

凉粉草多糖提取、结构特征和生物活性研究

Extraction process, structural characteristics and biological activity of *Mesona chinensis* polysaccharide

董伟^{1,2} 马生健¹ 郭俊先² 罗皓² 陶美华¹

DONG Wei^{1,2} MA Sheng-jian¹ GUO Jun-xian² LUO Hao² TAO Mei-hua¹

(1. 岭南师范学院生命科学与技术学院, 广东 湛江 524048; 2. 新疆农业大学机电工程学院, 新疆 乌鲁木齐 830052)

(1. College of Life Sciences and Technology, Lingnan Normal University, Zhanjiang, Guangdong 524048, China; 2. School of Mechanical and Electrical Engineering, Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang 830052, China)

摘要:目的:提高凉粉草多糖(MCP)提取率,拓展其应用范围。方法:以新鲜凉粉草为原料,采用热碱法提取,三氯乙酸除蛋白,经透析袋纯化得MCP。利用紫外和红外光谱扫描、X射线衍射、SEM扫描对其化学结构进行分析,通过体外抗氧化能力测定其抗氧化活性,通过抑菌试验测定其抑菌活性。结果:热碱法提取MCP的最优条件为料液比1:5.47(g/mL)、热浸时间10.71 min、碳酸氢钠添加量1.64%,此条件下MCP提取率为(7.73±0.17)%;光谱分析得出MCP中含蛋白质和糖醛酸,且为β-糖苷键的吡喃糖苷环骨架;凉粉草多糖对DPPH自由基和ABTS自由基的最大清除率为66.35%,79.63%,还原力最大吸光度为1.431;抑菌试验表明,MCP对枯草芽孢杆菌的生长起抑制作用。结论:优化的凉粉草多糖提取工艺合理可行,多糖光谱共性特征明显,且具有较好的抗氧化能力和抑菌能力。

关键词:凉粉草;多糖;碱提醇沉法;结构表征;生物活性

Abstract: Objective: This study focused on improving the extraction rate and application of *Mesona chinensis* polysaccharide (MCP). Methods: MCP was obtained from fresh *M. chinensis* by thermally alkaline extraction, protein removal by trichloroacetic acid and purification by dialysis bag. The chemical structure was analyzed by ultraviolet and infrared spectrum scanning, X-ray diffraction and SEM scanning. The antioxidant activity was deter-

mined by *in vitro* antioxidant capacity, and the antibacterial activity was determined by antibacterial experiment. Results: The optimal extraction conditions of MCP were solid-liquid ratio of 1:5.47 (g/mL), soaking time of 10.71 min, sodium bicarbonate concentration of 1.64%. Under the control of these conditions, the extraction yield of MCP was (7.57±0.63)%. The spectral analysis showed that MCP contained protein and uronic acid and was a pyranoside ring framework with β-glycosidic bond. The maximum scavenging rates of polysaccharides from *M. chinensis* on DPPH and ABTS free radicals were 66.35% and 79.63%, respectively, and the maximum absorbance of reducing power was 1.431; Antibacterial experiments showed that MCP inhibited the growth of *Bacillus subtilis*. Conclusion: The optimized extraction process is reasonable and feasible for MCP. The polysaccharide spectrum has obvious common characteristics and has good antioxidant ability and antibacterial ability.

Keywords: *Mesona chinensis*; polysaccharides; response surface; structural characterization; biological activity

凉粉草(*Mesona chinensis* Benth., MCB)又名仙草、仙人掌草、草蓼、鲜草等^[1],系唇形科凉粉草属一年生草本宿根型植物^[2]。凉粉草具有消暑解渴、解毒利尿的功效,民间常用作夏天清凉饮料,富含多糖、酚类、黄酮等活性成分^[3-7]。

凉粉草多糖(*Mesona chinensis* polysaccharide, MCP)具有抗氧化、抗糖尿病、免疫调节等功效,还有良好的热稳定性和促凝性,在食品和制药工业中常被用作增稠剂、稳定剂、凝胶剂^[8-9]。目前,提取多糖的方法主要有水提法、碱提法、微波提取和酶提取法等,但操作时间长、成本高、投入大。碱提醇沉法具有提取时间短、成本低、易操作等优点,常被用来提取植物多糖。研究拟以新鲜凉粉

基金项目:广东省科技专项资金(编号:2020A03027);湛江市科技发展专项资金(编号:2020A03006);粤西特色生物医药工程技术研究中心开放课题(编号:2022-K12)

作者简介:董伟,男,新疆农业大学与岭南师范学院联合培养在读硕士研究生。

通信作者:马生健(1978—),男,岭南师范学院副教授,博士。

E-mail: mashengjian1@163.com

收稿日期:2022-02-24 **改回日期:**2022-06-10

草为材料,采用响应面优化碱提醇沉法提取多糖,并探究多糖的结构特征及生物活性,为凉粉草多糖的开发应用提供依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

凉粉草:匍匐型,经岭南师范学院陈燕教授鉴定,其种苗繁殖技术由广东省热带植物工程技术开发中心建立,种植于岭南师范学院科研试验基地;

铁氰化钾、碳酸氢钠:分析纯,天津科密欧试剂有限公司;

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸(ABTS)、牛血清蛋白:分析纯,福州飞净生物科技有限公司;

考马斯亮蓝 G-250、苯酚、三氯化铁:分析纯,国药集团化学试剂有限公司;

抗坏血酸(V_C):分析纯,西陇科学股份有限公司;

氯化钠、无水乙醇、浓硫酸、三氯乙酸等:分析纯,广州化学试剂厂。

1.2 仪器与设备

电磁炉:GLMS9300A型,广州红三角电器实业有限公司;

电子分析天平:FA2204型,宁波市鄞州华丰电子仪器厂;

多功能商用豆浆机:FY-1055,中山市巴博莎电器有限公司;

高速冷冻离心机:SORVALL RC6 plus型,德国赫默公司;

电热恒温干燥箱:DHG-9037A型,上海跃进医疗器械厂;

同步热分析仪:STA 6000型,美国PerkinElmer公司;

紫外可见分光光度计:UV-8453型,美国Agilent公司;

傅里叶变换红外光谱仪:Nicolet 6700型,美国Thermo Fisher Scientific公司;

扫描电子显微镜:VEGA3 SBH型,荷兰PHILIPS公司;

X射线衍射仪:X'pert Pro MPD型,荷兰PANalytical公司。

1.3 试验方法

1.3.1 凉粉草多糖提取流程

新鲜凉粉草样品→洗净备用→热水碱提→离心→醇沉→离心→干燥→凉粉草粗多糖

1.3.2 多糖提取率测定 采用苯酚—硫酸法,并按式(1)计算多糖提取率。

$$R = (c \times V) / m \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

c ——凉粉草多糖溶液质量浓度,mg/mL;

V ——多糖溶液体积,mL;

m ——凉粉草样品的质量,mg。

1.3.3 凉粉草多糖提取单因素试验

(1) 碳酸氢钠添加量:称取新鲜凉粉草 100 g,热浸时间 10 min,料液比 1 : 5 (g/mL),考察碳酸氢钠添加量 (0.0%,0.4%,0.8%,1.2%,1.6%,2%,2.4%)对多糖提取率的影响。

(2) 热浸时间:称取新鲜凉粉草 100 g,料液比 1 : 5 (g/mL),碳酸氢钠添加量 1.6%,考察热浸时间 (0,5,10,15,20 min)对多糖提取率的影响。

(3) 料液比:称取新鲜凉粉草 100 g,热浸时间 10 min,碳酸氢钠添加量 1.6%,考察料液比 [1 : 3,1 : 4,1 : 5,1 : 6,1 : 7 (g/mL)]对多糖提取率的影响。

1.3.4 响应面试验 根据响应面中心复合设计原则,在单因素试验的基础上,采用 Design-Expert 8.0.6 软件进行数据分析。采用 Box-Behnken 中心组合设计,进行三因素三水平试验,考察料液比、热浸时间和碳酸氢钠添加量对多糖提取的影响,优化提取工艺。

1.3.5 凉粉草多糖分离纯化 将最优条件获得的粗多糖溶液加入等体积三氯乙酸去除蛋白质,透析去除小分子杂质,蒸发浓缩,冷冻干燥备用。

1.3.6 指标测定

(1) 多糖含量:采用苯酚硫酸法^[10],回归方程 $y = 0.0099x - 0.0214$, $R^2 = 0.9919$ 。

(2) 蛋白质含量:采用考马斯亮蓝法^[11],回归方程 $y = 0.004x - 0.0067$, $R^2 = 0.9939$ 。

(3) 糖醛酸含量:采用硫酸—呋啉法^[12],回归方程 $y = 0.0519x + 0.0032$, $R^2 = 0.9927$ 。

1.3.7 热特性测定 称取 6 mg 干燥的凉粉草多糖,利用热重分析仪对多糖样品进行分析,扫描温度 30~600 °C,加热速率 10 °C/min。

1.3.8 光谱测定

(1) 紫外光谱测定:将多糖溶液配制成质量浓度为 1 mg/mL,采用紫外—分光光度计于 200~600 nm 进行测定。

(2) 红外光谱测定:称取干燥后的多糖样品 1~2 mg,与 30~60 mg 溴化钾于研钵中磨碎,压成透明薄片,测定范围 400~4 000 cm^{-1} 。

1.3.9 X射线衍射 电压 40 kV,电流 40 mA, 2θ 范围下 $8^\circ \sim 35^\circ$ 内进行扫描,以观察多糖颗粒的晶型结构。

1.3.10 体外抗氧化活性测定

(1) DPPH 自由基清除率:根据文献^[13]并修改,配制 0.2 mmol DPPH,以 V_C 为阳性对照。取 DPPH 溶液 2 mL 和不同质量浓度 (0.025~0.175 mg/mL) 多糖样品 2 mL 为样品组,避光放置 30 min,测定 517 nm 处吸光度,并按式(2)计算 DPPH 自由基清除率。

$$A = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100\%, \quad (2)$$

式中:

A—— 氨基清除率, %;

A_i —— 样品组吸光值;

A_j —— 样品干扰试验的液吸光值;

A_0 —— 对照组吸光值。

(2) ABTS 氨基清除率: 根据文献[14]并修改, 配制 ABTS 溶液, 避光反应 8 h, 以 V_c 为阳性对照。取 2 mL 不同质量浓度 (0.025 ~ 0.200 mg/mL) 多糖样品, 加入 4 mL ABTS 溶液摇匀放置 10 min, 测定 734 nm 处吸光度, 并按式(2)计算 ABTS 氨基清除率。

(3) 还原力: 根据文献[15]并修改, 配制不同质量浓度 (0.25 ~ 4.00 mg/mL) 多糖溶液, 以 V_c 为阳性对照, 取 1 mL 样品, 加入磷酸盐缓冲液 (0.2 mol/L, pH 6.6) 和 2.5 mL 0.1% 铁氰化钾溶液, 摇匀, 50 °C 水浴 20 min, 迅速冷却, 加入 2.5 mL 10% 三氯乙酸溶液、2.5 mL 蒸馏水和 0.5 mL 0.1% 三氯化铁溶液, 测定 700 nm 处吸光值, 并按式(3)计算还原力。

$$R = A_i - A_j, \tag{3}$$

式中:

R—— 还原力;

A_i —— 样品吸光值;

A_j —— 多糖溶液吸光值。

1.3.11 凉粉草多糖抑菌活性

(1) 菌种活化及菌悬液的制备: 将菌种接种至酵母膏蛋白胨(LB)培养基, 37 °C 培养 12 h, 转接 1 ~ 2 次。用细牙签挑取少量菌种, 37 °C、200 r/min 培养 12 h。测定 600 nm 处各菌悬液的 OD 值, 以无菌水作对照。

(2) 抑菌圈直径 (inhibitory zone diameter, DIZ) 的测定: 参照 Sun 等[16]的方法。

(3) 提取液对菌生长变化的影响: 参考范明智等[17]的方法。

1.4 数据分析

采用 Origin Pro 2018 软件进行数据分析和作图, Design-Expert 8.0.6 软件对数据进行分析和处理。

2 结果与讨论

2.1 单因素试验

MCP 为可溶性酸性多糖, 易溶于碱性溶液。由图 1(a) 可知, 当碳酸氢钠添加量为 0.0% ~ 1.6% 时, 多糖提取率随碳酸氢钠添加量的增大而迅速增长, 当碳酸氢钠添加量为 1.6% 时达最大 (7.52%), 随着碳酸氢钠添加量的加大, 多糖提取率下降, 是因为凉粉草多糖结构被破坏, 且碱浓度过高会导致 MCP 在食品中应用时产生不良风味[18], 因此选取 1.6% 为碳酸氢钠的最适提取添加量。

由图 1(b) 可知, 当热浸时间为 0 ~ 10 min 时, 多糖得率随热浸时间的延长而增大, 10 min 时达最大值。继续延长热浸时间, 多糖得率反而下降, 是因为前期凉粉草细胞受热破碎, 多糖溶出、得率增大, 随着热浸时间的延长, 高温破坏了多糖结构导致多糖被降解[19]。因此选取 10 min 为最适热浸时间。

由图 1(c) 可知, 当料液比为 1 : 3 ~ 1 : 4 (g/mL) 时多糖含量较低, 此时溶剂较小, 多糖未能充分溶解。当料液比为 1 : 5 (g/mL) 时, 凉粉草与溶剂反应充分, 多糖含量最高。当料液比 > 1 : 5 (g/mL) 时, 其他水溶性组分与多糖展开竞争, 致使多糖溶出率下降。

2.2 响应面法优化凉粉草多糖提取工艺

2.2.1 模型建立及显著性检验 采用 Design-Expert 8.0.6 软件对试验结果进行多元二次回归分析及方差分析, 响应面试验因素水平见表 1, 响应面试验设计及结果见表 2, 方差分析见表 3。多糖提取率的二次多项回归方程为:

$$Y = 7.49 + 0.36A + 0.31B + 0.17C - 0.13AB - 0.23AC + 0.10BC - 1.06A^2 - 1.22B^2 - 0.17C^2. \tag{4}$$

由表 3 可知, 模型 $P < 0.000 1$, 表明该模型相关系数处于显著水平, 可以对该结果进行分析。一次项 A、B 极显著 ($P < 0.01$), C 显著 ($P < 0.05$); 二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 极显著 ($P < 0.01$); 交互项 AB 显著 ($P < 0.05$), AC 极显著 ($P < 0.01$)。此外, 该模型失拟项 P 值不显著, 决定系数 R^2 为 0.995 1, 表明模型拟合度良好, R^2_{adj} 为 0.988 9, 表明方程模型有很高的可信度。变异系数 CV 值为 1.58, 表明

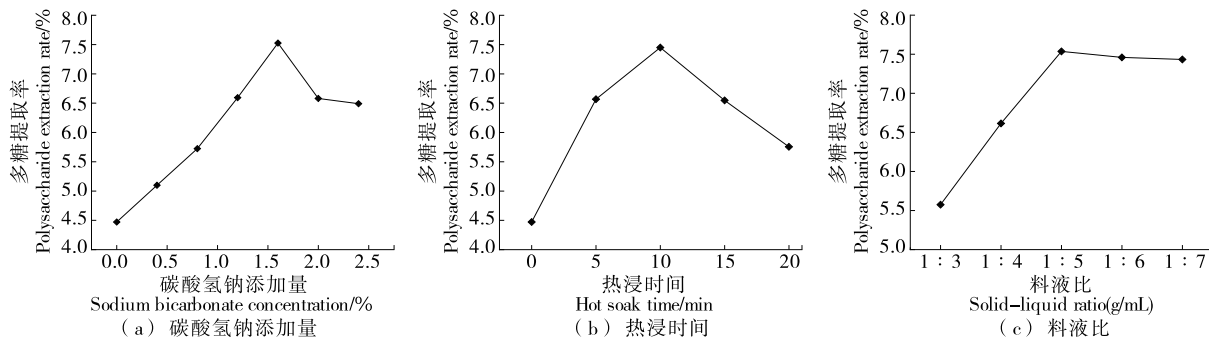


图 1 各因素对凉粉草多糖提取率的影响

Figure 1 Effect of various factors on the extraction yield of MCP

表 1 响应面因素水平设计表

Table 1 Level design table of response surface factors

水平	A 碳酸氢钠 添加量/%	B 热浸时间/ min	C 料液比 (g/mL)
-1	1.2	5	1 : 4
0	1.6	10	1 : 5
1	2.0	15	1 : 6

该模型非常适用于试验数据处理。

由 F 值可知,影响凉粉草多糖提取率的主次因素为 $A(\text{碳酸氢钠添加量}) > B(\text{热浸时间}) > C(\text{料液比})$ 。

2.2.2 各因素交互影响 由图 2(a)和图 2(b)可知,碳酸氢钠添加量方向曲面波动幅度较大,表明该因素对多糖提取率的影响较热浸时间影响显著。由图 2(c)和图 2(d)可知,料液比与热浸时间的交互作用对多糖提取率的影响呈马鞍状分布,当料液比一定时,随着热浸时间的增加多糖提取率先增加后小幅减小;当热浸时间不变时,随着料液比的增加,多糖提取率也先增加后小幅减小,但从等高线分布来看,BC 的交互作用最弱。由图 2(e)和图 2(f)可知,多糖提取率随着碳酸氢钠添加量和料液比的增加先增加后减小,且在碳酸氢钠添加量方向影响较大,说明碳酸氢钠添加量是凉粉草多糖提取率的敏感影响因子。

2.2.3 提取工艺的验证 通过 Design-Expert 8.0.6 软件得出模型最优提取条件为碳酸氢钠添加量 1.64%,热浸时间 10.71 min,料液比 1 : 5.47 (g/mL),预测凉粉草多糖最大提取率为 $(7.57 \pm 0.63)\%$ 。为检验结果的可靠性,进行 3 次平行实验,实测凉粉草多糖提取率为 $(7.73 \pm$

表 2 响应面分析试验设计及结果

Table 2 Test design and results of response surface analysis

试验号	A	B	C	多糖提取率/%
1	0	0	0	7.49
2	0	1	1	6.68
3	0	0	0	7.56
4	-1	-1	0	4.32
5	1	0	-1	6.59
6	0	0	0	7.54
7	0	-1	1	5.88
8	0	-1	-1	5.73
9	-1	0	1	6.38
10	1	-1	0	5.46
11	1	1	0	5.85
12	1	0	1	6.48
13	-1	1	0	5.22
14	0	1	-1	6.12
15	0	0	0	7.43
16	-1	0	-1	5.59
17	0	0	0	7.45

0.17)% ,与预测值接近,说明采用响应面法优化多糖提取工艺具有一定的可行性。

2.3 凉粉草多糖成分分析

经测定,凉粉草多糖总糖含量为 109.51 $\mu\text{g/mL}$,蛋白质含量为 85.521 $\mu\text{g/mL}$,糖醛酸含量为 176.33 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.4 热特性分析

由图 3 可知,MCP 热分解的第一阶段主要集中在

表 3 响应面方差分析表[†]

Table 3 Analysis of variance of response surface

方差来源	平方和	自由度	均方差	F 值	P 值	显著性
模型	14.34	9	1.59	159.39	< 0.000 1	**
A	1.03	1	1.03	102.97	< 0.000 1	**
B	0.77	1	0.77	76.89	< 0.000 1	**
C	0.24	1	0.24	24.15	0.001 7	*
AB	0.07	1	0.07	6.50	0.038 1	*
AC	0.20	1	0.20	20.25	0.002 8	**
BC	0.04	1	0.04	4.20	0.079 5	
A ²	4.75	1	4.75	474.92	< 0.000 1	**
B ²	6.26	1	6.26	626.23	< 0.000 1	**
C ²	0.12	1	0.12	12.46	0.009 6	**
残差	0.07	7	9.99E-003			
失拟项	0.06	3	0.02	6.12	0.056 3	不显著
净误差	0.01	4	3.13E-003			
总和	14.41	16				

[†] * 表示差异显著 ($P < 0.05$), ** 表示差异极显著 ($P < 0.01$); $R^2 = 0.995 1, R_{adj}^2 = 0.988 9$ 。

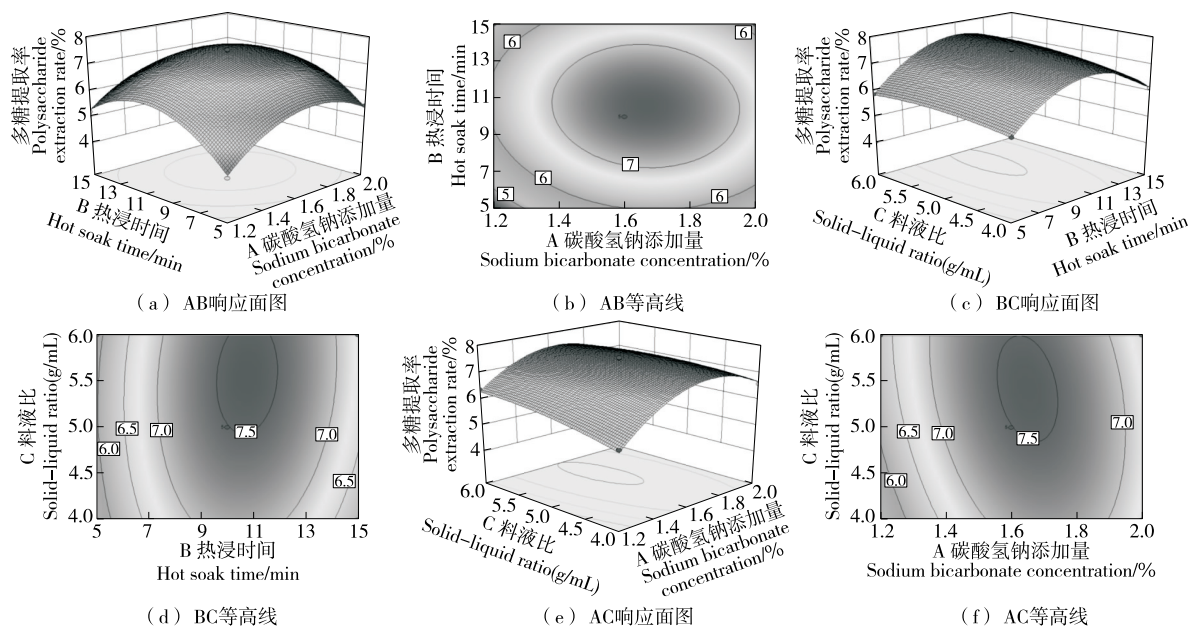


图 2 各因素交互作用的响应面图和等高线图

Figure 2 Response surface diagram and contour diagram of the interaction of various factors

27~167 °C, 此阶段质量损失 0.87 mg, 是多糖中的游离水、结合水和受热易分解的化合物造成的。第二阶段集中在 176~600 °C, 多糖在 167 °C 处出现分解, 该阶段的质量损失为 2.87 mg, 最终残留质量为 1.26 mg, 此阶段多糖因高温导致化学键被破坏而分解^[20]。该结果与肖月欢^[21]测得的两种 MCP 的试验结果一致。在所选温度范围内, MCP 并未因高温被完全分解, 其最终残留质量为 1.26 mg, 表明 MCP 具有较好的热稳定性。

2.5 光谱特性分析

2.5.1 紫外光谱分析 由图 4 可知, 206~280 nm 处有吸收峰, 证明有多糖大分子存在, 280 nm 处出现最大吸收峰, 说明得到的凉粉草多糖存在蛋白质、肽等化合物, 可能为糖蛋白, 与 2.3 测定的蛋白质结果吻合。

2.5.2 傅里叶红外变换光谱分析 由图 5 可知, 多糖红外光谱共性特征明显, 3 401.80 cm^{-1} 处出现 O—H 伸缩振动吸收峰, 2 037.10 cm^{-1} 处有一个较弱的 C—H 伸缩振动峰, 通过这两个特征吸收峰, 可判断受试物为糖类化合物^[22]。1 619.93 cm^{-1} 处出现一个吸收峰, 对应为羧基的非对称伸缩振动引起的吸收峰, 表明多糖含有糖醛酸^[23]。1 508.15 cm^{-1} 处吸收峰归属多糖苯环骨架的伸缩振动, 1 095.90~1 018.00 cm^{-1} 处特征吸收峰为 C—O 和 C—O—C 的伸缩振动, 为吡喃糖的特征吸收峰^[18]。1 415.51, 1 268.74 cm^{-1} 处吸收峰由醇类物质引起, 为 C—H 的变角振动。887.00 cm^{-1} 处吸收峰说明其可能含有 β -糖苷键, 632.29 cm^{-1} 处吸收峰应为醇类含羟基和苯环变角振动与变形振动^[24]。综上, 凉粉草多糖是一种具有 β -糖苷键的吡喃糖型结构的酸性多糖。

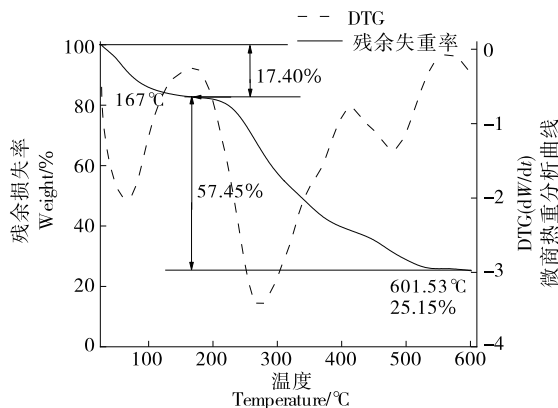


图 3 多糖的残留质量变化曲线以及 DTG 曲线

Figure 3 The residual mass change curves and DTG curves of MCP

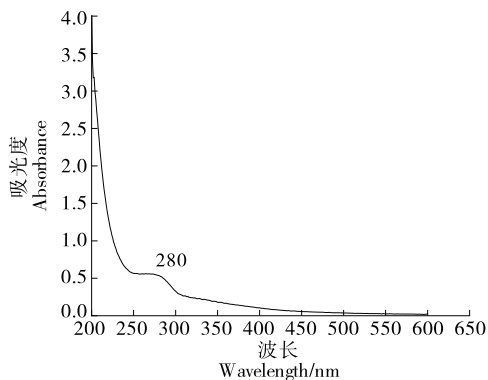


图 4 凉粉草多糖的紫外扫描图谱

Figure 4 Ultraviolet scanning spectrum of MCP

2.6 X射线衍射

由图6可知,在 2θ 为 $8^\circ\sim 35^\circ$ 时,该衍射峰无明显吸收峰,表明凉粉草多糖以非晶形式存在,且X衍射曲线呈光束状^[21]。

2.7 SEM分析

由图7可知,凉粉草多糖表面疏松且有很多密集气孔,呈雪花状,层层叠起,还有很多细小颗粒附在片状物质表面,使多糖呈现较为蓬松质轻的形态。

2.8 抗氧化试验

由图8(a)可知,凉粉草多糖对DPPH自由基清除率随

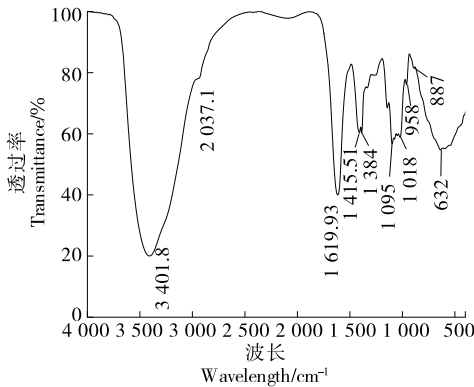


图5 多糖的红外光谱图

Figure 5 FTIR spectra of MCP

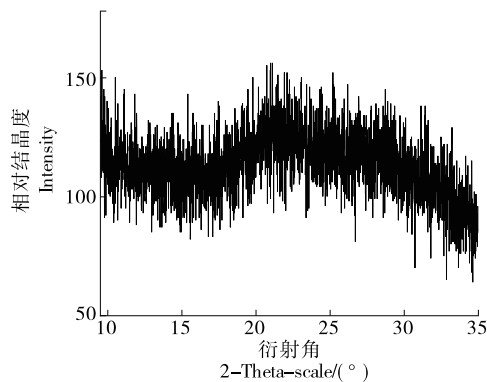


图6 多糖X射线衍射图

Figure 6 X-ray diffraction spectra of MCP

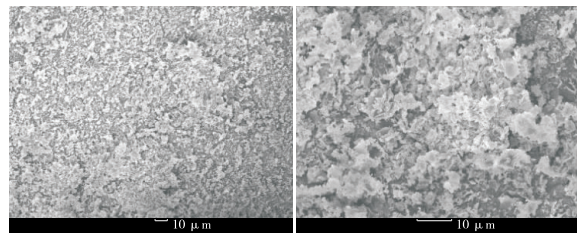


图7 多糖的SEM图

Figure 7 SEM image of MCP

质量浓度的升高而升高,当多糖质量浓度为 0.175 mg/mL 时,其对DPPH自由基清除率达 66.35% 。林丽华^[18]研究发现, 1.6 mg/mL 的凉粉草多糖对DPPH自由基清除率的 IC_{50} 值为 $19.13\ \mu\text{g/mL}$ 。综上,新鲜凉粉草多糖具有良好的DPPH自由基清除能力。

由图8(b)可知,随着质量浓度的升高,凉粉草多糖对ABTS自由基的清除率升高,当多糖质量浓度为 0.175 mg/mL 时,其对ABTS自由基的清除率高达 79.63% 。曹媛媛等^[26]研究发现,添加 4% 凉粉草提取物时,其对ABTS自由基清除率为 67% ;宋晓娟等^[25]研究发现,凉粉草提取物在所选浓度范围内,对ABTS自由基清除率的 IC_{50} 值为 $18.20\ \mu\text{g/mL}$ 。因此,新鲜凉粉草多糖具有良好的ABTS自由基清除能力。

由图8(c)可知,在 $0\sim 4\text{ mg/mL}$ 质量浓度范围内,随着多糖质量浓度的增加,吸光度变大,还原能力增大,当多糖质量浓度为 4 mg/mL 时,其吸光度可达 1.431 ,高于林大成等^[27]的结果,说明凉粉草多糖的还原能力接近 V_C ,具有一定的还原能力。

2.9 抑菌活性

2.9.1 凉粉草多糖提取液抑菌活性及DIZ分析 抑菌圈直径可以反映菌种对多糖的敏感性,直径 $>20\text{ mm}$ 为高度敏感, $14\sim 20\text{ mm}$ 为中度敏感, $<8\text{ mm}$ 为不敏感^[28]。由图9可知, 1.2 g/mL 提取物对枯草芽孢杆菌的抑菌圈直径分别为 (8.93 ± 0.01) , $(10.24\pm 0.02)\text{ mm}$,对大肠杆菌的抑菌圈直径为 $(7.84\pm 0.02)\text{ mm}$,表明提取物对枯草

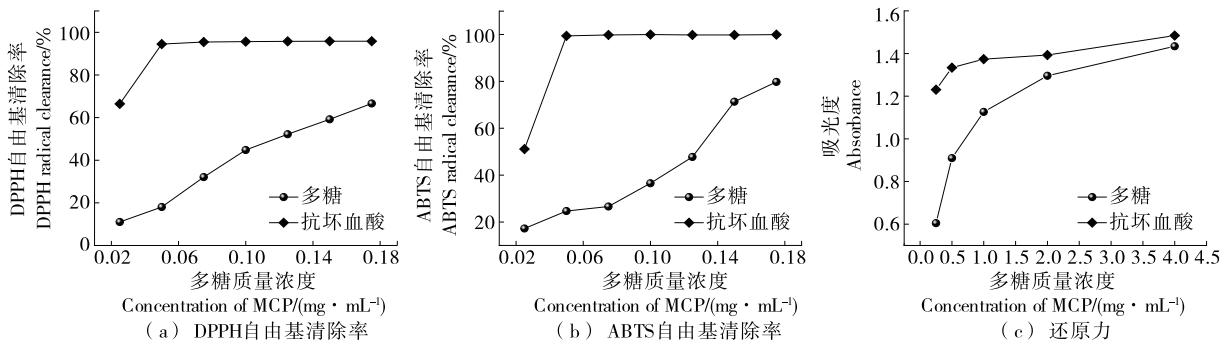


图8 凉粉草多糖的体外抗氧化活性

Figure 8 In vitro antioxidant results of MCP

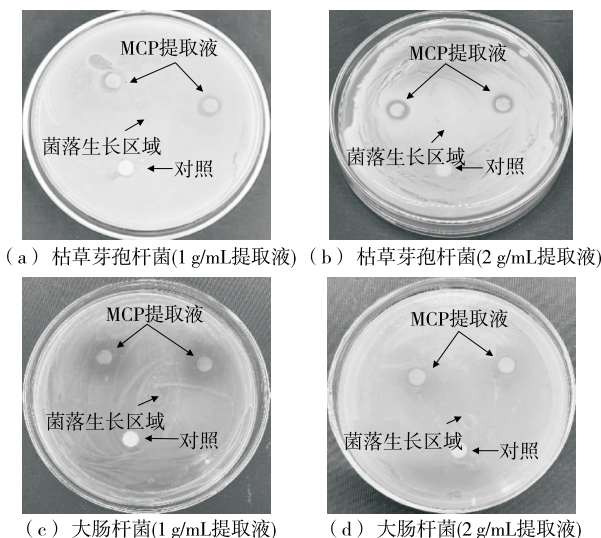


图 9 凉粉草多糖的抗菌图谱

Figure 9 Antibacterial spectrum of MCP

芽孢杆菌的抑制作用最强。

2.9.2 凉粉草多糖对枯草芽孢杆菌生长的影响 由图 10 可知,以蒸馏水为对照,枯草芽孢杆菌的生长速率在选定范围内呈线性增加,而添加 MCP 后,枯草芽孢杆菌生长速率明显被抑制,与多糖对枯草芽孢杆菌敏感性试验结果一致,说明 MCP 具有一定的抑菌作用。

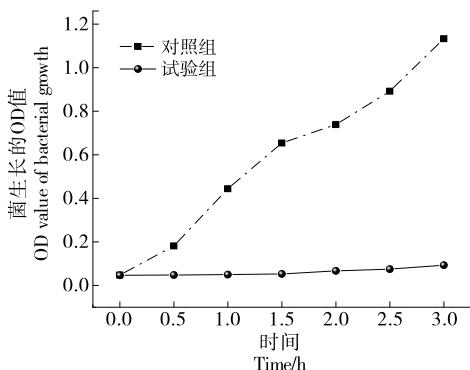


图 10 凉粉草多糖对枯草芽孢杆菌生长的影响

Figure 10 Effects of MCP on the growth of bacillus subtilis

3 结论

采用碱提醇沉法,结合响应面优化了新鲜凉粉草的提取工艺。结果表明,凉粉草多糖最优提取条件为碳酸氢钠添加量 1.64%,热浸时间 10.71 min,料液比 1 : 5.47 (g/mL),此时凉粉草多糖提取率为(7.73±0.17)%。光谱分析结果显示,凉粉草多糖为酸性多糖,且具有β-糖苷键的吡喃糖型结构;X 衍射图谱显示多糖曲线呈光束状,以非晶体形式存在;SEM 结果显示,多糖表面形貌为浅蓬松状。体外抗氧化活性结果表明,多糖对 DPPH 自由基、ABTS 自由基清除率分别高达 66.35%,79.63%,具

有较强的抗氧化活性。抑菌试验表明,凉粉草多糖能有效抑制枯草芽孢杆菌的生长,但抑菌机理还有待探究。

参考文献

[1] 黄家晋. 凉粉草总多酚、总多糖化学成分分析及降血糖活性研究[D]. 广州: 广东工业大学, 2021: 1-2.
 HUANG J J. Study on constituents and hypoglycemic of total polyphenols and polysaccharides from *Mesona chinensis* Benth [D]. Guangzhou: Guangdong University of Technology, 2021: 1-2.

[2] 林丽华, 黄莉鑫, 谢建华. 凉粉草功能活性成分及其生物活性研究进展[J]. 食品工业科技, 2016, 37(20): 356-359.
 LIN L H, HUANG L X, XIE J H. Review on main chemical constituents and biological activities of *Mesona chinensis* [J]. Food Industry Science and Technology, 2016, 37(20): 356-359.

[3] 王海华. 凉粉草成分功效及提取方法的研究进展[J]. 中国药房, 2014, 25(27): 2 584-2 587.
 WANG H H. Research progress on the efficacy and extraction methods of the components of *Mesona chinensis*[J]. Chinese Pharmacy, 2014, 25(27): 2 584-2 587.

[4] HAN K, JIN C, CHEN H J, et al. Structural characterization and anti-A549 lung cancer cells bioactivity of a polysaccharide from *Houttuynia cordata*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 120: 288-296.

[5] YANG Z W, ZHAO J, WANG J, et al. Effects of Cyclocaryapaliurus polysaccharide on lipid metabolism-related genes DNA methylation in rats[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 123: 343-349.

[6] FENG T, YE R, ZHUANG H N, et al. Physicochemical properties and sensory evaluation of *Mesona Blumes* gum/rice starch mixed gels as fat-substitutes in Chinese cantonese-style sausage[J]. Food Research International, 2013, 50(1): 85-93.

[7] 赵志国, 石云平, 黄宁珍, 等. 中国凉粉草属植物研究进展[J]. 南方农业学报, 2011, 42(6): 657-660.
 ZHAO Z G, SHI Y P, HUANG N Z, et al. The research on *Mesona chinensis* Benth in China[J]. Journal of Southern Agriculture, 2011, 42(6): 657-660.

[8] LIN L H, XIE J H, LIU S C, et al. Polysaccharide from *Mesona chinensis*: Extraction optimization, physicochemical characterizations and antioxidant activities[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 99: 665-673.

[9] 游刚, 赖玉坪, 牛改改, 等. 仙草胶对淀粉—鱼糜凝胶特性和体外消化性的影响[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(18): 81-87.
 YOU G, LAI Y P, NIU G G, et al. Effects of hsian-tsoo gum on the gel propertie and in vitro digestibility of starch-added surimi gel[J]. Food and Fermentation Industry, 2022, 48(18): 81-87.

[10] 王文洁, 唐炜, 俞玲娜, 等. 蒽酮—硫酸法与苯酚—硫酸法测定凉粉草多糖的比较[J]. 食品科技, 2017, 42(9): 274-279.
 WANG W J, TANG W, YU L N, et al. Comparison of anthrone-sulfuric and phenol-sulfuric acid methods for determination of polysaccharide in *Mesona Blume* [J]. Food Science and

- Technology, 2017, 42(9): 274-279.
- [11] LI W M, WANG Y J, WEI H L, et al. Structural characterization of Lanzhou lily (*Lilium davidii* var. *unicolor*) polysaccharides and determination of their associated antioxidant activity[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020, 100(15): 5603-5616.
- [12] 段旭, 冉军舰, 孙俊良, 等. 甘薯渣多糖的提取工艺优化、结构鉴定及其功能活性研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(8): 228-237.
- DUAN X, RAN J J, SUN J L, et al. Study on extraction process optimization, structure identification and functional activity of polysaccharide from sweet potato residue [J]. Food Industry Technology, 2022, 43(8): 228-237.
- [13] 赵巧丽, 刘玉革, 林丽静, 等. 芒果皮渣多糖提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 保鲜与加工, 2019, 19(1): 102-110.
- ZHAO Q L, LIU Y G, LIN L J, et al. Optimization of extraction technique of polysaccharides from mango pomace and its antioxidant activities evaluation[J]. Preservation and Processing, 2019, 19(1): 102-110.
- [14] 林栋, 管洪兰, 陈银, 等. 体外模拟消化对薏米多酚及其抗氧化活性的影响[J]. 食品科技, 2020, 45(12): 201-207.
- LIN D, GUAN H L, CHEN Y, et al. Effect of in vitro simulated digestion on phenolic compounds and antioxidant of coix seed[J]. Food Technology, 2020, 45(12): 201-207.
- [15] 胡栋宝, 杜薇, 杨猛. 响应面法优化巨大口蘑多糖提取工艺及抗氧化活性[J]. 中国调味品, 2021, 46(10): 78-82.
- HU D B, DU W, YANG M. Optimization of extraction process of polysaccharides from tricholomogiganteum and antioxidant activity by response surface methodology[J]. Chinese Condiment, 2021, 46(10): 78-82.
- [16] SUN T, SHI Y, MAO Y X, et al. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil isolated from *Flos Lonicerae* (Flower Buds of *Lonicera macranthoides* Hand-Mazz.) [J]. Natural Product Communications, 2021, 16(4): 1934578X211008318.
- [17] 范明智, 安晓丽, 李学峰, 等. 东革阿里不定根提取物的抑菌活性研究[J]. 延边大学农学报, 2021, 43(3): 8-13.
- FAN M Z, AN X L, LI X F, et al. Antibacterial activity of adventitious root extract of *Eurycoma longifolia* Jack[J]. Journal of Agronomy of Yanbian University, 2021, 43(3): 8-13.
- [18] 林丽华. 凉粉草多糖提取优化、理化性质及流变凝胶特性研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2017: 10-11.
- LIN L H. Study on extraction optimization, physicochemical characterizations, rheological and gelling properties [D]. Nanchang: Nanchang University, 2017: 10-11.
- [19] 杨燕敏, 郑振佳, 高琳, 等. 红枣多糖超声波提取、结构表征及抗氧化活性评价[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(5): 120-126.
- YANG Y M, ZHENG Z J, GAO L, et al. Ultrasonic extraction of jujube polysaccharide and its structure and antioxidant activity characterization[J]. Food and Fermentation Industry, 2021, 47(5): 120-126.
- [20] 张超, 施洋, 刘咏, 等. 三棱多糖的理化特性及生物活性研究[J]. 合肥工业大学学报(自然科学版), 2021, 44(9): 1273-1278.
- ZHANG C, SHI Y, LIU Y, et al. Physicochemical properties and biological activities of polysaccharides from *Rhizoma Sparganii*[J]. Journal of Hefei University of Technology (Natural Science Edition), 2021, 44(9): 1273-1278.
- [21] 肖月欢. 不同凉粉草多糖对木薯淀粉凝胶特性的影响及新型凉粉草冰糕制品研发[D]. 南昌: 南昌大学, 2020: 12-13.
- XIAO Y H. Effects of different *Mesona chinensis* polysaccharides on gelation properties of tapioca starch and the development of new *Mesona chinensis* sorbet[D]. Nanchang: Nanchang University, 2020: 12-13.
- [22] 郭南生, 江和栋, 张兵, 等. 三叶青根多糖提取工艺优化、分离纯化及结构表征[J]. 食品与机械, 2018, 34(7): 143-147, 210.
- GUO N S, JIANG H D, ZHANG B, et al. Extraction optimization, purification and characterization of polysaccharide from the roots of *Radix Tetrastigma* [J]. Food & Machinery, 2018, 34(7): 143-147, 210.
- [23] THAMBIRAJ S R, PHILLIPS M, KOYYALAMUDI S R, et al. Antioxidant activities and characterisation of polysaccharides isolated from the seeds of *Lupinus angustifolius* [J]. Industrial Crops & Products, 2015, 74: 950-956.
- [24] FAN Q M, CHEN C Y, LIN Y P, et al. Fourier transform infrared (FT-IR) spectroscopy for discrimination of *Rhizomastigmaria* (*Tianma*) from different producing areas[J]. Journal of Molecular Structure, 2013, 1051: 66-71.
- [25] 宋晓娟, 卢晓莹, 曾唯雅, 等. 凉粉草不同极性部位抗氧化及对 α -葡萄糖苷酶抑制作用研究[J]. 医药导报, 2020, 39(3): 286-291.
- SONG X J, LU X Y, ZENG W Y, et al. Study on antioxidant activity and inhibitory effect on α -glucosidase of different polar extracts of *Mesona chinensis* [J]. Medical Report, 2020, 39(3): 286-291.
- [26] 曹媛媛, 周伦, 艾民珉, 等. 仙草提取物对猪肉糜膻感官品质和抗氧化特性的影响[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(11): 47-52.
- CAO Y Y, ZHOU Q, AI M M, et al. Effects of *Hsian-tsao* on the sensory quality and antioxidant activity of dried minced pork slices[J]. Food Research and Development, 2021, 42(11): 47-52.
- [27] 林大成, 唐婉婷, 覃媚, 等. 中药优化酸奶仙草冻品质及其抗氧化活性研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2021, 42(2): 71-78.
- LIN D C, TANG W T, QIN M, et al. Optimization of quality and antioxidant activity of Yoghurt *Mesona Blume* Jelly by Chinese *Mesona chinensis* [J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2021, 42(2): 71-78.
- [28] 杨丽华, 汤志花, 杨晓娜, 等. 山鸡椒根精油成分分析及其抑菌活性和抗氧化活性研究[J]. 中国食品添加剂, 2021, 32(10): 140-146.
- YANG L H, TANG Z H, YANG X N, et al. Analysis of essential oil from the root of *Litsea cubeba* and its antibacterial and antioxidant activities [J]. Chinese Food Additive, 2021, 32(10): 140-146.