



蒋纬,胡颖,朱振元. 阳荷多糖提取工艺优化及其生物活性研究[J]. 轻工学报,2025,40(4):10-19.
JIANG W, HU Y, ZHU Z Y. Optimization of extraction process and evaluation of biological activities of polysaccharides from *Zingiber striolatum* [J]. Journal of Light Industry, 2025, 40(4): 10-19.
DOI: 10. 12187/2025. 04. 002

阳荷多糖提取工艺优化及其生物活性研究

蒋纬^{1,2}, 胡颖³, 朱振元²

1. 遵义医药高等专科学校 卫生管理系, 贵州 遵义 563006;
2. 天津科技大学 食品科学与工程学院, 天津 300457;
3. 遵义医科大学 公共卫生学院, 贵州 遵义 563000

摘要: 为拓展特色植物资源阳荷 (*Zingiber striolatum*) 的利用途径, 提高其产品附加值, 以新鲜阳荷为原料, 采用水提醇沉法提取阳荷多糖 (*Zingiber striolatum* polysaccharide, ZSP), 利用单因素试验和响应面试验优化 ZSP 的提取工艺, 并对 ZSP 的乳化性、抑菌性、重金属吸附能力、抗氧化活性及降血糖活性进行研究。结果表明: ZSP 的最优提取工艺为粉碎目数 80 目、料液比 1:65、提取温度 75 °C、提取时间 96 min、乙醇添加量 400 mL, 在此条件下, ZSP 得率为 $(3.89 \pm 0.01)\%$; ZSP 的乳化性随其质量浓度的增加而增大, 当其质量浓度为 15 mg/mL 时, 乳化性最高, 为 $(76.14 \pm 1.33)\%$; ZSP 对大肠杆菌有抑制作用, 且抑菌性随其质量浓度的增加而增强, 当其质量浓度为 50 mg/mL 时, 抑菌圈直径为 (2.35 ± 0.02) cm; ZSP 对 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 和 Pb^{2+} 的吸附量均随其质量浓度的增加而增大, 当其质量浓度为 1.0 g/L 时, 吸附量分别达 (17.26 ± 0.41) mg/g、 (21.19 ± 0.33) mg/g 和 (27.64 ± 0.61) mg/g; ZSP 对 ABTS⁺、DPPH 和 $\cdot\text{OH}$ 自由基的清除率均随其质量浓度的增加而增大, 当其质量浓度为 3 mg/mL 时, 清除率分别达 $(52.10 \pm 0.01)\%$ 、 $(60.40 \pm 1.95)\%$ 和 $(22.20 \pm 0.02)\%$; ZSP 对 α -葡萄糖苷酶的抑制率也随其质量浓度的增加而增大, 当其质量浓度为 1.0 mg/mL 时, 抑制率达到最大值 $(38.00 \pm 2.00)\%$ 。综上所述, ZSP 在重金属吸附和降血糖方面表现较突出, 表明其在开发促排重金属的可食性材料及抗糖尿病功能产品方面具有较好的应用前景。

关键词: 阳荷; 多糖; 提取工艺; 生物活性

中图分类号: TS201.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-1553(2025)04-0010-10

0 引言

阳荷 (*Zingiber striolatum*) 又名囊荷、野姜、猴姜、野老姜等, 是姜科姜属多年生药食同源草本植物^[1], 具有治疗便秘、消积健胃、活血调经、消肿解毒、镇咳祛痰等多种药用功效, 尤其对糖尿病具有

显著疗效, 因此具有较高的药用价值^[2-4]。作为亚洲特色植物资源, 近年来, 阳荷的有效成分受到越来越多学者的关注。研究发现, 阳荷主要含有阳荷红色素^[5-8]、黄酮类^[9-11]、多糖类^[12-14]等化学成分, 以及膳食纤维^[15-16]、矿物质、氨基酸^[17]等营养成分。学者们围绕这些成分又进一步研究了阳荷的

收稿日期: 2024-06-26; 修回日期: 2024-11-24; 出版日期: 2025-08-15

基金项目: 贵州省科技计划项目 (黔科合基础-ZK[2023]一般 522); 遵义市科技计划项目 (遵市科合 HZ 字[2021]226 号)

作者简介: 蒋纬 (1988—), 男, 云南省昆明市人, 遵义医药高等专科学校讲师, 博士, 主要研究方向为农产品贮运与保鲜、糖化学与糖生物学。E-mail: jiangwei9413@126.com

通信作者: 朱振元 (1969—), 男, 湖南省邵阳市人, 天津科技大学教授, 主要研究方向为食品营养、糖化学与糖生物学。E-mail: zhyuanzhu@tust.edu.cn

生物活性,主要集中在抗氧化作用^[18-19]、抑菌作用^[20-21]、降血糖作用^[22]等方面。

阳荷多糖(*Zingiber striolatum* polysaccharide, ZSP)是阳荷主要化学成分之一^[23]。近年来,植物多糖因其独特的生物活性,已成为业界主要研究方向之一。相关研究^[24-25]表明,植物产地或提取工艺的差异会造成多糖产物的结构不同,进而影响其理化特性和生物活性。目前,对ZSP的研究主要集中在提取和工艺优化方面^[12-14],也有少量研究报道了它的抗氧化活性^[14],而针对ZSP其他生物活性的研究鲜有报道。鉴于此,本研究拟在测定阳荷原料基本成分基础上,对水提醇沉法获取ZSP的工艺进行优化,并对ZSP的乳化性、抑菌性、重金属吸附能力、抗氧化活性和降血糖活性进行研究,以期为阳荷的精深加工、ZSP生物活性相关产品研发及附加值提升提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

新鲜阳荷,含水量为 $(94.00 \pm 0.17)\%$,购于贵州省毕节市;刺槐豆胶(食品级),河南中辰生物科技有限公司;LB培养基(生物试剂),北京陆桥技术股份有限公司; α -葡萄糖苷酶(100 U/g),美国Sigma公司;AB-8大孔吸附树脂,上海麦克林生化科技有限公司;氢氧化钠、浓盐酸、浓硫酸、正丁醇、硫酸铜、硝酸镉、硝酸铅、苯酚、磷酸氢二钾、磷酸二氢钾,天津市北方天医化学试剂厂;葡萄糖标准品,上海麦克林生化科技有限公司;无水乙醇,四川西陇科学有限公司;三氯甲烷,重庆市川东化工(集团)有限公司;邻二氮菲,天津希恩思生化科技有限公司;硫酸亚铁,天津市致远化学试剂有限公司;过二硫酸钾,天津市江天化工技术有限公司;大肠埃希氏菌 ATCC 25922、沙门氏菌 ATCC 14028、金黄色葡萄球菌 ATCC 25923、枯草芽孢杆菌 ATCC 9372,美国典型培养物保藏中心;2,2'-联氮-双-3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸二铵盐(ABTS)、2,2-联苯基-1-苦基肼基(DPPH)、对硝基苯酚- β -D-半乳糖苷(PNPG)、阿卡波糖(Acarbose)、氢氧化钾、氨基青霉素钠(美国药典标准级)、阿拉丁试剂(上海)有限公

司。以上试剂若无特指,均为分析纯。

1.2 主要仪器与设备

AA-7000型原子吸收分光光度计,日本岛津仪器有限公司;PHSJ-4A型雷磁pH计,上海仪电科学仪器股份有限公司;SJ2054型精密电子天平,沈阳龙腾电子称量仪器厂;XW-80A型微型漩涡混合仪,上海沪西仪器分析厂;SP-2102UV型紫外-可见分光光度计,上海光谱仪器厂;RE-52AA型旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;LC-10N-50A型真空冷冻干燥机,上海力辰邦西仪器科技有限公司;LD4-40型低速大容量离心机,北京医用离心机厂。

1.3 实验方法

1.3.1 阳荷冻干粉制备 称取一定量的新鲜阳荷,经清洗、晾干后,置于 -80°C 低温冰箱中冷冻,再用真空冷冻干燥机冷冻干燥后,粉碎成5目、15目、30目、60目和90目冻干粉。

1.3.2 阳荷冻干粉基本成分测定 水分含量采用《食品安全国家标准 食品中水分的测定》(GB/T 5009.3—2016)^[26]中 105°C 直接干燥法进行测定。蛋白质含量采用《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》(GB 5009.5—2016)^[27]中凯氏定氮法进行测定。脂肪含量采用《食品安全国家标准 食品中脂肪的测定》(GB 5009.6—2016)^[28]中索氏抽提法进行测定。总糖含量采用《食用菌中总糖含量的测定》(GB/T 15672—2009)^[29]中苯酚-硫酸法进行测定,并略作修改,具体步骤如下:将一定量的葡萄糖标准品置于 110°C 恒温干燥箱中烘干后,配制成 0.1 mg/mL 的标准葡萄糖溶液;分别取 0 mL 、 0.2 mL 、 0.4 mL 、 0.6 mL 、 0.8 mL 和 1.0 mL 葡萄糖标准溶液,加入洁净的具塞试管中,用蒸馏水将上述各溶液补齐至 1 mL ;依次加入 1 mL 质量分数为6%的苯酚溶液和 5 mL 浓硫酸,充分混匀后静置 10 min ,再沸水浴 15 min ,常温冷却后,在 490 nm 处测其吸光度;以葡萄糖标准品质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标绘制标准曲线。灰分含量参考《食品安全国家标准 食品中灰分的测定》(GB 5009.4—2016)^[30]进行测定;粗纤维含量参考《植物类食品中粗纤维的测定》(GB 5009.10—2003)^[31]进行测定。

1.3.3 ZSP提取 取一定量的阳荷冻干粉,采用水

提醇沉法提取阳荷中的多糖类物质,所得提取液经 60 ℃ 减压(真空度约为 0.08 MPa)浓缩后,用无水乙醇进行沉淀,于 4 ℃ 条件下静置 12 h,后续提取工艺优化条件主要围绕上述浸提和醇沉过程所涉及的关键因素进行设置。将上述所得沉淀于 4000 r/min 条件下离心 10 min,收集沉淀,加蒸馏水复溶后获得复溶液;按照 $V(\text{复溶液}):V(\text{Sevage 试剂})=4:1$ 的比例加入 Sevage 试剂($V(\text{三氯甲烷}):V(\text{正丁醇})=4:1$),以去除复溶液中的蛋白质;在 190~400 nm 范围内对复溶液进行全波长扫描,以确认图谱中 280 nm 处无吸收峰;通过减压浓缩去除残留的 Sevage 试剂;将 1/2 体积的 AB-8 大孔吸附树脂加入浓缩液中,在 160 r/min 振动摇床上放置过夜,以去除浓缩液中的色素;将处理后的浓缩液放入透析袋(分子截留量为 1×10^5 Da)中透析 48 h,冻干后得 ZSP。

1.3.4 单因素试验 在料液比 1:60(即阳荷冻干粉用量 5 g,蒸馏水 300 mL)、粉碎目数 60 目、提取温度 75 ℃、提取时间 60 min、浓缩后定容至 100 mL、乙醇添加量 400 mL 的基础上进行单因素试验,分别考查不同粉碎目数、料液比、提取温度、提取时间和乙醇添加量对 ZSP 得率的影响,每组实验均进行 3 次,结果取(平均值±标准差)。ZSP 得率的计算公式如下:

$$\text{ZSP 得率} = \frac{\text{ZSP 质量}}{\text{阳荷冻干粉质量}} \times 100\%$$

1.3.5 响应面试验 在单因素试验基础上,以 ZSP 得率为响应值,选取提取时间(A)、粉碎目数(B)和料液比(C)进行响应面试验设计,因素与水平见表 1。

1.4 ZSP 生物活性测定

1.4.1 乳化性测定 参照徐冠—^[32]的方法,以刺槐豆胶为对照,将 10 mL 质量浓度分别为 5 mg/mL、

10 mg/mL 和 15 mg/mL 的 ZSP 溶液加入离心管中,利用游标卡尺测量溶液高度,记为 h_1 ;分别加入 10 mL 大豆油,均质 10 min 后,于 4000 r/min 条件下离心 15 min,测量乳化层高度,记为 h_2 。乳化性的计算公式如下:

$$\text{乳化性} = \frac{h_2}{h_1} \times 100\%$$

1.4.2 抑菌性测定 利用无菌水制备质量浓度为 1 mg/L、10 mg/L、25 mg/L 和 50 mg/L 的 ZSP 溶液和 50 mg/mL 氨苄青霉素钠溶液(阳性对照)。同时,在 LB 培养基上分别接种大肠杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌,于 37 ℃ 条件下倒置培养 24 h,以达到增殖目的。挑取以上 4 种菌的单菌落,充分溶解于 10 mL 无菌生理盐水中,备用。在 LB 培养基培养皿背面划出空白、ZSP 溶液和阳性对照溶液区域后,对应加入 200 μL 菌悬液,并用涂布棒涂匀。把灭菌干燥后的圆形滤纸片分别浸泡在无菌水、ZSP 溶液和氨苄青霉素钠溶液中,充分浸润后,用镊子夹取滤纸片放置在培养基相应区域中,注意避免滤纸片在培养基上发生拖移。盖好培养皿上盖后胶封,以防外界污染,置于 37 ℃ 条件下培养 24 h 后取出,观察并测量抑菌圈直径大小。以上操作均均在无菌条件下进行。

1.4.3 重金属吸附能力测定 分别制备质量浓度为 50 mg/L 的硫酸铜、硝酸镉和硝酸铅溶液,各取 10 mL 加入离心管中,再加入一定量的 ZSP,配制质量浓度分别为 0.1 g/L、0.5 g/L 和 1.0 g/L 的 ZSP 溶液,于 25 ℃ 条件下混匀,静置,产生沉淀后,于 4000 r/min 条件下离心 15 min,弃沉淀,取上清液,用原子吸收分光光度计测量上清液中的重金属含量。

1.4.4 体外抗氧化活性测定 制备质量浓度为 0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、2.0 mg/mL、2.5 mg/mL 和 3.0 mg/mL 的 ZSP 溶液,备用。以抗坏血酸(VC)为阳性对照,参照 Y. M. Zhu 等^[33]的方法,并略作修改,测定不同质量浓度 ZSP 溶液的抗氧化活性。

1) DPPH 自由基清除率测定。吸取 2 mL 上述样品溶液,分别加入 2 mL 0.2 mol/L 的 DPPH 溶液

表 1 响应面试验设计因素与水平

Table 1 Factors and levels for the response surface methodology experimental design

水平	因素		
	A/min	B/目	C
-1	60	30	1:60
0	90	60	1:80
1	120	90	1:100

和 2 mL 无水乙醇,充分混匀后,置于暗室反应 30 min,于 517 nm 波长处测吸光度,记为 a_1 。吸取 2 mL 上述样品溶液,加入 2 mL 无水乙醇,充分混合后,置于暗室反应 30 min,于 517 nm 波长处测吸光度,记为 a_2 。将 2 mL DPPH 溶液与 2 mL 无水乙醇充分混合后,置于暗室反应 30 min,于 517 nm 波长处测吸光度,记为 a_3 。DPPH 自由基清除率计算公式如下:

$$\text{DPPH 自由基清除率} = 1 - \frac{a_1 - a_2}{a_3} \times 100\%$$

2) $\cdot\text{OH}$ 自由基清除率测定。向样品管中依次加入 1.5 mL 磷酸盐缓冲液(0.2 mol/L, pH 值为 7.4,下同)、1.5 mL 邻二氮菲溶液(7.5 mmol/L,下同)、1.0 mL 硫酸亚铁溶液(7.5 mmol/L,下同)、1.0 mL 质量分数为 1% 的双氧水溶液,再加入 1.0 mL 上述样品溶液后充分混匀,于 37 °C 水浴条件下孵育 1 h,在 510 nm 波长处测吸光度,记为 b_1 。向损伤管中依次加入 1.5 mL 磷酸盐缓冲液、1.5 mL 邻二氮菲溶液、1.0 mL 硫酸亚铁溶液、1.0 mL 双氧水溶液和 1.0 mL 蒸馏水后充分混匀,在 510 nm 波长处测吸光度,记为 b_2 。向未损伤管中依次加入 1.5 mL 磷酸盐缓冲液、1.5 mL 邻二氮菲溶液、1.0 mL 硫酸亚铁溶液和 2.0 mL 蒸馏水后充分混匀,在 510 nm 波长处测吸光度,记为 b_3 。向空白管中加入 1.5 mL 磷酸盐缓冲液和 4.5 mL 蒸馏水后充分混匀,在 510 nm 波长处测吸光度,记为 b_4 。 $\cdot\text{OH}$ 自由基清除率计算公式如下:

$$\cdot\text{OH 自由基清除率} = \frac{b_1 - b_2}{b_3 - b_4} \times 100\%$$

3) ABTS⁺ 自由基清除率测定。将 7 mmol/L ABTS 溶液与 2.45 mmol/L 过二硫酸钾溶液按体积比 1 : 1 混匀后,于 25 °C 暗室条件下反应 16 h,制得 ABTS⁺ 自由基溶液。用磷酸盐缓冲液稀释 ABTS⁺ 自由基溶液,使其在 734 nm 波长处的吸光度为 0.7,即得 ABTS⁺ 工作液。吸取 0.4 mL 上述样品溶液与 4 mL ABTS⁺ 工作液充分混匀,于 25 °C 暗室条件下反应 6 min,在 734 nm 波长处测吸光度,记为 c_1 。以蒸馏水为对照,在 734 nm 波长处测吸光度,记为 c_2 。ABTS⁺ 自由基清除率计算公式如下:

$$\text{ABTS}^+ \text{ 自由基清除率} = \frac{c_2 - c_1}{c_2} \times 100\%$$

1.4.5 体外降血糖活性测定 α -葡萄糖苷酶作为一种重要的碳水化合物水解酶,对餐后血糖水平的调控起着关键作用^[34]。参考 S. S. Gu 等^[35]的方法,将一定量的 ZSP 溶解于磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L, pH 值为 6.8),配制质量浓度为 0.2 mg/mL、0.4 mg/mL、0.6 mg/mL、0.8 mg/mL 和 1.0 mg/mL 的 ZSP 溶液。分别移取 40 μL 上述样品溶液至 96 孔板中,加入 40 μL α -葡萄糖苷酶溶液(1 U/mL, pH 值为 6.8),吹打混匀,于 37 °C 条件下孵育 10 min;向混合体系中加入 20 μL PNPG 溶液(7.5 mmol/L, pH 值为 6.8),吹打混匀,于 37 °C 条件下孵育 30 min;加入 100 μL 0.2 mol/L 的 NaCO_3 溶液终止反应,在 410 nm 波长处测吸光度,记为 d_1 。背景对照不添加 α -葡萄糖苷酶溶液,在 410 nm 波长处测吸光度,记为 d_2 ;空白对照不添加样品溶液,在 410 nm 波长处测吸光度,记为 d_3 ;反应体系的总容量不变,用磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L, pH 值为 6.8)补齐。阳性对照中,用 Acarbose 溶液替代样品溶液,其他步骤与样品溶液处理相同,在 410 nm 波长处测吸光度。 α -葡萄糖苷酶抑制率计算公式如下:

$$\alpha\text{-葡萄糖苷酶抑制率} = \frac{(d_2 - d_3) - d_1}{d_2 - d_3} \times 100\%$$

1.5 数据处理

使用 Origin 2022 和 SPSS 27.0 软件进行数据统计与分析,所有实验均重复 3 次,结果取(平均值 $\pm$ 标准差);采用 ANOVA 进行方差分析,通过 Duncan 多重比较对数据进行事后检验, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 阳荷冻干粉基本成分分析

测定结果显示,阳荷冻干粉中基本成分及含量由高到低依次为总糖(33.33 $\pm$ 0.26)%、粗纤维(24.15 $\pm$ 0.64)%、粗蛋白(18.18 $\pm$ 0.16)%、灰分(11.57 $\pm$ 0.25)%、水分(4.74 $\pm$ 0.16)%和粗脂肪(0.54 $\pm$ 0.21)%,其中糖类物质含量最高,这为 ZSP 生物活性的研究提供了有利条件。

2.2 单因素试验结果分析

各因素对 ZSP 得率的影响见图 1,其中不同小写

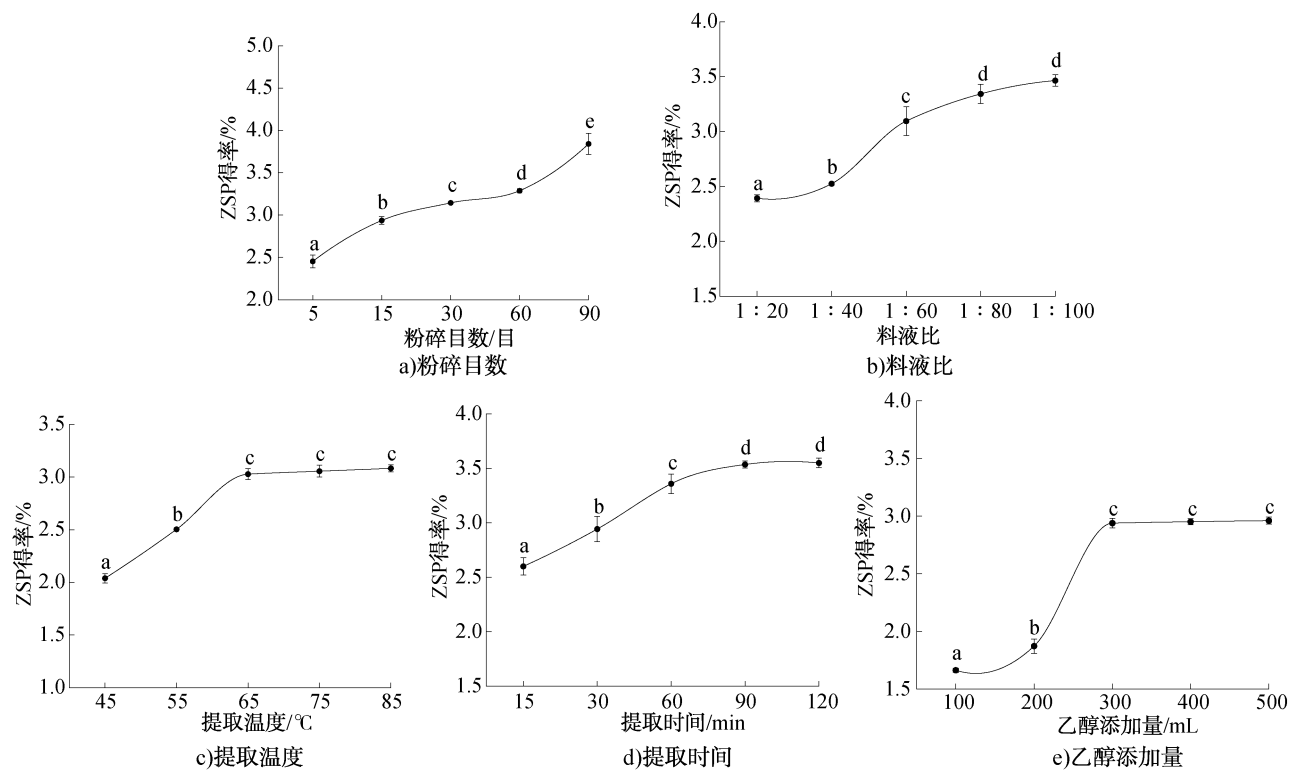


图 1 各因素对 ZSP 得率的影响

Fig. 1 Effect of various factors on the yield of ZSP

字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$), 下同。由图 1a) 可知, 随着粉碎目数的减小, ZSP 得率呈逐渐增大的趋势。当粉碎目数为 90 目时, ZSP 得率最高, 为 $(3.84 \pm 0.12)\%$ 。基于现有实验条件, 选用粉碎目数 30 目、60 目和 90 目进行后续响应面实验设计。由图 1b) 可知, 随着蒸馏水占比升高, ZSP 得率显著增大 ($P < 0.05$), 当料液比为 1 : 80 并继续减小后, ZSP 得率逐渐趋于平缓, 故选择料液比 1 : 60、1 : 80 和 1 : 100 进行后续响应面实验设计。由图 1c) 可知, 当提取温度从 45 °C 升高至 65 °C 时, ZSP 得率呈显著增大趋势 ($P < 0.05$); 当提取温度在 65 ~ 85 °C 范围内时, ZSP 得率增加不显著 ($P > 0.05$)。综合能耗、时间、经济成本等因素, 选择 75 °C 作为后续实验的最佳提取温度。由于提取温度在 65 ~ 85 °C 范围内对 ZSP 得率影响较小, 所以提取温度不作为主要因素用于后续响应面实验设计。由图 1d) 可知, 随着提取时间的延长, ZSP 得率呈先增大后平缓的趋势, 当提取时间为 90 min 时, ZSP 得率最高, 为 $(3.53 \pm 0.03)\%$, 故选择提取时间 60 min、90 min 和 120 min 进行后续响应面实验设计。由图 1e) 可知, 随着乙醇添加量的增加, ZSP 得率呈先显著增加

后基本不变的趋势, 当乙醇添加量分别为 300 mL、400 mL 和 500 mL 时, ZSP 得率分别为 $(2.94 \pm 0.04)\%$ 、 $(2.95 \pm 0.02)\%$ 和 $(2.96 \pm 0.03)\%$ 。考虑到乙醇在使用过程中的经济成本, 选择 400 mL 作为后续实验的最佳乙醇添加量。与提取温度类似, 乙醇添加量不作为主要因素用于后续响应面实验设计。

2.3 响应面实验结果分析

响应面实验设计方案及结果见表 2。利用 Design-Expert 软件对表 2 中的响应值与各因素进行回归拟合, 建立以 ZSP 得率为响应值 (Y) 的二项式回归模型: $Y = 4.04 + 0.16A + 0.21B + 0.09C + 0.01AB - 0.05AC - 0.08BC - 0.32A^2 - 0.18B^2 - 0.15C^2$ 。

响应面实验方差分析结果见表 3。由表 3 可知, 回归模型表现为极显著 ($P < 0.01$), 失拟项不显著 ($P > 0.05$), 说明该回归模型可靠且具有统计学意义。 R^2 为 0.9905, 说明该模型拟合度良好。二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 及交互项 BC 对 ZSP 得率的影响极显著 ($P < 0.01$), 各因素对 ZSP 得率影响的主次顺序为 $B > A > C$, 即粉碎目数 > 提取时间 > 料液比。

经响应面试验优化得到 ZSP 最优提取工艺条件为提取时间 95.7 min、粉碎目数 73.8 目、料液比 1 : 64.8,此时 ZSP 得率为 4.09%。综合实际操作的可行性和经济原则,调整提取工艺条件为提取时

表 2 响应面试验设计方案及结果
Table 2 Experimental design and results of the response surface methodology

编号	A	B	C	Y/%
1	0	0	0	4.02
2	0	-1	1	3.67
3	1	0	-1	3.69
4	1	1	0	3.92
5	0	-1	-1	3.30
6	1	-1	0	3.52
7	0	0	0	4.03
8	-1	1	0	3.53
9	-1	0	1	3.55
10	0	1	-1	3.90
11	0	1	1	3.95
12	1	0	1	3.72
13	0	0	0	4.01
14	-1	0	-1	3.32
15	0	0	0	4.08
16	-1	-1	0	3.16
17	0	0	0	4.04

表 3 响应面试验方差分析结果
Table 3 Analysis of variance results for the response surface methodology experiment

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	1.37	9	0.15	81.12	<0.000 1	**
A	0.21	1	0.21	110.77	<0.000 1	**
B	0.34	1	0.34	181.22	<0.000 1	**
C	0.06	1	0.05	30.78	0.000 9	**
AB	0.00	1	0.00	0.12	0.739 4	
AC	0.01	1	0.01	5.33	0.054 4	
BC	0.02	1	0.02	13.63	0.007 7	**
A ²	0.43	1	0.43	228.53	<0.000 1	**
B ²	0.14	1	0.14	76.12	<0.000 1	**
C ²	0.09	1	0.09	48.29	0.000 2	**
残差	0.01	7	0.00			
失拟项	0.01	3	0.00	4.67	0.085 4	
纯误差	0.00	4	0.01			
总离差	1.38	16				
R ²	0.990 5					

注:* 表示影响显著 ($P<0.05$); ** 表示影响极显著 ($P<0.01$)。

间 96 min、粉碎目数 80 目、料液比 1 : 65、提取温度 75 ℃、乙醇添加量为 400 mL,在此条件下进行 3 次验证实验, ZSP 得率为 $(3.89 \pm 0.01)\%$, RSD 为 3.92%,说明该回归模型有效,其优化后的工艺参数可靠。

2.4 ZSP 生物活性分析

2.4.1 乳化性 多糖的表面活性使其能够吸附于两种分散相界面,显著提升乳液体系的稳定性^[36],这使多糖成为天然乳化剂研发中的重要材料。不同质量浓度下 ZSP 的乳化性见图 2,其中不同大写字母表示同一质量浓度下组间差异显著 ($P<0.05$);不同小写字母表示不同质量浓度下组内差异显著 ($P<0.05$)。由图 2 可知,随着 ZSP 和刺槐豆胶质量浓度的增大,两者的乳化性随之增大,当质量浓度为 15 mg/mL 时,二者的乳化性均最高,分别为 $(76.14 \pm 1.33)\%$ 和 $(27.19 \pm 0.89)\%$,ZSP 的乳化性显著大于刺槐豆胶。这可能是由于 ZSP 含有的较多羟基可使其吸附在油水界面上,使界面膜加厚且离散双电层增大,从而形成胶束,增大体系的乳化性^[37]。目前,市场上的硬脂酰乳酸钠、双乙酰酒石酸单甘油酯等人工合成乳化剂因生产成本低廉,已被广泛应用于各类食品加工中^[38]。尽管 ZSP 乳化性较突出,但考虑到生产成本,可在确有需要的前提下,将其作为天然乳化剂进行开发。

2.4.2 抑菌性 不同质量浓度下 ZSP 的抑菌性见图 3,其中不同小写字母表示组内差异显著 ($P<$

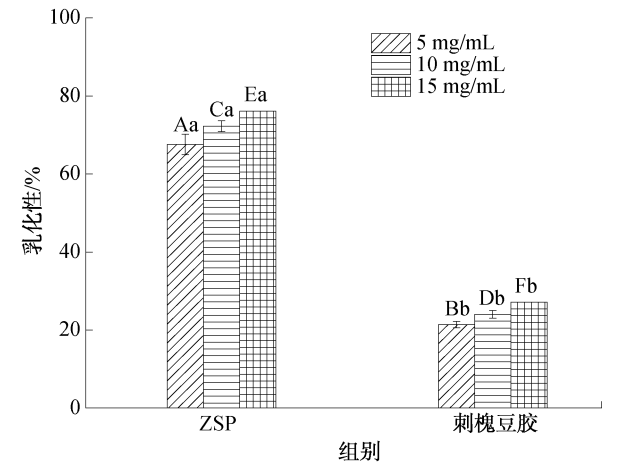


图 2 不同质量浓度下 ZSP 的乳化性
Fig. 2 Emulsifying property of ZSP at different mass concentrations

0.05); 相同小写字母表示组内差异不显著 ($P>0.05$)。由图 3 可知,ZSP 仅对大肠杆菌有抑制作用,且抑菌性随着 ZSP 质量浓度的增加而增大。当质量浓度为 50 mg/mL 时,ZSP 和氨基青霉素钠对大肠杆菌的抑菌圈直径分别达到 (2.35 ± 0.02) cm 和 (3.02 ± 0.09) cm。因此,ZSP 的抑菌效果不明显,对大多数细菌都无抑菌效果,不适宜开发为广谱抑菌剂,但可依据 ZSP 对大肠杆菌的抑制作用,将其研制成大肠杆菌专属抑制剂。

2.4.3 重金属吸附能力 多糖因含有羟基、羧基、氨基等多种官能团而具有一定的金属离子螯合能力,可作为生物吸附材料用于开发具有促排金属功能的物质^[38]。不同质量浓度下 ZSP 的重金属吸附能力见图 4,其中不同小写字母表示组间差异显著 ($P<0.05$)。由图 4 可知,当 ZSP 质量浓度为 0.1~1.0 g/L 时,ZSP 对 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 和 Pb^{2+} 的吸附量均随着其质量浓度的升高而增加,且当质量浓度为 1.0 g/L 时,对 3 种金属离子的吸附量均达到最大值,分别为 (17.26 ± 0.41) mg/g、 (21.19 ± 0.33) mg/g 和 (27.64 ± 0.61) mg/g。多糖的金属螯合能力主要源于其复杂的结构特征,可从络合作用、离子交换、共价键结合、范德华力等角度解释多糖的吸附活性,但其作用机制仍不十分明确。因此,ZSP 对重金属离子的吸附原理及其在体内可能存在的重金属离子促排作用仍需进一步研究。

2.4.4 抗氧化活性 不同质量浓度下 ZSP 的抗氧化活性见图 5,其中不同小写字母表示组间差异显

著 ($P<0.05$); 相同小写字母表示组间差异不显著 ($P>0.05$)。由图 5 可知,不同质量浓度 VC 对 ABTS^+ 、 DPPH 和 $\cdot\text{OH}$ 自由基的清除率变化趋势较

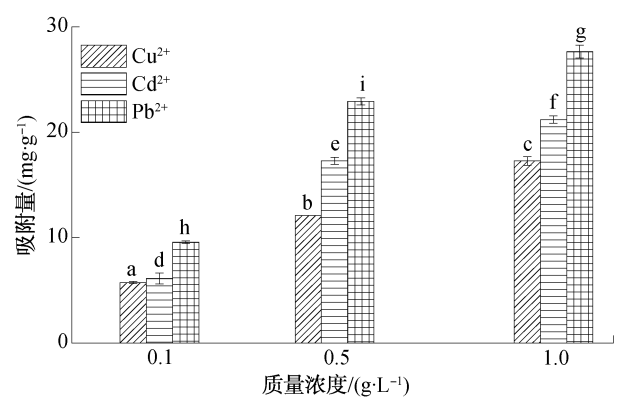


图 4 不同质量浓度下 ZSP 的重金属吸附能力
Fig. 4 Heavy metal adsorption capacity of ZSP at different mass concentrations

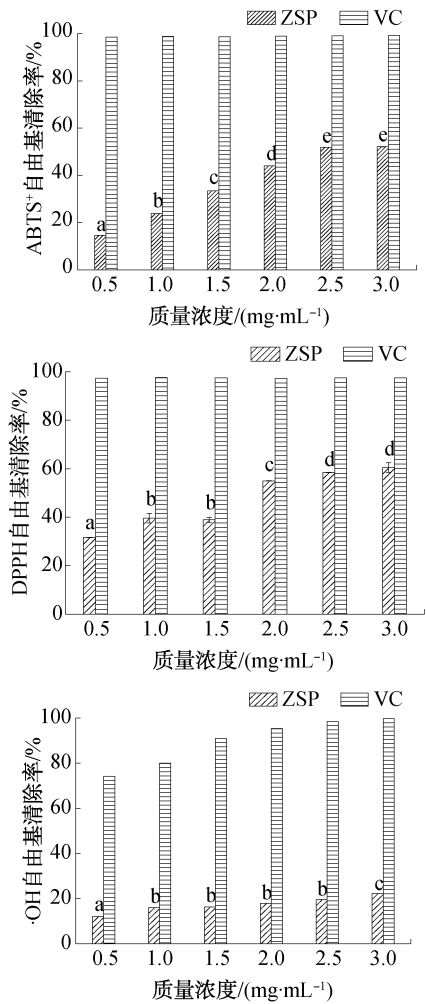


图 5 不同质量浓度下 ZSP 的抗氧化活性
Fig. 5 Antioxidant activity of ZSP at different mass concentrations

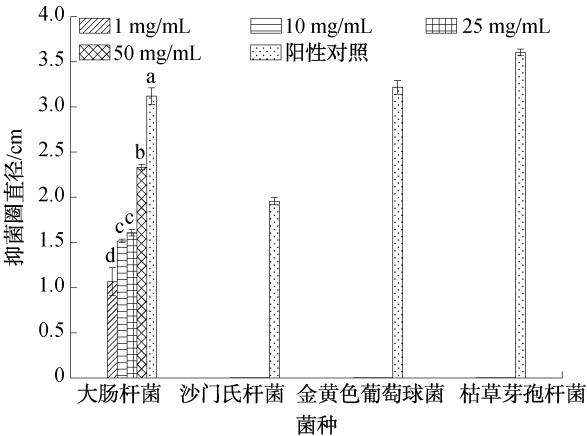


图 3 不同质量浓度下 ZSP 的抑菌性
Fig. 3 Antibacterial activity of ZSP at different mass concentrations

平缓,前两者的清除率稳定在 95%~99%之间,后者清除率保持在 70%~98%之间;而 ZSP 对 3 种自由基的清除率均随其质量浓度的增加逐渐增大,当其质量浓度为 3 mg/mL 时,对 3 种自由基的清除率均达到最大值,分别为(52.10±0.01)%、(60.40±1.95)%和(22.20±0.02)%,但远低于 VC。与同类文献相比,本研究制备的 ZSP 对 3 种自由基的清除率低于曹小燕等^[14]的相关报道,这可能是由阳荷产地差异或提取工艺不同所致。但总体来说,ZSP 具有一定的体外抗氧化活性。

2.4.5 降血糖活性 不同质量浓度下 ZSP 的降血糖活性见图 6,其中不同小写字母表示组间差异显著($P<0.05$)。由图 6 可知,ZSP 和 Acarbose 对 α -葡萄糖苷酶的抑制率均随其质量浓度的增加而增大,当质量浓度为 1.0 mg/mL 时,二者对 α -葡萄糖苷酶的抑制率均达到最大值,分别为(38.00±2.00)%和(60.90±0.01)%。尽管 Acarbose 对 α -葡萄糖苷酶的体外抑制作用总体上高于 ZSP,但有学者利用胰岛素抵抗的 HepG2 细胞对阳荷醇提物的体外降血糖活性进行了研究,发现该醇提物具有显著的降血糖活性^[39]。因此,ZSP 在抗糖尿病功能产品研发方面具有较好的应用前景。

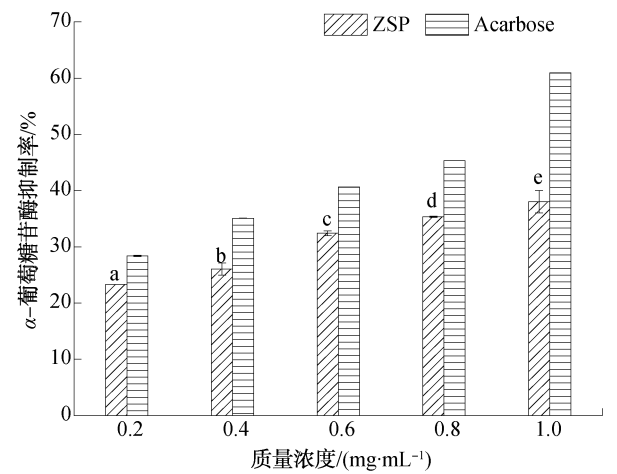


图 6 不同质量浓度下 ZSP 的降血糖活性
Fig.6 Hypoglycemic activity of ZSP at different mass concentrations

3 结论

本文以新鲜阳荷为原料,在测定其冻干粉基本

成分的基础上,经水提醇沉法提取了 ZSP,利用单因素试验和响应面试验优化了 ZSP 提取工艺,并研究了 ZSP 的乳化活性、抑菌性、重金属吸附能力、抗氧化活性和降血糖活性,得到以下结论:ZSP 最优提取工艺条件为粉碎目数 80 目、料液比 1:65、提取温度 75℃、提取时间 96 min、乙醇添加量 400 mL,在此条件下,ZSP 得率为(3.89±0.01)%;与刺槐豆胶相比,ZSP 具有较突出的乳化性,当质量浓度为 15 mg/mL 时,其乳化性最高,为(76.14±1.33)%,但因其生产成本较市面上人工合成乳化剂高,暂未被应用于食品加工中,可在确有需要的情况下进行开发;ZSP 的广谱抑菌效果不明显,仅对大肠杆菌有明显的抑制作用,可将其研制成大肠杆菌专属抑制剂;ZSP 对 Cu²⁺、Cd²⁺和 Pb²⁺这 3 种重金属离子均有一定的吸附能力,当其质量浓度为 1.0 g/L 时,对 3 种重金属离子的吸附量均达到最大值,分别为(17.26±0.41) mg/g、(21.19±0.33) mg/g 和(27.64±0.61) mg/g,但其对重金属离子的吸附原理及其在体内的重金属离子促排作用仍需作进一步探讨;ZSP 具有一定的体外抗氧化活性,当其质量浓度为 3 mg/mL 时,对 ABTS⁺、DPPH 和 ·OH 自由基的清除率均达到最大值,分别为(52.1±0.01)%、(60.4±1.95)%和(22.2±0.02)%,但远低于 VC;ZSP 具有一定的降血糖活性,当其质量浓度为 1.0 mg/mL 时,对 α -葡萄糖苷酶的抑制率达(38.0±2.00)%,虽低于 Acarbose 对 α -葡萄糖苷酶的抑制率(60.90±0.01)%,但在抗糖尿病功能产品的研发方面仍具有较好的应用前景。

参考文献:

[1] 孟攀,田野,蔡菊,等.药食两用植物阳荷的开发应用研究[J].蔬菜,2023(6):43-47.
[2] 王丽娜,郭世民,高敏.植物药阳荷根的急性毒性研究[J].云南中医中药杂志,2010,31(12):64.
[3] 杨秀伟,谭凯,邓宽平,等.药食两用蔬菜阳荷的生物学特性及其应用[J].吉林农业,2016(7):110.
[4] 陆廷亚.阳荷花化学成分及体外药理活性研究[D].贵阳:贵州大学,2021.
[5] CHEN S X, CHEN M H, SHEN J G, et al. Study on the components of haematochrome in wild *Zingiber striatum* from Mount Fanjing [J]. Medicinal Plant, 2012, 3 (5): 58-60.

- [6] 解成骏,刘邻渭.不同温度处理下阳荷红色素提取工艺探究[J].食品研究与开发,2012,33(4):67-71.
- [7] 秦玉芝,黄玮,李坚,等.湖南武陵山区野生阳荷红色素的理化性质研究[J].湖南农业科学,2012(19):41-43.
- [8] 陈仕学,郁建平,陈美航.微波提取梵净山野生阳荷红色素及稳定性研究[J].食品工业,2012,33(6):30-32.
- [9] 许远,魏和平,吴彦,等.响应面优化襄荷总黄酮提取及抗氧化研究[J].食品工业科技,2015,36(5):233-239.
- [10] 马明兰,刘阳,王园,等.表面活性剂辅助微波提取阳荷黄酮工艺条件的优化[J].日用化学工业,2017,47(6):331-335.
- [11] 蔡依.阳荷降糖、体外抑菌物质基础研究[D].武汉:武汉工程大学,2018.
- [12] 邱岚,陈仕学,王红梅.超声波辅助提取阳荷多糖的工艺研究[J].食品工业,2013,34(8):21-24.
- [13] 陈仕学,沈家国,陈波,等.微波辅助提取梵净山阳荷多糖的工艺优化[J].食品与发酵工业,2013,39(5):234-237.
- [14] 曹小燕,杨海涛.微波-超声波协同辅助优化阳荷多糖提取工艺及抗氧化性分析[J].食品研究与开发,2020,41(18):68-74.
- [15] 陈仕学,郁建平,杨俊,等.响应面法优化微波提取阳荷水溶性膳食纤维工艺[J].食品科学,2014,35(18):57-62.
- [16] 陈仕学,胡明念,鲁道旺,等.野生阳荷水不溶性膳食纤维的提取及性能测定[J].食品与发酵工业,2014,40(1):250-253.
- [17] 朱仁威,邹晨晨,李丽,等.铜仁阳荷营养成分测定与分析[J].铜仁学院学报,2018,20(9):11-14.
- [18] 王玉本.襄荷抗氧化活性物质的研究[D].天津:天津科技大学,2010.
- [19] 张海涛,马明兰,全青,等.阳荷总黄酮对食用油脂的抗氧化作用研究[J].山东化工,2018,47(6):47,61.
- [20] 马建革,胡志明,张云丁,等.阳荷提取物体外抗菌作用研究[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(18):206-209.
- [21] 蔡依,郭百臻,徐津林,等.阳荷不同极性部位体外抑菌活性研究[J].食品研究与开发,2018,39(19):36-39,103.
- [22] CHEN T H, CAI J Y, NI J, et al. An UPLC-MS/MS application to investigate chemical compositions in the ethanol extract with hypoglycemic activity from *Zingiber striolatum* Diels[J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences, 2016, 25(2):116-121.
- [23] 梁帅,郑尧,邓鑫,等.阳荷主要化学组分分析与抗菌活性评价研究[J].中南民族大学学报(自然科学版),2020,39(5):493-499.
- [24] 周东月,王春璐,王英馨,等.黄连多糖的研究进展[J].世界最新医学信息文摘,2019,19(81):36-37.
- [25] 杨颖,魏梦昕,伍耀业,等.白术多糖提取分离、化学组成和药理作用的研究进展[J].中草药,2021,52(2):578-584.
- [26] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.食品安全国家标准 食品中水分的测定:GB 5009.3—2016[S].北京:中国标准出版社,2017.
- [27] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局.食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定:GB 5009.5—2016[S].北京:中国标准出版社,2017.
- [28] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局.食品安全国家标准 食品中脂肪的测定:GB 5009.6—2016[S].北京:中国标准出版社,2017.
- [29] 国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会.食用菌中总糖含量的测定:GB/T 15672—2009[S].北京:中国标准出版社,2009.
- [30] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会.食品安全国家标准 食品中灰分的测定:GB 5009.4—2016[S].北京:中国标准出版社,2017.
- [31] 中华人民共和国卫生部,中国国家标准化管理委员会.植物类食品中粗纤维的测定:GB/T 5009.10—2003[S].北京:中国标准出版社,2004.
- [32] 徐冠一.马铃薯皮多糖的理化性质及功能性研究[D].合肥:合肥工业大学,2020.
- [33] ZHU Y M, PAN L C, ZHANG L J, et al. Chemical structure and antioxidant activity of a polysaccharide from *Siraitia grosvenorii*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 165:1900-1910.
- [34] DONG Q, HU N, YUE H L, et al. Inhibitory activity and mechanism investigation of hypericin as a novel α -glucosidase inhibitor[J]. Molecules, 2021, 26(15):4566.
- [35] GU S S, SUN H Q, ZHANG X L, et al. Structural characterization and inhibitions on α -glucosidase and α -amylase of alkali-extracted water-soluble polysaccharide from *Annona squamosa* residue[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 166:730-740.
- [36] 杜晓琳.不同年份青砖茶多糖抗氧化性及其乳化稳定性研究[D].武汉:湖北工业大学,2019.
- [37] 张雪儿,金野,杜沁岭,等.紫背天葵多糖的化学组成与物理特性研究[J].食品科技,2022,47(11):179-184.
- [38] GOMATHI T, S S, ALAM M M, et al. Copper (II) ion removal from aqueous solutions using alginate nanoparticles/carboxymethyl cellulose/polyethylene glycol ternary blend: Characterization, isotherm and kinetic studies[J]. Polymer Testing, 2024, 130:108321.
- [39] TAN D P, CUI J G, QIN L, et al. Hypoglycemic effect of *Zingiber striolatum* bud extract in db/db mice[J]. Food Science and Technology, 2022, 42:e114321.

Optimization of extraction process and evaluation of biological activities of polysaccharides from *Zingiber striolatum*

JIANG Wei^{1,2}, HU Ying³, ZHU Zhenyuan²

1. Health Management Department, Zunyi Medical and Pharmaceutical College, Zunyi 563006, China;
2. College of Food Science and Engineering, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China;
3. School of Public Health, Zunyi Medical University, Zunyi 563000, China

Abstract: To expand the utilization of *Zingiber striolatum* (a characteristic plant resource) and enhance the value-added potential of its products, *Zingiber striolatum* polysaccharides (ZSP) were extracted from fresh *Zingiber striolatum* using aqueous extraction followed by ethanol precipitation. The extraction process was optimized via single-factor and response surface experiments, and the biological activities of ZSP were evaluated, including emulsifying property, antibacterial activity, heavy metal adsorption capacity, antioxidant activity, and hypoglycemic potential. The optimal extraction parameters were: particle size 80 mesh, solid-liquid ratio 1 : 65, extraction temperature 75 ℃ , extraction time 96 min, and ethanol volume 400 mL. Under these conditions, the ZSP yield was (3. 89 ± 0. 01) % . The emulsifying property of ZSP increased with higher mass concentration, reaching a maximum of (76. 14 ± 1. 33) % at 15 mg/mL. ZSP exhibited antibacterial activity against *Escherichia coli* , with inhibition zone diameter increasing at higher concentrations; at 50 mg/mL, the inhibition zone diameter was (2. 35 ± 0. 02) cm. The adsorption capacities of ZSP for Cu²⁺ , Cd²⁺ and Pb²⁺ increased at higher mass concentrations, reaching (17. 26 ± 0. 41) mg/g, (21. 19 ± 0. 33) mg/g, and (27. 64 ± 0. 61) mg/g at 1. 0 g/L, respectively. The scavenging activities of ZSP against ABTS⁺ , DPPH, and · OH radicals increased with higher mass concentration, with scavenging rates of (52. 10 ± 0. 01) % , (60. 40 ± 1. 95) % , and (22. 20 ± 0. 02) % at 3 mg/mL, respectively. The inhibitory activity of ZSP against α-glucosidase increased with higher mass concentration, reaching a maximum of (38. 00 ± 2. 00) % at 1. 0 mg/mL. Collectively, ZSP demonstrated significant potential in heavy metal adsorption and hypoglycemic activity, suggesting its promise for developing edible materials for heavy metal removal and antidiabetic functional products.

Key words: *Zingiber striolatum*; polysaccharide; extraction process; biological activity

[责任编辑:王晓波]