

# 不同方法提取的羊栖菜多糖理化性质及益生活性

孔秋红<sup>1</sup>, 张瑞芬<sup>2</sup>, 曾新安<sup>1</sup>, 张名位<sup>2</sup>, 马永轩<sup>2,3</sup>, 游丽君<sup>1</sup>

(1. 华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640) (2. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 农业农村部功能食品重点实验室, 广东省农产品加工重点实验室, 广东广州 510610)

(3. 广州力衡临床营养品有限公司, 广东广州 510610)

**摘要:** 本研究以羊栖菜为原料, 分析了热水提取、超声辅助水提法、脉冲电场辅助水提法和纤维素酶辅助水提法 4 种提取方法所得多糖的理化性质和益生活性。首先对 4 个多糖的得率、分子量、单糖组成和流变特性进行了测定, 然后将 4 个多糖分别添加到乳杆菌发酵培养基中替代葡萄糖作为碳源进行体外发酵, 以评价其促进乳杆菌增殖活性的能力。结果表明, 纤维素酶辅助水提取(E-SFP)所得多糖的得率最高, 为 14.02%, 其次分别为超声辅助水提取 U-SFP (12.57%)、脉冲辅助水提取 P-SFP (10.38%)、热水提取 H-SFP (7.07%); 4 个多糖的平均分子量在 200~245 ku 之间, 主要由岩藻糖、葡萄糖、半乳糖、甘露糖和木糖组成, 岩藻糖和半乳糖是主要成分, 其中 E-SFP 的单糖组成中葡萄糖的含量较其它 3 个多糖的高, 达到了 19.57%; 4 个多糖为典型的非牛顿流体, 且表观粘度与分子量呈正相关; 与空白组比较, 4 个多糖都能一定程度促进乳杆菌的增殖, 其中 E-SFP 的促增殖作用显著高于其它 3 个多糖 ( $p < 0.05$ ) (发酵 48 h, OD<sub>600</sub> 值达到 0.50)。综合比较发现, 采用纤维素酶辅助水提取所得羊栖菜多糖的得率最高, 对乳杆菌的增殖活性最佳, 本研究结果可为羊栖菜多糖的制备及其益生活性研究提供参考依据。

**关键词:** 羊栖菜; 多糖; 提取; 分子量; 益生活性; 乳杆菌

文章编号: 1673-9078(2021)05-123-129

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2021.5.0613

## Physicochemical Properties and Prebiotic Activity of *Sargassum fusiforme*

### Polysaccharides Obtained by Different Extraction Methods

KONG Qiu-hong<sup>1</sup>, ZHANG Rui-fen<sup>2</sup>, ZENG Xin-an<sup>1</sup>, ZHANG Ming-wei<sup>2</sup>, MA Yong-xuan<sup>2,3</sup>, YOU Li-jun<sup>1</sup>

(1.School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

(2.Sericultura & Agri-Food Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Functional Foods, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangdong Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Guangzhou 510610, China) (3.Guangzhou LiHel Clinical Nutrition Co. Ltd., Guangzhou 510610, China)

**Abstract:** In the present study, *Sargassum fusiforme* was used as the raw materials, and the physicochemical properties and probiotic activity of its polysaccharides extracted by hot water extraction, ultrasonic-assisted water extraction, pulsed electric field-assisted water extraction and cellulase-assisted water extraction were examined. Firstly, the yield, molecular weight, monosaccharide composition and rheological properties of the four polysaccharides were determined. Then, the four polysaccharides were added to the fermentation medium of *Lactobacillus* to replace glucose as the carbon source for *in vitro* fermentation to evaluate its ability to promote the proliferation activity of *Lactobacillus*. The results showed that the yield of the polysaccharide obtained by the cellulase-assisted water extraction (E-SFP) was the highest (14.02%), followed by ultrasonic-assisted water extraction (U-SFP; 12.57%), pulse-assisted water extraction (P-SFP; 10.38%) and hot-water extraction (SFP; 7.07%). The four polysaccharides had an average molecular weight ranging from 200 to 245 ku, and consisted

引文格式:

孔秋红,张瑞芬,曾新安,等.不同方法提取的羊栖菜多糖理化性质及益生活性[J].现代食品科技,2021,37(5):123-129

KONG Qiu-hong, ZHANG Rui-fen, ZENG Xin-an, et al. Physicochemical properties and prebiotic activity of *Sargassum fusiforme* polysaccharides obtained by different extraction methods [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(5): 123-129

收稿日期: 2020-07-02

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31972011); 广州市国际合作项目 (201907010035)

作者简介: 孔秋红 (1995-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品营养与健康

通讯作者: 游丽君 (1982-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品营养与健康

mainly of fucose, glucose, galactose, mannose and xylose, with the content of glucose in E-SFP (19.57%) higher than those of the other three polysaccharides. The solutions of the four polysaccharides were typical non-Newtonian fluids, and their apparent viscosities were positively correlated with their molecular weights. Compared with the blank group, four polysaccharides were found to promote the proliferation of *Lactobacillus*, among which E-SFP had a significantly greater proliferation-promoting effect than the other three polysaccharides ( $p < 0.05$ ) (fermentation for 48 h, OD<sub>600</sub> value up to 0.50). Comprehensive comparisons revealed that the polysaccharides obtained by the cellulase-assisted water extraction method had the highest yield and strongest proliferation activity on *Lactobacillus*. The results of this study can provide reference for the preparation of polysaccharides from *Sargassum fusiforme* and studies on their prebiotic properties.

**Key words:** *Sargassum fusiforme*; polysaccharides; extraction; molecular weight; prebiotic activity; *Lactobacillus*

羊栖菜 (*Sargassum fusiforme*) 是我国东南沿海地区广泛分布的褐藻之一, 在我国作为经济藻类种植已有多年的历史。研究报道, 羊栖菜具有丰富的营养价值, 主要含有多糖、蛋白质、维生素和微量元素, 对人体健康可产生多种有益的影响<sup>[1]</sup>。其中, 多糖一直是藻类活性成分研究热点之一, 研究发现羊栖菜多糖具有抗氧化<sup>[1]</sup>、抗肿瘤<sup>[2]</sup>、抗炎<sup>[3]</sup>、降血糖、降血脂<sup>[4]</sup>、抗光老化<sup>[5]</sup>等作用。但是由于多糖是一类大分子聚合物, 近年来许多研究表明其被摄入人和动物体内后主要通过调节肠道菌群, 发挥“益生元”作用促进机体健康<sup>[6]</sup>。益生元是一类在肠道中能够选择性地刺激肠道益生菌生长的活性物质<sup>[7]</sup>。而乳杆菌是能够对肠道健康产生有益影响的一类益生菌, 它们在肠道内可以利用未消化的大分子碳水化合物产生酸性代谢产物(如短链脂肪酸), 对肠道健康具有重要的作用<sup>[8]</sup>。体内、外实验研究发现, 褐藻多糖能够调节肠道中的微生物群并且增加有益菌群的生长, 其作为益生元补充剂具有巨大的潜力<sup>[9]</sup>。饲料中添加褐藻多糖喂食大鼠一周能够提高大鼠的肠道健康, 增加肠道内有益菌如产丁酸菌 *Faecalibacterium prausnitzii* 的丰度<sup>[10]</sup>; 海带多糖膳食补充也对大鼠的肠道内有益菌群具有很好的益生作用, 并且可以减少大鼠的肥胖现象<sup>[11]</sup>。目前关于羊栖菜多糖的益生活性尚未见报道。

不同的提取方法得到的多糖具有不同的理化性质和结构特征。大量研究发现, 多糖的益生活性与其单糖组成和分子量等性质密切相关<sup>[12-16]</sup>。因此, 不同的提取工艺对多糖的理化性质与益生活性之间关系的影响不容忽视。传统的植物多糖提取方法主要是热水提取法, 该方法简便易行但提取效率较低。在该法的基础上增加物理场(如超声、脉冲电场和微波等)或酶法辅助提取可大大提高多糖的提取率, 提高原料利用率。超声辅助水提法可以通过超声气泡的破裂产生空化效应, 释放出大量的能量, 从而提高多糖提取率<sup>[17]</sup>; 脉冲电场辅助水提法是一种非热处理新技术, 可产生脉冲电使细胞瞬间破壁, 造成细胞膜的电位发生混乱, 促进胞内物质溶出, 这种方法具有能耗低、作

用均匀、处理时间短和较大程度上保留产品活性等优点<sup>[18]</sup>; 生物酶处理能够以较温和的方式促进植物细胞的破裂, 使细胞内容物更加充分地溶出, 从而提高目标活性物质的提取效率, 同时具有生物相容性好、催化效率高、无毒、环境友好等优点<sup>[19]</sup>。已有研究报道, 超声和酶处理能提高一些多糖的益生活性<sup>[12,13]</sup>。而目前关于不同提取工艺对羊栖菜多糖益生活性的影响还未见报道。

综上所述, 本实验以热水提取、纤维素酶辅助水提取、超声辅助水提取和脉冲电场辅助水提取四种方法制备羊栖菜多糖, 比较其产物的得率、分子量、单糖组成、流变性质及对乳杆菌的促增殖活性, 为羊栖菜多糖的高效制备及潜在的益生活性研究开发提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

材料与试剂: 羊栖菜, 购自浙江温州; 乳杆菌粉, 购自北京川秀科技有限公司; C109262 纤维素酶(10,000 U/g), 购自上海阿拉丁生化科技有限公司; 磷酸氢二钾、磷酸二氢钾, 均购自国药集团化学试剂有限公司; 无水乙醇、浓硫酸、柠檬酸三铵、七水硫酸镁、硫酸锰、乙酸钠, 均购自天津市大茂化学试剂厂; 苯酚, 购自广州市化学试剂厂; 酵母提取物、蛋白胨、牛肉浸粉, 均购自麦克林(上海)公司; 吐温80, 购自广州东巨公司; 单糖标品(岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、木糖、甘露糖), 购自美国 Sigma 公司。

主要仪器: FW135 粉碎机, 天津泰斯特仪器有限公司; XDW-661 振动式细胞级超微粉碎机, 济南达微机械有限公司; SY-E-500 脉冲电场提取设备, 华南理工大学食品科学与工程学院自行研制; JY II N 细胞超声破碎仪, 宁波新芝有限公司; Hei-VAP Value Digital 旋转蒸发仪, 德国 Heidoph 公司; DU 730 型核酸蛋白分析仪, 美国 Beckman Coulter 公司; LC-20A 高效凝胶渗透色谱仪, 日本岛津株式会社; ICS5000 离子色

谱仪, 美国 Dionex 公司; AR-1500 ex 流变仪, 美国 TA 公司; Alpha 1-2 LD Plus 冷冻干燥机, 德国 Christ 公司。

## 1.2 方法

### 1.2.1 羊栖菜预处理

将购自江浙沿海的羊栖菜洗净晒干, 用普通粉碎机将其进行粉碎并过 40 目筛, 再利用超微粉碎机继续处理 5 min, 最后以 1:4 (W/V) 的料液比加入 95% 乙醇回流 3 h 进行脱脂脱色, 弃去乙醇, 再重复以上步骤加入乙醇继续回流 1 h 两次, 弃去乙醇, 50 °C 低温烘干得到羊栖菜超微粉, 置于常温干燥避光的环境中保存备用。

### 1.2.2 羊栖菜多糖的提取

#### 1.2.2.1 热水提取

参考季德胜<sup>[5]</sup>的方法, 略做修改。称取一定量经过预处理得到的羊栖菜超微粉, 以 1:50 (W/V) 的料液比加入去离子水, 100 °C 下提取 4 h, 提取完成后将溶液以 8000 r/min 的转速离心 15 min, 收集上清液, 真空旋蒸浓缩至原体积的 1/4, 加入无水乙醇至浓度为 80% 置于 4 °C 冰箱醇沉 12 h, 8000 r/min 离心 10 min, 收集沉淀, 待乙醇挥发, 加水复溶, 真空冻干得热水提羊栖菜多糖 H-SFP。

#### 1.2.2.2 纤维素酶辅助热水提取

称取羊栖菜超微粉, 先以料液比 1:30 (W/V) 的比例加入去离子水, 再往羊栖菜水溶液中加入最终溶液质量 0.1% 的纤维素酶, 搅拌均匀, 将其置于 50 °C 水浴下反应 4 h。灭酶后再加入去离子水使终料液比达到 1:50 (W/V), 将其置于 100 °C 水浴提取 4 h。后续步骤如 1.2.2.1, 得到酶辅助水提羊栖菜多糖 E-SFP。

#### 1.2.2.3 超声辅助热水提取

称取羊栖菜超微粉, 以 1:50 (W/V) 的料液比加入去离子水, 置于细胞超声破碎仪中, 400 W 功率下超声 40 min, 反应完成后在 100 °C 的水浴条件下提取 4 h。后续步骤如 1.2.2.1, 得到超声辅助水提羊栖菜多糖 U-SFP。

#### 1.2.2.4 脉冲电场辅助热水提取

称取羊栖菜超微粉, 以 1:50 (W/V) 的料液比加入去离子水, 倒入反应槽中, 设置电场强度为 3.6 kV/cm, 脉冲次数 50 次。反应完成后在 100 °C 的水浴条件下提取 4 h。后续步骤如 1.2.2.1, 得到脉冲电场辅助水提羊栖菜多糖 P-SFP。

### 1.2.3 多糖得率的测定

以苯酚-硫酸法<sup>[20]</sup>测定总糖含量。

多糖的得率按以下公式计算:

多糖得率/%=总糖含量×冻干产物质量/羊栖菜原料质量×100%

### 1.2.4 多糖分子量的测定

通过高效凝胶渗透色谱仪测定多糖的平均分子量, 多糖的处理方法如下: 称取 2 mg 多糖溶于 1 mL 0.02 MK<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 缓冲液, 过 0.22 μm 无菌水相滤膜, 备用。色谱条件参数设置为: 色谱柱 TSK G-5000PWXL (7.8×300 mm) 和 TSK G-3000PWXL (7.8×300 mm), 柱温 35 °C, 检测器为 Waters 2414 示差折光检测器, 流动相 0.02 M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 缓冲液, 流速 0.6 mL/min。以不同分子量 (5.2、11.6、14.8、23.8、48.6、273、410、668 ku) 的葡聚糖绘制标准曲线。多糖样品的分子量根据其洗脱出峰时间对照标准曲线计算得到。

### 1.2.5 单糖组成的测定

产物的单糖组成通过离子色谱方法测定, 多糖预处理方法参照 Chen 等<sup>[21]</sup>的方法。色谱条件为: 色谱柱 CarboPac PA20 色谱柱, 柱温 30 °C, 检测器为 IC 系统, 流动相为 H<sub>2</sub>O/NaOH, 流速 0.5 mL/min, 进样量 10 μL。以不同浓度的单糖溶液 (葡萄糖、岩藻糖、半乳糖、木糖、阿拉伯糖、甘露糖) 绘制标准曲线。样品的单糖组成根据对应峰面积对照单糖标准曲线计算确定摩尔百分比。

### 1.2.6 流变特性

将不同提取方法得到的羊栖菜多糖样品配制成浓度为 30 mg/mL 的溶液, 充分溶解, 于 25 °C 室温静置 12 h, 利用 AR-1500 ex 流变仪测定其表观黏度 (直径为 40 mm 的铝板, Gap 值为 0.500 mm), 测试温度为 25.0 °C, 剪切速率 0.01~200 s<sup>-1</sup>, 采用 TA Orchestrator-7 采集数据。

### 1.2.7 多糖对乳杆菌促增殖作用研究

#### 1.2.7.1 菌的准备

将保存于 -40 °C 的混合乳杆菌粉 (内含保加利亚乳杆菌、嗜酸乳杆菌、嗜热链球菌、植物乳杆菌和干酪乳杆菌) 稀释于适量 0.9% 无菌生理盐水中制成菌悬液, 取 200 μL 菌悬液接种到 MRS 液体培养基中, 置于 37 °C 恒温培养箱中培养 24 h 进行活化。取活化好的菌液继续传代培养。将传代培养至稳定期的菌液 3500 r/min 离心 10 min, 弃去上清液, 用 0.9% 无菌生理盐水洗涤沉淀两次, 最后加入 10 mL 生理盐水重悬菌体制成菌悬液备用。

#### 1.2.7.2 MRS 培养基的制备

无碳源 MRS 培养基: 蛋白胨 10.0 g/L、牛肉浸粉 10.0 g/L、酵母提取物 5.0 g/L、柠檬酸三铵 2.0 g/L、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2.0 g/L、无水乙酸钠 5.0 g/L、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.58 g/L、MnSO<sub>4</sub> 0.05 g/L 和吐温 801.0 g/L。

为评价不同提取工艺得到的羊栖菜多糖对乳杆菌的益生活性,分别按 10.0 g/L (1.0% W/V) 的量称取 H-SFP、E-SFP、U-SFP、P-SFP 样品作为唯一碳源加入到上述培养基中,每个样品做 3 次平行。此外,在培养基中加入等量低聚半乳糖 GOS 作为阳性对照,以不加糖的基础培养基为空白对照。调节 MRS 培养基最终 pH 6.2±0.2。随后将培养基置于高压灭菌锅中,121 °C 灭菌 20 min。

### 1.2.7.3 促增殖作用的测定

按照 4% (V/V) 的接种量将 1.2.7.1 制备好的菌悬液接种至以不同多糖样品为碳源的培养基中,于 37 °C 厌氧培养。在发酵 24 h、48 h 时分别取样离心 (5000 r/min, 10 min),加入适量生理盐水把培养基洗掉,最后用等量生理盐水重悬,以生理盐水为空白,在 600 nm 处测各组 OD 值,每个样品重复测定 3 次。采用比浊度法,以 OD<sub>600</sub> 值 (即溶液中菌的总菌数) 为评价指标比较各多糖对益生菌的增殖作用。

### 1.2.8 数据处理

采用 SPSS Statistics 25 软件对数据进行一维方差分析 (one-way ANOVA),采用 LSD 检验进行两两比较。

## 2 结果与讨论

### 2.1 羊栖菜多糖的得率

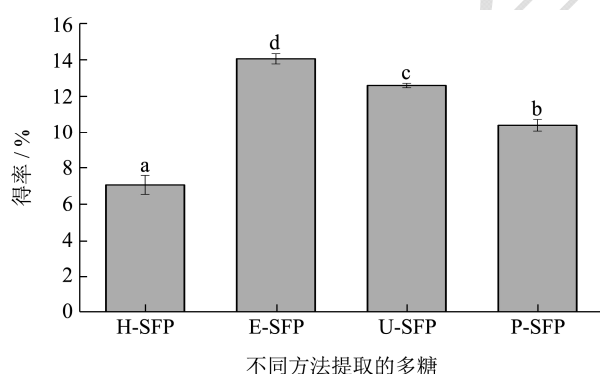


图 1 不同方法提取羊栖菜多糖的得率比较

Fig.1 The yields of SFPs extracted by different methods

注: a、b、c、d 表示不同样品间多糖得率的显著性 ( $p < 0.05$ ), 相同字母表示无显著性差异, 不同字母表示有显著性差异。

由于不同提取方法对细胞的破壁情况不同,导致多糖的溶出量也不同,因此多糖的得率也各有差异。如图 1 所示,四种提取方法中,纤维素酶辅助提取所得的 E-SFP 得率最高 (14.02%),其次为超声辅助提取 U-SFP (12.57%),再者为脉冲辅助提取 P-SFP (10.38%),三种辅助提取的方法较之传统的热热水提取方法都能显著地提高羊栖菜多糖的得率 ( $p < 0.05$ ),

其中纤维素酶辅助提取所得的 E-SFP 得率为单纯热水提取 H-SFP 得率的 2 倍左右。与传统热水提取方法相比,用纤维素酶辅助提取方法能较大程度地提高植物多糖的得率,这可能这是由于纤维素酶能特异地对细胞壁产生破壁作用,还能对一些难溶或不溶性多糖进行水解,促进更多细胞壁多糖和胞内多糖溶出,大大提高了羊栖菜多糖的得率。

根据现有文献报道,周峙苗<sup>[22]</sup>采用纤维素酶复合果胶酶 (配方比为 2:1,添加量 12%) 再结合热水浸提两次的方法得到羊栖菜多糖,得率达到 14.88%,为热水浸提多糖得率 (6.85%) 的 2.17 倍。Chen 等<sup>[23]</sup>用不同方法提取竹笋多糖,传统热水提取所得多糖得率为 7.2%,采用酶辅助提取所得多糖得率提高至 8.3%,并表现出更好的益生活性。赵晨溟等<sup>[24]</sup>采用水提法、酶提法、酸提法、超声法、碱提法 5 种方法提取龙眼多糖,结果显示酶提法得到多糖的得率最高,为 6.78%,是最低的碱提法所得多糖得率 (1.84%) 的 3.68 倍,并且酶提龙眼多糖表现出较强的抗氧化活性。因此,利用生物酶法辅助提取多糖不仅可以提高多糖的得率,而且可以较好地提高其生物活性。

### 2.2 分子量

如表 1 所示, H-SFP、E-SFP、U-SFP、P-SFP 的平均分子量分别为 201.32、244.30、218.08、228.52 ku, 4 个多糖的平均分子量差别不大,可能本实验采取的辅助提取的手段主要是破坏细胞壁,促进了多糖特别是一些大分子多糖的溶出,并未对羊栖菜多糖的特殊结构造成破坏。文献也曾报道,Chi 等<sup>[25]</sup>用纤维素酶辅助提取浒苔多糖,发现 EAP 的平均分子量比传统热水提取多糖 HAP 高 361.5 ku。Hmelkov 等<sup>[26]</sup>采用超声提取的岩藻多糖 F2 的平均分子量跟传统方法提取的多糖 F1 相比也并未下降,与本文研究结果相似。

表 1 不同方法提取的羊栖菜多糖分子量和单糖组成摩尔百分比

Table 1 The molecular weights and monosaccharide compositions of SFPs extracted by different processes

	H-SFP	E-SFP	U-SFP	P-SFP
分子量/ku	201.32	244.30	218.08	228.52
单糖组成 (摩尔百分比/%)				
岩藻糖 Fuc	55.28	47.08	55.39	60.00
葡萄糖 Glu	1.71	19.57	1.17	1.16
半乳糖 Gal	31.50	23.79	29.99	27.57
甘露糖 Man	6.69	5.77	9.71	7.44
木糖 Xyl	4.82	3.78	3.74	3.83

## 2.3 单糖组成

不同方法提取的羊栖菜多糖的单糖组成结果如表 1 所示, 羊栖菜多糖主要是由岩藻糖、葡萄糖、半乳糖、甘露糖和木糖组成, 其中, H-SFP 的摩尔百分比 55.28:1.71:31.59:6.69:4.82; E-SFP 为 47.08:19.57:23.79:5.77:3.78; U-SFP 为 55.39:1.17:29.99:9.71:3.74; P-SFP 为 60.00:1.16:27.57:7.44:3.83。结果表明不同提取方法所得羊栖菜多糖都主要由岩藻糖和半乳糖组成, 与季德胜<sup>[5]</sup>、胡晨曦<sup>[1]</sup>、杨斯淇<sup>[4]</sup>等研究一致。有大量文献表明, 岩藻糖作为羊栖菜多糖的一个主要单糖组成成分, 与羊栖菜多糖的活性密切相关<sup>[27]</sup>。另外, E-SFP 与其他提取方法所得多糖相比, 其葡萄糖组成含量高达 19.57%, 这可能是因为纤维素酶能促进细胞壁纤维溶出, 而细胞壁纤维中的葡萄糖组成较多。

## 2.4 流变特性

不同提取方法所得羊栖菜多糖的流变特性如图 2 所示, 在 0.01~200 s<sup>-1</sup> 的剪切速率下, 随着剪切速率的增加, 4 个多糖的表现粘度都呈下降趋势, 表现为典型的假塑性特征, 最终趋于平缓, 表明这些多糖属于非牛顿流体。在初始范围内的同一剪切速率下, 四种多糖的粘度大小跟平均分子量大小排序一致, 如在 0.11 s<sup>-1</sup> 剪切速率下, 粘度由大到小依次为 E-SFP>P-SFP>U-SFP>H-SFP, 表明分子量和粘度呈现正相关关系。另外从变化曲线也可看出, 4 个多糖的粘度变化差异不大, 与分子量结果之间的差异保持一致, 说明辅助手段并未对多糖的糖苷键和活性基团造成破坏。

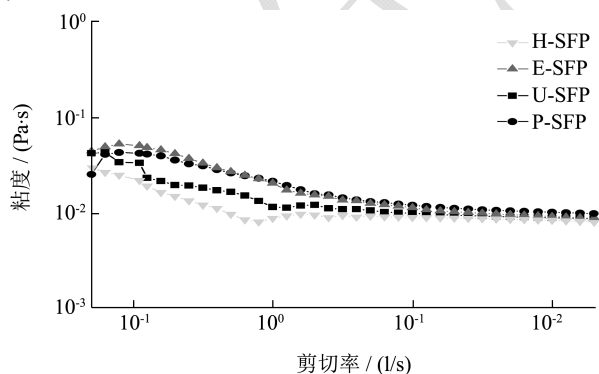


图 2 不同方法提取的羊栖菜多糖的流变特性

Fig.2 Rheological properties of SFPs extracted by different methods

## 2.5 对乳杆菌的促增殖作用

乳杆菌属 *Lactobacillus* 是人体内一类重要的益生菌, 主要有嗜酸乳杆菌、发酵乳杆菌、干酪乳杆菌等,

这些益生菌会利用肠道内未消化的大分子碳水化合物代谢产生对人体健康有益的产物, 比如短链脂肪酸(主要是乙酸、丙酸和丁酸), 这些酸性产物还会进一步降低肠道内的 pH 值, 抑制肠道内有害菌的生长<sup>[28]</sup>。低聚半乳糖 GOS 是目前公认的益生元之一, 因此选择它作为实验的阳性对照。

不同方法提取的羊栖菜多糖对乳杆菌体外增殖活性结果如图 3 所示, 发酵 24 h 后, 空白组 Blank 在 600 nm 波长下的吸光值为 0.22, H-SFP 组、E-SFP 组、U-SFP 组、P-SFP 组的 OD<sub>600</sub> 分别为 0.37、0.40、0.35 和 0.34; 发酵 48 h 后, Blank 组的 OD<sub>600</sub> 值为 0.28, 而四个多糖组 H-SFP、E-SFP、U-SFP 和 P-SFP 的值分别达到了 0.46、0.50、0.46 和 0.46。不管是发酵 24 h 还是 48 h, 4 个多糖对乳杆菌的促增殖作用均明显优于未加碳源的空白组 Blank ( $p < 0.05$ ), 其中促增殖效果最好的是 E-SFP (与其它三个多糖组相比有显著性差异)。Ajanth 等<sup>[29]</sup>采用生物酶辅助提取方法分别得到三种印度食用海藻的多糖, 体外发酵实验研究发现这三种多糖都能有效地促进植物乳杆菌的增殖活性并能增加短链脂肪酸的含量。分析上述结果, 表明四个方法所得羊栖菜多糖都能够促进乳杆菌的生长, 具有潜在的益生活性。

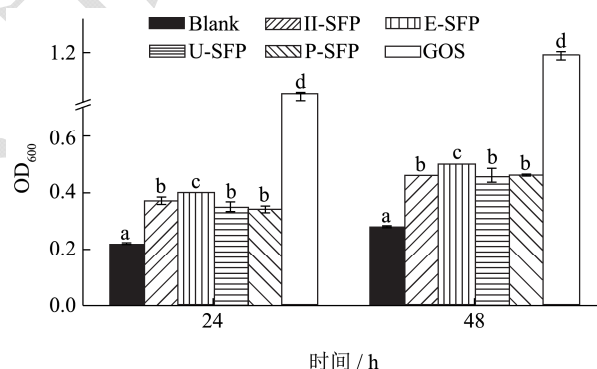


图 3 不同方法提取的羊栖菜多糖对乳杆菌的促增殖作用

Fig.3 Proliferation effects on *Lactobacillus* of SFPs extracted by different methods

注: a、b、c、d 表示同一时间点不同组别间的显著性 ( $p < 0.05$ ), 相同字母表示无显著性差异, 不同字母表示有显著性差异。

## 3 结论

在本研究中, 采用了 4 种工艺(传统热水提取法、纤维素酶辅助水提法、超声辅助水提法、脉冲电场辅助水提法)制备羊栖菜多糖, 研究了它们的得率、分子量、单糖组成、流变特性和对乳杆菌的促增殖作用。结果表明, 纤维素酶辅助水提法制备的羊栖菜多糖 E-SFP 得率最高 (14.02%), 其次分别为 U-SFP

(12.57%)、P-SFP (10.38%)、H-SFP (7.07%); 分子量测定结果表明 4 个多糖的平均分子量在 200~245 ku 之间; 离子色谱结果显示 4 个多糖主要由岩藻糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖和木糖组成, 其中岩藻糖和半乳糖是主要成分; 4 个多糖都是典型的非牛顿流体, 且表观粘度的大小与分子量呈现正相关; 采用体外发酵法研究羊栖菜多糖对乳杆菌的促增殖作用, 结果发现与空白组比较, 4 个多糖均能在一定程度上促进乳杆菌的增殖, 其中 E-SFP 的促增殖作用显著高于其它三个多糖 ( $p < 0.05$ )。综上所述, 采用纤维素酶辅助提取方法能有效地提高羊栖菜多糖的得率, 并能较好地促进乳杆菌的体外增殖活性。本研究结果为羊栖菜多糖的高效制备及其益生活性研究提供一定的参考依据, 但是更多关于羊栖菜多糖的益生活性与结构之间的关系有待于进一步深入研究。

### 参考文献

- [1] 胡晨熙.羊栖菜多糖 SFPS 抗氧化作用及对衰老作用的探讨[D].温州:温州大学,2018  
HU Chen-xi. The anti-oxidation activity of *Sargassum fusiforme* polysaccharide (SFPS) and discussion on its effect on anti-aging [D]. Wenzhou: Wenzhou University, 2018
- [2] Fan S, Yu G, Nie W, et al. Antitumor activity and underlying mechanism of *Sargassum fusiforme* polysaccharides in CNE-bearing mice [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 112: 516-522
- [3] Chen L, Chen P, Liu J, et al. *Sargassum fusiforme* polysaccharide SFP-F2 Activates the NF- $\kappa$ B signaling pathway via CD14/IKK and P38 axes in RAW264.7 cells [J]. Marine Drugs, 2018, 16(8): 264
- [4] 杨斯淇.羊栖菜多糖酶解产物及其分离纯化组分的生物活性研究[D].杭州:浙江工商大学,2018  
YANG Si-qi. Study on the bioactivities of enzymatic hydrolysates of polysaccharide from *Sargassum fusiforme* and its purified fractions [D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2018
- [5] 季德胜.羊栖菜多糖分离纯化、结构鉴定及拮抗 UVB 辐射造成的皮肤光老化损伤研究[D].广州:华南理工大学,2017  
JI De-sheng. Isolation, purification and structural identification of polysaccharides from *Sargassum fusiforme* and against UVB-induced skin photoaging [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2017
- [6] Okolie C L, C K Rajendran S R, Udenigwe C C, et al. Prospects of brown seaweed polysaccharides (BSP) as prebiotics and potential immunomodulators [J]. Journal of Food Biochemistry, 2017, 41(5): e12392
- [7] George Kerry R, Patra J K, Gouda S, et al. Benefaction of probiotics for human health: a review [J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2018, 26(3): 927-939
- [8] George Kerry R, Patra J K, Gouda S, et al. Benefaction of probiotics for human health: a review [J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2018, 26(3): 927-939
- [9] You L, Gong Y, Li L, et al. Beneficial effects of three brown seaweed polysaccharides on gut microbiota and their structural characteristics: an overview [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2019, 55(3): 1199-1206
- [10] Vigers S, O Doherty J V, Rattigan R, et al. Effect of a laminarin rich macroalgal extract on the caecal and colonic microbiota in the post-weaned pig [J]. Marine Drugs, 2020, 18(3): 157
- [11] Kim J, Kwon Y M, Kim I, et al. Effects of the brown seaweed *Laminaria japonica* supplementation on serum concentrations of IgG, triglycerides, and cholesterol, and intestinal microbiota composition in rats [J]. Frontiers in Nutrition, 2018, 5
- [12] Chen G, Chen X, Yang B, et al. New insight into bamboo shoot (*Chimonobambusa quadrangularis*) polysaccharides: Impact of extraction processes on its prebiotic activity [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 95: 367-377
- [13] Huang F, Liu H, Zhang R, et al. Physicochemical properties and prebiotic activities of polysaccharides from longan pulp based on different extraction techniques [J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 206: 344-351
- [14] 李胜男.地锦草多糖的提取、降解优化及其益生活性初步研究[D].保定:河北大学,2017  
LI Sheng-nan. Preliminary study on extraction and degradation optimization of polysaccharides from *dianthus l.* and their probiotic activity [D]. Baoding: Hebei University, 2017
- [15] Mateos-aporicio I, Martera G, Goñi I, et al. Chemical structure and molecular weight influence the *in vitro* fermentability of polysaccharide extracts from the edible seaweeds *Himathalia elongata* and *Gigartina pistillata* [J]. Food Hydrocolloids, 2018, 83: 348-354
- [16] Song A, Mao Y, Siu K, et al. Bifidogenic effects of *Cordyceps sinensis* fungal exopolysaccharide and konjac glucomannan after ultrasound and acid degradation [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 111: 587-594
- [17] Shang H, Wu H, Dong X, et al. Effects of different extraction methods on the properties and activities of polysaccharides

- from *Medicago sativa* L. and extraction condition optimization using response surface methodology [J]. *Process Biochemistry*, 2019, 82: 179-188
- [18] 刘曦然,方婷.高压脉冲电场在提取天然产物中的应用[J].食品工业,2017,38(1):249-253  
LIU Xi-ran, FANG Ting. The application of high pulsed electric field technology in extracting natural compounds [J]. *The Food Industry*, 2017, 38(1): 249-253
- [19] Puri M, Sharma D, Barrow C J. Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants [J]. *Trends in Biotechnology*, 2012, 30(1): 37-44
- [20] 杨贤庆,刘名求,戚勃,等.龙须菜中多糖含量测定方法的比较研究[J].食品工业科技,2013,22:54-57  
YANG Xian-qing, LIU Ming-qiu, QI Bo, et al. Comparative study on determination method of polysaccharides in *Gracilaria lemaneiformis* [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2013, 22: 54-57
- [21] Chen C, You L J, Abbasi A M, et al. Characterization of polysaccharide fractions in mulberry fruit and assessment of their antioxidant and hypoglycemic activities *in vitro* [J]. *Food Funct*, 2016, 7(1): 530-539
- [22] 周峙苗.羊栖菜多糖的提取和纯化研究[D].杭州:浙江工业大学,2004  
ZHOU Zhi-miao. Study on extraction and purification of polysaccharide from *Sargassum fusiforme* [D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2004
- [23] Chen G, Chen X, Yang B, et al. New insight into bamboo shoot (*Chimonobambusa quadrangularis*) polysaccharides: Impact of extraction processes on its prebiotic activity [J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 95: 367-377
- [24] 赵晨淩,刘钧发,冯梦莹,等.不同提取方法对龙眼多糖性质的影响[J].现代食品科技,2012,28(10):1298-1301  
ZHAO Chen-hao, LIU Jun-fa, FENG Meng-ying, et al. Effects of different extraction methods on the properties of longan polysaccharide [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2012, 28(10): 1298-1301
- [25] Chi Y, Li Y, Zhang G, et al. Effect of extraction techniques on properties of polysaccharides from *Enteromorpha prolifera* and their applicability in iron chelation [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 181: 616-623
- [26] Hmelkov A B, Zvyagintseva T N, Shevchenko N M, et al. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from brown alga *Fucus evanescens*. Structure and biological activity of the new fucoidan fractions [J]. *Journal of Applied Phycology*, 2018, 30(3): 2039-2046
- [27] Zhang R, Zhang X, Tang Y, et al. Composition, isolation, purification, and biological activities of *Sargassum fusiforme* polysaccharides: a review[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 228: 115381
- [28] 王霄.菜籽多糖的酶解及其酶解产物对益生菌增殖作用研究[D].合肥:合肥工业大学,2015  
WANG Xiao. Study on enzymolysis of rapeseed polysaccharides and prebiotic activity of rapeseed polysaccharides enzymatic derivatives [D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2015
- [29] Ajanth Praveen M, Karthika Parvathy K R, Jayabalan R, et al. Dietary fiber from Indian edible seaweeds and its *in-vitro* prebiotic effect on the gut microbiota [J]. *Food Hydrocolloids*, 2019, 96: 343-353

---

(上接第 108 页)

- [34] Naugler W E, Karin M, The wolf in sheep's clothing: the role of interleukin-6 in immunity, inflammation and cancer [J]. *Trends Mol Med*, 2008, 14(3): 109-119
- [35] Han P P, Yao S Y, Guo R J, et al. The relationship between monosaccharide composition of extracellular polysaccharide and activities of related enzymes in *Nostoc flagelliforme* under different culture conditions [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 174: 111-119

---

(上接第 202 页)

- [22] 程璐,谢翔,刘中原,等.海参水煮液皂苷的美白抗衰老功效[J].精细化工,2018,35(2):267-271  
CHENG Lu, XIE Xiang, LIU Zhong-yuan, et al. Research on whitening and antisenility efficacy of saponins from sea cucumber cooking water [J]. *Fine Chem*, 2018, 35(2): 267-271
- [23] Ko H H, Tsai Y T, Yen M H, et al. Norartocarpetin from a folk medicine *Artocarpus communis* plays a melanogenesis inhibitor without cytotoxicity in B16F10 cell and skin irritation in mice [J]. *Bmc Complem Altern M*, 2013, 13(1): 348