

不同提取工艺淮山多糖的理化性质及抗氧化活性分析

徐湘^{1,2}, 庞旭佳², 张名位², 张瑞芬², 贾棚超², 董丽红², 马勤², 赵东², 黄菲^{2*}

(1. 长江大学生命科学学院, 湖北荆州 434000) (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)

摘要: 该研究以广东淮山为原料, 通过单因素和响应面试验得到酶解-超声辅助提取淮山多糖(CYP-UE)的最优提取工艺条件, 并比较了其热水浸提、超声提取、酶解提取的淮山多糖的单糖组成、分子量等理化性质和抗氧化活性的差异。结果表明: 酶解-超声提取淮山多糖的最优工艺条件为纤维素酶 8 000 U/g, 果胶酶 4 000 U/g, 木瓜蛋白酶 8 000 U/g, 酶解温度 60 ℃, 酶解时间 90 min, 超声温度 63 ℃, 超声时间 48 min, 超声功率 234 W, 多糖得率为 15.26%; 4 种多糖中 CYP-UE 的得率最高, 且还原糖含量最高(29.88%); 4 种多糖分子量分布为 4.50~10.20 ku, 主要由葡萄糖、半乳糖醛酸和半乳糖构成, 其中 CYP-UE 的分子量最小, 并含有最高占比 96.48% 的葡萄糖; 4 种多糖均呈现多糖的特征吸收峰; 4 种多糖均有较好的溶液稳定性和较高的溶解度; 4 种多糖均具有不同程度的抗氧化活性, 其中 CYP-UE 的铁离子还原能力(17.08 μmol FeE/g DW)和 ABTS⁺自由基清除能力(IC₅₀=2.42 mg/mL)显著强于其它 3 种多糖。由此表明, 酶解-超声辅助法可用于制备高得率高活性的淮山多糖。

关键词: 淮山; 多糖; 提取; 理化性质; 抗氧化活性

文章编号: 1673-9078(2023)10-128-138

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2023.10.1276

Physicochemical Properties and Antioxidant Activity of Chinese Yam

Polysaccharides Extracted by Different Methods

XU Xiang^{1,2}, PANG Xujia², ZHANG Mingwei², ZHANG Ruifen², JIA Xuchao², DONG Lihong², MA Qin², ZHAO Dong², HUANG Fei^{2*}

(1. College of Life Sciences, Yangtze University, Jingzhou 434000, China) (2. Sericultural & Agri-Food Research Institute Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory Foods, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangdong Key Laboratory Processing, Guangzhou 510610, China)

Abstract: In this study, single factor experiments and response surface methodology were used to optimize the conditions for ultrasonic-assisted enzymolysis extraction of polysaccharides from the raw material, Guangdong Chinese yam (CYP-UE). Then, the physicochemical characteristics (such as monosaccharide composition and molecular weight) and antioxidant activities of the Chinese yam polysaccharides obtained by ultrasonic-assisted enzymolysis extraction (CYP-UE), hot water extraction (CYP-H), ultrasonic-assisted extraction (CYP-U) or enzymolysis extraction (CYP-E) were compared. The results showed that the optimal ultrasonic-assisted enzymolysis extraction conditions were: cellulase, 8,000 U/g; pectinase, 4,000 U/g; papain, 8,000 U/g; enzymolysis temperature, 60 ℃; enzymolysis time, 90 min; ultrasonic treatment temperature, 63 ℃; ultrasonic treatment time, 48 min; ultrasonic power, 234 W. Under the optimal extraction conditions, the extraction yield of CYP-UE was 15.26%. CYP-UE had the highest yield and reducing sugar content (29.88%) among the four polysaccharides. The four polysaccharides had the average molecular weight distribution from 4.50 to 10.20 ku, and were mainly composed of

引文格式:

徐湘, 庞旭佳, 张名位, 等. 不同提取工艺淮山多糖的理化性质及抗氧化活性分析[J]. 现代食品科技, 2023, 39(10): 128-138

XU Xiang, PANG Xujia, ZHANG Mingwei, et al. Physicochemical properties and antioxidant activity of Chinese yam polysaccharides extracted by different methods [J]. Modern Food Science and Technology, 2023, 39(10): 128-138

收稿日期: 2022-10-08

基金项目: 国家重点研发计划项目(2021YFD1600103); 广东省重点研发计划项目(2022B0202020004); 广东省特支计划本土创新团队项目(2019BT02N112); 广州市科技计划项目(202103000061)

作者简介: 徐湘(1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 功能食品, E-mail: 2544667069@qq.com

通讯作者: 黄菲(1987-), 女, 博士, 研究员, 研究方向: 功能食品, E-mail: hf1311@163.com

glucose, galacturonic acid and galactose. CYP-UE had the smallest molecular weight (4.50 ku) and the highest percentage of glucose (96.48%). The four polysaccharides showed the characteristic absorption peaks of polysaccharides, and possessed good solution stability and solubility. The four polysaccharides had different antioxidant activities, with CYP-UE having a higher iron ion reducing power (17.08 $\mu\text{mol FeE/g DW}$) and a higher ABTS⁺ radical scavenging ability ($\text{IC}_{50}=2.42 \text{ mg/mL}$). Accordingly, the ultrasonic-assisted enzymolysis extraction can be used to prepare Chinese yam polysaccharides with a high yield and high activity.

Key words: Chinese yam; polysaccharides; extraction; physicochemical properties; antioxidant activity

淮山又名山药、山薯蓣、淮山药等,是薯蓣科草本植物的地下块茎。淮山在我国已有数百年的栽培历史,在华北、华中等地均有广泛分布^[1]。淮山作为一种药食同源植物,《本草纲目》中记载其具有“益肾气,健脾胃,止泻痢,化痰涎,润皮毛”之功效^[2]。现代药理学研究表明,淮山含有多种生物活性成分,如淀粉、多糖、蛋白质、游离氨基酸、尿囊素、胆碱、皂苷等^[3]。其中多糖是其发挥功效的主要活性成分^[4],具有降血糖、降血脂^[5]、抗氧化^[6]、抗肿瘤^[7]、抗衰老^[8]、调节免疫^[9]等功能。

由于淮山块茎中淀粉含量较高,采用传统热水法提取多糖时,过高的提取温度会引起淀粉糊化,进而影响非淀粉多糖的提取效率^[10]。所以一些能降解淀粉的酶被应用于山药多糖的提取,如董艺等^[11]采用 α -淀粉酶和糖化酶处理山药,以消除淀粉对山药多糖溶出的阻碍,其得率较传统水提法提高了 2.5 倍左右。淮山块茎中的多糖常与蛋白质结合交联在一起,且大部分多糖存在于细胞壁中,这些因素都会阻碍多糖的溶出,因此由纤维素酶、果胶酶和木瓜蛋白酶等组成的复合酶被用于削弱或分解组成细胞壁的果胶化合物、半纤维素和糖蛋白,促进多糖的溶出^[11,12]。此外,一些物理法也被用于促进山药多糖溶出,如超声波辅助提取。超声波辅助提取利用其产生的空化、机械和热效应,破坏植物细胞壁结构,从而促进多糖从细胞中释放,提高多糖得率^[13]。为提高淮山多糖的提取效率,本文采用酶解-超声协同提取淮山多糖,并通过响应面法优化其提取工艺参数。

此外,有研究表明不同提取方式对植物多糖的结构和活性有较大影响,如刘慧君等^[14]通过比较 3 种不同提取工艺制备的龙眼果肉多糖,发现其理化性质和免疫活性存在显著性差异,其中超微粉碎-纤维素酶辅助提取法制备的龙眼果肉多糖表现出较好的免疫调节活性。孔秋红等^[15]通过比较 4 种提取方法所得羊栖菜多糖的理化性质和益生活性,表明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。而目前关于不同工艺提取对淮山多糖的理化性质和活性的研究报道较少。因此,本研究在建立酶法-超声辅助提取淮山多糖的工艺的基础上,分别采

用热水浸提、超声提取、酶解提取和酶解-超声协同提取淮山多糖,比较其化学组成、单糖组成、分子量等理化性质以及抗氧化活性,为淮山多糖的高效制备及开发利用提供理论及科学依据。

1 材料与方法

1.1 原料与试剂

淮山,2020 年 1 月购自于广东茂名,品种为广东深薯。

纤维素酶、果胶酶、木瓜蛋白酶,上海瑞永生物公司; α -淀粉酶,诺维信生物技术有限公司;葡萄糖醛酸、葡聚糖、葡萄糖、木糖、阿拉伯糖、甘露糖、半乳糖、鼠李糖标准品、肌醇、ABTS,美国 Sigma 公司;考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒、FRAP 试剂盒,上海碧云天生物技术有限公司;其它试剂均为国产分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

1.2 主要仪器设备

GZX-9420 MBE 电热恒温干燥箱,上海博讯实业有限公司;FW80 万能粉碎机,天津泰斯特公司;BS124S 分析天平,赛多利斯科学仪器公司;WA12 磁力搅拌水浴锅,德国 WIGGENS 技术有限公司;SB-800DTD 超声波清洗机,宁波新芝生物科技股份有限公司;GL-20M 高速冷冻离心机,湖北易达公司;EYELA CA-2600 旋转蒸发仪,东京理化器械株式会社;UV1800 UV 紫外,日本岛津公司;Bio Tek Gen5 酶标仪,美国 Bio Tek 公司;LC1260 高效液相色谱仪,美国 Agilent 公司;Acquity APC 超高效聚合物色谱系统,美国 Waters 公司;VERTEX33 傅里叶变换红外光谱仪,美国 Bruker 公司;Nano-ZS&MPT-2 Zeta 英国 Malvern 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 原料处理及淮山多糖得率的测定

1.3.1.1 原料处理

将新鲜的淮山洗净,去皮修剪,除掉缺陷部分。切片处理后,热烫处理 90 s,在含有 0.5%柠檬酸

(m/V)、0.5%氯化钠 (m/V)、0.125%氯化钙 (m/V) 溶液中浸泡 60 min 护色处理。然后于 40 °C 烘箱干燥 20 h, 烘至恒重。利用高速粉碎机打粉, 过 80 目筛。再将过筛后的淮山粉使用 95%酒精 (V/V) 回流除去小分子糖, 然后烘干得到淮山粉备用。

1.3.1.2 淮山多糖的提取及得率的测定

以纤维素酶添加量 6 000 U/g, 果胶酶添加量 6 000 U/g, 木瓜蛋白酶添加量 6 000 U/g, 酶解 80 min, 酶解温度 55 °C, 超声时间 40 min, 超声温度 50 °C, 超声功率 350 W 为基础条件, 依次按照表 1 各因素的条件进行单因素实验。

表 1 单因素实验设计

Table 1 Single-factor experimental design

因素	水平				
	1	2	3	4	5
纤维素酶添加量/(U/g)	2 000	4 000	6 000	8 000	10 000
果胶酶添加量/(U/g)	2 000	4 000	6 000	8 000	10 000
木瓜蛋白酶添加量/(U/g)	2 000	4 000	6 000	8 000	10 000
酶解时间/min	60	70	80	90	100
酶解温度/°C	45	50	55	60	65
超声时间/min	20	30	40	50	60
超声温度/°C	30	40	50	60	70
超声功率/W	150	250	350	450	550

具体提取流程为: 准确称取 2.0 g 淮山粉, 加入 60 mL 蒸馏水, 添加复合酶 (纤维素酶、果胶酶、木瓜蛋白酶按一定比例混合), 在一定温度下酶解一段时间。沸水浴 10 min 高温灭活。酶解结束后, 在一定超声功率及温度下继续超声辅助提取淮山多糖。提取一定时间后, 8 000 r/min 离心 10 min 收集上清液, 加入 0.1%的耐高温 α -淀粉酶 (V/V) 95 °C 水浴酶解去除提取上清液中的淀粉。酶解结束后沸水浴高温灭活 10 min, 4 000 r/min 离心 10 min, 取其上清真空浓缩至 20 mL 后, 加入 4 倍体积的无水乙醇, 4 °C 过夜, 4 000 r/min 离心 10 min 后收集沉淀。用无水乙醇洗涤沉淀两次后, 将沉淀用蒸馏水复溶复溶至一定体积, 即为提取到的淮山粗多糖。

采用苯酚-硫酸法^[16], 以葡萄糖为标准品绘制标准曲线, 测定淮山多糖含量, 并按照以下公式计算酶解-超声辅助提取淮山多糖的得率:

$$P_1 = \frac{\mu \times V}{w} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

P_1 ——多糖得率, %;

μ ——提取液中的多糖浓度, mg/mL;

V ——提取液的体积, mL;

w ——淮山粉的质量, mg。

1.3.2 响应面优化试验

表 2 试验因素和水平

Table 2 Test factors and levels

因素	水平		
	-1	0	1
A/min	40	50	60
B/°C	50	60	70
C/W	150	250	350

在单因素试验基础上, 运用 Box Behnken 中心组合设计原理, 以超声时间 (A)、超声温度 (B)、超声功率 (C) 作为自变量, 多糖得率作为响应值, 设计三因素三水平试验进行响应面分析, 从而获得提取淮山多糖的最佳提取条件, 响应面水平如表 2 所示。

1.3.3 不同提取方法提取淮山多糖

1.3.3.1 热水提取

称取一定量的淮山粉以 30 mL/g 的料液比加入蒸馏水, 80 °C 浸提 2 h。8 000 r/min 离心 15 min, 收集上清液, 沉淀再加水重复提取 1 次, 合并两次提取的上清液。向上清液中加入 0.1%的耐高温 α -淀粉酶 (V/V), 95 °C 水浴酶解去除淀粉。酶解结束后沸水浴高温灭活 10 min, sewage 法除蛋白, 然后加压浓缩至原体积的 1/5, 80%乙醇 (V/V) 醇沉, 4 °C 过夜, 离心收集沉淀, 用无水乙醇洗涤沉淀两次, 再用适量蒸馏水复溶, 将复溶后的多糖溶液真空冷冻干燥得到热水提取的淮山粗多糖 (Chinese Yam Polysaccharides Extracted By Hot Water, CYP-H)。

1.3.3.2 超声提取

称取一定量的淮山粉以 30 mL/g 的料液比加入蒸馏水, 在超声温度 63 °C、超声功率 232 W 条件下浸提 48 min。8 000 r/min 离心 15 min, 收集上清液。参照 1.3.3.1 的方法去除淀粉、酶的失活、除蛋白、乙醇醇沉、冷冻干燥后得到超声提取的淮山多糖 (Chinese Yam Polysaccharides Extracted by Ultrasonic, CYP-U)。

1.3.3.3 酶解提取

称取一定量的淮山粉以 30 mL/g 的料液比加入蒸馏水, 添加 8 000 U/g 纤维素酶, 4 000 U/g 果胶酶, 8 000 U/g 木瓜蛋白酶, 调节 pH 值为 5.5, 在 60 °C 下酶解 90 min, 酶解结束后沸水浴高温灭活 10 min。然后 8 000 r/min 离心 15 min, 收集上清液。参照 1.3.3.1 的方法去除淀粉、酶的失活、除蛋白、乙醇醇沉、冷冻干燥后得到酶解提取的淮山多糖 (Chinese Yam Polysaccharides Extracted by Enzymolysis, CYP-E)。

1.3.3.4 酶解-超声辅助提取

称取一定量的淮山粉以 30 mL/g 的料液比加入蒸

馏水,按照 1.3.3.3 的方法进行复合酶酶解及高温灭活处理后,再按照 1.3.3.2 的方法采用超声波法提取多糖,冷冻干燥后得到酶解-超声辅助提取的淮山多糖(Chinese Yam Polysaccharides Extracted by Ultrasonic-Assisted Enzymolysis, CYP-UE)。

1.3.4 不同提取工艺制备的淮山多糖的理化性质

1.3.4.1 淮山多糖得率的测定

$$P_2 = \frac{m_1}{m_2} \times 100\% \quad (2)$$

式中:

P_2 ——得率, %;

m_1 ——为淮山多糖冻干粉质量, g;

m_2 ——为淮山粉质量, g。

1.3.4.2 淮山多糖基本组成的测定

中性糖含量测定:采用苯酚-硫酸法^[16]。

还原糖含量测定:采用 DNS 法^[17]。

糖醛酸含量测定:采用间羟基联苯比色法^[18]。

蛋白质含量测定:采用考马斯亮蓝法测定蛋白质含量^[19]。

1.3.4.3 单糖组成的测定

采用 HPLC 法测定淮山多糖的单糖组成,参照 Liu 等^[20]的方法稍加调整。称取 1~2 mg 多糖样品于安瓿瓶中,加入 4 μ L 5 mg/mL 的肌醇作为内标,再加入 0.5 mL 的三氟乙酸(2 mol/L),120 $^{\circ}$ C 水解 2 h 后氮气吹干。在氮气吹干后加入 0.5 mL 的 PMP 试剂(0.5 mol/L)和 0.5 mL 的 NaOH 溶液(0.3 mol/L),充分混匀。取一半体积的混合溶液加入 0.8 mL 氯仿萃取,5 000 r/min 离心 5 min 去除有机层,重复萃取 3 次后过 0.22 μ m 滤膜,待 HPLC 检测。

液相色谱检测条件为:色谱柱 Inertsil ODS-C18 柱(4.6 mm $\times$ 250 mm),柱温 30 $^{\circ}$ C,流动相为(0.1 mol/L, pH 值 7.0)磷酸盐缓冲-乙腈溶液(82:18),流速为 1.0 mL/min,进样量为 10 μ L,紫外检测器检测波长为 245 nm。

1.3.4.4 分子量的测定

参照 Bai 等^[21]的方法测定淮山多糖的分子量(Molecular Weight, Mw)。将淮山多糖配置成 2 mg/mL 的溶液,过 0.45 μ m 滤膜,采用超高效聚合相色谱仪检测多糖的出峰时间。以葡聚糖标品(5.2、11.6、23.8、48.6、148、273、410、668 ku)建立分子量标准曲线。

色谱条件为:色谱柱选用 ACQUITYAPCTM AQ 450、ACQUITY APCTM AQ 125 和 ACQUITY APCTM AQ 45 三根串联,流动相为超纯水,流速为 0.7 mL/min,

检测器为示差检测器,柱温箱和检测器温度控制在 40 $^{\circ}$ C,进样量为 10 μ L。

1.3.4.5 傅里叶变换红外光谱的扫描

称取 1 mg 淮山多糖粉末,与 100 mg 溴化钾混合后,研磨成薄片,采用 VERTEX33 型红外光谱仪扫描分析,扫描淮山多糖 4 000~400 cm^{-1} 范围内的吸收波数。

1.3.4.6 粒径、电位及溶解度的测定

将 10 mg 的淮山多糖溶于 5 mL 的蒸馏水中,涡旋振荡使多糖充分溶解后,4 000 r/min 离心 10 min 取上清,于 Zata 粒径电位分析仪中测定多糖溶液的 Zata 电位、粒度和粒度分散指数(Particle Size Dispersion Index, PDI)。

参照伊艳等^[22]的方法。将淮山多糖配置成 50 mg/mL 的过饱和溶液,室温静置 30 min,每隔 5 min 涡旋振荡 10 s,静置结束后 4 000 r/min 离心 10 min,取 1 mL 上清液,真空冷冻干燥后准确称量上清质量,以每毫升中溶解的多糖质量表征其溶解度。

1.3.5 不同提取工艺制备的淮山多糖的抗氧化活性

1.3.5.1 铁离子还原能力的测定

参照董丽红等^[23]的方法探究淮山多糖的铁离子还原能力。将 180 μ L FRAP 工作液加入 96 孔板中,加入 5 μ L 4.0 mg/mL 不同多糖样品,摇匀后 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 3 min,于 593 nm 测其吸光值。以 FeSO_4 溶液作为标准品绘制标准曲线。根据标准曲线,计算各多糖的铁离子还原能力值,以每克淮山多糖干基中所含的 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 当量($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ Equivalents/g Dry Weight)表示,简写为 $\mu\text{mol FeE/g DW}$ 。

1.3.5.2 ABTS 自由基清除能力的测定

参照李杰等^[24]的方法探究淮山多糖对 ABTS^+ 自由基的清除能力。称取 3.84 mg ABTS 溶解于 1.0 mL 过硫酸钾溶液(2.45 mmol/L)中配制成浓度为 7.0 mmol/L 的 ABTS 储备液中,并避光常温存放 13~16 h,以制得 ABTS 储备液。用磷酸盐缓冲溶液(10.0 mmol/L, pH 值 8.0)将上述 ABTS 储备液稀释至波长 734 nm 处检测其吸光度为 0.70 ± 0.05 ,以配置成 ABTS 工作液。将各个样品稀释至 2.5、5.0、10.0、15.0、20.0、25.0 mg/mL,并将 1.0 mL 样液与 4.0 mL ABTS 工作液充分混匀,避光 6 min 后测定 734 nm 处吸光度。用 1.0 mL 样液加 4.0 mL 的水作样品对照,用 1.0 mL 蒸馏水加 4.0 mL 的 ABTS 工作液作为空白对照,其余步骤同上,测定吸光值。每个样品重复 3 次实验。 ABTS^+ 自由基清除率按以下方程计算,并根据拟合曲线求得 IC_{50} 值。

$$C = \frac{1 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100\% \quad (3)$$

式中:

C ——ABTS⁺自由基清除率, %;

A_0 ——为蒸馏水与 ABTS 工作液的吸光值;

A_1 ——为样液与 ABTS 工作液的吸光值;

A_2 ——为样液与蒸馏水的吸光值。

1.3.6 数据统计与分析

数据结果表示为平均数±标准差 (means±SD), 组间差异及显著性采用 SPSS Statistics 24 软件进行分析, 用不同的小写字母表示; 响应面实验采用 Design Expert.V 8.0.6 软件进行设计。

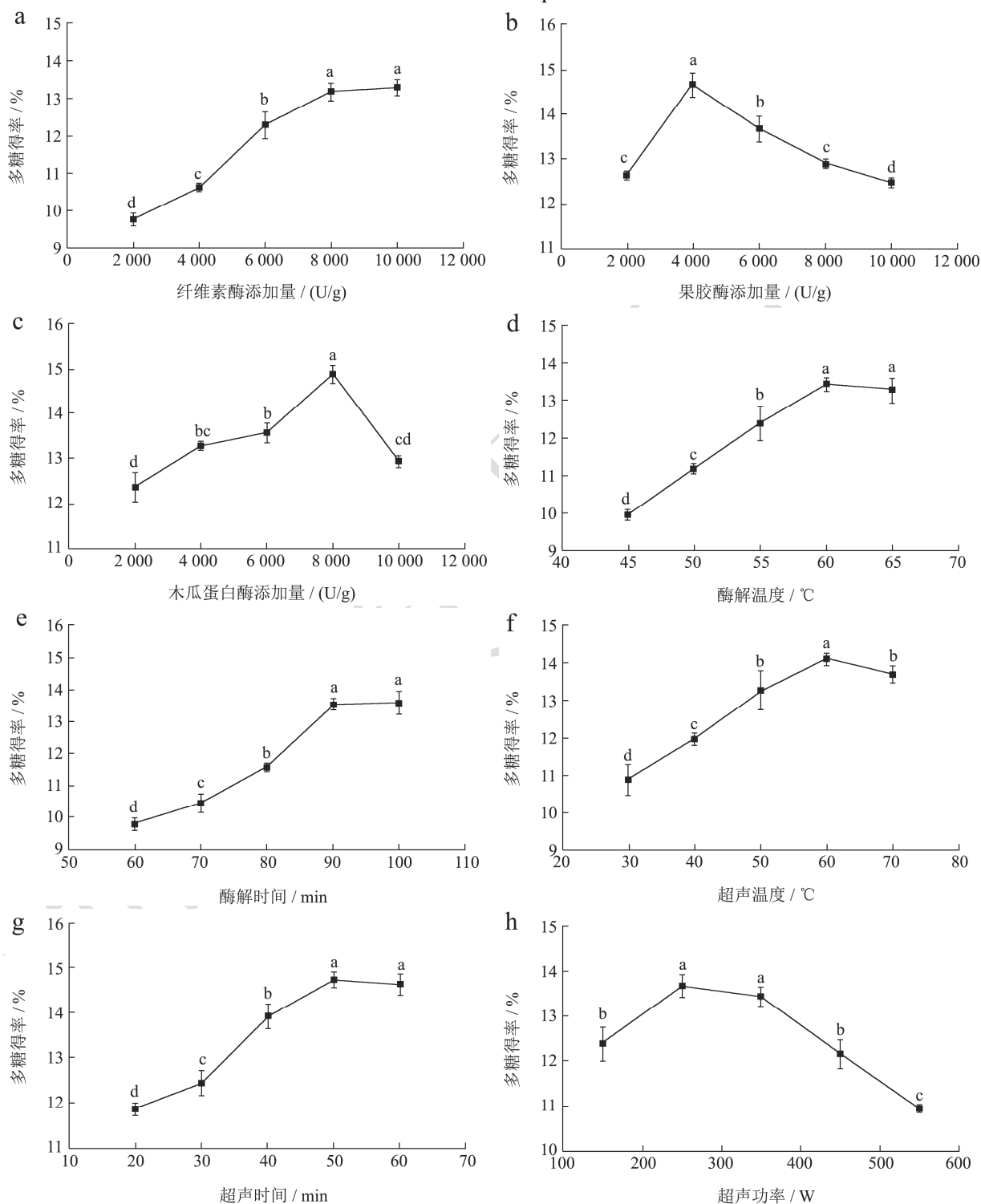


图1 各单因素对淮山多糖得率的影响

Fig.1 The effect of single factors on the extraction rate of polysaccharides from Chinese yam

注: 折线上不同的小写字母表示具有显著差异 ($P < 0.05$)。

2 结果与讨论

2.1 酶解-超声辅助提取淮山多糖的工艺优化

2.1.1 单因素结果与分析

酶解-超声辅助提取淮山多糖的单因素实验结果如图 1 所示。由图 1a 可知,在纤维素酶添加量较低时,多糖得率随纤维素酶添加量的增加而升高,当加酶量大于 8 000 U/g 后,多糖得率达到 13.19%后不再显著增加 ($P>0.05$)。可能的原因是当纤维素酶浓度达到 8 000 U/g 后,酶浓度已接近饱和状态,因而多糖得率不再随着酶添加量的增加而发生变化^[13]。因此,选择纤维素酶的最佳添加量为 8 000 U/g。如图 1b 和 1c 所示,果胶酶和木瓜蛋白酶对淮山多糖得率的影响趋势相似,即随着酶添加量的增加,多糖得率先增加后降低。当果胶酶添加量为 4 000 U/g 时,其多糖得率最高为 12.90%;当木瓜蛋白酶的添加量为 8 000 U/g 时,其多糖得率最高为 14.87%。因而选取果胶酶添加量为 4 000 U/g,木瓜蛋白酶含量为 8 000 U/g。酶解温度和酶解时间对淮山多糖得率的影响如图 1d 和 1e,在 45~60 ℃ 范围内,多糖得率随着酶解温度的升高而增加,当酶解温度大于 60 ℃ 后,多糖得率无显著变化 ($P>0.05$),且有降低的趋势,因此确定酶解温度为 60 ℃。在 60~100 min 内,多糖得率随着酶解时间的增加而逐渐增加,当酶解时间大于 90 min 后,多糖得率无显著性增加 ($P>0.05$),故选取酶解时间为 90 min。

由图 1f 可知,当超声温度小于 60 ℃ 时,随着超声温度的升高,淮山多糖的得率由 10.89%增加至 14.11%;当超声温度超过 60 ℃ 后,淮山多糖的得率降低,故选取超声提取温度为 60 ℃。由图 1g 可知,在超声 60 min 内,淮山多糖得率随着超声时间的增加而增加 ($P<0.05$)。当超声时间大于 50 min 后多糖得率并未显著性增加 ($P>0.05$),表明经过 50 min 的超声处理,大部分的淮山多糖都已溶出,此时多糖得率为 14.73%,故选取超声处理时间为 50 min。由图 1h 可知,淮山多糖得率随超声功率的增大呈现先增加后降低的趋势。其原因可能是在超声功率较低时,超声处理可以破坏淮山细胞壁,促进多糖溶出,提高多糖得率^[25];当超声功率超过 250 W 时,大功率的超声作用可能会导致多糖糖苷键断裂,反而致使其得率下降^[26],因此选取超声波功率为 250 W。

2.1.2 响应面结果与分析

采用软件设计响应面实验的各因素水平及对应的淮山多糖得率见表 3。对试验数据进行二次多项回归分析,得到二次项公式为:

$$Y=15.20-0.60A+0.86B-0.15C-0.42AB+0.31AC-$$

$$1.29BC-1.60A^2-2.08B^2-1.62C^2$$

表 3 响应面实验设计与结果

Table 3 Design and results of response surface experiment

序号	A 超声时间 /min	B 超声温度 /℃	C 超声功率 /W	Y 得率/%
1	1	1	0	11.35±0.15
2	0	0	0	14.82±0.23
3	0	0	0	15.39±0.19
4	1	0	-1	11.02±0.22
5	0	1	1	10.77±0.52
6	1	-1	0	10.53±0.34
7	-1	-1	0	10.84±0.11
8	0	-1	-1	9.64±0.27
9	-1	0	1	12.31±0.06
10	0	0	0	15.60±0.13
11	0	1	-1	13.99±0.25
12	-1	0	-1	12.88±0.16
13	-1	1	0	13.33±0.22
14	1	0	1	11.68±0.44
15	0	-1	1	11.56±0.21
16	0	0	0	14.79±0.38
17	0	0	0	15.30±0.18

表 4 响应面二次回归模型方差分析

Table 4 Response surface quadratic regression model variance

analysis						
变异源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
Model	61.43	9	6.83	59.37	<0.000 1	**
A	2.86	1	2.86	24.89	0.001 6	**
B	5.92	1	5.92	51.53	0.000 2	**
C	0.18	1	0.18	1.58	0.248 7	
AB	0.71	1	0.71	6.18	0.041 8	*
AC	0.38	1	0.38	3.31	0.111 5	
BC	6.63	1	6.63	57.70	0.000 1	**
A ²	10.79	1	10.79	93.85	<0.000 1	**
B ²	18.25	1	18.25	158.72	<0.000 1	**
C ²	11.09	1	11.09	96.43	<0.000 1	**
残差	0.80	7	0.11			
失拟	0.26	3	0.085	0.62	0.636 7	
误差	0.55	4	0.14			
总和	62.24	16				

注: **差异极显著, $P<0.01$; *差异显著, $0.01<P<0.05$; $R^2=0.970 4$ 。

在回归模型中,较大的 F 值和较小的 P 值表示对各自响应变异性具有显著性影响^[13]。响应面实验二次回归模型方差分析见表 4。模型的 $F=59.37$, $P<0.000 1$

差异性显著,且失拟项 $F=0.62>0.05$ 相对于纯误差也不显著,表明回归方程模型可真实模拟实验结果^[27]。方程相关系数 $R^2=0.970\ 4>90\%$,说明该回归方程能很好的描述各因素与响应值之间的关系,97%以上的实验数据可变性可以用该模型来描述^[28]。

此外回归方程系数显著性检验可知,模型的一次项 A、B ($P<0.05$) 差异显著, C ($P>0.05$) 差异不显著,可知超声时间和超声温度对淮山多糖得率的影响显著 ($P<0.05$),而超声功率对淮山多糖得率的影响不显著 ($P>0.05$)。模型的一次项 AB、BC ($P<0.05$) 差异显著, AC ($P>0.05$) 差异不显著;表明对于交互作用来说,超声时间和超声温度的交互作用、超声时间和超声功率对淮山多糖得率的影响具有显著性 ($P<0.05$),而超声温度和超声功率的交互作用淮山多糖得率的影响不显著。二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 ($P<0.01$) 差异极显著,表明各因素的平方均具有显著性。由表 4 的结果可知,3 个因素对淮山多糖得率的影响从大到小依次为:超声温度>超声时间>超声功率。

2.1.3 响应面结果优化与验证

软件模拟计算得到的最优提取工艺为:超声时间 47.6 min、超声温度 62.9 °C、超声功率 232 W,在该条件下,理论得率为 15.41%。根据试验实际操作可行性,优化各因素,确定最优提取工艺为:超声时间 48 min,超声温度 63 °C、超声功率 234 W,带入方程算得多糖得率预测值为 15.47%。经 3 次验证试验,得到实际得率为 15.26%,比理论预测值仅低 0.21%,说明建立回归模型有较好的拟合性。因此采用此模型优化得到的参数准确可靠,并具有实用价值。

2.2 不同提取工艺制备的淮山多糖的理化性质

2.2.1 得率与基本组成

4 种不同提取工艺制得的淮山多糖得率及基本组成见表 5。由表 5 可知,酶解提取、超声波提取和酶解-超声辅助提取相较于传统的热水提取工艺显著地提高了淮山多糖的得率 ($P<0.05$)。与传统热水浸提相比,复合酶解法提取的淮山多糖得率增加了 3.92 倍。复合酶能有效破坏细胞壁、淀粉、交联的蛋白质等,

使多糖溶出,进而提升其得率^[11]。采用酶解-超声协同处理时,在复合酶解的基础上,超声通过空化、热效应进一步破坏细胞壁结构,促进多糖溶出^[29],使淮山多糖的得率进一步提高 17.87%。

4 种不同提取工艺制备的淮山多糖均主要由中性糖、糖醛酸组成,含有少量的还原糖和蛋白质。CYP-E 的中性糖含量最高为 60.48%, CYP-H、CYP-U、CYP-UE 的中性糖含量无显著差异 ($P>0.05$); CYP-UE 中还原糖含量最高达 29.88%, CYP-U 的还原糖含量最低,为 16.85%; CYP-U 的糖醛酸含量(14.52%)显著高于其他三种多糖 ($P<0.05$); 4 种多糖中 CYP-U 的蛋白质含量最高为 3.42%,而 CYP-UE 的蛋白质含量只有 0.69% ($P<0.05$)。

2.2.2 单糖组成及分子量分布

4 种不同提取工艺制备的淮山多糖的平均分子量如表 6 所示, CYP-H、CYP-U、CYP-E、CYP-UE 的分子量大小为: 10.20、9.90、5.20、4.50 ku; 超声波提取、酶解法提取和超声-酶辅助提取的淮山多糖较热水浸提的分子量均有所下降,主要是因为超声^[30]以及酶^[31]处理可以使淮山多糖发生降解,进而降低其平均分子量。

4 种淮山多糖均主要由葡萄糖、半乳糖醛酸和半乳糖组成,含有少量甘露糖、鼠李糖和阿拉伯糖。不同提取工艺之间单糖组成的构成比具有显著性差异,其中 CYP-H 的摩尔百分比 88.71:6.31:3.68:0.49:0.21:0.60:4.82; CYP-U 为 79.72:11.41:6.60:0.75:0.30:0.85; CYP-E 为 93.82:3.38:1.06:1.36:0.17:0.21; CYP-UE 为 96.48:1.61:0.74:1.15:0.10:0.12。CYP-UE 中葡萄糖含量为 96.48%,显著高于其他 3 种多糖 ($P<0.05$)。CYP-U 的半乳糖和半乳糖醛酸含量显著高于其他 3 种多糖 ($P<0.05$)。CYP-E 中的甘露糖含量显著高于其他 3 种多糖 ($P<0.05$)。CYP-U 含有 0.37%的葡萄糖醛酸,而其余 3 种多糖中未检出。造成 CYP-E、CYP-UE 与另外两种淮山多糖中葡萄糖含量差异的原因可能是由于纤维素酶能特异地对细胞壁产生破壁作用,对一些难溶或不溶性细胞壁纤维进行水解,促进更多的细胞壁纤维溶出,而细胞壁纤维主要由葡萄糖构成,这与孔秋红等^[15]的研究结果保持一致。

表 5 不同提取工艺所得淮山多糖的得率及化学组成

Table 5 Yield and chemical composition of Chinese yam polysaccharides extracted by different methods

样品	得率/%	中性糖/%	还原糖/%	糖醛酸/%	蛋白质/%
CYP-H	2.08±0.10 ^d	52.68±0.62 ^b	22.58±0.52 ^c	12.92±0.96 ^b	2.90±0.39 ^b
CYP-U	2.32±0.14 ^c	51.92±5.42 ^b	16.85±0.23 ^d	14.52±1.26 ^a	3.42±0.29 ^a
CYP-E	10.24±0.10 ^b	60.48±2.02 ^a	28.01±0.52 ^b	11.54±0.61 ^b	0.90±0.26 ^c
CYP-UE	12.07±0.05 ^a	52.88±3.00 ^b	29.88±0.45 ^a	12.39±0.55 ^b	0.69±0.00 ^c

注: 同列右肩不同的小写字母表示具有显著差异 ($P<0.05$)。下表同。

表 6 不同提取工艺淮山多糖单糖组成

Table 6 Monosaccharide composition of Chinese yam polysaccharides extracted by different methods								
样品	平均分子量 <i>M_w</i> /ku	单糖组成/%						
		甘露糖	葡萄糖醛酸	鼠李糖	半乳糖醛酸	葡萄糖	半乳糖	阿拉伯糖
CYP-H	10.20	0.49±0.00 ^d	-	0.21±0.00 ^b	6.31±0.05 ^b	88.71±0.10 ^c	3.68±0.03 ^b	0.60±0.02 ^b
CYP-U	9.90	0.75±0.00 ^c	0.37±0.01	0.30±0.01 ^a	11.41±0.19 ^a	79.72±0.00 ^d	6.60±0.16 ^a	0.85±0.05 ^a
CYP-E	5.20	1.36±0.02 ^a	-	0.17±0.01 ^c	3.38±0.25 ^c	93.82±0.33 ^b	1.06±0.03 ^c	0.21±0.00 ^c
CYP-UE	4.50	1.15±0.02 ^b	-	0.10±0.03 ^d	1.61±0.02 ^d	96.48±0.11 ^a	0.74±0.02 ^d	0.12±0.04 ^d

表 7 不同提取工艺所得淮山多糖粒径分布参数及溶解度

Table 7 Parameters of Chinese yam polysaccharides particle size distribution and Solubility extracted by different methods

样品	平均粒径/nm	PDI	Zeta 电位/mV	溶解度/(mg/mL)
CYP-H	434.54±15.20 ^c	0.48±0.01 ^b	-27.20±2.11 ^a	42.93±0.81 ^b
CYP-U	482.87±28.40 ^b	0.41±0.02 ^c	-27.77±0.38 ^a	41.03±0.82 ^c
CYP-E	564.80±8.60 ^a	0.58±0.04 ^a	-27.51±1.90 ^a	46.40±0.45 ^a
CYP-UE	513.97±17.40 ^b	0.46±0.00 ^b	-31.01±1.18 ^b	45.93±0.77 ^a

2.2.3 傅里叶红外光谱分析

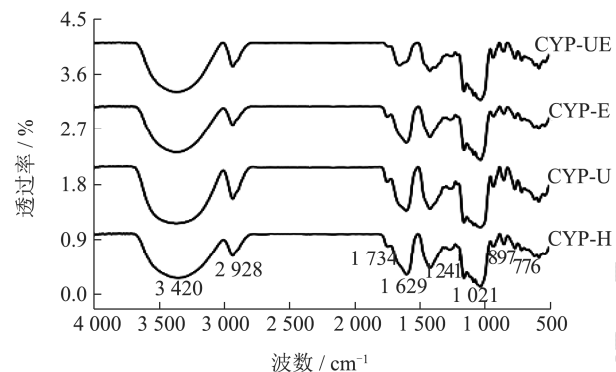


图 2 不同提取工艺所得淮山多糖 FT-IR 图谱

Fig.2 FT-IR spectra of Chinese yam polysaccharides extracted by different methods

采用傅里叶红外光谱分析不同提取工艺制备的 4 种淮山多糖的官能团构成，如图 2 所示。3 420 cm⁻¹、2 928 cm⁻¹ 处的吸收峰分别由 O-H 伸缩振动和 C-H 伸缩振动产生，表明 4 种淮山多糖呈现出糖类的特征吸收峰^[32]。1 629 cm⁻¹、1 734 cm⁻¹ 分别对应的吸收峰为 C=O 伸缩振动和-CHO 的弯曲振^[33]，表明 4 种淮山多糖均含有糖醛酸，这与之前的化学组成结果保持一致。1 241 cm⁻¹ 对应的吸收峰为 C-O-C 伸缩振动特征峰，1 021 cm⁻¹ 出现的吸收峰是吡喃糖环的特征吸收峰^[32]，表明 4 种淮山多糖都存在吡喃糖。4 种淮山多糖分别在 897 cm⁻¹ 出现吸收峰为 β 型的 C-H 振动，776 cm⁻¹ 出现吸收峰代表 α-糖苷键的 C-H 振动^[34]，表明 4 种淮山多糖中存在 β 构型和 α 构型。由上可知，不同提取工艺提取的 4 种淮山多糖均具有典型的多糖吸收峰，为既含有 α-糖苷键又含有 β-糖苷键的吡喃糖结构。结果表明不同的提取方法对淮山多糖基本结构没有影响。

2.2.4 粒径、电位及溶解度

不同提取工艺制备的 4 种淮山多糖的粒径、分散指数、电位及溶解度如表 7 所示，CYP-E 的平均粒径最大为 564.8 nm，CYP-UE、CYP-U 次之分别为 513.97 nm 和 482.87 nm，CYP-H 平均粒径最小为 434.54 nm (*P*<0.05)。这可能是由于不同多糖分子中含有的羟基等基团的数量不同，这些基团与水形成分子间氢键，造成不同程度的水合作用，从而导致多糖分子不同程度聚集，表现为粒径不同^[35]。

粒度分散指数（PDI）反映的是粒径分布的均一度，PDI 越大，表明粒径的分布越不均匀^[36]。4 种多糖中，CYP-E 的 PDI 最大，达 0.58，表明其分散最不均匀；CYP-U 的 PDI 为 0.41，表明其粒径分散最均匀。

Zeta 电位反映多糖在溶液中的带电情况，其电位绝对值越大，表明其在溶液中越稳定^[37]。4 种多糖的 Zeta 电位均带负电，表明其都为阴离子多糖；4 种多糖的 Zeta 电位绝对值依次为：CYP-UE（31.01 mV）>CYP-U（27.77 mV）>CYP-E（27.51 mV）>CYP-H（27.20 mV）。CYP-UE 的 Zeta 电位绝对值大于 30（*P*<0.05），说明其溶液稳定性最好。

在 50 mg/mL 浓度体系中，4 种淮山多糖的溶解度均大于 40 mg/mL，表明 4 种多糖均具有良好的溶解性。其中具有较低分子量的 CYP-E 和 CYP-UE 的溶解度均显著高于 CYP-H 和 CYP-U（*P*<0.05）。多糖的溶解性与其分子量大小相关，一般多糖的分子量越小，其溶解度越高。Huang 等^[38]发现发酵和未发酵龙眼果肉中的多糖相比，发酵龙眼果肉多糖的分子量降低了 112.01 ku，溶解度提升了 86.59%，与本研究结果相似。

2.3 不同提取工艺制备的淮山多糖的抗氧化

活性

2.3.1 铁离子还原能力

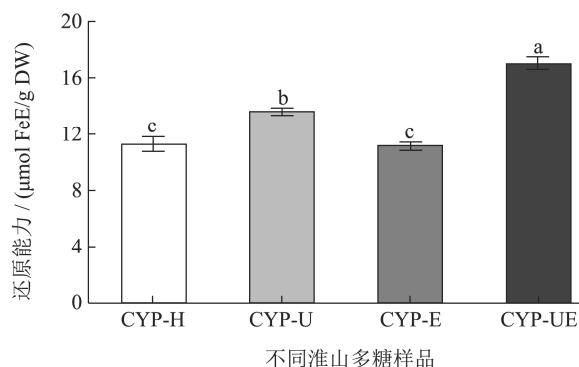


图3 不同提取工艺所得淮山多糖铁离子还原能力

Fig.3 Iron reduction capacity of Chinese yam polysaccharides extracted by different methods

注: 不同的小写字母表示不同样品间有显著差异 ($P<0.05$)。

不同提取工艺制备的淮山多糖的铁离子还原能力如图3所示。4种多糖的铁离子还原能力大小依次为CYP-UE>CYP-U>CYP-E≈CYP-H, 各样品之间具有显著性差异 ($P<0.05$)。CYP-UE的铁离子还原能力为17.08 μmol FeE/g DW显著高于其余3种多糖, 表明CYP-UE具有更强的铁离子还原能力。样品的铁还原能力与其抗氧化能力呈正相关^[39]。多糖的抗氧化活性可能与其分子量有关, Hu等^[30]研究发现经酶解后分子量变小的桑叶多糖比未酶解的桑叶多糖具有更高的铁离子清除能力。本研究中CYP-UE的铁离子还原力最强, 其分子量也最低, 与前人的研究结果一致。

2.3.2 ABTS⁺自由基清除能力

不同提取工艺制备的淮山多糖ABTS⁺自由基清除能力如图4所示。4种多糖均具有较强的ABTS⁺自由基清除能力, 且ABTS⁺自由基清除率与样品浓度呈正相关性。CYP-UE的自由基清除率在10 mg/mL时逐渐趋于稳定, 对应稳定区间的抑制率为96.46%~99.80%。怀山药零余子渣多糖组分DBP1在10 mg/mL时清除率最高, 其清除率为18.39%左右^[40], 低于同等浓度下4种淮山多糖的清除率。当质量浓度达25 mg/mL时, 4种淮山多糖的ABTS⁺自由基清除率均高于80%。在多糖质量浓度0~25 mg/mL范围内, ABTS⁺自由基清除能力大小为CYP-UE>CYP-E>CYP-U>CYP-H, 具有显著性差异 ($P<0.05$)。经计算得到4种多糖的IC₅₀值从小到大依次: CYP-UE为2.42 mg/mL、CYP-E为3.62 mg/mL, CYP-U为6.46 mg/mL, CYP-H为8.67 mg/mL。由上可知, 4种

多糖中CYP-UE的ABTS⁺自由基清除能力最为显著。

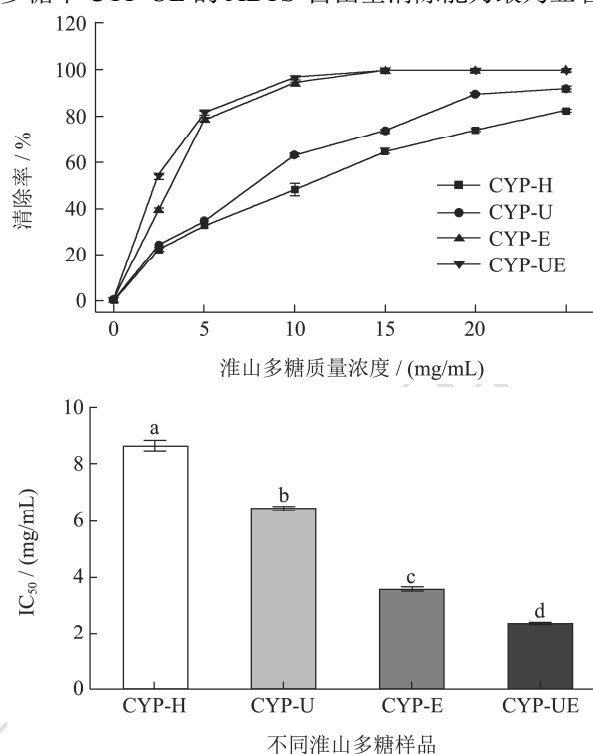


图4 不同提取工艺所得淮山多糖ABTS⁺清除能力

Fig.4 ABTS⁺ scavenging capacity of Chinese yam polysaccharides extracted by different methods

注: 不同的小写字母表示样品间有显著差异 ($P<0.05$)。

3 结论

本研究在单因素实验的基础上, 以多糖得率为响应值, 对酶解-超声辅助提取淮山多糖的工艺进行响应面优化, 并探究了热水浸提、超声提取、酶解提取和酶解-超声协同提取淮山多糖的理化性质以及抗氧化活性。得到淮山多糖的最优提取工艺为: 复合酶(纤维素酶8 000 U/g、果胶酶4 000 U/g、木瓜蛋白酶8 000 U/g), 60℃酶解90 min, 超声温度63℃, 超声时间48 min, 超声功率234 W。4种提取工艺制备的淮山多糖得率从大到小依次为: CYP-UE(12.07%)、CYP-E(10.24%)、CYP-U(2.32%)、CYP-H(2.08%); 4种多糖的分子量分布为4.50~10.20 ku, 单糖组成主要由葡萄糖、半乳糖醛酸和半乳糖构成, 其中CYP-UE的平均分子量为4.50 ku, 并且葡萄糖含量显著高于其余3种多糖; 4种多糖均含有多糖的特征吸收峰, 并无显著差异; 4种多糖均具有较好的溶液稳定性和溶解性, 其中CYP-UE的溶解性最高达45.93 mg/mL; 4种多糖均具有较强的铁离子还原能力及较高的ABTS⁺自由基清除能力, 而CYP-UE在质量浓度为4.0 mg/mL时铁离子还原能力为17.08 μmol FeE/g DW, 在质量浓度为5.0 mg/mL时对ABTS⁺自由基的清除作用为

81.41%, 其 IC_{50} 值为 2.42 mg/mL, 显著高于其余 3 种多糖, 表现出最好的抗氧化活性。综上所述, 采用酶解-超声辅助提取法能获得高得率、高抗氧化活性的淮山多糖。本研究结果为淮山多糖的高效制备提供了参考, 为淮山的高值化利用提供了理论依据。

参考文献

- [1] 南怀林, 王耀琴, 刘建平, 等. 山药功能性成分多糖的研究进展[J]. 农业科技通讯, 2020, 6: 230-232.
- [2] 钟文婷, 董雨荷, 谭伟健, 等. 山药多糖药理作用的研究进展及其应用展望[J]. 食品安全导刊, 2021, 19: 126-137.
- [3] 林晓丽, 郎凯瞳, 郑宝东, 等. 山药营养功能特性及其产品开发现状[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(6): 339-346.
- [4] 徐子妍, 董凯璇, 苏亚东, 等. 山药的营养功效及加工利用研究进展[J]. 中国果菜, 2019, 39(8): 52-57.
- [5] Cheng Z, Hu M, Tao J, et al. The protective effects of Chinese yam polysaccharide against obesity-induced insulin resistance [J]. Journal of Functional Foods, 2019, 55: 238-247.
- [6] Son I S, Kim J H, Sohn H Y, et al. Antioxidative and hypolipidemic effects of diosgenin, a steroidal saponin of yam (*Dioscorea* spp.), on high-cholesterol fed rats [J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2007, 71(12): 3063-3071.
- [7] Chen Z, Xu J, Yang W, et al. Diosgenin inhibited the expression of TAZ in hepatocellular carcinoma [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2018, 503(3): 1181-1185.
- [8] 刘哲. 怀山药多糖分离纯化、抗衰老活性及其对 Klotho 基因的表达调控研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2019.
- [9] Li M, Chen L X, Chen S R, et al. Non-starch polysaccharide from Chinese yam activated RAW 264.7 macrophages through the toll-like receptor 4 (TLR4)-NF- κ B signaling pathway [J]. Journal of Functional Foods, 2017, 37: 491-500.
- [10] Huang R, Xie J, Yu Y, et al. Recent progress in the research of yam mucilage polysaccharides: Isolation, structure and bioactivities [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 155: 1262-1269.
- [11] 董义, 沈才洪, 曾里, 等. 酶解辅助提取山药多糖的研究[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2015, 36(3): 56-60.
- [12] 窦雨横. 酶解法提取在香菇多糖提取中的应用和进展[J]. 粮食与食品工业, 2019, 26(3): 34-37.
- [13] Cao Z, Guo Y, Liu Z, et al. Ultrasonic enzyme-assisted extraction of comfrey (*Symphytum officinale* L.) polysaccharides and their digestion and fermentation behaviors *in vitro* [J]. Process Biochemistry, 2022, 112: 98-111.
- [14] 刘慧君, 黄菲, 张瑞芬, 等. 龙眼果肉多糖超微粉碎-酶解提取工艺优化及其免疫活性[J]. 中国食品学报, 2020, 20(3): 112-120.
- [15] 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.
- [16] Dubois M K, Gilles K A, Hamilton J K, et al. A colorimetric method for the determination of sugars [J]. Nature, 1951, 168(4265): 167.
- [17] Miller G L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar [J]. Analytical Chemistry, 1959, 31(3): 420-428.
- [18] Blumenkranz B. New method for quantitative determination of uronic acid [J]. Analytical Biochemistry, 1993, 54(2): 484-489.
- [19] Bradford M. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72: 248-254.
- [20] Liu D, Tang W, Yin J Y, et al. Monosaccharide composition analysis of polysaccharides from natural sources: Hydrolysis condition and detection method development [J]. Food Hydrocolloids, 2021, 116(3): 106641.
- [21] Bai Y, Jia X, Huang F, et al. Structural elucidation, anti-inflammatory activity and intestinal barrier protection of longan pulp polysaccharide LPIIa [J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 246: 116532.
- [22] 尹艳, 宋冠华, 李周玉, 等. 水溶性大豆多糖溶解性的研究[J]. 惠州学院学报(自然科学版), 2009, 29(3): 13-16.
- [23] 董丽红, 张瑞芬, 肖娟, 等. 荔枝果肉不同酚类成分群的分离及其抗氧化活性[J]. 中国农业科学, 2016, 49(20): 4004-4015.
- [24] 李杰, 贾栩超, 张瑞芬, 等. 黑芝麻黑色素的分离纯化、结构表征及体外抗氧化活性[J]. 中国农业科学, 2020, 53(12): 2477-2492.
- [25] 安星亮, 赵永亮, 王欢, 等. 银耳多糖提取工艺的响应面法优化及抗氧化和保湿性研究[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(15): 123-130.
- [26] 周理红, 王国梁. 绿菇多糖的提取工艺优化[J]. 现代食品科技, 2021, 37(9): 226-233.
- [27] 杨帆, 王宇鹏, 赵华. 响应面法优化超声辅助提取山药多糖工艺的研究[J]. 粮食与油脂, 2020, 33(8): 73-76.
- [28] Shao P, Chen X, Sun P. Improvement of antioxidant and moisture-preserving activities of *Sargassum horneri* polysaccharide enzymatic hydrolyzates [J]. International

- Journal of Biological Macromolecules, 2015, 74: 420-427.
- [29] 沈晓梅, 骆兆娇, 侯俊杰, 等. 酶辅助空化处理对豆渣纤维结构和理化性质的影响[J]. 现代食品科技, 2022, 38(9): 285-291.
- [30] Hut G, Zou Y X, Li E N, et al. Effects of enzymatic hydrolysis on the structural, rheological, and functional properties of mulberry leaf polysaccharide [J]. Food Chemistry, 2021, 355: 129608
- [31] Qiu J, Zhang H, Wang Z. Ultrasonic degradation of Polysaccharides from *Auricularia auricula* and the antioxidant activity of their degradation products [J]. Lwt - Food Science and Technology, 2019, 167: 423-433.
- [32] Liu W, Lu W, Chai Y, et al. Preliminary structural characterization and hypoglycemic effects of an acidic polysaccharide SERP1 from the residue of *Sarcandra glabra* [J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 176: 140-151.
- [33] Cai, Liangliang, Zou, et al. Structural characterization, antioxidant and hepatoprotective activities of polysaccharides from *Sophora tonkinensis* Radix [J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 184: 354-365.
- [34] Chen J, Zhang X, Huo D, et al. Preliminary characterization, antioxidant and α -glucosidase inhibitory activities of polysaccharides from *Mallotus furetianus* [J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 215: 307-315.
- [35] Ma F, Wang D, Zhang Y, et al. Characterisation of the mucilage polysaccharides from *Dioscorea opposita* Thunb. with enzymatic hydrolysis [J]. Food Chemistry, 2018, 245: 13-21.
- [36] Li J, Li B, Geng P, et al. Ultrasonic degradation kinetics and rheological profiles of a food polysaccharide (konjac glucomannan) in water [J]. Food Hydrocolloids, 2017, 70: 14-19.
- [37] Xxla B, Yyy B, Hml B, et al. Emulsifying and structural properties of polysaccharides extracted from Chinese yam by an enzyme-assisted method [J]. Lwt - Food Science and Technology, 2019, 111: 242-251.
- [38] Huang F, Hong R, Zhang R, et al. Physicochemical and biological properties of longan pulp polysaccharides modified by *Lactobacillus fermentum* fermentation [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 125: 232-237.
- [39] Yang W, Ying W, Li X, et al. Purification and structural characterization of Chinese yam polysaccharide and its activities [J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 117(5): 1021-1027.
- [40] 张朋展. 怀山药附属资源多糖的结构、理化性质及抗氧化活性研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2020.