝共聚物的合成是改善果胶理化性质和功能性质的最具吸引力的方法之一。目前,有关果胶复合物的制备方法有非共价结合和共价结合(化学合成、酶催化接枝、自由基介导接枝)方法^[15-16](表 1)。例如,包括表儿茶素、绿原酸、单宁、原花青素和花青素在内的多酚与不同来源的果胶进行非共价结合。这些反应主要通过氢键作用形成复合物,且被广泛应用于食品领域。此外,姜黄素、阿魏酸、橙皮素等多酚还可以与不同果胶(主要为柑橘果胶)进行共价结合,通过二环己基碳二亚胺介导的偶联、漆酶催化聚合和自由基介导反应实现,与未改性的果胶和多酚相比,共价连接的多酚—多糖复合物表现出改善或额外的物理化学和生物活性特性,扩大其应用范围。

表 1 多酚—果胶复合物的合成方法及其应用[†]

Table 1 The methods of pectin-polyphenol complexes and their applications

果胶来源	非共价结合				果胶来源	共价结合			
	多酚	作用/合成方式	应用	参考文献		多酚	作用/合成方式	应用	参考文献
山楂	绿原酸	氢键,范德华力	食品	[17]	柑橘	姜黄素	DMAP,DCC	医药	[21]
未知	单宁	氢键,疏水	食品	[18]	柑橘	柚皮素	DMAP,DCC	医药	[22]
猕猴桃、苹果等	原花青素	氢键	食品	[19]	柑橘	儿茶素等	ECH	食品	[23]
苹果	花青素	氢键,静电	食品	[20]	柑橘	阿魏酸	漆酶	多糖改性	[24]
					未知	水杨酸	脂肪酶	医药	[25]
					未知	PHBA 等	脂肪酶	食品	[26]
					未知	EGCG	V _C ,H ₂ O ₂	食品	[27]
					柑橘	茶多酚等	V _C ,H ₂ O ₂	食品	[28]
					柑橘	阿魏酸	V _C ,H ₂ O ₂	食品	[29]
					柑橘	橙皮素	V _C ,H ₂ O ₂	食品	[30]
					柑橘	废水多酚	V _C ,H ₂ O ₂	食品	[31]

[†] DMAP 为 4-二甲氨基吡啶;DCC 为二环己基碳二亚胺;ECH 为环氧氯丙烷;PHBA 为对羟基苯甲酸;EGCG 为表没食子儿茶素没食子酸酯。

1.1 非共价结合

非共价相互作用是指生物大分子通过氢键、疏水、静电等作用力与特异性生物活性小分子结合,形成具有特异性强、可逆等特点的复合物的反应。多酚与多糖间的非共价作用力包括氢键、静电作用(离子作用)、疏水相互作用等。此外,pH、温度、混合时间、离子强度和底物浓度等也会影响其相互作用强度^[16]。

在食品中,多酚与果胶也可以以非共价相互作用的形式存在。Zhang 等^[17]研究了山楂果胶与表儿茶素和绿原酸的结合吸附行为,发现果胶与多酚的结合主要是通

过氢键和范德华力驱动,两者的相互作用对提高果汁的浊度稳定性和改善不愉快的感官体验有重要作用。Mamet 等^[18]对柿子单宁与不同甲基化程度果胶的结合进行了定量分析,揭示了高度没食子酰化的柿子单宁与果胶之间的相互作用,还提供了利用多酚—多糖复合物降低单宁相关产品的涩味信息。

多酚与多糖的相互作用受其结构特性的影响。Liu 等^[19]研究了原花青素与果胶之间的结合,发现原花青素对果胶的结合选择性取决于果胶的组成和大分子特征以及原花青素的聚合程度,高摩尔质量和低密度有助于原

花青素的吸附,影响果胶选择性的重要因素依次为线性度>摩尔质量>密度≈水动力半径,高分枝和密度不利于相互作用,而高摩尔质量有利于相互作用。Fu等^[20]用4种不同的多糖与花青素进行络合,所得复合物的稳定性、结肠生物利用率和活性均有所提升,且果胶与花青素的络合效率最高。

1.2 共价结合

1.2.1 化学偶联 化学偶联是合成多糖—多酚复合物较有效的方法。以碳二酰亚胺为基础的化学偶联试剂应用最为广泛,包括二环己基碳二亚胺(DCC)和1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺(EDC),其可以通过酯化反应介导多糖羧基与多酚类化合物羟基之间的共价键。

为了提高接枝效率,通常在反应体系中加入4-二甲

氨基吡啶(DMAP)或*N*-羟基琥珀酰亚胺(NHS)。Mundlia等^[21]以DCC和DMAP为媒介,合成了果胶—姜黄素复合物(图1)。酸性环境下,复合物中的姜黄素的释放速度更快,表明其可用于靶向肿瘤细胞的酸性环境,且具有更高的细胞毒性。Mundlia等^[22]以DCC和DMAP为媒介,成功将柚皮素接枝到果胶上,提高了柚皮素的水溶性,且与柚皮素相比,其抗菌、抗癌、抗氧化活性均有所提升。Ahn等^[23]使用环氧氯丙烷(ECH)将儿茶素、芦丁、槲皮素和橙皮苷偶联到果胶上,提高了复合物的水溶性,使果胶具有抗氧化性能。然而,化学偶联反应过程中通常需要使用多种化学试剂,价格昂贵且对环境不利。因此,在食品和制药领域中,使用化学偶联法合成接枝共聚物并不是一种非常理想的方法。

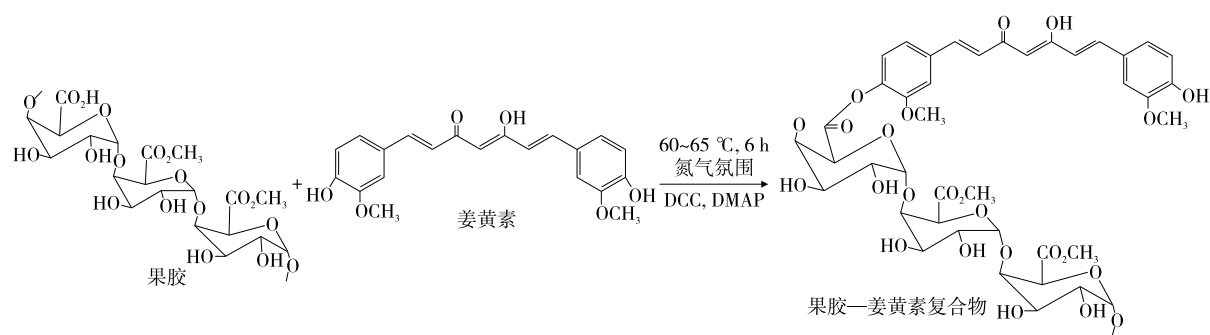


图1 果胶—姜黄素复合物的化学偶联^[21]

Figure 1 Chemical coupling of the pectin-curcumin complex

1.2.2 酶催化 目前,常用于多酚与多糖接枝的酶有漆酶、酪氨酸酶、辣根过氧化物酶和脂肪酶等,以替代毒性、环境不友好和非特异性的化学偶联方法^[32]。

漆酶能够催化多酚氧化产生的半醌与反应介质中存在的亲核反应,使多酚接枝到多糖链上。Karaki等^[24]采用漆酶成功将阿魏酸接枝到果胶上(图2),接枝后复合物的抗氧化性能显著提高。Zhang等^[25]通过脂肪酶将水杨酸接枝到果胶上,其中脂肪酶在接枝反应中起着双重作用,即催化水相甲基的水解、果胶的羧基与四氢呋喃中酚酸的酚羟基的酯化,接枝后果胶的乳化性能、抗氧化活性、抗菌活性均有所提升。Liu等^[26]证明了脂肪酶也可以将对羟基苯甲酸(PHBA)、3,4-二羟基苯甲酸(DHBA)和没食子酸(GA)接枝到天然果胶上,并提高其乳化性能、抗氧化活性和抗菌性能。与化学偶联法相比,酶催化接枝法更经济、更安全,但也存在一定的局限性,采用该方法主要是基于对多酚羟基的氧化,导致接枝产物中多酚的功能丧失。

1.2.3 自由基介导 自由基接枝法因其反应过程简单、操作安全且环境友好成为近期备受关注的绿色制备多糖—多酚复合物的方法。其反应机理是通过自由基攻击多糖分子中羟基上的氢原子,使多糖成为多糖自由基,

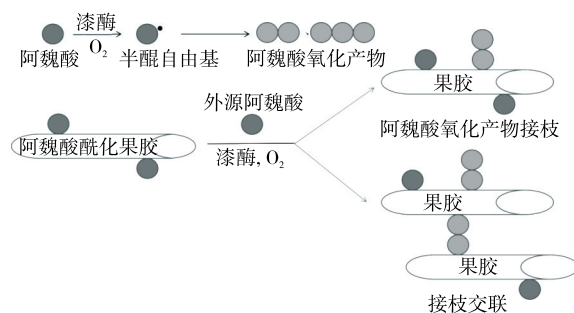


图2 果胶—阿魏酸的酶法交联^[24]

Figure 2 Enzymatic crosslinking of pectin-ferulic acid

进而使围绕在多糖自由基周围的接枝物质立即与其共价结合,形成稳定的接枝物。在各种自由基引发体系中,抗坏血酸(V_C)和过氧化氢(H_2O_2)氧化还原体系被广泛用于合成多酚接枝多糖^[33]。Liu等^[34]研究发现, V_C 和 H_2O_2 氧化还原体系对合成接枝儿茶素菊粉的可能反应中, V_C 先与 H_2O_2 反应生成羟自由基($\cdot OH$),随后生成的 $\cdot OH$ 通过从菊粉中提取氢原子,形成菊粉宏观自由基,参与接枝过程。靠近反应位点的儿茶素分子成为菊粉大分子自由基的受体,从而形成了接枝菊粉的儿茶素分子。

Huang 等^[27]通过自由基介导的反应将表没食子儿茶素没食子酸酯(EGCG)与果胶进行接枝(图 3),增强了果胶的黏附性,使其抗菌、抗氧化活性都有所提升。杨鹤隽^[28]通过自由基介导反应将 5 种不同的酚酸接枝到果胶上,接枝后的复合物溶解度提升且具有良好的抗氧化活性和免疫活性。Wang 等^[29]通过自由基介导反应,将阿魏酸接枝到果胶和超声后的果胶上,两种复合物的体外抗

氧化活性均更突出。Ren 等^[30]通过自由基介导将橙皮素接枝到果胶上,提高了复合物的热稳定性,此外复合物还具有良好的细胞相容性和血液相容性。Akretche 等^[31]采用 V_c/H₂O₂体系自由基诱导接枝和 CaCl₂络合接枝两种绿色环保的方法合成酚类化合物—果胶复合物,将橄榄厂废水中的酚类物质接枝到果胶上,并将其应用于生物基薄膜上,提高了薄膜的抗氧化性。

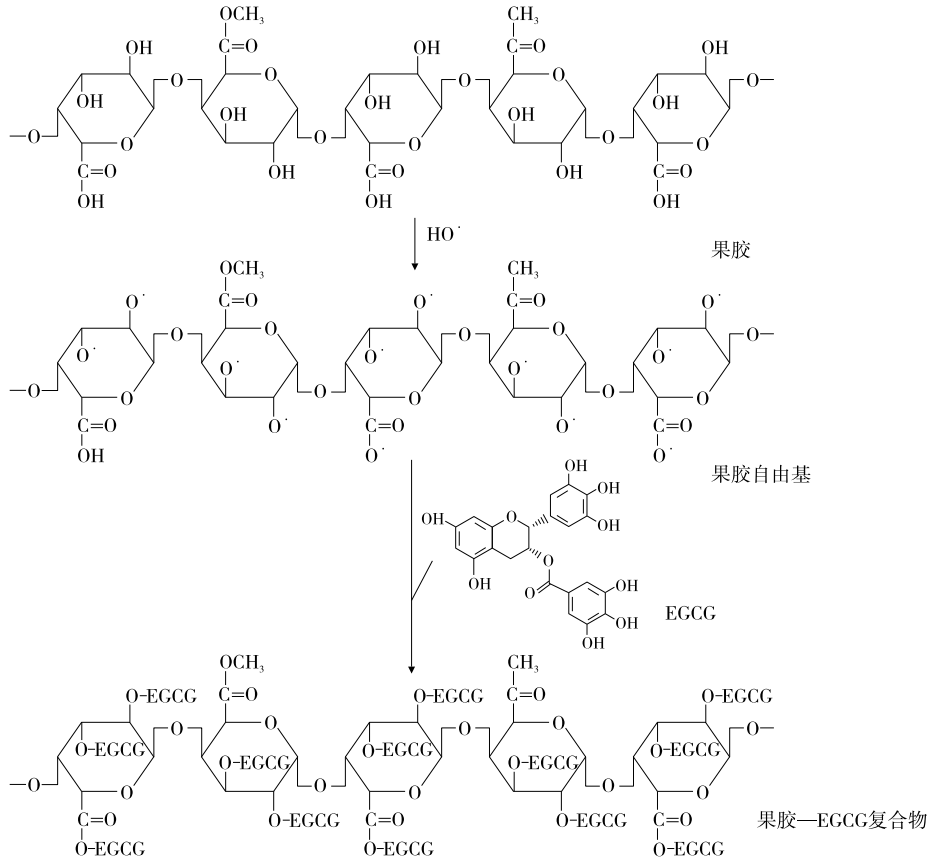


图 3 ECCG—果胶自由基的接枝^[30]

Figure 3 ECCG-pectin radical grafted

与化学偶联法相比,自由基介导法因没有有机溶剂的参与,避免了接枝物结构被氧化破坏,是一种较为绿色且能维持接枝物生物活性的制备方法。此外,自由基介导接枝法还可以避免酶催化过程中多酚化合物羟基的氧化。然而,自由基诱导的接枝方法的效率不是很理想。而且 H₂O₂还会引起果胶的降解,导致多酚—果胶复合物的相对分子质量降低。后续还需进一步优化反应参数(如 V_c、H₂O₂、多糖和多酚的浓度、反应 pH、温度、时间),以合成接枝率更高的多酚—果胶复合物。

2 多酚—果胶复合物的结构表征

2.1 紫外可见光谱

一般来说,所有的多酚化合物均表现出显著的紫外

线吸收,因为其至少含有一个芳香环。第 1 个吸光度最大值在 240~285 nm,属于多酚化合物的 A 环,300~550 nm 内出现的第 2 个最大紫外吸收是由环 C 的取代模式和共轭作用引起^[35],而果胶在紫外可见(UV)光谱的有限波长内无吸收带。因此,多酚—果胶复合物的紫外光谱与多酚相似。Ahn 等^[23]通过 ECH 化学合成法成功合成了多种多酚—果胶复合物(图 4),可以观察到多酚—果胶复合物在 200~600 nm 频率范围内与纯果胶相比有新的紫外吸收,且与原多酚相比接枝共聚物出现的最大吸收波长的位置发生了偏移,这种紫外峰的移动源于各自的多酚与果胶主链的共价偶联,因为偶联的多酚改变了酚类发色团的电子态。虽然很难确定果胶羟基之间的共轭位置,但吸收带位置的变化可以证明多酚与果

胶之间新形成的化学键。Ren等^[30]研究发现,与原多酚相比,多酚—果胶复合物的紫外吸收峰有轻微的红移,接枝率高的复合物的特征峰强度高于接枝率低的。说

明可通过比较多酚接枝果胶与多酚标准物的吸光度强度来比较多酚—果胶复合物的接枝率大小,并验证其接枝反应是否成功。

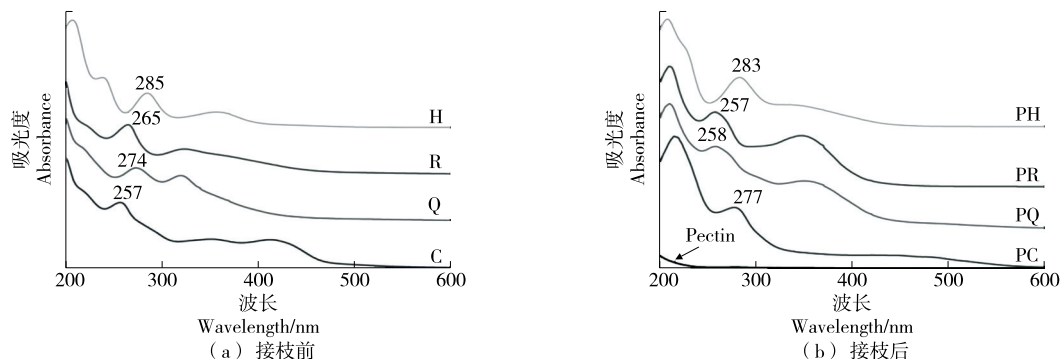


图4 果胶与橙皮苷、芦丁、槲皮素和儿茶素接枝前后的紫外吸收光谱^[23]

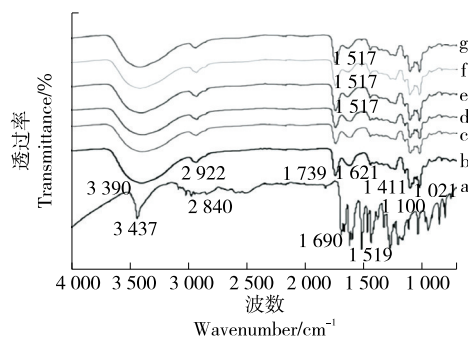
Figure 4 UV absorption spectrum before and after grafting of pectin with hesperidin, rutin, quercetin and catechin

2.2 傅里叶红外光谱

为了进一步探索果胶与多酚之间的接枝途径和反应位点,可采用傅里叶红外(FT-IR)光谱对天然果胶和改性果胶进行表征。多酚接枝果胶后的复合物的FT-IR光谱通常保留了多酚部分和果胶骨架的特征波段。多酚的FT-IR光谱包含3个特征峰,分别属于—OH拉伸和平面弯曲振动、芳香环的C=C拉伸振动和C—O/C—C拉伸振动。非共价和共价连接的复合物均表现出果胶和多酚的所有特征^[35]。Liu等^[26]对脂肪酶催化法制备的果胶—酚酸复合物的FT-IR光谱分析发现,果胶中的糖环结构对接枝反应的干扰最小,因此以该处的吸收峰作为表征果胶中其他基团相对含量的参考峰,与原果胶对比,酯基含量不变,—COOH基团含量增加,其原因可能是酚酸的酚羟基与果胶的甲氧羰基通过脂肪酶催化的酯交换反应,酚酸通过酯键与果胶结合,使甲基被交换出来。此外,共价连接的复合物也会出现一些新的波段和峰移,可以证明接枝反应是否成功进行。Wang等^[29]通过自由基介导的方法将阿魏酸接枝到果胶上,对比接枝共聚物与原果胶的FT-IR光谱(图5)发现,多酚—果胶复合物的结合方式与所采用的接枝方法有关。与紫外可见光谱相比,傅里叶红外光谱可以检测出果胶与多酚共价连接的化学键,更能反映接枝反应是否成功发生。

2.3 核磁共振氢谱

通过UV和FT-IR光谱分析出多酚—果胶复合物的结合位点,需要研究果胶与多酚—果胶复合物的核磁共振氢谱(¹H NMR)。Mundlia等^[21]通过化学偶联法将姜黄素接枝到果胶上,接枝共聚物的¹H NMR谱(图6)在6~8 Hz区域内含有多个姜黄素的质子共振峰,表明产物中存在药物。与游离姜黄素相比,复合物中姜黄素峰的强度较低,可能是由于复合物内核中存在姜黄素。Liu等^[26]使用



a~f依次为阿魏酸、果胶、果胶(超声30 min)、果胶(超声60 min)、果胶(超声30 min)—阿魏酸复合物、果胶(超声60 min)—阿魏酸复合物

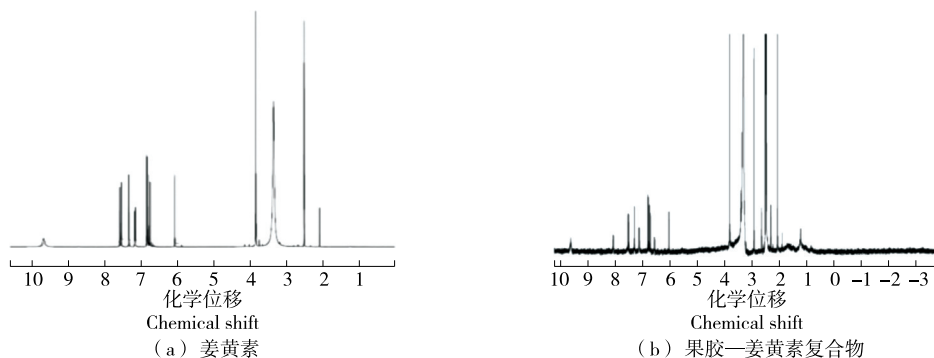
图5 果胶—阿魏酸接枝后的红外图谱^[29]

Figure 5 infrared spectrum of pectin-ferulic acid grafting

脂肪酶催化的多酚—果胶复合物的¹H NMR谱与原果胶的进行对比发现,~4.38 Hz为果胶的4-H峰,受干扰较少,其峰面积可作为其他峰定量分析的参考。~3.91 Hz(3-H)、~3.71 Hz(2-H)、~3.62 Hz(7-H,甲氧羰基)与~4.38 Hz峰面积的比值在接枝后显著降低,说明果胶中甲基含量减少,果胶与酚酸是通过酯交换反应共价结合的。Huang等^[27]用自由基介导法制备了多酚—果胶复合物,该复合物的光谱保留了果胶的全部特征信号峰和多酚的部分特征信号峰。此外,多酚的8-H和6-H信号峰消失,推断接枝反应发生在多酚的8-H和6-H位置。因此,核磁共振可以进一步检测多酚—果胶的结合方式和反应途径,但接枝物的具体结构仍需进一步分析。

2.4 扫描电子显微镜

一般来说,果胶与多酚接枝后,复合物的表面形貌会发生显著变化。Karaki等^[24]用漆酶催化制备的果胶—阿

图 6 姜黄素和果胶—姜黄素复合物的¹H NMR 谱^[21]Figure 6 ¹H NMR spectrum of curcumin, pectin-curcumin graft

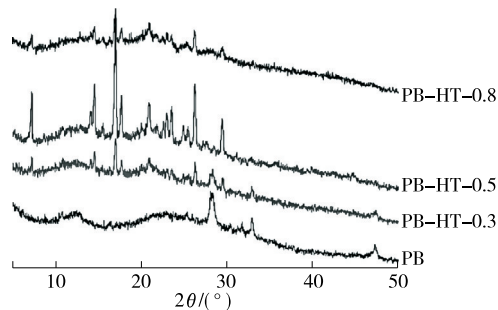
魏酸复合物表面光滑,而原果胶表面粗糙。Wang 等^[29]用自由基介导方法制备的果胶—阿魏酸复合物比原果胶光滑,可能是接枝反应减少了氢键。Ren 等^[30]用自由基介导制备的果胶—橙皮素复合物呈网状结构,果胶的结构被腐蚀,且在大晶体上附着不同形状的小颗粒。Mundlia 等^[22]用化学法制备的果胶—柚皮素复合物由原果胶的条纹折叠状变成了薄膜状,其纳米纤维形态类似于两亲性、自组装的肽结构,可能是因为形成了果胶—柚皮素复合物的亲疏水性。综上,多酚—果胶复合物的形态与接枝的多酚有关,且不同的结合方式对形貌也有影响。

2.5 X 射线衍射

多酚—果胶复合物的晶体结构可以通过 X 射线衍射(XRD)来快速分析。一般来说,晶体材料的衍射峰尖而窄,而非晶态材料的衍射峰宽。Ren 等^[30]研究发现,橙皮素在 5°~50°有许多窄而尖锐的衍射峰(图 7),果胶—橙皮素复合物的衍射图中出现了许多橙皮素的特征衍射峰,表明橙皮素已与果胶分子紧密地共价结合,且橙皮素—果胶复合物的接枝率大小与衍射峰强度呈正相关。Mundlia 等^[21]通过化学法将柚皮素接枝到果胶上,柚皮素的结晶度在 7°~48°(2θ)有较强的衍射峰,表明该多酚具有固有的结晶性。果胶的 X 射线衍射图显示,果胶的无定形性质在 13°,21°处出现特征宽峰。接枝后复合物的衍射图表明,柚皮素共价作用使果胶部分结晶度增大,在 20°处有宽峰,在 27°,20°处有结晶峰,说明多酚接枝果胶可以提高果胶的结晶度,且接枝率越高,结晶度越高。

2.6 差示扫描量热法和热重分析

多酚—果胶复合物的热稳定性通常可采用差示扫描量热法(DSC)技术和热重分析(TGA)技术进行分析。Ren 等^[30]研究发现,果胶在 240 °C 分解,而接枝后的复合物在 260 °C 分解,且复合物的热分解速率也比原果胶低,表明橙皮素的接枝提高了果胶的热稳定性和热降解性能。Ahn 等^[23]合成的多酚—果胶复合物在 240~250 °C 开始降解,且 600 °C 下的残留值更高(36%~46%);而纯果胶在



PB 为果胶,PB-HT 为果胶—橙皮素

图 7 果胶—橙皮素接枝物的 XRD 图谱^[30]

Figure 7 XRD profile of pectin-hesperetin graft

230 °C 开始降解,在 600 °C 下的残留值为 30%,说明接枝反应改善了果胶的热稳定性。Wang 等^[29]将阿魏酸通过自由基介导反应接枝到果胶上,与原果胶相比,接枝后的复合物出现放热峰的温度从 257.3 °C 降到 254.0 °C,说明接枝反应削弱了果胶的热稳定性,这可能是接枝反应减少了分子间氢键。综上,多酚接枝果胶能否使果胶的热稳定性提升可能与接枝的多酚有关。

3 果胶—多酚复合物的生物活性

3.1 抗氧化活性

抗氧化剂可以通过清除引起细胞损伤的活性氧(如自由基)来减轻氧化应激,有益于糖尿病、衰老、动脉粥样硬化、癌症和类风湿性关节炎等疾病^[36]。多酚化合物具有直接清除自由基或活性氧的活性,与多酚化合物骨架中羟基的数量和分布密切相关。然而,酚类化合物的局限性较多,如水溶性低、生物利用率低、在胃肠道和肝脏中的快速分解代谢以及通过泌尿系统快速排泄,口服时不得于功效发挥^[37]。这些限制可以通过与果胶的非共价或共价结合来缓解。

多酚—果胶复合物的抗氧化性能包括还原能力、金属螯合能力、脂质过氧化抑制、β-胡萝卜素—亚油酸测定、超氧阴离子自由基、羟自由基、过氧基、过氧亚硝酸盐、

2,2'-联氮-双-(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)(ABTS)自由基和1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基清除活性。由表2可知,接枝后复合物的抗氧化性能有所提高。Ahn等^[23]研究发现,接枝物的抗氧化活性与接枝的多酚有关,且与接枝多酚的结构有关,当多酚的糖苷元基本结构具备稳定自由基的儿茶酚单元、从A环到B环的共轭连通性、C环上的4-氧和3-羟基3种要求时,抗氧化活性最强。杨鹄隼^[28]发现接枝物的抗氧化活性与其相对分子

质量有关,随着复合物相对分子质量的降低,抗氧化活性变低,说明接枝多酚后的果胶与原果胶相比抗氧化活性大大提升。抗氧化性能的改变与接枝复合物的结构有关。羟基数量的不同以及多酚苷元上其他取代基的存在,通过改变C6-C3-C6碳骨架内自由基共轭的程度,改变了复合物的抗氧化能力。今后还需通过细胞和动物试验来充分评价多酚接枝果胶的体内抗氧化活性及其抗氧化机制。

表2 果胶-多酚复合物的自由基清除能力和细胞毒性[†]

Table 2 Free radical scavenging capacity and cytotoxicity of the pectin-polyphenol complexes

化合物	接枝率/ (mg·g ⁻¹)	质量浓度/ (mg·mL ⁻¹)	自由基清除率/%			细胞毒性	参考文献
			DPPH	OH	ABTS		
果胶-姜黄素	384.39	—	—	—	—	对 KYSE-30 细胞抗癌作用	[21]
柚皮素	—	1	91.74	—	—	对 NIH:OVCAR-5 细胞有抗癌作用	[22]
果胶-柚皮素	37.069	1	96.10	—	—		
果胶-槲皮素	—	3	80.00	—	—		[23]
果胶-儿茶素	—	3	67.00	—	—		
果胶-芦丁	—	3	77.00	—	—		
果胶-橙皮苷	—	3	6.10	—	—		
果胶	—	—	7.68	—	—		[26]
果胶-PHBA	201.8	—	6.88	—	—		
果胶-DHBA	188.7	—	40.80	—	—		
果胶-GA	203.2	—	90.30	—	—		
果胶-丁香酸	78.32	1	65.66	32.09	35.47	增强对巨噬细胞的免疫活性	[28]
果胶-茶多酚	73.24	1	63.27	30.78	32.54		
果胶-龙胆酸	69.51	1	61.70	28.32	31.74		

† —表示文献未报道。

3.2 抗肿瘤活性

多酚对结肠癌、乳腺癌、肝癌、肺癌、白血病、前列腺癌、宫颈癌和皮肤癌细胞具有抗增殖活性。抗增殖活性可能与多酚的细胞毒性作用有关,导致细胞周期阻滞,随后癌细胞凋亡^[38]。Mundlia等^[22]利用 NIH:OVCAR-5 细胞研究了柚皮素-果胶接枝复合物的抗癌作用。细胞毒性分析显示,果胶-柚皮素复合物对该细胞的活性影响为浓度依赖性下降,而纯柚皮素对该细胞无明显影响,当只添加果胶培养细胞时,细胞仍能良好生长,而加入果胶-柚皮素复合物后细胞有明显死亡的现象,由此推断接枝物的抗癌活性强于柚皮素的。这种抗癌活性的改变是通过改变多酚的水溶性实现的,尽管可以观察到抗癌活性的变化,但仍需要细胞内化和 3D 细胞培养模型等方法对抗癌活性的作用机制作进一步研究。

3.3 抗菌活性

鉴于苯甲酸、山梨酸、苯甲酸钠等常用抗菌药物可能

存在毒性,迫切需要开发天然抗菌药物^[39]。与纯果胶相比,多酚-果胶复合物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、假单胞菌、枯草芽孢杆菌、粪肠球菌和单核增生李斯特菌的抗菌作用增强。Liu等^[26]发现,PHBA、DHBA 和 GA 与果胶接枝的复合物对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌的抑菌性能强于原果胶,可能是多酚的掺入抑制了细菌细胞膜形成、破坏细菌细胞壁通透性等。虽然改性果胶的抑菌机理有待进一步探索,但与天然果胶相比,其优异的抑菌活性可大大拓展其在食品包装和保鲜方面的应用。同时,Mundlia等^[22]报道果胶-柚皮素复合物对金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、枯草芽孢杆菌、大肠杆菌和铜绿假单胞菌的最低抑菌浓度值低于柚皮素。说明果胶-柚皮素复合物具有更好的抗菌活性,可能是由于两亲性的果胶-柚皮素复合物比疏水性柚皮素具有更大的水溶性和渗透性。综上,多酚-果胶复合物的抗菌性能是通过接枝疏水性多酚,改变了接枝共聚物的水溶性和渗透性,从

而对细菌细胞壁和细胞质膜造成不可逆损伤来实现。因此,接枝多酚的种类不同,对菌株抑制能力也不同。

4 多酚—果胶复合物的潜在应用

4.1 食品的活性包装

通过在传统包装材料中加入具有抗氧化和抗菌的活性成分,可开发出活性包装薄膜。出于对健康的考虑,目前活性包装的研究主要集中在利用天然成分制作的可生物降解的包装材料。食用果胶薄膜因其无毒、可生物降解、具有生物相容性和固有的抗菌性能而被认为是一种有效的包装材料^[40]。Huang 等^[27]将 EGCG 共价接枝到果胶上,成功制备了一种可食用涂层,该涂层具有良好的抗氧化活性和抗菌活性。与 EGCG 和果胶直接混合相比,共价接枝制备的可食用涂层在新鲜葡萄表面具有良好的润湿性和包衣效果,延长了葡萄的保质期并保证了葡萄的品质。Akretche 等^[31]通过 V₂O₅/H₂O₂ 体系直接将橄榄磨废水中的多酚化合物接枝到果胶膜上,而无需预先提取多酚,过程简单、工业可扩展且生态友好。该抗氧化生物基聚合物薄膜可生物降解,可以作为潜在的包装薄膜材料,用于提高不同食品系统模型中产品的抗氧化活性和保存能力。

4.2 改善食品中不愉快气味

缩合单宁是广泛存在于蔬菜和水果中的低聚和聚合黄烷醇。含有浓缩单宁的食物,如柿子,具有抗氧化活性、抗炎活性和预防动脉粥样硬化等多种益处,但由于其强烈的苦味和涩味,对食物的感官质量产生负面影响。食物或饮料中单宁酸的苦味和涩味来自这些物质与唾液蛋白的相互作用^[41]。缩合单宁可以与其他大分子或食物成分相互作用,这种相互作用可以影响酚类化合物的运输和生物利用率,并中断多酚与蛋白质的相互作用。Mamet 等^[18]研究发现,果胶与柿子共混后可以减少涩味的产生,这是因为果胶与单宁通过氢键和疏水作用形成了复合物,且高甲基化的果胶关联性更强,使得涩味降低,这一发现有助于进一步研究果胶对柿子口感和功能性食品配料的影响。Zhang 等^[17]研究了山楂汁中果胶与多酚的相互作用,二者之间的相互作用主要通过氢键和范德华力进行,而静电和疏水相互作用不占主导地位,且该相互作用减少了果汁中不愉快气味物质的产生。

4.3 药物的传输

果胶因其易降解、相容性好、安全性好、可用性好等优点,被广泛应用于医药工业中^[42]。除了作为药物分子的物理载体外,果胶也被用于化学共轭药物的递送。Mundlia 等^[21]用 DCC 和 DMAP 化学合成法制备了果胶—姜黄素复合物,通过硅分子机制预测和模拟了姜黄素与果胶的相互作用以及生物活性物质在果胶附近的几何定

位,证实了复合材料的稳定性和产物的形成。此外,复合物在模拟肠道液中表现出缓释作用,在酸性 pH 下姜黄素的释放速度更快,表明其可用于靶向肿瘤细胞的酸性环境,且在食管癌细胞系中得到证实,具有改善肠道通透性、口服生物利用率和抗肿瘤功效。Mundlia 等^[22]用 DCC 和 DMAP 化学合成法制备了果胶—柚皮素复合物,临界胶束浓度低,稳定性好,可在水溶液中自组装形成高分子胶束,且接枝后的复合物抗氧化和抗菌性能都得到提升。此外,果胶—柚皮素复合物在模拟胃肠道液体中表现出缓释特征,在酸性条件下释放更快,对杀死酸性环境下的癌细胞具有治疗优势,通过对卵巢癌细胞的细胞毒性证实其具有抗癌活性,且更高的溶解度能够增强其递送。但这些研究都缺少动物体内试验数据,无法真正确定其细胞毒性。

5 结论与展望

果胶与多酚的接枝可通过非共价结合(氢键、疏水、静电作用)和共价结合(化学偶联、酶催化、自由基介导)的方法来实现。在所有合成法中,自由基诱导接枝法是合成多酚接枝果胶复合物最节省成本、最环保、最具发展前景的方法。但自由基法合成的多酚接枝果胶的接枝效率还需通过优化反应参数来提高。为了证实多酚化合物是否成功接枝到果胶上,常用的表征手段有紫外可见光谱、傅里叶红外光谱、核磁共振氢谱、扫描电子显微镜、X 射线衍射、差示扫描量热法和热重分析等。目前,仍有许多问题需要解决。

(1) 对多酚—果胶复合物的详细结构特征,如连接位置和分布模式尚不清楚,这极大地阻碍了构效关系的建立。未来,二维 NMR 等技术可以更好地阐明多酚接枝果胶的详细结构。多酚接枝果胶已被证明具有多种体外生物活性,然而,有关多酚—果胶复合物的体内生物活性研究较少,迫切需要更多的动物和/或临床试验来阐明这些复合物的毒理学、生物利用率和代谢。

(2) 果胶与多酚的结合能够改善食品中的不愉快气味,也可以进一步发展成膜、水凝胶、胶束和乳液等不同的形态,在食品和制药工业中有着广泛的应用,但现有的合成方法还不能满足大规模生产的要求,不同批次生产的复合物不一致,限制了其商业应用。

(3) 对多酚—果胶复合物的详细结构仍需研究,多酚—果胶复合物的安全性问题仍要重视,需要更深入的细胞和动物试验来揭示多酚与果胶的作用机制;而且目前多酚—果胶复合物的应用较少,特别是在其他领域的应用仍有必要进一步拓展。

参考文献

[1] GAO H X, HE Z, SUN Q, et al. A functional polysaccharide

- film forming by pectin, chitosan, and tea polyphenols[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 215: 1-7.
- [2] CIRIMINNA R, FIDALGO A, MENEGUZZO F, et al. Pectin: a long-neglected broad-spectrum antibacterial[J]. *Chem Med Chem*, 2020, 15(23): 2 228-2 235.
- [3] NOREEN A, NAZLI Z I H, AKRAM J, et al. Pectins functionalized biomaterials; a new viable approach for biomedical applications: a review[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 101: 254-272.
- [4] WILLATS W G T, MCCARTNEY L, MACKIE W, et al. Pectin: cell biology and prospects for functional analysis[J]. *Plant Molecular Biology*, 2001, 47(1/2): 9-27.
- [5] MA X B, CHI C D, PU Y F, et al. Conjugation of soy protein isolate (SPI) with pectin: effects of structural modification of the grafting polysaccharide[J]. *Food Chemistry*, 2022, 387: 132876.
- [6] BASAK S, ANNAPURE U S. Trends in "green" and novel methods of pectin modification: a review[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2022, 278: 118967.
- [7] 张迪, 付美玲, 费丛璇, 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.
- ZHANG D, FU M L, FEI C X, et al. Research progress on preparation and characteristics of polysaccharide plant protein complex[J]. *Food & Machinery*, 2024, 40(3): 233-240.
- [8] ZHANG W T, SUN J, LI Q, et al. Free radical-mediated grafting of natural polysaccharides such as chitosan, starch, inulin, and pectin with some polyphenols: synthesis, structural characterization, bioactivities, and applications: a review[J]. *Foods*, 2023, 12(19): 3 688.
- [9] XIE F, YANG W L, XING M X, et al. Natural polyphenols-gut microbiota interactions and effects on glycolipid metabolism via polyphenols-gut-brain axis: a state-of-the-art review[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2023, 140: 104171.
- [10] WANG Y, XIE Y, WANG A D, et al. Insights into interactions between food polyphenols and proteins: an updated overview [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2022, 46(5): e16597.
- [11] SINGLA R K, DUBEY A K, GARG A, et al. Natural polyphenols: chemical classification, definition of classes, subcategories, and structures[J]. *Journal of Aoac International*, 2019, 102(5): 1 397-1 400.
- [12] ZEKURMAH M, BEGUA P, RAZAK A, et al. Role of dietary polyphenols in non-communicable chronic disease prevention, and interactions in food systems: an overview[J]. *Nutrition*, 2023, 112 : 112034.
- [13] XU Y A, WEI Z H, XUE C H, et al. Covalent modification of zein with polyphenols: a feasible strategy to improve antioxidant activity and solubility[J]. *Journal of Food Science*, 2022, 87(7): 2 965-2 979.
- [14] KARAKI N, ALJAWISH A, MUNIGLIA L, et al. Physicochemical characterization of pectin grafted with exogenous phenols[J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 60: 486-493.
- [15] RAGHAV N, VASHISTH C, MOR N, et al. Recent advances in cellulose, pectin, carrageenan and alginate-based oral drug delivery systems[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 244: 125357.
- [16] 王丽颖, 李福香, 杨雅轩, 等. 多糖与多酚相互作用机制及其对多酚特性的影响研究进展[J]. *食品科学*, 2017, 38(11): 276-282.
- WANG L Y, LI F X, YANG Y X, et al. Progress in the mechanism of interaction between polysaccharides and polyphenols and their influence on their properties[J]. *Food Science*, 2017, 38(11): 276-282.
- [17] ZHANG X, LI M, ZHAO W, et al. Hawthorn juice simulation system for pectin and polyphenol adsorption behavior: kinetic modeling properties and identification of the interaction mechanism[J]. *Foods*, 2022, 11(18): 2 813.
- [18] MAMET T, GE Z Z, ZHANG Y, et al. Interactions between highly galloylated persimmon tannins and pectins[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 106: 410-417.
- [19] LIU X, RENARD C M G C, ROLLAND-SABATÉ A, et al. Exploring interactions between pectins and procyanidins: structure-function relationships[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 113: 106498.
- [20] FU W, LI S, HELMICK H, et al. Complexation with polysaccharides enhances the stability of isolated anthocyanins [J]. *Foods*, 2023, 12(9): 1 846.
- [21] MUNDLIA J, AHUJA M, KUMAR P, et al. Pectin-curcumin composite: synthesis, molecular modeling and cytotoxicity[J]. *Polymer Bulletin*, 2018, 76(6): 3 153-3 173.
- [22] MUNDLIA J, AHUJA M, KUMAR P, et al. Improved antioxidant, antimicrobial and anticancer activity of naringenin on conjugation with pectin[J]. *Biotech*, 2019, 9(8): 312.
- [23] AHN S, HALAKE K, LEE J. Antioxidant and ion-induced gelation functions of pectins enabled by polyphenol conjugation[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 101: 776-782.
- [24] KARAKI N, ALJAWISH A, MUNIGLIA L, et al. Functionalization of pectin with laccase-mediated oxidation products of ferulic acid[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2017, 104: 1-8.
- [25] ZHANG G, HUANG B, ZHENG C, et al. Investigation of a lipase-catalyzed reaction between pectin and salicylic acid and its isomers and evaluation of the emulsifying properties, antioxidant activities, and antibacterial activities of the corresponding products[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(4): 1 234-1 241.

- [26] LIU J, WANG T, HUANG B, et al. Pectin modified with phenolic acids: evaluation of their emulsification properties, antioxidation activities, and antibacterial activities[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 174: 485-493.
- [27] HUANG X, HONG M, WANG L, et al. Bioadhesive and antibacterial edible coating of EGCG-grafted pectin for improving the quality of grapes during storage[J]. *Food Hydrocolloids*, 2023, 136: 108255.
- [28] 杨鹤隽. 柑橘果胶与酚酸自由基接枝共聚物结构表征及生物活性研究[D]. 黑龙江: 八一农垦大学, 2022: 1-41.
- YANG H J. Structural characterization and biological activity of citrus pectin graft copolymer with phenolic acid radical[D]. Heilongjiang: Bayi Agricultural Reclamation University, 2022: 1-41.
- [29] WANG C, CAI W D, YAO J, et al. Conjugation of ferulic acid onto pectin affected the physicochemical, functional and antioxidant properties[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2020, 100(15): 5 352-5 362.
- [30] REN Y, YU D, WU J, et al. Preparation and physicochemical properties characterization of hesperetin-grafted pectin conjugate[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 243: 124887.
- [31] AKRETICHE H, PIERRE G, MOUSSAOUI R, et al. Valorization of olive mill wastewater for the development of biobased polymer films with antioxidant properties using eco-friendly processes[J]. *Green Chemistry*, 2019, 21(11): 3 065-3 073.
- [32] SHI Z J, YANG H Y, JIAO J Y, et al. Effects of graft copolymer of chitosan and salicylic acid on reducing rot of postharvest fruit and retarding cell wall degradation in grapefruit during storage[J]. *Food Chemistry*, 2019, 283: 92-100.
- [33] CURCIO M, PUOCI F, IEMMA F, et al. Covalent insertion of antioxidant molecules on chitosan by a free radical grafting procedure[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(13): 5 933-5 938.
- [34] LIU J, LU J F, KAN J, et al. Synthesis, characterization and in vitro anti-diabetic activity of catechin grafted inulin[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2014, 64: 76-83.
- [35] WORANUCH S, YOKSAN R. Preparation, characterization and antioxidant property of water-soluble ferulic acid grafted chitosan[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2013, 96(2): 495-502.
- [36] XU C, GUAN S, XU J, et al. Preparation, characterization and antioxidant activity of protocatechuic acid grafted carboxymethyl chitosan and its hydrogel[J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 252: 117210.
- [37] PAINI M, ALIAKBARIAN B, CASAZZA A A, et al. Chitosan/dextran multilayer microcapsules for polyphenol co-delivery [J]. *Materials Science & Engineering C-Materials for Biological Applications*, 2015, 46: 374-380.
- [38] LIU J, PU H, LIU S, et al. Synthesis, characterization, bioactivity and potential application of phenolic acid grafted chitosan: a review[J]. *Carbohydr Polym*, 2017, 174: 999-1 017.
- [39] YONG H M, BAI R Y, BI F Y, et al. Synthesis, characterization, antioxidant and antimicrobial activities of starch aldehyde-quercetin conjugate[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 156: 462-470.
- [40] ZHU F. Polysaccharide based films and coatings for food packaging: effect of added polyphenols[J]. *Food Chemistry*, 2021, 359: 129871.
- [41] WATRELOT A A, SCHULZ D L, KENNEDY J A. Wine polysaccharides influence tannin-protein interactions[J]. *Food Hydrocolloids*, 2017, 63: 571-579.
- [42] ACEVEDO-FANI A, SOLIVA-FORTUNY R, MARTÍN-BELLOSO O. Nanostructured emulsions and nanolaminates for delivery of active ingredients: improving food safety and functionality[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2017, 60: 12-22.