

# 青钱柳多糖抑菌活性及作用机制研究

卢玉翠<sup>1</sup>, 王利晶<sup>1</sup>, 龙仙梅<sup>1</sup>, 赵立春<sup>2,3\*</sup>, 廖夏云<sup>1,2\*</sup>

(1. 广西中医药大学药学院, 南宁 530021; 2. 广西壮瑶药工程技术研究中心, 南宁 530021;  
3. 广西药食同源资源开发重点实验室, 南宁 530021)

**摘要:** **目的** 研究青钱柳多糖(*Cyclocarya paliurus* polysaccharides, CPP)抑菌活性及作用机制。**方法** 用不同质量浓度 CPP 处理细菌后, 通过最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)、抑菌生长曲线分析 CPP 对细菌的抑菌效果, 并从抑制效果最佳的受试菌菌体电导率、细胞蛋白和核酸含量、还原糖的释放、呼吸链脱氢酶活性、脂质过氧化程度、细胞内三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)含量、细胞外碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)活力的角度来揭示其抑菌机制。**结果** CPP 对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)、单增李斯特氏菌(*Listeria monocytogenes*)和鼠伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhimurium*)有明显的抑制作用, MICs 分别为 2、4、6、6 mg/mL, 对枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)的抑菌性不明显; 对指示菌的电导率、蛋白质和核酸渗漏、还原糖释放、呼吸链脱氢酶活性、细菌脂质过氧化程度、菌体胞内 ATP 和胞外碱性磷酸酶含量均有影响。**结论** CPP 具有抑菌活性, 其抑菌性主要是破坏菌体细胞壁和细胞膜完整性, 改变其通透性, 使得胞内大小分子物质外泄, 抑制细胞的呼吸代谢和引起氧化损失, 进而影响细胞的生长代谢或造成细胞死亡, 达到抑菌效果。本研究结果为 CPP 的抑菌机制探究提供一定的基础数据。

**关键词:** 青钱柳多糖; 细菌; 抑菌活性; 抑菌机制

## Study on the antibacterial activity and mechanism of polysaccharides from *Cyclocarya paliurus*

LU Yu-Cui<sup>1</sup>, WANG Li-Jing<sup>1</sup>, LONG Xian-Mei<sup>1</sup>, ZHAO Li-Chun<sup>2,3\*</sup>, LIAO Xia-Yun<sup>1,2\*</sup>

(1. Traditional Chinese Medicine, Guangxi University, Nanning 530021, China; 2. Guangxi Zhuang Yao Medicine Engineering Technology Research Center, Nanning 530021, China; 3. Guangxi Key Laboratory of Drug and Food Homologous Resources Development, Nanning 530021, China)

**ABSTRACT: Objective** To investigate the antibacterial activity and mechanism of *Cyclocarya paliurus* polysaccharides (CPP) against common bacteria. **Methods** After treating the bacteria with different mass

**基金项目:** 国家青年岐黄学者项目(2020-7)、国家自然科学基金项目(82160775)、广西一流学科项目(2019XK104)、广西研究生教育创新计划项目(YCSY2022009)

**Fund:** Supported by the National Young Qihuang Scholars Program (2020-7), the National Natural Science Foundation of China (82160775), the Guangxi First-class Discipline Project (2019XK104), and the Innovation Project of Guangxi Graduate Education (YCSY2022009)

\*通信作者: 赵立春, 博士, 研究员, 主要研究方向为药食同源产品研究与开发。E-mail: hylc@126.com

廖夏云, 博士, 副教授, 主要研究方向为保健食品的研究与开发。E-mail: liaoliao\_8506@sina.com

\*Corresponding author: ZHAO Li-Chun, Ph.D, Professor, Guangxi Key Laboratory of Drug and Food Homologous Resources Development of Guangxi Zhuang Yao Medicine Engineering Technology Research Center, No.13, Wuhe Avenue, Qingxiu District, Xianhu Campus, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530021, China. E-mail: hylc@126.com

LIAO Xia-Yun, Ph.D, Associate Professor, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine and Guangxi Key Laboratory of Drug and Food Homologous Resources Development of Guangxi Zhuang Yao Medicine Engineering Technology Research Center, No.13, Wuhe Avenue, Qingxiu District, Xianhu Campus, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530021, China. E-mail: liaoliao\_8506@sina.com

concentrations of CPP, the inhibitory effect of CPP on bacteria was analyzed by minimum inhibitory concentration (MIC) and growth curve. The best inhibitory effect of the tested bacteria was from the aspects of conductivity, cellular protein and nucleic acid content, reducing sugar release, respiratory chain dehydrogenase activity, lipid peroxidation degree, intracellular adenosine triphosphate (ATP) content, extracellular alkaline phosphatase (AKP) activity to reveal the antibacterial mechanism. **Results** CPP showed significant inhibitory effects on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium*, with MICs of 2, 4, 6 and 6 mg/mL, respectively. CPP showed no significant inhibitory effects on *Bacillus subtilis*. It also affected the conductivity, protein and nucleic acid leakage, reducing sugar release, respiratory chain dehydrogenase activity, bacterial lipid peroxidation, intracellular adenosine triphosphate and extracellular alkaline phosphatase content of the indicator bacteria. **Conclusion** CPP has bacteriostatic activity. The antibacterial effect of CPP may mainly by destroying the integrity of the cell wall and cell membrane, changing its permeability, resulting in the release of intracellular large and small molecular substances, inhibiting the respiration and metabolism of cells and causing oxidative loss, thereby affecting the growth and metabolism of cells or causing cell death and achieving the antibacterial effect. The results of this study provide some basic data for the exploration of the antibacterial mechanism of CPP.

**KEY WORDS:** *Cyclocarya paliurus* polysaccharides; bacteria; antibacterial activity; antibacterial mechanism

## 0 引言

青钱柳 [*Cyclocarya paliurus* (Batal.) Hjinskaja] 是我国极具开发潜力的药食同源植物, 2013 年被批准为食品原料<sup>[1]</sup>。青钱柳叶作为甜茶饮用在民间历史悠久, 据《中国中药资源大典》记载, 青钱柳叶可清热解毒、生津止渴<sup>[2]</sup>。大量研究表明, 青钱柳富含多糖、三萜、黄酮和酚酸等多种活性物质, 具有改善胰岛素抵抗、抑制消化酶活性、降血糖、降血脂、消除自由基和抗氧化应激等作用<sup>[3-5]</sup>。

多糖 (polysaccharides) 是由单糖之间脱水形成糖苷键, 并以糖苷键线性或分支连接而成的链状聚合物<sup>[6]</sup>。作为一大类天然产物, 多糖广泛存在于动物、植物、微生物等有机体中。研究发现, 从植物中提取的天然多糖具备抗氧化、调节免疫、降血糖、抗菌、降低胆固醇和血清葡萄糖水平等活性<sup>[7-9]</sup>。到目前为止, 桑叶多糖<sup>[10]</sup>、牛蒡叶多糖<sup>[11]</sup>、花椒叶多糖<sup>[12]</sup>、荷叶多糖<sup>[13]</sup>、银杏落叶多糖<sup>[14]</sup>、沙棘叶多糖<sup>[15]</sup>、鱼腥草叶多糖<sup>[16]</sup>等天然多糖已被证明具有抑菌作用。青钱柳多糖 (*Cyclocarya paliurus* polysaccharides, CPP) 是青钱柳主要的活性成分之一, 目前研究主要集中在提取<sup>[17-19]</sup>和抗氧化<sup>[20-21]</sup>、降血糖<sup>[22-23]</sup>、降血脂<sup>[24-25]</sup>、免疫调节<sup>[26-27]</sup>等生物活性方面, 而抑菌活性研究<sup>[28]</sup>鲜有报道, CPP 和抗菌活性之间的关系尚未被深入研究, 抑菌机制未见报道。因此, 本研究以青钱柳为原料制备 CPP, 并探讨其对细菌的抑菌效果并筛选出指示菌进行抑菌机制研究, 以期 CPP 作为功能性因子和抑菌药物的开发与应用提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试菌种、材料与试剂

金黄色葡萄球菌 CMCC 26003 (*Staphylococcus aureus*)、

单增李斯特氏菌 ATCC 19115 (*Listeria monocytogenes*)、枯草芽孢杆菌 CMCC 63501 (*Bacillus subtilis*)、大肠杆菌 CMCC 44102 (*Escherichia coli*)、鼠伤寒沙门氏菌 ATCC 14028 (*Salmonella typhimurium*) (广东省微生物菌种保藏中心)。

青钱柳叶 (宣城百草药业有限公司); LB 肉汤培养基、LB 琼脂培养基、脑心浸出液肉汤培养基 (广东环凯微生物科技有限公司); 0.22  $\mu\text{m}$  CA 醋酸纤维滤器 (上海睿齐实业有限公司); DNS 显色剂 (广州和为医药科技有限公司); 三氯乙酸 (trichloroacetic acid, TCA) (分析纯)、2-巯代巴比妥酸、碘硝基四唑紫 (iodonitrotetrazolium chloride, INT) (纯度 98%) (上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 无水乙醇 (分析纯, 成都市科隆化学品有限公司); 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffer saline, PBS) (北京索莱宝科技有限公司); 碱性磷酸酶测试盒、三磷酸腺苷含量测试盒 (南京建成生物工程研究所); BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司)。

### 1.2 仪器与设备

SPX-250A 生化培养箱 (上海煜南仪器有限公司); INFINITE 200 PRO 全波长酶标仪 (瑞士帝肯奥地利有限公司); BSC-1500IIA2-X 生物安全柜 (济南鑫贝西生物技术有限公司); UV1800PC 紫外可见分光光度计 (上海菁华科技仪器有限公司); LDZX-50KBS 立式高压蒸汽灭菌器 (上海申安医疗器械厂); SKY-211B 摇床 (上海苏坤实业有限公司); TG16WS 台式高速离心机 (湖南迈达仪器有限公司); LC-JY92-11N 超声波细胞破碎仪 (上海力辰仪器科技有限公司)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 CPP 的制备与含量测定

将药材青钱柳叶烘干, 按料液比 1:120 (g/mL) 加水浸

泡 1 h, 热水提 3 次, 提取时间分别为 2、2、1 h, 合并滤液进行浓缩, 随后浓缩液喷雾干燥, 粉碎, 过 80 目筛, 得到青钱柳叶粉末。蒸馏水调 pH 为 8, 按取料液比 1:20 (g:mL) 加入青钱柳叶粉末, 沸水浴 3 h, 4000 r/min 离心 5 min 得到上清液, 按 1:1 (V:V) 比例加入 5% 三氯乙酸, 振荡 30 min, 离心去掉蛋白层, 取上清液, 加入无水乙醇静置 24 h, 以上操作重复 2 次, 最后冷冻干燥得到粗多糖。根据公式(1)可计算出 CPP 得率<sup>[29]</sup>, 测得 CPP 纯度为 58.54%。多糖质量浓度采用硫酸-苯酚法测定<sup>[30]</sup>。以葡萄糖质量浓度( $X$ , mg/mL)为横坐标, 吸光度( $Y$ , OD<sub>490 nm</sub>)为纵坐标, 制作标准曲线, 回归方程为:  $Y=0.1207X+0.0535$ ,  $r^2=0.9993$ , 线性范围为 0~0.105 mg/mL:

$$\text{CPP 得率}/\% = \frac{c \times V \times n}{m} \times 100\% \quad (1)$$

式中,  $c$  为待测样品的质量浓度(mg/mL);  $V$  为待测样品体积(mL);  $n$  为稀释倍数;  $m$  为多糖样品质量(g)。

### 1.3.2 抑菌活性实验

#### (1) 最小抑菌浓度测定

分别取生长量为  $10^6$  CFU/mL 的 5 种供试菌 1 mL 和不同浓度的 CPP, 加入到无菌液体培养基中, CPP 质量浓度分别为 0、1、2、4、6、8、10、12 mg/mL, 以不含 CPP 的无菌液体培养基和菌液分别为阴性和阳性对照, 每组设 3 个重复, 放入 4~8°C 渗透 2 h, 在 37°C、150 r/min 条件下连续振荡培养 24 h 后, 取 100  $\mu$ L 适度稀释的菌悬液涂布于固体培养基上 37°C 培养 24~48 h 后计数, 确定不同供试菌的最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)<sup>[31]</sup>。

#### (2) CPP 对细菌生长曲线的影响

参照贾睿等<sup>[32]</sup>的方法稍加修改, CPP 质量浓度分别为 0(对照)、1MIC、2MIC, 同 1.3.2 (1) 条件培养, 于 2、4、6、8、10、24 h 用酶标仪测定 OD<sub>600</sub>, 以培养时间与 OD<sub>600</sub> 的关系绘制生长曲线。OD<sub>600</sub> 值与细菌浓度呈正相关, OD<sub>600</sub> 值越高, 表示培养物中细菌越多, 因此可根据 OD<sub>600</sub> 值评估细菌培养物的生长情况、细菌细胞的增殖速度<sup>[33]</sup>。

### 1.3.3 抑菌机制的探究

#### (1) CPP 对受试菌电导率的影响

参照周琦<sup>[34]</sup>的方法稍加修改, 将受试菌的菌液浓度调至  $10^6$  CFU/mL, 加入 CPP 使质量浓度为 0(对照)、1MIC、2MIC, 在 0、2、4、6、8、10 h 测定菌液电导率, 以液体培养基为对照, 每组设 3 个重复, 并绘制相对电导率-时间曲线。

#### (2) CPP 对受试菌蛋白质与核酸泄漏的影响

处理同上, 每隔 2 h 取样 1 mL, 3000 r/min 离心 5 min 后得到上清液, 经 0.22  $\mu$ m CA 醋酸纤维滤器过滤, 用紫外可见分光光度计测定上清液在 260 nm 和 280 nm 波长下的吸光度。

#### (3) CPP 对受试菌还原糖释放的影响

参考马俊东<sup>[35]</sup>的方法并适当修改, 处理同上, 测菌悬液中还原糖的释放情况。每次测试前, 将菌悬液通过 3000 r/min 离心 5 min 后收集 0.5 mL 上清液于一根试管中, 加入 0.5 mL DNS 后沸水浴 90°C 处理 5 min。沸水浴后待其冷却, 向试

管中加入 5 mL 蒸馏水, 混匀, 通过酶标仪测定其在 540 nm 波长下的 OD 值。

#### (4) CPP 对受试菌呼吸链脱氢酶活性的影响

参考黄梓浩<sup>[36]</sup>的方法并适当修改, 取 1 mL 受试菌菌液于 3000 r/min 离心 5 min, 去掉上清液后用无菌生理盐水反复清洗之后重悬, 加入 CPP 在 1.3.3 (1) 条件下培养 1 h。然后每一根试管取 1 mL 菌悬液加入 0.9 mL PBS 和 0.1 mL INT, 混合后在室温中进行 1 h 的避光暗处理, 暗处理结束后用紫外分光光度计测定其 490 nm 波长下的 OD 值。

#### (5) CPP 对受试菌脂质过氧化的影响

细胞中的不饱和脂肪酸被活性氧自由基氧化后会产生丙二醛(malondialdehyde, MDA), 本研究通过检测 MDA 的产量来反映细菌的脂质过氧化程度。将 5 mL 受试菌菌液离心处理同 1.3.3 (4) 后加入 CPP, 1.3.3 (1) 条件下培养 10 h, 加入等体积的冰的 10% 三氯乙酸继续培养 20 min。混合物 4000 r/min 离心 10 min 后, 取 2 mL 上清液加 2 mL 0.6% 2-硫代巴比妥酸沸水浴 30 min。待溶液冷却至室温后于 4000 r/min 离心 10 min, 用紫外可见分光光度计检测上清液在 532 nm 处的吸光度<sup>[36]</sup>。

#### (6) CPP 对受试菌菌体胞内三磷酸腺苷的影响

CPP 同 1.3.3 (1) 条件培养 24 h 后, 取样 5 mL, 4000 r/min 离心 10 min, 弃尽上清液后加入 5 mL 无菌生理盐水进行反复清洗, 悬浮。使用超声波细胞破碎仪, 低温破碎重悬后的菌体细胞(超声功率 200 W, 超声时间 3 s, 间隔时间 3 s, 40 个循环)<sup>[37]</sup>, 4000 r/min 离心 10 min, 收集上清液, 使用三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)含量试剂盒测定受试菌胞内 ATP 含量。

#### (7) CPP 对受试菌菌体细胞外碱性磷酸酶活力的影响

将受试菌菌液 4000 r/min 离心 10 min, 并用 2 mL 灭菌生理盐水悬浮收集的菌体细胞, 上述菌液同 CPP 放入 LB 液体培养基中, 同 1.3.3 (1) 培养 4 h, 于 4 h 时取样 1 mL, 于 12000 r/min 条件下离心 5 min, 收集上清液, 采用碱性磷酸酶测试盒测定胞外碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)活力<sup>[38]</sup>。

## 1.4 数据处理

实验重复 3 次, 结果用平均值 $\pm$ 标准偏差表示, 采用 Origin 2024 软件绘图, SPSS 26.0 软件方差分析法对数据进行显著性分析, 统计学差异: 样品组与对照组相比, \*表示  $P<0.05$ ; \*\*表示  $P<0.01$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 抑菌活性实验结果

#### 2.1.1 CPP 对细菌的 MIC 和抑菌效果

在培养微生物过程中, MIC 可作为评价体外抑菌物质抑菌活性强弱的指标。如表 1 所示, 金黄色葡萄球菌 CMCC 26003、大肠杆菌 CMCC 44102、鼠伤寒沙门氏菌 ATCC 14028 以及单增李斯特氏菌 ATCC 19115 的 MIC 分

表 1 CPP 对 5 种细菌的抑菌效果筛选  
Table 1 Screening of bacteriostatic effects of CPP on 5 kinds of bacteria

CPP 质量浓度 (mg/mL)	生长情况									
	金黄色葡萄球菌 CMCC 26003		大肠杆菌 CMCC 44102		鼠伤寒沙门氏菌 ATCC 14028		单增李斯特氏菌 ATCC 19115		枯草芽孢杆菌 CMCC 63501	
12	-	a	-	a	-	a	-	a	+	b
10	-	a	-	a	-	a	-	a	+	b
8	-	a	-	a	-	a	-	a	+	b
6	-	a	-	a	-	a	-	a	+	b
4	-	a	-	a	+	b	+	b	+	b
2	-	a	+	b	+	b	+	b	+	b
1	+	b	+	b	+	b	+	b	+	b
0	+	b	+	b	+	b	+	b	+	b

注: + 即视为细菌生长; - 则视为抑制或破坏细菌生长; 平板计数为 a 表示少于 30 个菌落生长, b 表示有 30~300 个菌落生长。

别为 2、4、6、6 mg/mL, 在传统直观的平板计数实验中, 高于 MIC 的菌落生长均少于 30 个, 低于 MIC 的菌落生长却难以计数, 说明在 MIC 下, 青钱柳多糖对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、单增李斯特氏菌、鼠伤寒沙门氏菌具有一定的抑制作用; 青钱柳多糖对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌所需的抑菌质量浓度最低, 说明对其抑菌效果最明显。有研究表明分子量 21 kDa 的南瓜多糖对大肠杆菌 MIC 为 15.6 mg/mL, 本研究通过三氯乙酸法处理的 CPP 分子量大约在 100~130 kDa, CPP 比南瓜多糖分子量大, 但 CPP 抗菌活性较高, 说明多糖的抗菌活性与其结构性性质有关<sup>[39]</sup>。推测可能是分子量大的多糖直接覆盖在细菌上, 阻断细菌必需营养素, 使细菌难以吸收营养而凋亡<sup>[40]</sup>。除此之外, 青钱柳多糖对枯草芽孢杆菌 CMCC 63501 抑制作用不明显, 可能是因为其效果因微生物结构和青钱柳多糖的质量浓度而异。枯草芽孢杆菌的细胞壁较厚, 并且可以分泌胞外聚合物形成生物膜<sup>[41]</sup>。因此 0~12 mg/mL 质量浓度范围的 CPP 难以对枯草芽孢杆菌 CMCC 63501 产生抑制作用。但有研究发现小米多糖对金黄色葡萄球菌和枯草芽孢杆菌均具有抑制作用, 说明不同的多糖具有不同的抑菌特性, 对不同的供试菌的抑菌强度、抑制的菌种也均有所不同<sup>[42-43]</sup>。综上所述, 选取金黄色葡萄球菌和大肠杆菌为研究 CPP 对细菌抑制机制的指示菌。

### 2.1.2 CPP 对细菌生长曲线的影响

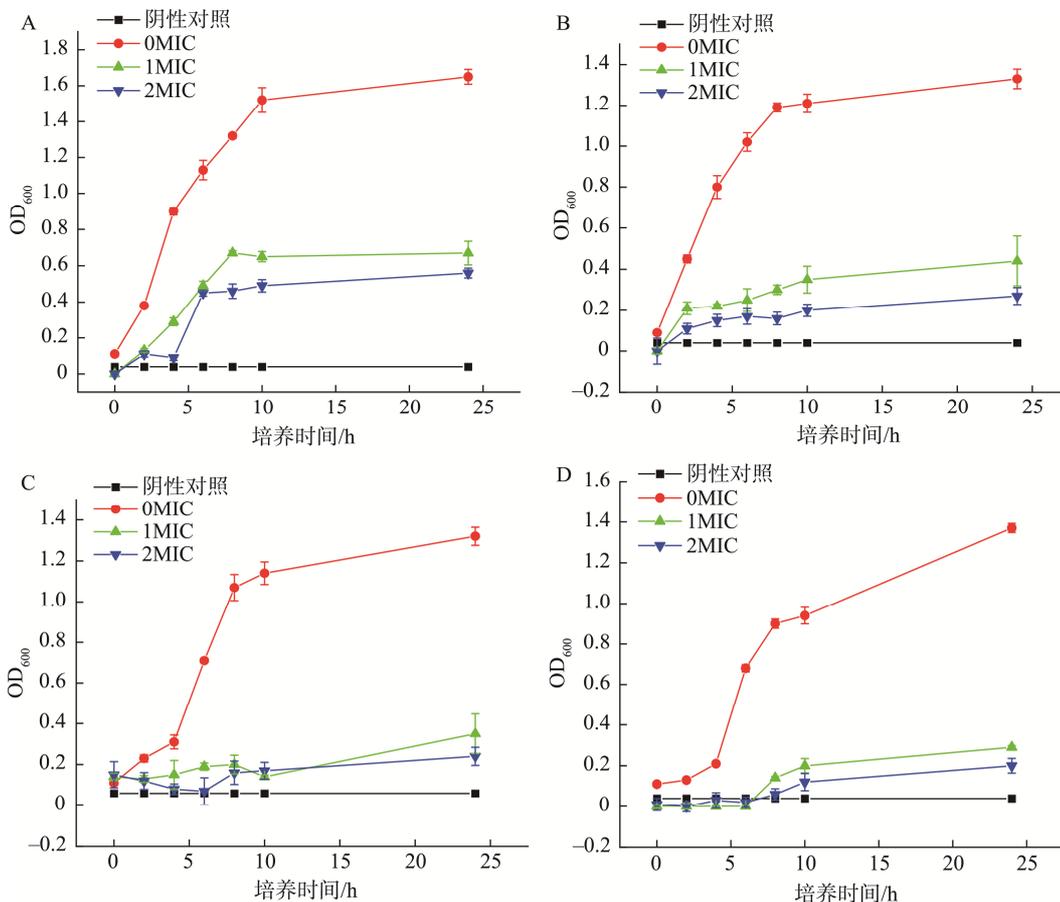
细菌正常生命进程中, 它的生长繁殖具有一定规律性, 可分为延迟期、对数期、稳定期和衰亡期 4 个阶段。CPP 对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、单增李斯特氏菌和鼠伤寒沙门氏菌生长曲线的影响如图 1 所示, A、B、C、D 菌未添加样品组菌落正常生长, 不同时期菌落特征明显, 与加样组(1MIC、2MIC)形成明显对比; 加样组在 0~10 h 期间, 菌体未出现明显的对数生长期, 说明 CPP 使细菌的生长周期延长, 抑制了细菌在对数期的生长速度, 该结果与付佳<sup>[44]</sup>发现桔梗多糖能够抑制大肠杆菌和金黄色葡萄球菌、沙门氏菌、枯草芽孢杆菌对数生长期的菌体分裂结果相似; 在

培养 10~24 h 时, 4 种菌的未添加样品组仍持续生长, 但加样组细菌已进入稳定期甚至衰亡期; 在 24 h 时, CPP 添加量 2MIC 较 1MIC 的生长速度迟缓, 说明随着 CPP 的 MIC 浓度增加, 抑制效果也随之增强; MIC 值越小, 说明样品对细菌的抑制效果越好, CPP 的抑菌作用强弱依次为金黄色葡萄球菌>大肠杆菌>单增李斯特氏菌>鼠伤寒沙门氏菌, 孙伟等<sup>[45]</sup>发现桑叶多糖对大肠杆菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌的活性均存在不同程度的抑制作用, 与本研究结果相似。此外, HAN 等<sup>[46]</sup>通过增加纸莎草果多糖中糖醛酸和鼠李糖的含量, 发现其处理的大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的生长速度减缓和菌体对数生长期不明显, 抗菌活性得到显著提升。CPP 由鼠李糖、半乳糖醛酸和葡萄糖醛酸等组成, 由此推测其抑菌活性与单糖组成和糖醛酸含量有关<sup>[47]</sup>。综上, 选取抑制效果较好的金黄色葡萄球菌和大肠杆菌为研究 CPP 对细菌抑制机制的受试菌。

## 2.2 CPP 对受试菌的抑菌机制

### 2.2.1 CPP 对受试菌电导率的影响

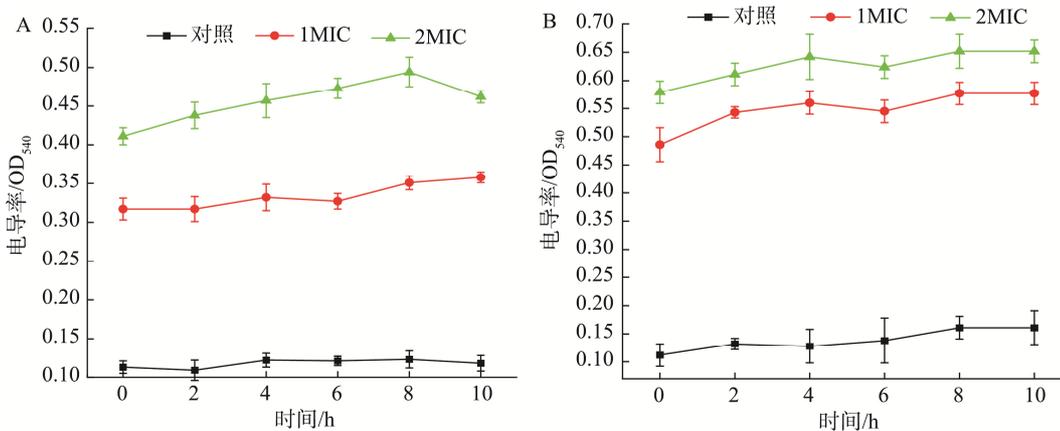
研究发现, 菌体的细胞壁和细胞膜受损后, 体内离子等电解质小分子流出, 因此测定电导率的变化可以反映菌体细胞壁和细胞膜的损伤及通透性的改变<sup>[48]</sup>。由图 2 可以看出, 将 CPP 加入受试菌菌悬液中进行培养 2~10 h 时, CPP 处理的培养液电导率随培养时间的延长而上升, 其电导率均高于对照组, 受试菌 2MIC 较 1MIC 泄露程度强烈, 说明 CPP 对菌体细胞壁和细胞膜的通透性有一定的改变, 致使细胞内的无机盐等导电离子外泄, 与王筱瑜<sup>[49]</sup>研究结果一致; CPP 质量浓度越高, 受试菌细胞壁膜的破坏作用越大。ZHANG 等<sup>[50]</sup>通过电导率结果表明多糖低分子量 ( $3.105 \times 10^4$  Da) GCP-2 和高分子量 ( $5.340 \times 10^4$  Da) GCP-1 对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的细胞膜有损伤作用。研究发现, 球形梭菌 CGMCC 6882 产生的多糖增加了大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的电导率<sup>[51]</sup>。冬虫夏草中提取的多糖增加了大肠杆菌菌体离子的释放<sup>[52]</sup>。



注: A: 金黄色葡萄球菌 CMCC 26003; B: 大肠杆菌 CMCC 44102; C: 单增李斯特氏菌 ATCC 19115; D: 鼠伤寒沙门氏菌 ATCC 14028。

图 1 CPP 对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、鼠伤寒沙门氏菌和单增李斯特氏菌生长曲线的影响

Fig.1 Effects of CPP on the growth curves of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium*



注: A: 金黄色葡萄球菌 CMCC 26003; B: 大肠杆菌 CMCC 44102, 图 4~8 同。

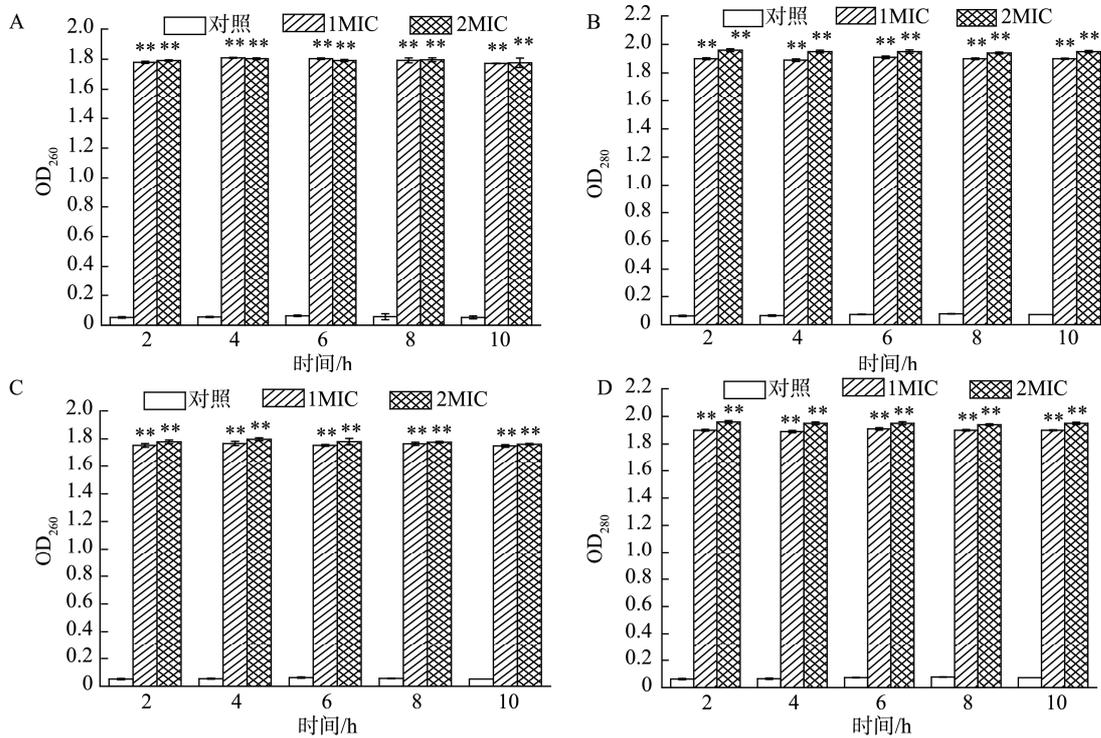
图 2 CPP 对受试菌电导率的影响

Fig.2 Effects of CPP on electrical conductivity of test bacteria

### 2.2.2 CPP 对受试菌蛋白质与核酸泄漏的影响

核酸和蛋白质作为一种胞内大分子物质可作为评价细胞膜完整性的指标<sup>[36]</sup>。由图 3 所示, 对照组指示菌 OD<sub>260</sub> 与 OD<sub>280</sub> 值随着时间的推移, 没有明显变化, 说明对照组没有细胞内容物溢出, 而受试菌经 CPP (1MIC 和 2MIC)

处理后, 吸光值均显著高于对照组, 说明 CPP 有效破坏了受试细胞壁膜的完整性, 使其通透性增强, 导致培养液中核酸和蛋白质含量增加, 有可能是因为 CPP 影响细菌细胞磷脂和蛋白质合成或糖蛋白受体与细胞膜相互作用, 从而破坏其正常生理功能导致细菌生长抑制<sup>[52-53]</sup>。



注: 样品组与对照组相比, \*表示  $P < 0.05$ ; \*\*表示  $P < 0.01$ , 下同。

图 3 CPP 对受试菌蛋白质与核酸泄漏的影响

Fig.3 Effects of CPP on protein and nucleic acid leakage of tested bacteria

### 2.2.3 CPP 对受试菌还原糖释放的影响

研究表明, 通过指示菌菌悬液中还原性总糖含量的变化, 可间接反映细胞膜结构的完整性<sup>[46]</sup>。由图 4 可知, 在培养初期 0~2 h, 对照组糖类随时间的延长被持续消耗, 还原糖含量逐渐下降, 是因为糖类物质供对照组菌悬液菌体生长繁殖, 是细菌生长主要的碳源和能量来源, 说明细菌处于正常的生理状态, 细胞膜没有被破坏; 与对照组相比, CPP 组(1MIC 和 2MIC)处理的培养液对还原糖进行了释放, 且随着 CPP 质量浓度的增加, 检测到的胞外还原糖含量越大, 成正相关, 表明 CPP 能不同程度地破坏受试菌细胞膜。有研究通过还原糖结果表明, 抑菌物质可以破坏细菌的细胞膜, 使胞内物质穿过受损细胞膜泄露, 从而使细胞死亡, 与本结果一致<sup>[36,54]</sup>。

### 2.2.4 CPP 对受试菌呼吸链脱氢酶活性的影响

在正常的生理条件下, 细菌呼吸链脱氢酶将 INT 还原为暗红色水不溶性碘硝基四唑鎓甲磺酸, 因此, 脱氢酶活性可以根据 INF 的分光光度值的变化来测定。CPP 对受试菌呼吸链脱氢酶活性的影响如图 5 所示, CPP 处理组呼吸链脱氢酶较对照组明显下降, 说明 CPP 对受试菌的呼吸链脱氢酶活性有明显的抑制作用。BOUHDID 等<sup>[55]</sup>报道肉桂精油可通过抑制金黄色葡萄球菌的呼吸作用, 使菌体代谢活动和复制能力大幅下降, 进入存活但无法培养的状态。此外, 也有研究认为呼吸链脱氢酶活性的降低会影响细菌葡萄糖的转化, 无法完成呼吸代谢, 造成细胞死亡<sup>[36]</sup>。

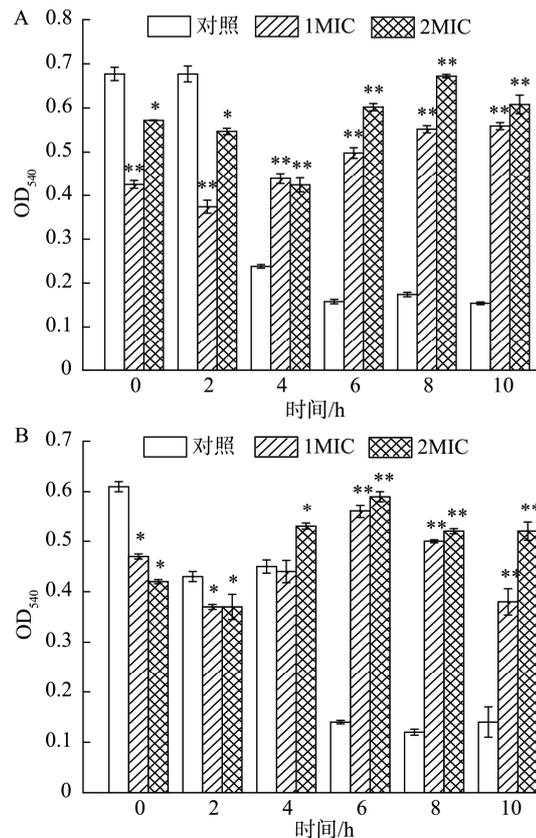


图 4 CPP 对受试菌还原糖释放的影响

Fig.4 Effects of CPP on reducing sugar release from test bacteria

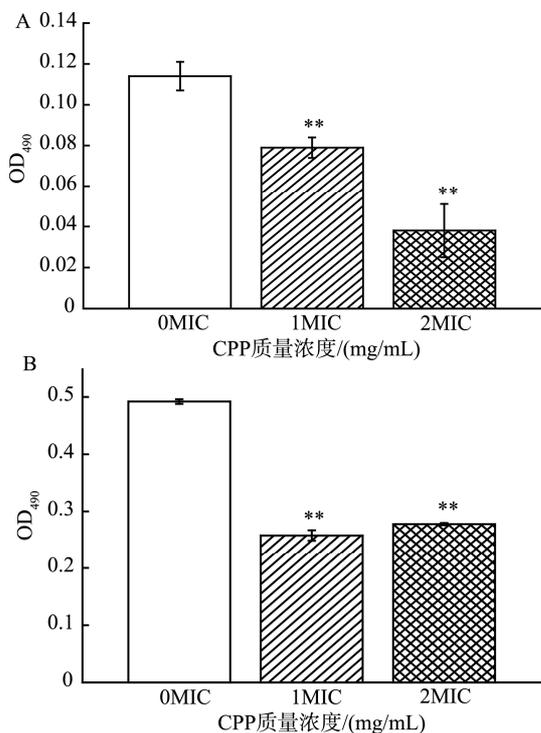


图 5 CPP 对受试菌呼吸链脱氢酶活性的影响  
Fig.5 Effects of CPP on the activity of respiratory chain dehydrogenase in test bacteria

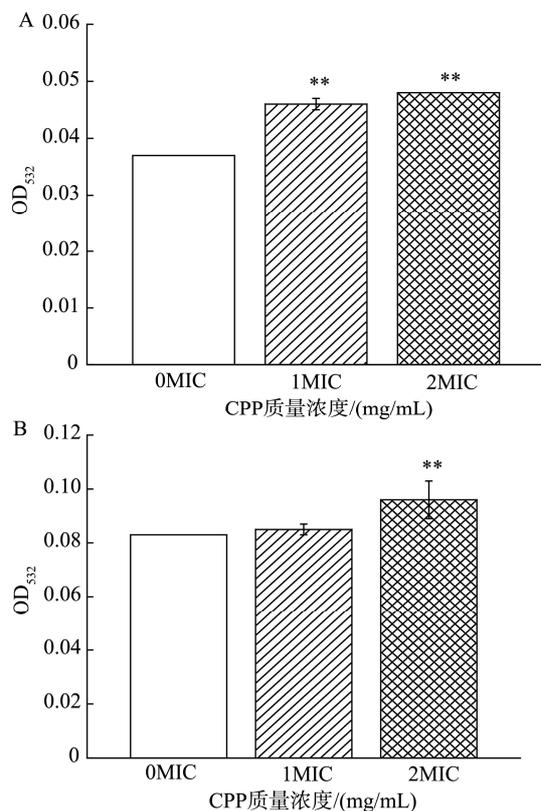


图 6 CPP 对受试菌脂质过氧化的影响  
Fig.6 Effects of CPP on lipid peroxidation of test bacteria

### 2.2.5 CPP 对受试菌脂质过氧化的影响

MDA 是细胞脂质过氧化的终产物之一, 该产物在 532 nm 处有光吸收。CPP 对指示菌脂质过氧化的影响如图 6 所示, 加入 CPP 培养液中的 MDA 产量与对照组相比明显增加, 说明一定浓度范围内的 CPP 可引起细胞的氧化损伤, 验证了活性氧的产生。AZIZKHANI 等<sup>[56]</sup>在牛肉香肠中加入迷迭香提取物, 发现能够显著抑制微生物生长, 同时还能够降低脂质氧化速率。研究表明黑胡椒氯仿提取物可以抑制细菌的电子传递系统, 导致 ATP 合成减少, 活性氧物质含量增加<sup>[57]</sup>。

### 2.2.6 CPP 对受试菌胞内 ATP 含量的影响

当细胞受损或死亡时, 菌体细胞中的 ATP 含量会迅速下降, 故 ATP 含量可以反映细胞的存活状态。如图 7 所示, CPP 质量浓度 1MIC 和 2MIC 组与对照组相比, 其细胞内 ATP 含量均显著下降, 说明 CPP 会显著影响细胞内 ATP 水平, 使细菌细胞膜结构遭到破坏, 从而抑制细胞的生长和代谢, 该结果与脂质过氧化的结果相同。胞内 ATP 的减少可能是由于 ATP 合成速率的降低和在恶劣环境下 ATP 水解速率的增加。QIAN 等<sup>[58]</sup>发现香草酸可以降低阴沟肠杆菌细胞内 ATP 浓度, 从而抑制细菌的生理活性。研究表明牛至精油可以降低细菌 ATP 的含量, 改变细胞膜的通透性, 导致代谢功能紊乱, 使细胞无法转换和利用能量而凋亡<sup>[59]</sup>。

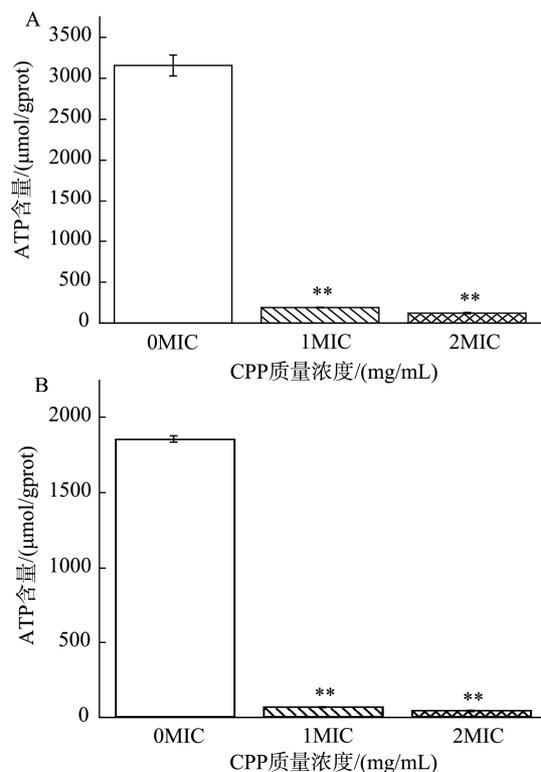


图 7 CPP 对受试菌胞内 ATP 含量的影响  
Fig.7 Effects of CPP on intracellular ATP content in test bacteria

### 2.2.7 CPP 对菌体细胞外碱性磷酸酶活力的影响

AKP 是位于受试菌的细胞膜和细胞壁之间的一种酶。细菌细胞壁完整性受到破坏, AKP 外泄于胞外, 因此, 细胞壁结构的变化可由细胞外 AKP 活力的变化来指示。CPP 对金黄色葡萄球菌细胞外 AKP 活力的影响如图 8 所示, 受试菌随着不同质量浓度 CPP 作用后, 在培养液中的 AKP 活力也随之增加, 与对照组相比样品组于较高水平。结果表明, CPP 能破坏受试菌细胞壁的完整性, 造成 AKP 泄露。周宁等<sup>[60]</sup>发现加入紫花苜蓿多糖后胞内 AKP 活力下降, 且紫花苜蓿多糖浓度越高, 下降程度越大; 紫花苜蓿多糖可使大肠杆菌细胞壁遭到破坏, 从而发挥抑制作用, 与本研究结果一致。而绞股蓝多糖在培养基中检测到 AKP 活性变化不大, 其对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的细胞壁没有破坏作用, 结合本研究推测 AKP 活性可能与多糖电荷特性有关, 大肠杆菌细胞壁中的脂多糖和金黄色葡萄球菌细胞壁中的磷酸盐均为聚阴离子, 有些多糖由于相同的负电荷性质, 不能与其反应<sup>[60]</sup>。

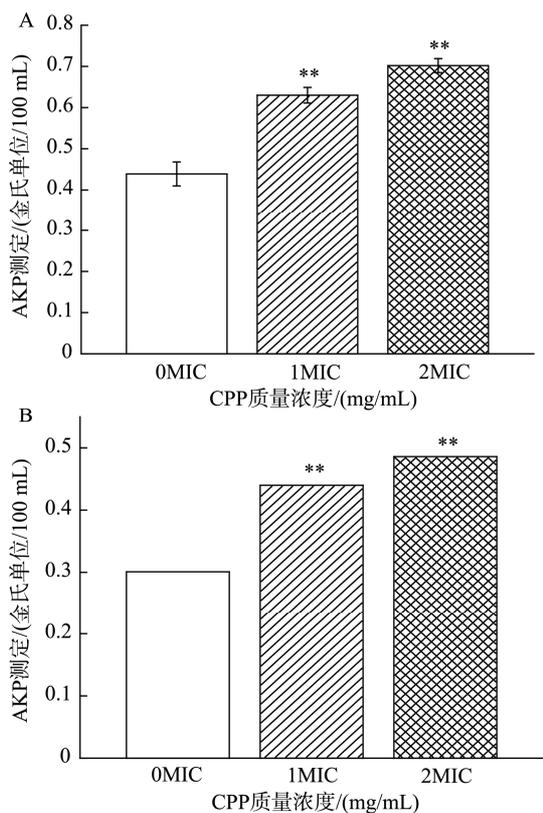


图 8 CPP 对菌体细胞外 AKP 的影响

Fig.8 Effects of CPP on extracellular AKP viability of the bacteria

## 3 结论

抗生素耐药性是当代医学面临的一个的问题, 已成为 21 世纪新型全球性公共健康议题之一。全球每年约有 50% 的抗生素被滥用、误用, 为避免细菌耐药性进一步威

胁人民的健康生活, 寻找更加安全有效的优质抗生素迫在眉睫。而现代研究表明, 植物的天然多糖具有良好的抑菌活性。CPP 是从药食同源植物中提取出来的一种绿色安全的天然物质, 作为潜在抑菌材料和抑菌药物的开发具有极广阔的应用前景。

本研究探究了 CPP 对常见 5 种致病菌的体外抑菌活性, 并通过生理生化指标对其抑菌机制进行初步探讨, 证明了青钱柳多糖具有抑菌活性, CPP 对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、单增李斯特氏菌以及鼠伤寒沙门氏菌的生长产生巨大影响, MIC 分别为 2、4、6、6 mg/mL, 对枯草芽孢杆菌抑制作用不明显, 与 CPP 的构效关系及对不同细菌的结构差异有关。细菌的细胞壁与细胞膜是其能抵御外界恶劣环境的重要结构。CPP 能够通过破坏细菌细胞壁和细胞膜、抑制细胞呼吸作用、引起氧化损伤等方式抑制细菌生长, 甚至造成细菌死亡。细菌细胞壁和细胞膜因与 CPP 相互作用, 其完整性和通透性受到损害甚至可能促使细胞壁、细胞膜破裂, 该过程导致膜内物质小离子和蛋白质、核酸等大分子泄漏, 还原糖释放, ATP 含量增加, AKP 酶泄露, 膜外 CPP 的渗入也导致细菌菌体氧化损伤和呼吸作用被抑制, 这些因素使得细胞内物质运输、能量转换和信号传导等生命活动发生停止, 细胞无法进行正常的生理代谢过程而死亡。本研究为 CPP 的体外抑菌机制探究提供一定的基础数据, 但还需结合细胞水平、代谢水平等多层面进一步探究了 CPP 的抑菌机制, 且 CPP 不同组分的抑菌活性强弱也需进一步的探明。

## 参考文献

- [1] ZHENG X, ZHANG XG, LIU Y, *et al.* Arjunolic acid from *Cyclocarya paliurus* ameliorates nonalcoholic fatty liver disease in mice via activating Sirt1/AMPK, triggering autophagy and improving gut barrier function [J]. *J Funct Foods*, 2021, 86: 104686.
- [2] 吴婷. 青钱柳多糖对急性肝损伤小鼠的保护作用及机制初探[D]. 南昌: 南昌大学, 2021.  
WU T. Protective effect and mechanism of green polysaccharide in mice with acute liver injury [D]. Nanchang: Nanchang University, 2021.
- [3] YAN R, ZHANG X. Analysis of *Cyclocarya paliurus* flavonoids modulation on the physiology and gene expression in *Enterococcus faecalis* under bile salt stress [J]. *Lett Appl Microbiol*, 2022, 74(4): 555–563.
- [4] FENG Z, FANG Z, CHEN C, *et al.* Anti-hyperglycemic effects of refined fractions from *Cyclocarya paliurus* leaves on streptozotocin-induced diabetic mice [J]. *Molecules*, 2021, 26(22): 6886.
- [5] LI J, LUO M, LUO Z, *et al.* Transcriptome profiling reveals the anti-diabetic molecular mechanism of *Cyclocarya paliurus* polysaccharides: Anti-diabetic molecular mechanism of *Cyclocarya paliurus* polysaccharides [J]. *J Funct Foods*, 2019, 55: 1–8.
- [6] 李冬梅, 李卓阳, 李宝玉, 等. 筋菜青钱柳复合多糖饮料研制及体外抗氧化降血糖作用[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(4): 1073–1081.  
LI DM, LI ZY, LI BY, *et al.* Development of polysaccharide beverage and *in vitro* [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(4): 1073–1081.
- [7] LIU Y, LIU Y, MU D, *et al.* Preparation, structural characterization and bioactivities of polysaccharides from mulberry (*Mori fructus*) [J]. *Food Biosci*, 2022, 46: 101604.
- [8] ABUDUWAILI A, NUERXIATI R, MUTAILIFU P, *et al.* Isolation,

- structural modification, characterization, and bioactivity of polysaccharides from *Folium isatidis* [J]. *Ind Crop Prod*, 2022, 176: 114319.
- [9] YANG X, ZHOU S, LI H, *et al.* Structural characterization of *Alpinia oxyphylla* fructus polysaccharide 2 and its activation effects on RAW264.7 macrophages [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 97: 107708.
- [10] 廖步岩. 不同溶剂制备的桑叶多糖及其与明胶混溶体系的理化性质研究[D]. 合肥: 合肥工业大学, 2018.
- LIAO BY. Physical and chemical properties of mulberry leaf polysaccharides and gelatin mixed systems prepared with different solvents [D]. Hefei: Hefei University of Technology, 2018.
- [11] 胡喜兰, 许瑞波, 陈宇. 牛蒡叶多糖的提取及生物活性研究[J]. *食品科学*, 2013, 34(2): 78–82.
- HU XL, XU RB, CHEN Y. Extraction and bioactivity study of burdock leaf polysaccharide [J]. *Food Sci*, 2013, 34(2): 78–82.
- [12] 孙伟, 蔡静, 叶润, 等. 响应面法优化花椒叶多糖提取工艺及抑菌活性研究[J]. *化学试剂*, 2021, 43(1): 109–114.
- SUN W, CAI J, YE R, *et al.* Optimization of pepper leaf polysaccharide extraction process and antibacterial activity by response surface method [J]. *Chem Reagen*, 2021, 43(1): 109–114.
- [13] 熊建文, 徐康宁, 陈木茂, 等. 荷叶多糖的提取、纯化及功能性研究[J]. *食品研究与开发*, 2014, 35(21): 31–36.
- XIONG JW, XU KN, CHEN MM, *et al.* Extraction, purification and functionality of lotus leaf polysaccharide [J]. *Food Res Dev*, 2014, 35(21): 31–36.
- [14] 赵琪珂. 银杏叶多糖的提取条件优化及抑菌性的研究[D]. 大连: 大连工业大学, 2017.
- ZHAO QK. Optimization of extraction conditions and antibacterial of *Ginkgo biloba* polysaccharide [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2017.
- [15] 祝敏, 展俊岭, 杨洁, 等. 沙棘叶多糖提取方法及生物活性研究现状[J]. *化工时刊*, 2018, 32(12): 36–38.
- ZHU M, ZHAN JL, YANG J, *et al.* Extraction method and biological activity of *Hippophae rhamnoides* Linn leaf polysaccharides [J]. *Chem Ind Times*, 2018, 32(12): 36–38.
- [16] 黎海梅, 杜阳敏, 陈俊, 等. 鱼腥草叶多糖的抗氧化性及抑菌特性[J]. *天然产物研究与开发*, 2017, 29(10): 1745–1751.
- LI HM, DU YM, CHEN J, *et al.* The antioxidative and antibacterial properties of *Houttuynia cordata* Thunb leaf polysaccharides [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2017, 29(10): 1745–1751.
- [17] WANG X, ZHAO X, LV Y, *et al.* Extraction, isolation and structural characterization of a novel polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* [J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 132: 864–870.
- [18] 申琳燕, 邹娟, 郑传丽, 等. 响应面法优化黔产青钱柳多糖提取工艺研究[J]. *粮食与油脂*, 2021, 34(12): 78–81.
- SHEN LY, ZOU J, ZHENG CL, *et al.* Research on polysaccharide extraction technology of Qian Qian by response surface method [J]. *Cere Oils*, 2021, 34(12): 78–81.
- [19] 鲍若晗, 王云冰. 超声辅助法提取青钱柳多糖[J]. *浙江农业科学*, 2021, 62(4): 771–773, 783.
- BAO RH, WANG YP. Ultrasonic-assisted extraction of *Cyclocarya paliurus* polysaccharides [J]. *J Zhejiang Agric Sci*, 2021, 62(4): 771–773, 783.
- [20] LIU Y, FANG S, ZHOU M, *et al.* Geographic variation in water-soluble polysaccharide content and antioxidant activities of *Cyclocarya paliurus* leaves [J]. *Ind Crop Prod*, 2018, 121: 180–186.
- [21] XIE L, SHEN M, WEN P, *et al.* Preparation, characterization, antioxidant activity and protective effect against cellular oxidative stress of phosphorylated polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* [J]. *Food Chem Toxicol*, 2020, 145: 111754.
- [22] ZHONG L, PENG X, WU C, *et al.* Polysaccharides and flavonoids from *Cyclocarya paliurus* modulate gut microbiota and attenuate hepatic steatosis, hyperglycemia, and hyperlipidemia in nonalcoholic fatty liver disease rats with type 2 diabetes mellitus [J]. *Int J Diabetes Dev C*, 2023, 43(2): 317–327.
- [23] YUAN Y, ZHENG Y, ZHOU J, *et al.* Polyphenol-rich extracts from brown macroalgae *Lessonia trabeculate* attenuate hyperglycemia and modulate gut microbiota in high-fat diet and streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(45): 12472–12480.
- [24] YANG Z, WANG J, LI J, *et al.* Antihyperlipidemic and hepatoprotective activities of polysaccharide fraction from *Cyclocarya paliurus* in high-fat emulsion-induced hyperlipidaemic mice [J]. *Carbohydr Polym*, 2018, 183: 11–20.
- [25] 胡文兵, 赵静, 陈婷婷, 等. 青钱柳多糖对高脂血症小鼠的降血脂作用及机制初探[J]. *现代食品科技*, 2015, 31(11): 39–44.
- HU WB, ZHAO J, CHEN TT, *et al.* Preliminary study of hypolipidemic effect and mechanism of green polysaccharide in hyperlipidemia mice [J]. *Mod Food Sci Technol*, 2015, 31(11): 39–44.
- [26] HAN Y, ZHANG Y, OUYANG K, *et al.* Sulfated *Cyclocarya paliurus* polysaccharides improve immune function of immunosuppressed mice by modulating intestinal microbiota [J]. *Int J Biol Macromol*, 2022, 212: 31–42.
- [27] XIONG L, OUYANG KH, CHEN H, *et al.* Immunomodulatory effect of *Cyclocarya paliurus* polysaccharide in cyclophosphamide induced immunocompromised mice [J]. *Bioact Carbohydr Diet Fibre*, 2020, 24: 100224.
- [28] 谢建华. 青钱柳多糖的分离纯化与结构解析及其生物活性研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2007.
- XIE JH. Purification and structure analysis of *Cyclocarya paliurus* polysaccharides and its biological activity [D]. Nanchang: Nanchang University, 2007.
- [29] 吴杨洋, 周妍汝, 刘春燕, 等. 灵芝多糖提取工艺优化及抗氧化活性的研究[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(14): 4636–4642.
- WU YY, ZHOU YR, LIU CY, *et al.* Study on *Ganoderma lucidum* polysaccharides extraction process optimization and antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* [J]. *J Food Saf Qual*, 2020, 11(14): 4636–4642.
- [30] 杨勇, 范罗婧, 胡明华, 等. 青钱柳叶总黄酮、总三萜及粗多糖的快速检测方法研究[J]. *食品科技*, 2018, 43(3): 272–277.
- YANG Y, FAN LZ, HU MH, *et al.* Rapid detection methods of total flavonoids, total triterpenes and crude polysaccharides in *Cyclocarya paliurus* leaves [J]. *Food Sci Technol*, 2018, 43(3): 272–277.
- [31] 王忠合, 王军, 薛晓丽, 等. 麦芽酚铁、锌配合物的热力学特性及抑菌性能[J]. *华南理工大学学报(自然科学版)*, 2013, 41(1): 122–126.
- WANG ZH, WANG J, XUE XL, *et al.* Thermodynamic properties and bacteriostatic properties of Fe-Zn maltol complexes [J]. *J South China Univ Technol (Nat Sci Ed)*, 2013, 41(1): 122–126.
- [32] 贾睿, 蔡丹, 葛思彤, 等. 红豆皮多酚提取物对两种致病菌的抑菌活性及作用机理[J]. *食品科学*, 2021, 42(23): 64–71.
- JIA R, CAI D, GE ST, *et al.* Antibacterial activity and mechanism of polyphenol extract from red bean peel against two pathogenic bacteria [J]. *Food Sci*, 2021, 42(23): 64–71.
- [33] 吴雅萍, 江晓佟, 张帅, 等. 乳链球菌素最小抑菌浓度(MIC)测定及理化性质分析[J]. *中国食品添加剂*, 2020, 31(5): 119–123.
- WU YP, JIANG XT, ZHANG S, *et al.* *Streptococcus lactis* minimum inhibitory concentration (MIC) determination and its physicochemical property [J]. *China Food Addit*, 2020, 31(5): 119–123.
- [34] 周琦. 魔芋飞粉生物碱的抑菌活性及其机理研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2019.
- ZHOU Q. The antibacterial activity and mechanism of *Amorphophallus rivieri* Durieu fly powder alkaloid [D]. Xi'an: Shaanxi Normal University, 2019.
- [35] 马俊东. 酶法制备壳寡糖抑菌性能的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2007.
- MA JD. Study on the antibacterial properties of chitosan prepared by enzymatic method [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2007.
- [36] 黄梓浩. 二氢杨梅素-Ag<sup>+</sup>纳米乳液的制备及其抑菌性能与机理研究[D]. 广州: 广东工业大学, 2020.
- HUANG ZH. Preparation of dihydromyricetin-Ag<sup>+</sup> nanoemulsion and its

- antibacterial properties and mechanis [D]. Guangzhou: Guangdong University of Technology, 2020.
- [37] 郭伟钰, 陈文学, 陈海明, 等. 芳樟醇对大肠杆菌的抑菌作用机制[J]. 现代食品科技, 2020, 36(4): 113–118.  
GUO FY, CHEN WX, CHEN HM, *et al.* Bacteriostatic mechanism of linalool against *Escherichia coli* [J]. Mod Food Sci Technol, 2020, 36(4): 113–118.
- [38] 李文菁. 核桃青皮提取物抑菌活性及抑菌机理研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2021.  
LI WJ. Study on the antibacterial activity and antibacterial mechanism of walnut green peel extract [D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University, 2021.
- [39] WANG LB, LIU FC, WANG AX, *et al.* Purification, characterization and bioactivity determination of a novel polysaccharide from pumpkin (*Cucurbita moschata*) seeds [J]. Food Hydrocolloid, 2017, 66: 357–364.
- [40] 杨明晨, 胡锋, 符姜燕, 等. 植物源活性物质抗菌构效关系、抗菌机理及在食品中的应用研究进展[J/OL]. 食品与发酵工业: 1-10. [2024-01-16]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.037500>
- YANG MC, HU F, FU JY, *et al.* Progress in antibacterial structure-activity relationship, antibacterial mechanism and application of plant-derived active substances in food [J/OL]. Food Ferment Ind: 1-10. [2024-01-16]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.037500>
- [41] 李靖. EGCG 消毒剂对枯草芽孢杆菌的抑制效果及作用机理研究[D]. 北京: 北京建筑大学, 2023.  
LI J. The inhibitory effect and mechanism of EGCG disinfectant on *Bacillus subtilis* [D]. Beijing: Beijing University of Civil Engineering and Architecture, 2023.
- [42] 赵建英, 张森虎, 李艳松, 等. 小米多糖的提取及抑菌作用研究[J]. 中国饲料, 2022, (17): 24–30.  
ZHAO JY, ZHANG SH, LI YS, *et al.* Extraction and bacteriostatic effect of millet polysaccharides [J]. China Feed, 2022, (17): 24–30.
- [43] 李世杰, 李勇, 曾海英. 茯苓多糖的酶解工艺及抑菌性研究[J]. 中国酿造, 2018, 37(5): 177–180.  
LI SJ, LI Y, ZENG HY. Enzymatic lysis and antibacterial study of poria polysaccharide [J]. China Brew, 2018, 37(5): 177–180.
- [44] 付佳. 桔梗多糖的提取及其抑菌活性研究[J]. 食品工业, 2014, 35(12): 76–78.  
FU J. The polysaccharide extraction and antibacterial activity of *C. platycodon* [J]. Food Ind, 2014, 35(12): 76–78.
- [45] 孙伟, 叶润, 蔡静, 等. 桑叶多糖的分离纯化及其抑菌活性研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(4): 149–155.  
SUN W, YE R, CAI J, *et al.* Isolation and purification of mulberry leaf polysaccharide and its antibacterial activity [J]. Food Res Dev, 2021, 42(4): 149–155.
- [46] HAN QL, WU ZL, HUANG B, *et al.* Extraction, antioxidant and antibacterial activities of *Broussonetia papyrifera* fruits polysaccharides [J]. Int J Biol Macromol, 2016, 92: 116–124.
- [47] 何思辰, 陈凌利, 陈慧, 等. 不同脱蛋白方法对青钱柳多糖的结构和抗氧化活性的影响[J]. 食品工业科技, 2023, 44(16): 81–89.  
HE SC, CHEN LL, CHEN H, *et al.* Effects of different decorin methods on the structure and antioxidant activity of *Cyclocarya paliurus* polysaccharides [J]. Food Ind Technol, 2023, 44(16): 81–89.
- [48] 邓丽, 孙冉, 姚蒋庞, 等. 贝莱斯芽孢杆菌粗提物对金黄色葡萄球菌的抑菌机制[J]. 食品与发酵科技, 2021, 57(3): 1–9.  
DENG L, SUN R, YAO JP, *et al.* The mechanism of *Bacillus beles* crude extracts against *Staphylococcus aureus* [J]. Food Ferment Technol, 2021, 57(3): 1–9.
- [49] 王筱瑜. 银杏落叶多糖的提取、分离纯化及其抑菌性的研究[D]. 锦州: 锦州医科大学, 2019.  
WANG XY. Extraction, isolation and purification of *Ginkgo deciduous* polysaccharide and its antibacterial properties [D]. Jinzhou: Jinzhou Medical University, 2019.
- [50] ZHANG L, MA L, PAN Y, *et al.* Effect of molecular weight on the antibacterial activity of polysaccharides produced by *Chaetomium globosum* CGMCC 6882 [J]. Int J Biol Macromol, 2021, 188: 863–869.
- [51] WANG Z, XUE R, CUI J, *et al.* Antibacterial activity of a polysaccharide produced from *Chaetomium globosum* CGMCC 6882 [J]. Int J Biol Macromol, 2019, 125: 376–382.
- [52] ZANG Y, WU YT, ZHENG W, *et al.* The antibacterial activity and antibacterial mechanism of a polysaccharide from *Cordyceps cicadae* [J]. J Funct Food, 2017, 38: 273–279.
- [53] 刘晓婷, 黄伟英, 陈洪, 等. 壳聚糖的抑菌机制及其在肉及肉制品中的应用研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(22): 100–106.  
LIU XT, HUANG WY, CHEN Q, *et al.* Progress in the antibacterial mechanism of chitosan and its application in meat and meat products [J]. J Food Saf Qual, 2023, 14(22): 100–106.
- [54] 郭伟钰, 陈文学, 陈海明, 等. 芳樟醇对大肠杆菌的抑菌作用机制[J]. 现代食品科技, 2020, 36(4): 113–118.  
GUO FY, CHEN WX, CHEN HM, *et al.* Mechanism of antibacterial activity of linalool on *Escherichia coli* [J]. Mod Food Sci Technol, 2020, 36(4): 113–118.
- [55] BOUHDID S, ABRINI J, AMENSOUR M, *et al.* Functional and ultrastructural changes in *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* cells induced by *Cinnamomum verum* essential oil [J]. J Nal Appl Microbiol, 2010, 109(4): 1139–1149.
- [56] AZIZKHANI M, TOORYAN F. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extract, mint extract and a mixture of tocopherols in beef sausage during storage at 4°C [J]. J Food Saf, 2015, 35(1): 128–136.
- [57] ZOU L, HU YY, CHEN WX, *et al.* Antibacterial mechanism and activities of black pepper chloroform extract [J]. J Food Sci Technol, 2015, (52): 8196–8203.
- [58] QIAN W, FU Y, LIU M, *et al.* *In vitro* antibacterial activity and mechanism of vanillic acid against carbapenem-resistant *Enterobacter cloacae* [J]. Antibiotics (Basel), 2019, 8(4): 220.
- [59] CUI H, ZHANG C, LI C, *et al.* Antibacterial mechanism of oregano essential oil [J]. Ind Crop Prod, 2019, 139: 111–498.
- [60] 周宁, 曹婷婷, 康琳, 等. 紫花苜蓿多糖对大肠杆菌的抑菌性及其对草莓保鲜效果的研究[J]. 中国食品添加剂, 2023, 34(11): 19–25.  
ZHOU N, CAO TT, KANG L, *et al.* Activity of alfalfa polysaccharide on *Escherichia coli* and its effect on strawberry preservation [J]. China Food Addit, 2023, 34(11): 19–25.

(责任编辑: 张晓寒 郑 丽)

## 作者简介



卢玉翠, 硕士研究生, 主要研究方向为中药学。

E-mail: 734490102@qq.com



赵立春, 博士, 研究员, 主要研究方向为药食同源产品研究与开发。

E-mail: hyzlc@126.com



廖夏云, 博士, 副教授, 主要研究方向为保健食品的研究与开发。

E-mail: liaoliao\_8506@sina.com