

山药多糖超高压协同乳酸菌发酵辅助提取工艺优化及其控酶活性

周丽珊^{1,2}, 肖诚熠², 张瑞芬², 贾栩超², 梁珊², 董丽红², 黄菲^{2*}

(1. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510642) (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 510640)

摘要: 为了促进山药多糖的高效制备及开发利用, 该研究构建了山药多糖超高压协同乳酸菌发酵辅助提取工艺, 并对山药多糖的酶抑制活性进行了研究。以鲜山药为原料, 从9种不同菌种中, 筛选确定以植物乳杆菌植物亚种作为发酵菌种。在单因素试验基础上, 采用 $L_{18}(3^7)$ 型正交表设计优化了山药多糖的超高压-乳酸菌发酵协同辅助提取工艺, 确定其最优工艺为: 接种浓度5%, 发酵时间2 d, 料液比1:5 (m/V), 压力500 MPa, 保压时间10 min, 在此条件下山药多糖的得率为9.23%, 并且该工艺制备得到的山药多糖具有 α -淀粉酶和胰脂肪酶抑制作用, 其 IC_{50} 值分别为 $7.48\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $7.07\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, 具有显著的酶抑制活性, 表明超高压协同乳酸菌发酵提取工艺具有制备高得率、高酶抑制活性山药多糖的潜力。该研究为山药开发利用提供了途径。

关键词: 山药多糖; 超高压提取; 乳酸菌发酵; 酶抑制活性

文章编号: 1673-9078(2026)06-196-205

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2026.6.0468

Optimization of Extraction Process and Enzyme Inhibitory Activity Control of Polysaccharides from Chinese Yam under Ultrahigh Pressure Combined with Lactic Acid Bacteria Fermentation

ZHOU Lishan^{1,2}, XIAO Chengyi², ZHANG Ruifen², JIA Xuchao², LIANG Shan², DONG Lihong², HUANG Fei^{2*}

(1. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, 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 510640, China)

Abstract: To promote the efficient preparation and utilization of Chinese yam polysaccharides, an extraction process of Chinese yam polysaccharides with ultrahigh pressure combined with microbial fermentation was established, and the enzyme inhibitory activity of Chinese yam polysaccharide was investigated in this study. With fresh yam as raw material, from nine

引文格式:

周丽珊,肖诚熠,张瑞芬,等.山药多糖超高压协同乳酸菌发酵辅助提取工艺优化及其控酶活性[J].现代食品科技,2026,42(6):196-205.

ZHOU Lishan, XIAO Chengyi, ZHANG Ruifen, et al. Optimization of extraction process and enzyme inhibitory activity control of polysaccharides from chinese yam under ultrahigh pressure combined with lactic acid bacteria fermentation [J]. Modern Food Science and Technology, 2026, 42(6): 196-205.

收稿日期: 2025-04-02; 修回日期: 2025-05-05; 接受日期: 2025-05-12

基金项目: 广东省重点研发计划项目(2022B0202020004); 广东省现代农业产业共性关键技术研发创新团队建设项目(2024CXTD16; 2024CXTD18); 广州市科技计划项目(2024A04J3873)

作者简介: 周丽珊(1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工, E-mail: ls33zls@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

different strains, *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* were selected as the subsequent fermentation strains. Based on the single factor experiment, the $L_{18}(3^7)$ orthogonal table design was used to optimize the ultrahigh pressure and lactic acid bacteria fermentation collaborative extraction process of yam polysaccharide to determine the optimal extraction conditions: inoculation concentration 5%, fermentation time 2 days, solid-liquid ratio 1:5 (m/V), extraction pressure 500 MPa, holding time 10 min. With these conditions, the extraction yield of polysaccharides was 9.23% and the obtained polysaccharides exhibited significant α -amylase inhibitory activities ($7.48 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) and pancreatic lipase inhibitory activities ($7.07 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$). The results showed that ultrahigh pressure combined with lactic acid bacteria had the potential to produce Chinese yam polysaccharide with high yield and enzyme inhibitory activity. This study can provide a way for the development and utilization of Chinese yam.

Key words: Chinese yam polysaccharides; ultrahigh pressure extraction; lactic acid bacteria fermentation; enzyme inhibitory activity

山药 (*Dioscoreas oppositae*) 属于薯蓣科 (*Dioscoreaceae*) 薯蓣属 (*Dioscorea*)，是中国最受欢迎的药食同源食物之一^[1]。多糖是其主要活性成分，许多研究发现山药多糖具有免疫调节、降血糖、降血脂、抗炎、抗氧化和抑菌等功效^[2-5]。由于植物多糖通常存在于细胞壁中，且多糖并不是以纯态存在，它通常会与其他物质聚合在一起^[6]。因此关于山药多糖提取工艺的研究一直是关注的热点，目前关于山药多糖的提取研究主要集中在热水提取、酶解辅助提取、超声辅助提取、微波辅助提取等工艺，但这些提取技术普遍面临耗时长、多糖得率与纯度较低、经济成本和能源消耗高等问题^[7]。因此，开发一种新型、高效、纯度高的山药多糖提取技术依旧是人们研究的重点。

研究表明超高压处理能通过压力的变化，诱导植物细胞结构发生不可逆破坏，改变细胞通透性，促进细胞壁的分解及内容物的扩散，而植物多糖主要存在于细胞壁或细胞质中，因此，近几年逐渐利用超高压处理作为提高植物多糖得率的工艺^[8,9]。Zheng 等^[10]利用超高压处理方式制备紫菜多糖发现，与传统热水浸提紫菜多糖相比，其多糖得率、糖醛酸和 3,6-脱水半乳糖含量更高，蛋白质含量、分子量、粒径大小等显著下降 ($P < 0.05$)，具有更强的体外抗氧化能力以及保护巨噬细胞 RAW264.7 细胞免受氧化损伤的作用。

微生物发酵被认为是一种新型的提取技术，其中乳酸菌对人体有益的一类益生菌，常被用于多种食品的发酵，乳酸菌能在发酵过程中产生多种对人体健康有帮助的活性物质，同时其生长代谢过程中所产生的多种碳水化合物酶能促进植物细胞壁的破坏，在提高得率的同时对多糖还有一定的改性效果^[11]，因此，乳酸菌发酵逐渐被用于辅助植物多糖的提取。Song 等^[12]对比了经过植物乳酸杆菌发酵辅助提取的苦瓜多糖与直接热水浸提的苦瓜多糖在结构和抗糖尿病之间的差异，发现发酵后提取的苦瓜多糖结构明显发生改变如单糖组成显著改变、分子量和黏度下降等，对 2

型糖尿病表现出更强的治疗作用。

因此，该研究在单因素试验和正交试验优化的基础上，建立超高压协同乳酸菌发酵辅助提取山药多糖的最优工艺；并通过分析 α -淀粉酶抑制和胰脂肪酶抑制活性指标，评价制备的山药多糖的酶抑制活性。该研究可为山药多糖的高效提取及开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

实验样品：山药于 2024 年 8 月购自广东茂名，品种为广东深薯。

试剂：葡聚糖标准品 (1.27、5.22、11.6、23.8、48.6、80.9、147.6、273、409.8、667.8 kDa)，美国 sigma 公司；BCA 总蛋白测定试剂盒，南京建成生物工程研究所； α -淀粉酶，诺维信生物技术有限公司；MRS 肉汤、MRS 肉汤（不含琼脂和葡萄糖），MRS 琼脂培养基，LB 琼脂培养基、LB 肉汤、PDA 培养基、PBS 缓冲液、阿卡波糖、奥利司他，广东环凯微生物科技有限公司；发酵乳杆菌 (*Limosilactobacillus fermentum* GIM1.1796)、嗜酸乳杆菌 (*Lactobacillus acidophilus* GIM 1.731)、植物乳杆菌植物亚种 (*Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum*, GIM 1.380)、干酪乳杆菌 (*Lactocaseibacillus casei* GIM 1.410)、枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis* GIM 1.372)、黑曲霉 (*Aspergillus niger* GIM 3.576)，米根霉 (*Rhizopus oryzae* GIM 3.127)、绿色木霉 (*Trichoderma viride* Persoon GIM 3.443)，广东省微生物菌种保藏中心；其余试剂均为分析纯。

BS124S 分析天平，北京赛多利斯科学仪器有限公司；18-Y915S 九阳豆浆机，杭州九阳豆业有限公司；EYELA N-1100 旋转蒸发仪，东京理化器械株式会社；SHPP-57DZM-600 超高压设备，山西三水河科技有限公司；TD6 离心机，长沙湘智离心机仪器有限公司

司; SW-CJ-1FD 超净工作台, 江苏安泰空气技术有限公司; LRH-250 生化培养箱, 上海一恒科技有限公司; LS-75HD 立式电热压力蒸汽灭菌锅, 上海申安医疗器械厂; VERTEX33 型红外光谱仪, 德国 Bruker 公司; Acquity APC 超高效聚合物色谱系统, 美国 Waters 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 发酵菌种的筛选

选用 9 种不同的菌种对山药进行发酵, 分别为发酵乳杆菌 GIM1.1796、嗜酸乳杆菌 GIM 1.731、植物乳杆菌植物亚种 GIM 1.380、干酪乳杆菌 GIM 1.410、枯草芽孢杆菌 GIM 1.372、黑曲霉 GIM 3.576, 米根霉 GIM 3.127、绿色木霉 GIM 3.443 和复合菌种 (植物乳杆菌植物亚种与枯草芽孢杆菌; 1:1)。

1.2.1.1 菌种活化与准备

乳酸菌的活化: 取出在液氮中冻存的菌株后采用平板划线的方法将其涂布在 MRS 琼脂培养基中培养 48 h, 挑选单菌落接种至 10 mL MRS 肉汤中 37 °C 培养 12 h 后离心 (3 000 g, 10 min) 弃上清, 再加入 10 mL MRS 肉汤培养 12 h。待培养完成后离心 (3 000 g, 10 min) 弃上清, 加入 10 mL 生理盐水 (0.9 wt.% NaCl) 混匀后待用。

枯草芽孢杆菌的活化: 取出在液氮中保藏的菌株后采用平板划线的方法将其涂布在 LB 琼脂培养基中培养 48 h, 挑选单菌落接种至 10 mL LB 肉汤中 37 °C 培养 12 h 后离心 (3 000 g, 10 min) 弃上清, 再加入 10 mL MRS 肉汤培养 12 h。待培养完成后离心 (3 000 g, 10 min) 弃上清, 加入 10 mL 生理盐水 (0.9% NaCl) 混匀后待用。

霉菌的活化: 取出在液氮中冻存的菌株后吸取 200 μ L 均匀涂布在 PDA 平板培养基上 30 °C 培养 5 d 后, 将表面的菌丝刮下, 加入 10 mL 无菌水混匀后使用装有灭菌脱脂棉的核酸纯化柱过滤得孢子悬液。

复合菌种的准备: 将完成活化的植物乳杆菌植物亚种与枯草芽孢杆菌按 1:1 的比例的混合后待用。

1.2.1.2 山药的发酵

称取 10.0 g 鲜山药, 将其按料液比 1:1 (山药: 水, m/V) 的比例加水打浆后置于 150 mL 锥形瓶中, 放入灭菌锅进行巴氏杀菌 (80 °C, 30 min)。按 1% 的接种量接种, 恒温培养箱中发酵 (30 °C, 2 d)。待处理结束后取山药发酵液提取多糖并计算得率。

1.2.1.3 山药多糖的提取和得率计算

将山药发酵液加水补齐至料液比为 (1:10, m/V) (按照初始山药质量计算), 置于 80 °C 水浴提取 3 h, 离心 (4 000 g, 10 min) 取上清液, 真空浓缩至原体

积的 1/5, 加入 4 倍体积的 95% 乙醇 (V/V), 静置过夜。取沉淀复溶定容至 100 mL, 分别使用苯酚硫酸法和 DNS 法测定计算溶液中总糖和还原糖的含量, 多糖得率为总糖与还原糖之差。

$$Y = \frac{C_1 - C_2}{M} \times 100\% \quad (1)$$

式中:

Y ——多糖得率, %;

C_1 ——苯酚硫酸法测定的总糖质量, mg;

C_2 ——DNS 法测定的还原糖质量, mg;

M ——山药质量, mg。

1.2.2 超高压协同乳酸菌发酵提取山药多糖工艺优化

1.2.2.1 单因素优化

超高压单因素实验: 称取 10.0 g 鲜山药, 将其按一定料液比打浆后置于聚乙烯袋内密封, 在不同的压力和保压时间下进行超高压处理, 处理结束后提取多糖计算多糖得率。超高压辅助提取过程中, 超高压压力、保压时间、料液比是主要影响因素。通过改变超高压压力 (100、200、300、400 和 500 MPa)、保压时间 (2、4、6、8 和 10 min)、料液比 (1:2、1:3、1:4、1:5、1:6), 考察各影响因素对山药多糖得率的影响。

乳酸菌发酵单因素实验: 称取 10.0 g 鲜山药, 将其按一定料液比打浆后置于 150 mL 锥形瓶封口, 放入灭菌锅进行巴氏杀菌 (80 °C, 30 min)。按不同的接种量接种后置于 30 °C 恒温培养箱中发酵一定时间。待处理结束后提取多糖并计算其得率。乳酸菌发酵辅助提取过程中料液比、菌液接种量、发酵时间是主要影响因素。通过改变料液比 (1:2、1:3、1:4、1:5、1:6; m/V)、菌液接种量 (1%、2%、3%、4%、5%; V/V)、发酵时间 (1、2、3、4、5 d), 考察各影响因素对山药多糖得率的影响。

1.2.2.2 正交试验

正交试验设计: 在单因素试验的基础上选用以接种浓度、发酵时间、料液比、压力和保压时间五个因素进行正交试验。选用 $L_{18}(3^7)$ 型正交表对多糖的得率进行优化。

正交试验步骤: 将山药按不同料液比打浆、置于聚乙烯袋内密封后进行超高压处理。待超高压处理结束后, 将山药放入灭菌锅进行巴氏灭菌 (80 °C, 30 min) 后, 按不同的接种量接种, 置于 30 °C 恒温培养箱中发酵一定时间。待处理结束后提取多糖并计算得率。基于单因素实验结果进行五因素三水平的正交试验, 实验因素安排如表 1 所示。

1.2.3 多糖的制备

取 10.0 g 鲜山药, 按照料液比 1:1 (m/V) 打浆后置

于聚乙烯袋内进行超高压处理（500 MPa，10 min）；再将山药浆置于灭菌锅中进行巴氏灭菌（80 ℃，30 min），随后按照 4% 的接种量加入植物乳杆菌植物亚种菌液，37 ℃，发酵 2 d 后得山药发酵液。参考课题组前期^[13]的方法提取山药发酵液中的多糖稍作修改如下，将山药发酵液加水补齐至料液比为（1:10，*m/V*）并加入高温 α -淀粉酶（0.1%，*V/V*）后置于 80 ℃，热水浸提 3 h，离心（4 000 g，10 min）取上清，真空浓缩至原体积的 1/5 后，加入相当于浓缩液体积 1/4 的 sewage 试剂（氯仿：正丁醇=4:1，*V/V*），重复 8 次以充分除去蛋白，除去有机试剂后，用透析袋（截留分子量为 8 000 Da）置于超纯水透析 3 d，再用 4 倍体积的 95% 乙醇（*V/V*）在 4 ℃，沉淀过夜，离心（4 000 g，10 min）收集沉淀并进行冷冻干燥，得到最终的山药多糖 CYP-UZ。

表 1 因素水平表
Table 1 Factor level table

水平	A: 接种量/%	B: 发酵时间/d	C: 料液比	D: 压力/MPa	E: 保压时间/min
1	3	1	1:5	300	6
2	4	2	1:6	400	8
3	5	3	1:7	500	10

1.2.4 CYP-UZ的基本组成测定

分别测定山药多糖中的总糖、还原糖、糖醛酸和蛋白质含量。以葡萄糖作为标准品，采用苯酚-硫酸法测定总糖含量；以葡萄糖作为标准品，采用 3,5-二硝基水杨酸（DNS）法测定还原糖含量；以半乳糖醛酸为标准品，采用间羟基联苯比色法测定糖醛酸含量；采用 BCA 法蛋白质含量检测试剂盒测定蛋白质含量。

1.2.5 CYP-UZ的单糖组成测定

采用 HPLC 法测定样品的单糖组成^[14]。具体方法如下：称取 2 mg 样品，加入 0.5 mL 2 mol·L⁻¹ 的三氟乙酸，于 120 ℃ 水解 2 h 后用氮气吹干。加入溶于无水甲醇的 0.5 mol·L⁻¹ 的 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮（PMP）试剂和 0.3 mol·L⁻¹ 的 NaOH 溶液各 0.5 mL，混匀后于 70 ℃ 水浴反应 30 min 进行衍生化。反应结束后加入 0.3 mol·L⁻¹ 的 HCl 0.5 mL，再使用氯仿萃取 3 次，取水相层过 0.22 μm 滤膜上机检测。采用高效液相色谱系统，流动相为磷酸盐（0.1 mol·L⁻¹，pH 值 7.0）和乙腈的混合液（83:17，*V/V*），流量为 1 mL·min⁻¹，进样量 10 μL，检测器 DAD 波长为 245 nm。

1.2.6 CYP-UZ的分子量分布分析

采用超高效聚合物色谱系统检测多糖分子量。参照刘慧君等^[15]的方法稍作修改，将山药多糖配制成 2 mg·mL⁻¹ 的溶液，过 0.45 μm 膜后上机检测，采用

葡聚糖标准品（1.27、5.22、11.6、23.8、48.6、80.9、147.6、273、409.8、667.8 kDa）建立标准曲线。色谱条件为：Waters ACQUITY APCTM AQ 450、ACQUITY APCTM AQ 200 和 ACQUITY APCTM AQ 45 三色谱柱串联，流动相为超纯水，流速为 0.7 mL·min⁻¹，检测器为 RI 示差检测器，柱温箱和检测器温度保持在 40 ℃，进样量为 10 μL。

1.2.7 CYP-UZ的傅里叶红外光谱分析

采用红外光谱仪分析多糖的官能团差异。将 1 mg 山药多糖与 100 mg 溴化钾混合研磨，并压成 1 mm 的薄片，在中红外区域（4 000~400 cm⁻¹）内以 4 cm⁻¹ 的分辨率进行扫描。

1.2.8 CYP-UZ对酶的抑制活性

1.2.8.1 淀粉酶抑制

参考 Lv 等^[16]报道的方法稍作修改如下，分别将 100 mL 不同质量浓度（0.16~20 mg·mL⁻¹）的 CYP-UZ 和 100 μL 5 U·mL⁻¹ α -淀粉酶溶液混合并在 37 ℃ 下孵育 15 min，然后再加入 100 μL 2 mg·mL⁻¹ 可溶性淀粉溶液孵育 10 min，再加入 225 μL DNS 溶液，沸水浴处理 5 min 以终止反应，待其冷却后加入 PBS（7.5×10⁻² mol·L⁻¹，pH 值为 7.4）稀释五倍，在 540 nm 处测定吸光度，以阿卡波糖作为阳性抑制剂对照，根据公式（2）计算抑制率 *R*₁：

$$R_1 = (1 - \frac{A_2 - A_1}{A_3 - A_4}) \times 100\%$$
 (2)

式中：
*R*₁—— α -淀粉酶抑制率，%；
*A*₁——正常实验组吸光值；
*A*₂——不加样品仅加酶的样品的空白组吸光值；
*A*₃——不加样品加酶的空白组吸光值；
*A*₄——不加样品不加酶的溶剂空白组；以上组别未添加部分均以等体积 PBS 代替。

1.2.8.2 胰脂肪酶抑制

参照 Ebtehag^[17]的方法稍作修改，将 120 μL 不同质量浓度（0.062 5~10 mg·mL⁻¹）CYP-UZ 溶液和 40 μL 1 mg·mL⁻¹ 胰脂肪酶溶液混匀后在 37 ℃ 下孵育 15 min，然后再加入 40 μL 2×10⁻³ mol·L⁻¹ PNPB（4-硝基苯丁酸酯）继续孵育 15 min，以奥利司他作为阳性对照组。分别测定不同质量浓度样品和奥利司他在 405 nm 处吸光度，根据公式（3）计算抑制率 *R*₂：

$$R_2 = (1 - \frac{A_2 - A_1}{A_3 - A_4}) \times 100\%$$
 (3)

式中：
*R*₂——胰脂肪酶抑制率，%；
*A*₁——正常实验组吸光值；

A_2 ——不加样品仅加酶的样品的空白组吸光值;

A_3 ——不加样品加酶的空白组吸光值;

A_4 ——不加样品不加酶的溶剂空白组; 以上组别未添加部分均以等体积 PBS 代替。

1.3 数据处理与分析

每个样品每个指标重复测定 3 次, 实验结果用平均值 $\pm$ 标准差 (SD) 表示。用 SPSS Statistics 27.0.1 软件对所有指标进行数据间的显著性和相关性的分析, 采用 Origin 2024 软件进行绘图。

2 结果与分析

2.1 发酵菌种的筛选

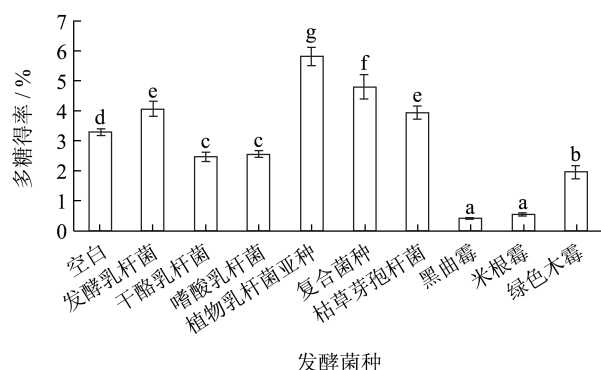


图 1 不同发酵菌种对山药多糖得率的影响

Fig.1 Effect of different fermentation strain on the yield of Chinese yam polysaccharides

注: 不同的小写字母表示具有显著差异 ($P < 0.05$)。下同。

9 种不同菌种对山药多糖得率的影响结果图 1 所示, 发酵乳杆菌、植物乳杆菌植物亚种、枯草芽孢杆菌和混合菌液 (植物乳杆菌植物亚种 + 枯草芽孢杆菌) 均能有效提高山药多糖的得率, 其中植物乳杆菌植物亚种发酵后多糖的得率最高 (5.81%), 与空白组 (仅热水提取) 相比其得率提高了 76.6%; 而嗜酸乳杆菌、黑曲霉、米根霉和绿色木霉均使得多糖的得率降低。相较于其他菌种, 植物乳酸杆菌植物亚种具有耐酸, 不形成芽孢的结构特点^[18], 有研究发现植物乳酸杆菌在发酵过程中会优先利用还原糖分泌酶和有机酸, 改变细胞壁的结构, 进而将多糖释放出到细胞外, 提高多糖的得率; 在 Wang 等^[11]的报道中也发现相似的结果。因此后续选用增强多糖得率效果最佳的植物乳杆菌植物亚种进行后续实验。

2.2 单因素试验

2.2.1 超高压单因素试验

超高压处理中料液比对山药多糖得率的影响如图

2a 所示, 随料液比的增加, 多糖的得率呈现上升趋势, 当料液比为 1:5 时山药多糖得率达到了最大值 (5.16 wt.%), 进一步增大料液比时山药多糖的得率并未发生明显的升高。这可能是料液比的增加可使山药更好的分散在溶液中, 为山药多糖的溶出创造了有利的条件环境。

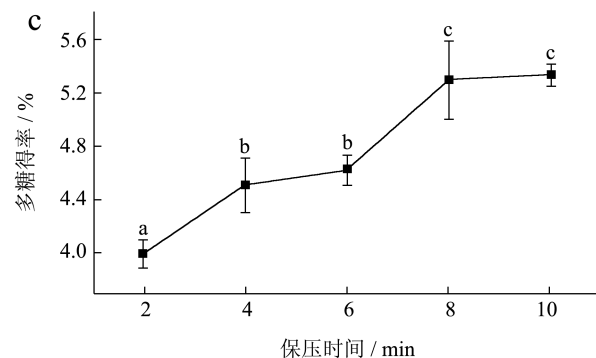
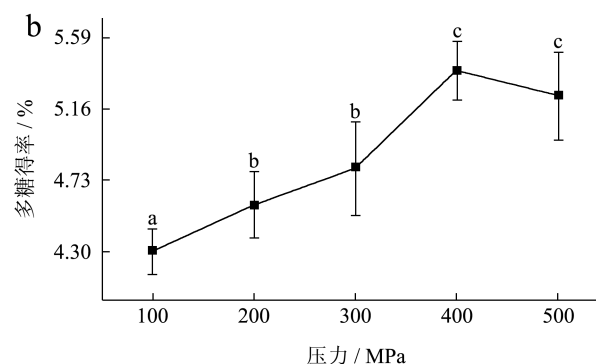
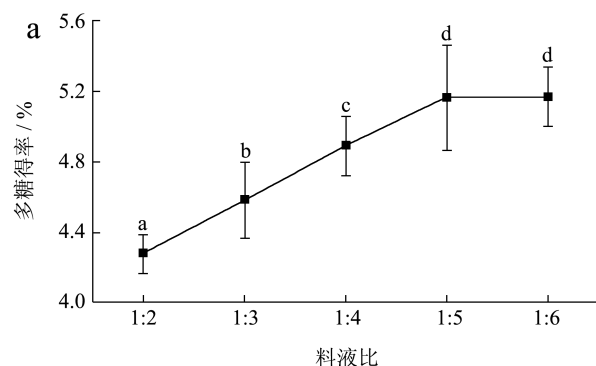


图 2 不同超高压条件对山药多糖得率的影响

Fig.2 Effect of different ultrahigh pressure treatments on the yield of Chinese yam polysaccharides

不同超高压压力对山药多糖得率的影响如图 2b 所示, 在 100~400 MPa 范围内, 山药多糖的得率随着压力的增加而逐渐增加, 最大达到 5.39%。但是当压力继续上升时, 多糖的得率并未继续上升, 反而出现了一定的下降。这与 Ouyang 等^[19]的报道结果相似。这可能是因为一定范围内随着压力增加, 可能会破坏细胞壁中纤维素和半纤维素之间的氢键, 破坏细胞壁

结构, 导致多糖的释放和扩散^[20]; 继续增大压力可能会导致多糖降解从而降低得率。

保压时间对山药多糖得率的影响如图 2c 所示, 在 2~8 min 范围内, 多糖的得率随着保压时间的增加而增加, 而后随着保压时间延长其得率保持稳定。山药多糖的得率在保压时间为 10 min 时, 达到最大值 5.33%。分析其原因可能是在超高压处理过程中压力传递到整个原料是一个均匀和及时的过程, 其可以在较短时间内完成^[21], 当溶质与溶剂在达到平衡后, 再延长保压时间并不能增加两者的相互作用, 因而对其得率无显著影响。

2.2.2 发酵单因素试验表

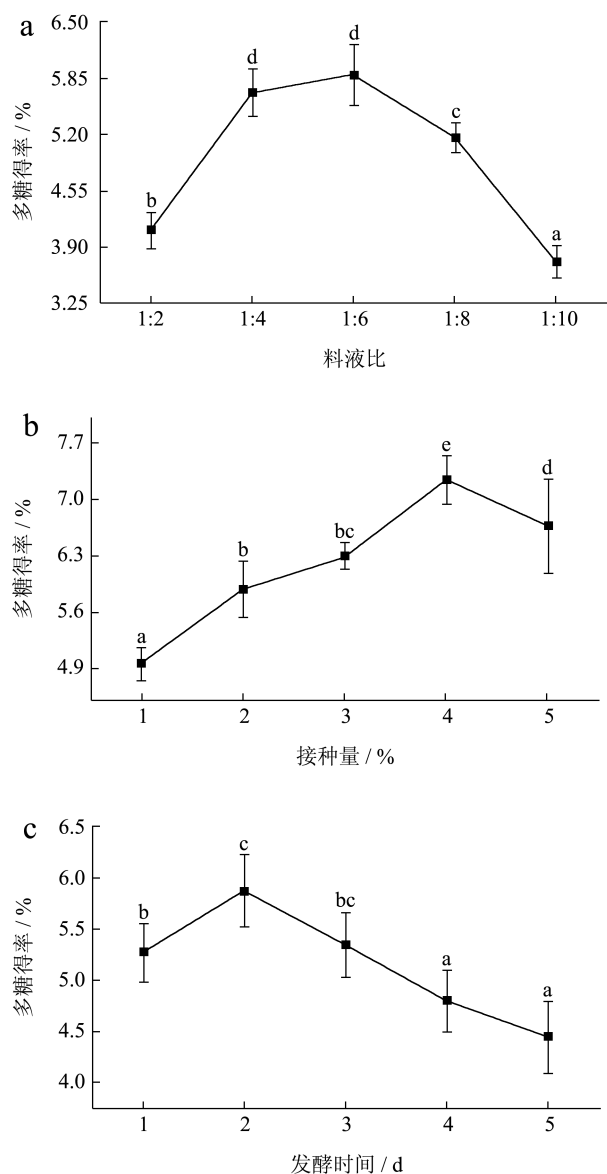


图 3 不同发酵条件对山药多糖得率的影响

Fig.3 Effect of different fermentation conditions on the yield of Chinese yam polysaccharides

发酵过程中料液比对多糖得率的影响如图 3a, 当接种量为 2%, 发酵时间为 2 d 时, 多糖的得率随着料液比的增加呈先增后减, 在料液比 1:6 时达到最大值。这可能是因为增加料液比在一定程度上可以增大山药与水的接触面积, 从而促进多糖更好的溶解; 但当水比例较低或过高时, 其均不利于微生物的生长^[22]。

如图 3b 所示在发酵过程中, 接种量对多糖得率的影响表现为接种量增加时得率先增加后减少的现象; 具体表现为当接种量达到 4% 时, 多糖得率达到最大值。可能是因为适当的接种量可以促进微生物快速生长并且提高多糖的提取, 而当接种量过高时会引起微生物之间对底物的竞争, 同时还会产生过多的代谢产物, 不利于菌种的增殖^[23]。

山药多糖的得率随着发酵时间的变化如图 3c 所示, 结果显示, 山药多糖得率随发酵时间的增加呈现出先上升后下降, 当发酵时间为 2 d 时, 得率达到最高为 5.87%。多糖的得率在发酵前期随发酵时间的增加呈现上升的趋势与细菌的活跃代谢, 它产生水解酶, 降解山药的细胞壁, 释放水溶性多糖有关, 而在后期得率下降主要归因于细菌的快速生长加速了多糖的消耗和转化; 这一实验现象与 Du 等^[24]报道利用复合菌发酵甘草叶的研究结果一致。

2.3 正交试验

本文以接种浓度、发酵时间、料液比、压力和保压时间 5 个因素的基础上选用 $L_{18}(3^7)$ 正交表采用合适的因素水平建立 5 因素 3 水平的正交实验, 正交实验设计及结果如表 2 所示。方差分析 (表 3) 的结果显示压力和保压时间对多糖得率有着极显著的影响 ($P < 0.01$), 接种浓度对多糖得率有显著影响 ($P < 0.05$), 而料液比对多糖得率的影响并不显著。各因素对多糖得率的影响主次顺序为压力 > 保压时间 > 接种浓度 > 发酵时间, 已做试验中最佳工艺为压力 500 MPa, 保压时间 6 min, 接种浓度 3%, 发酵时间 2 d, 得率为 9.17%。

2.4 最佳提取工艺的验证试验

在正交试验中已做的工艺可能并非最佳的山药多糖超高压联合发酵提取工艺根据, 因此根据正交试验表中的 K 值重新调整后的最佳工艺为接种量 5%, 发酵时间 2 d, 料液比 1:5, 压力 500 MPa, 保压时间 10 min。在该工艺条件下重新提取得到的山药多糖得率为 9.23% 高于已做试验的 9.17%, 因此后续选用接种浓度 5%, 发酵时间 2 d, 料液比 1:5, 压力 500 MPa, 保压时间 10 min 为最佳的工艺条件。

表 2 山药多糖提取正交试验设计及结果

Table 2 Orthogonal experimental design and results of polysaccharide extraction from yam

试验号	接种浓度/%	发酵时间/d	料液比	压力/MPa	保压时间/min	多糖得率/%
1	3	1	1:5	300	6	4.59
2	3	2	1:6	400	8	4.91
3	3	3	1:7	500	10	6.74
4	4	1	1:7	400	8	4.80
5	4	2	1:5	500	10	7.32
6	4	3	1:6	300	6	5.74
7	5	1	1:6	500	6	6.40
8	5	2	1:7	300	8	8.38
9	5	3	1:5	400	10	6.02
10	3	1	1:6	400	10	3.88
11	3	2	1:7	500	6	9.17
12	3	3	1:5	300	8	4.63
13	4	1	1:7	300	10	5.89
14	4	2	1:5	400	6	5.68
15	4	3	1:6	500	8	6.17
16	5	1	1:5	500	8	7.63
17	5	2	1:6	300	10	6.13
18	5	3	1:7	400	6	7.96
K ₁	33.92	33.18	39.54	35.36	35.88	
K ₂	35.60	41.59	36.51	33.25	33.21	
K ₃	42.52	37.26	35.99	43.44	42.95	
k ₁	11.31	11.06	13.18	11.79	11.96	
k ₂	11.87	13.86	12.17	11.08	11.07	
k ₃	14.17	12.42	12.00	14.48	14.32	
R	2.87	2.80	1.19	3.40	3.24	

表 3 方差分析表

Table 3 Analysis of variance

源	III 型平方和	自由度	均方	F 值	P 值
校正模型	32.117	10	3.212	7.764	0.006
截距	697.361	1	697.361	1 685.887	0.000
接种浓度	6.924	2	3.462	8.370	0.014
发酵时间	5.893	2	2.946	7.123	0.021
料液比	1.228	2	0.614	1.484	0.290
压力	9.642	2	4.821	11.654	0.006
保压时间	8.430	2	4.215	10.190	0.008
误差	2.896	7	0.414		
总计	732.374	18			
校正的总计	35.012	17			

注: 1. 该表为主体间效应的检验; 2. 方差分析因因变量为 8。

2.5 CYP-UZ的基本成分

山药多糖的基本成分含量见表 4。CYP-UZ 的总糖和还原糖含量分别为 80.18% 和 20.77%，其总糖含量明显高于 Shao 等^[25]报道的山药多糖中总糖的含量（38.92%）；CYP-UZ 中的糖醛酸含量为 11.08%，这明显高于 Liu 等^[26]报道山药多糖中的糖醛酸含量（3.95%），进一步验证 CYP-UZ 为酸性多糖；CYP-UZ 中的蛋白质含量为 2.69%，比 Bai 等^[27]发现山药多糖中的蛋白质含量（6.87%）低，与 Li 等^[28]报道的山药蛋白质含量（1.42%）相近；上述差异可能源于山药的产地、品种以及多糖提取的方法不同所导致。

表 4 山药多糖的基本成分（%）

Table 4 Basic compositions of Chinese yam polysaccharides

	总糖	还原糖	糖醛酸	蛋白质
含量	80.18 ± 2.06	20.77 ± 0.48	11.08 ± 0.49	2.69 ± 0.28

2.6 CYP-UZ的单糖组成

采用三氟乙酸完全水解山药多糖，经衍生化后通过 HPLC 法测定其单糖组成。结果如表 5 所示 CYP-UZ 主要由阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖半乳糖醛酸和葡萄糖醛酸这 6 种单糖组成，其中葡萄糖和甘露糖，两种单糖占比达到 70% 以上；这与 Li 等^[28]报道中直接提取的山药多糖的单糖组成种类一致，但各种单糖占比有所差异；表明不同的提取方法提取改变了多糖中单糖组成的占比，但未改变其中的单糖类型。

2.7 CYP-UZ的分子量分布

采用凝胶渗透色谱法对山药多糖的分子量分布进行分析，结果如图 4 所示，CYP-UZ 有 2 个峰，其中峰 1 的分子量为 80.9 kDa，占比在 10.58%，而峰 2 的分子量为 2.60 kDa，占比为 89.42%。Bai 等^[27]报道，直接提取得到的山药多糖具有三个峰，其分子量分别为 254、154 和 93 kDa，均高于 CYP-UZ，结果表明不同的提取方式对山药多糖的分子量具有一定的影响。

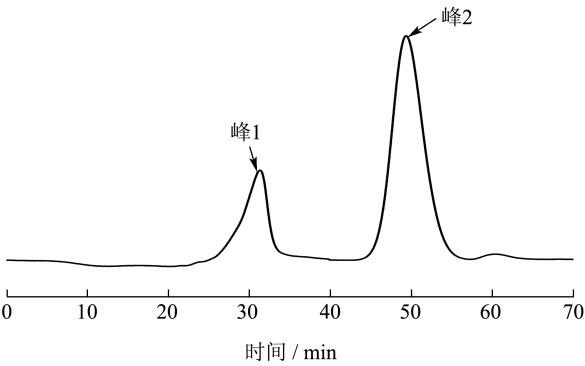


图 4 山药多糖的分子量分布

Fig.4 Molecular weight distribution of Chinese yam polysaccharides

表 5 山药多糖的单糖组成

Table 5 Monosaccharide composition of Chinese yam polysaccharides

单糖组成	阿拉伯糖	半乳糖	葡萄糖	甘露糖	半乳糖醛酸	葡萄糖醛酸
占比 /mol%	6.03 ± 0.89	7.92 ± 1.62	54.37 ± 2.29	17.98 ± 0.23	6.27 ± 0.28	7.43 ± 0.30

2.8 CYP-UZ的傅里叶红外变换光谱

采用傅里叶红外变化光谱对 CYP-UZ 的官能团信息进行表征；结果如图 5 所示。多糖在 3 419 cm⁻¹ 处大而宽的峰是羟基伸缩振动的特征吸收峰，2 933 cm⁻¹ 和 1 394 cm⁻¹ 处尖峰分别为 C-H 的伸缩振动和 C-H 的弯曲振动吸收峰，这三种特征吸收峰是多糖的标志性峰^[29]。在 1 155 cm⁻¹、1 080 cm⁻¹ 和 1 022 cm⁻¹ 处的吸收峰表明存在吡喃糖结构，931 cm⁻¹ 和 763 cm⁻¹ 的谱带也证实了吡喃糖的存在^[30]。在 835 cm⁻¹ 是 α-糖苷键的特征吸收峰^[31]，进一步验证 CYP-UZ 是含有吡喃糖和 α-糖苷键的酸性多糖。

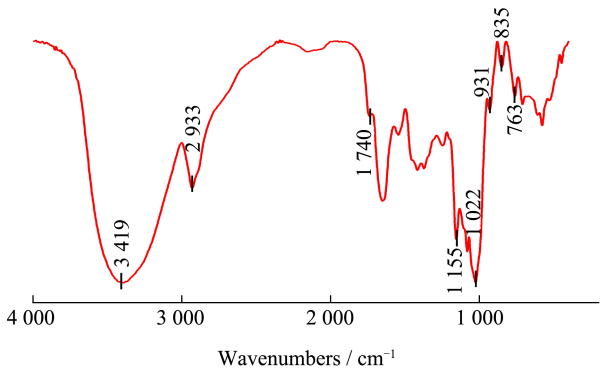


图 5 山药多糖的红外光谱图

Fig.5 Infrared spectra of Chinese yam polysaccharides

2.9 CYP-UZ的酶抑制活性

CYP-UZ 对 α-淀粉酶和胰脂肪酶的抑制作用如图 6 所示，山药多糖对 α-淀粉酶和胰脂肪酶均表现出抑制活性，且均呈现出浓度依赖性关系。阿卡波糖是一种 2 型糖尿病药物，可以通过抑制宿主 α-淀粉酶来防止膳食淀粉分解成葡萄糖^[32]；因此以阿卡波糖为阳性对照，分别检测阿卡波糖和不同质量浓度的 CYP-UZ 对 α-淀粉酶的抑制率。从图 6a 可以看出当 CYP-UZ 质量浓度为 20 mg·mL⁻¹ 时，CYP-UZ 对 α-淀粉酶的抑制率（67.00%）达到最大，但低于阳性对照阿卡波糖组（89.35%），计算得到 CYP-UZ 的 α-淀粉酶抑制活性 IC₅₀ 值为 7.47 mg·mL⁻¹，是该值相对于阿卡波糖的 8.6 倍；CYP-UZ 的 IC₅₀ 值与 Tan 等^[33]报道的苦瓜多糖的 α-淀粉酶 IC₅₀ 值（6.69 mg·mL⁻¹）相近。奥利司他被证实是一种有效的脂肪酶抑制剂，对治疗肥胖症有效^[34]，因此以奥利司他为阳性抑制剂对照，观察奥利司他和不同质量浓度 CYP-UZ 对胰脂肪酶的抑制率。

如图 6b 表明，当 CYP-UZ 质量浓度为 10 mg·mL⁻¹ 时，其对胰脂肪酶的抑制率为 57.57%，低于阳性对照奥利司他组（83.75%）；经计算 CYP-UZ 的胰脂肪酶抑制活性 IC₅₀ 值为 7.07 mg·mL⁻¹，为奥利司他组的 IC₅₀ 值的 4.76 倍。

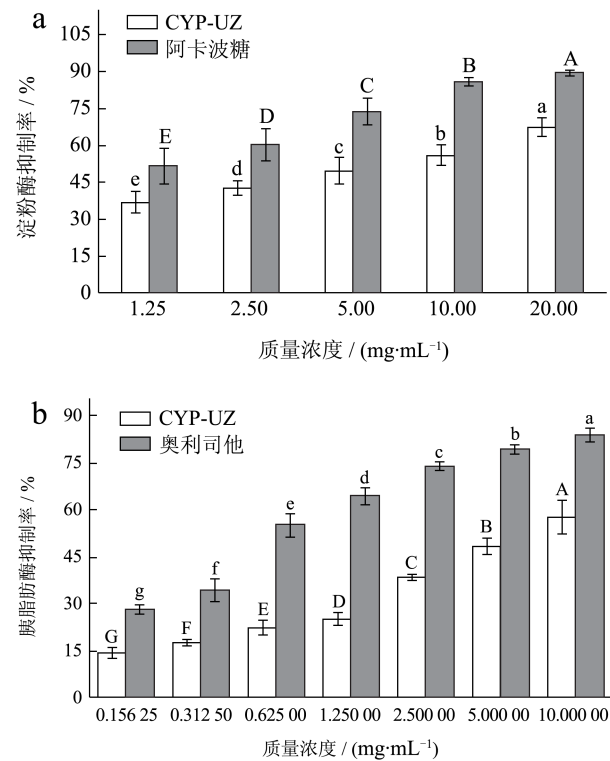


图 6 山药多糖的酶抑制活性

Fig.6 The enzyme inhibitory activity of Chinese yam polysaccharides

注：(a) α-淀粉酶；(b) 胰脂肪酶。

α-淀粉酶可以将淀粉分解成葡萄糖，进而导致餐后血糖的升高。通过抑制该酶的活性，可有效延缓肠道内葡萄糖分子的快速形成，对帮助 2 型糖尿病患者控制餐后血糖水平的急剧上升具有重要意义^[33]。CYP-UZ（20 mg·mL⁻¹）具有较高的 α-淀粉酶抑制活性，可能是因为多糖中一些官能团如羧基可以通过氢键与 α-淀粉酶中的氨基酸残基发生相互作用，从而影响 α-淀粉酶的空间构型，进而减少对淀粉的降解^[35]。胰脂肪酶主要通过分解脂肪变成脂肪酸和甘油，进而导致机体肥胖；通过抑制胰脂肪酶的活性能减慢对油脂的消化吸收，对控制肥胖具有重要的意义^[36]。CYP-UZ 对胰脂肪酶抑制活性呈现出浓度依赖关系的结果与谭婉等^[37]报道超声辅助双水相提取的黑果枸杞多糖胰脂肪酶抑制活性呈现浓度依赖关系的结果一致。其原因可

能是多糖可以与胰脂肪酶的不同位点结合发生作用,从而抑制其活性,且随着多糖质量浓度的增加,其结合胰脂肪酶位点更多,对酶抑制能力更强^[38,39]。以上结果表明,CYP-UZ具有较强的酶抑制活性,表明山药多糖具有作为天然 α -淀粉酶和胰脂肪酶抑制剂的潜力。

3 结论

该研究采用超高压协同乳酸菌发酵辅助提取山药多糖,首先通过筛选不同菌株确定了植物乳杆菌植物亚种为最适发酵菌种,进而在单因素试验的基础上建立了以接种浓度、发酵时间、料液比、超高压压力和保压时间为自变量,多糖得率为因变量的 $L_{18}(3^7)$ 型正交表设计试验,确定山药多糖的超高压协同乳酸菌发酵辅助提取工艺为接种量5%,发酵时间2 d,料液比1:5,压力500 MPa,保压时间10 min,在此条件下山药多糖的得率为9.23%。同时,体外酶抑制实验表明,山药多糖对 α -淀粉酶和胰脂肪酶均表现出抑制作用,且呈现浓度依赖效应,其 IC_{50} 值分别为 $7.48\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和 $7.07\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$,具有显著的酶抑制活性。该研究为山药多糖的开发利用提供了新的途径。

参考文献

- [1] 李想,何荧珠,李龙,等.山药多糖构效关系及产业应用[J].食品科技,2023,48(11):184-191.
- [2] 李正钰,张宇鑫,赵昕雪,等.山药多糖提取及其生物活性的研究进展[J].北方农业学报,2024,52(5):129-134.
- [3] HUANG R, SHEN M, YU Y, et al. Physicochemical characterization and immunomodulatory activity of sulfated Chinese yam polysaccharide [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 165(A): 635-644.
- [4] JU Y, XUE Y, HUANG J, et al. Antioxidant Chinese yam polysaccharides and its pro-proliferative effect on endometrial epithelial cells [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 66: 81-85.
- [5] 郭琪,郭保党,马燕,等.山药的活性成分与功能特性研究进展[J].食品工业科技,2025,46(1):431-439.
- [6] 郝倩,邓乾春,周彬,等.植物细胞壁多糖高效酶解技术及其在食品加工中应用研究进展[J].食品科学,2024,45(12):304-314.
- [7] ZHANG L, WANG S, ZHANG W, et al. Prospects of yam (*Dioscorea*) polysaccharides: Structural features, bioactivities and applications [J]. Food Chemistry, 2024, 446: 138897.
- [8] 戴康伟,邹晓琴,张名位,等.红枣多糖超高压耦合低共熔溶剂提取工艺优化及其抗氧化活性[J].现代食品科技,2024,40(8):243-251.
- [9] BAI C, CHEN R, CHEN Y, et al. Plant polysaccharides extracted by high pressure: A review on yields, physicochemical, structure properties, and bioactivities [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 263(2): 129939.
- [10] ZHENG M, MA M, YANG Y, et al. Structural characterization and antioxidant activity of polysaccharides extracted from *Porphyra haitanensis* by different methods [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 242(2): 125003.
- [11] WANG Q, HAO L, ZHANG A, et al. Extraction and characterization of polysaccharides from Schisandra sphenanthera fruit by *Lactobacillus plantarum* CICC 23121-assisted fermentation [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 259(1): 129135.
- [12] SONG S, LIU X, ZHAO B, et al. Effects of *Lactobacillus plantarum* fermentation on the chemical structure and antioxidant activity of polysaccharides from bulbs of Lanzhou Lily [J]. ACS Omega, 2021, 6(44): 29839-29851.
- [13] 肖诚熠,庞旭佳,张瑞芬,等.淮山多糖的分离纯化、结构特性及抗氧化活性[J].现代食品科技,2024,40(11):149-156.
- [14] 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.
- [15] 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.
- [16] LV Q, CAO J, LIU R, et al. Structural characterization, α -amylase and α -glucosidase inhibitory activities of polysaccharides from wheat bran [J]. Food Chemistry, 2021, 341(1): 128218.
- [17] EBTEHAG A.E S. Structural characterization and health benefits of a novel fructan produced by fermentation of an *Asparagus sprengeri* extract by *Lactobacillus plantarum* DMS 20174 [J]. Process Biochemistry, 2022, 118 (C): 370-380.
- [18] TIAAN H, SHELLY D, SALOME S, et al. Proteomic profiling of the acid stress response in *Lactobacillus plantarum* 423 [J]. Journal of Proteome Research, 2014, 13(9): 4028-4039.
- [19] OUYANG H, GUO B, HU Y, et al. Effect of ultra-high pressure treatment on structural and functional properties of dietary fiber from pomelo fruitlets [J]. Food Bioscience, 2023, 52: 102436.
- [20] ZHENG M, OUYANG H, LI Z, et al. Ultra-high pressure assisted extraction of polysaccharide from *Bangia fusco-purpurea*: Structure and *in vitro* hypolipidemic activity [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 280(4): 135687.
- [21] GUO X, HAN D, XI H, et al. Extraction of pectin from navel orange peel assisted by ultra-high pressure, microwave or traditional heating: A comparison [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 88(2): 441-448.
- [22] LIU X, HOU R, XU K, et al. Extraction, characterization and antioxidant activity analysis of the polysaccharide from the solid-state fermentation substrate of *Inonotus hispidus* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 123: 468-476.
- [23] GUO J, TANG C, LIU Y, et al. Innovative submerged directed fermentation: Producing high molecular weight polysaccharides from *Ganoderma lucidum* [J]. Food Chemistry, 2025, 471: 142759.
- [24] DU J, WANG Y, LI X, et al. Physicochemical properties, structure, growth-promoting and antioxidant activities of *Glycyrrhiza* leaf polysaccharides modified by fermentation [J]. Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 2025, 12(1): 1-15.
- [25] SHAO Y, ZHENG C, LIU K, et al. Extraction optimization, purification, and biological properties of polysaccharide from Chinese yam peel [J]. Journal of Food Biochemistry, 2022, 46(12): e14490.

- [26] LIU W, JIANG Y, SHI J. Effects of selenylation on Chinese yam polysaccharides: Structure, antioxidant, and digestive properties [J]. Food Chemistry: X, 2025, 27: 102435.
- [27] BAI Y, ZHOU Y, ZHANG R, et al. Gut microbial fermentation promotes the intestinal anti-inflammatory activity of Chinese yam polysaccharides [J]. Food Chemistry, 2023, 402: 134003.
- [28] LI P, JING Y, QIU X, et al. Structural characterization and immunomodulatory activity of a polysaccharide from *Dioscotea opposita* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 265: 130734.
- [29] LIU X, GU L, ZHANG G, et al. Structural characterization and antioxidant activity of polysaccharides extracted from Chinese yam by a cellulase-assisted method [J]. Process Biochemistry, 2022, 121: 178-187.
- [30] ZHI F, YANG T L, WANG Q, et al. Isolation, structure and activity of a novel water-soluble polysaccharide from *Dioscorea opposita* Thunb [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 133: 1201-1209.
- [31] CHAI Z, HUANG W, ZHAO X, et al. Preparation, characterization, antioxidant activity and protective effect against cellular oxidative stress of polysaccharide from *Cynanchum Auriculatum* Royle Ex Wight [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 119: 1068-1076.
- [32] HALEY A B, ADELINE L M, NICJOLAS A P, et al. Acarbose impairs gut *Bacteroides* growth by targeting intracellular glucosidases [J]. Mbio, 2024, 15(12): e0150624.
- [33] TAN H, GAN C. Polysaccharide with antioxidant, α -amylase inhibitory and ACE inhibitory activities from *Momordica charantia* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 85: 487-496.
- [34] YASSER B, M IHAB A-M, MOHAMMAD M, et al. Pancreatic lipase inhibition activity of trilactone terpenes of *Ginkgo biloba* [J]. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry, 2010, 26(4): 453-459.
- [35] DENG Y, HUANG L, ZHANG C, et al. Novel polysaccharide from *Chaenomeles speciosa* seeds: Structural characterization, α -amylase and α -glucosidase inhibitory activity evaluation [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 153: 755-766.
- [36] 沈彬,王松雪,张瑜,等.柚皮素对胰脂肪酶抑制作用的研究[J].食品研究与开发,2022,43(17):34-40.
- [37] 谭婉,卫阳飞,李枫林,等.黑果枸杞果实多糖的超声辅助双水相萃取工艺优化、单糖组成分析及胰脂肪酶抑制活性评价[J].食品工业科技,2024,45(22):158-168.
- [38] ANGEL A, YISSEL E, RUIZ E, et al. Pectic polysaccharides with different structural characteristics as inhibitors of pancreatic lipase [J]. Food Hydrocolloids, 2018, 83: 229-238.
- [39] 王雨,延平,杨炳友,等.天然产物多糖对脂肪酶的抑制活性研究进展[J].化学工程师,2022,36(11):62-65.