

山药多糖的高得率挤压提取及性能研究

朱燕丽¹, 郑海英¹, 杜冰¹, 黎攀¹, 姚继明², 范小平^{1*}

(1. 华南农业大学 食品学院, 广州 510642; 2. 广东旺大集团股份有限公司, 广州 510663)

摘要: **目的** 高效、快速地提高山药多糖提取率及获得性能较好的山药多糖。**方法** 以垆土铁棍山药为原料, 采用单因素试验、Box-Behnken 设计和响应面法研究了挤压温度、螺杆转动电机频率、水分含量及喂料电机频率对山药多糖 (CYP) 提取率的影响, 并对挤压提取后的山药多糖进行性能研究。**结果** 所构建的回归模型具有高度显著性, 最佳挤压辅助提取条件确定如下: 挤压温度为 130 °C, 螺杆转动电机频率为 26 Hz, 水分含量为 20%, 喂料电机频率为 16 Hz。在该条件下, 挤压后的山药多糖 (E-CYP) 的提取率大大提高, 达到了 44.97%, 较未挤压处理提高了 31.67%。通过扫描电镜发现, 经过挤压处理的山药多糖的表面呈现大量不规则的孔结构, 且整体结构相对松散。抗氧化性能测试表明, E-CYP 表现出优于 CYP 的抗氧化活性, 随着多糖浓度的增加, 羟基自由基及超氧阴离子自由基的清除能力呈逐渐升高的趋势。其中, 羟基自由基的去除能力最高, 为 58.20%, 表明经挤压处理的山药多糖具有较好的抗氧化活性。**结论** 获得了山药多糖高得率挤压提取的高效方法及抗氧化性强的山药多糖, 为山药多糖在活性包装及作为药食同源的高值化利用提供了理论依据。

关键词: 山药多糖; 挤压膨化; 提取; 高得率; 性能

中图分类号: TQ281 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-3563(2023)21-0176-11

DOI: 10.19554/j.cnki.1001-3563.2023.21.022

High Yield Extrusion Extraction and Properties of Chinese Yam Polysaccharide

ZHU Yan-li¹, ZHENG Hai-ying¹, DU Bing¹, LI Pan¹, YAO Ji-ming², FAN Xiao-ping^{1*}

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

2. Guangdong Wangda Group Co., Ltd., Guangzhou 510663, China)

ABSTRACT: The work aims to improve the extraction rate of Chinese yam polysaccharide efficiently and quickly and obtain Chinese yam polysaccharide with better performance. With iron stick yam planted in Lutu (black, hard, coarse but non-sticky soil) as the raw material, the effects of extrusion temperature, frequency of screw rotating motor, moisture content and feeding motor frequency on the extraction rate of Chinese yam polysaccharide (CYP) were studied by single factor experiment, Box-Behnken design and response surface methodology, and the properties of Chinese yam polysaccharide after extrusion were studied. The regression model was highly significant, and the optimum extraction conditions were determined as follows: extrusion temperature was 130°C, frequency of screw rotating motor was 26 Hz, moisture content was 20%, and feeding motor frequency was 16 Hz. Under these conditions, the extraction rate of extruded Chinese yam polysaccharide (E-CYP) was greatly increased, reaching 44.97%, which was 31.67% higher than that of non-extruded Chinese yam polysaccharide. It was found by scanning electron microscope that the surface of Chinese yam polysaccharide after extrusion showed a large number of irregular pore structures, and the overall structure was relatively loose. The antioxidant performance test showed that E-CYP showed better antioxidant activity than CYP. With the increase of polysaccharide concentration, the

收稿日期: 2023-03-22

基金项目: 广州市农村科技特派员项目 (20212100061); 国家现代农业产业技术体系 (CARS-21)

*通信作者

scavenging ability of hydroxyl radical and superoxide anion radical increased gradually, among which the scavenging ability of hydroxyl radical was the highest, accounting for 58.20%, indicating that the extruded Chinese yam polysaccharide had better antioxidant activity. The high-efficiency extrusion extraction method of Chinese yam polysaccharide with high yield and strong oxidation resistance are obtained, which provides a theoretical basis for the high-value utilization of Chinese yam polysaccharide in active packaging and as a homology of medicine and food.

KEY WORDS: Chinese yam polysaccharide; extrusion expansion; extraction; high yield; performance

山药又称薯蓣、淮山, 是一种已经被种植于东亚数千年的薯蓣块茎, 年产量仅次于甘薯、马铃薯。山药富含淀粉、黏性蛋白, 还含有多糖、黄酮类、皂苷类和尿囊素等成分, 被国际上列为十大块根类食用植物之一, 其营养成分和生物活性被广泛研究^[1]。山药多糖 (Chinese Yam Polysaccharides, CYP) 作为山药主要的活性成分之一, 因无毒、高效和多功能性而备受关注^[2]。山药多糖已被证实是能增强机体抗氧化、抗衰老、抗肿瘤、降血糖、抗炎和提高免疫能力的植物活性成分^[3], 其活性的发挥与多糖的分子大小、形式和在水中的溶解度等相关^[4]。山药多糖常存在于细胞内, 受限与外围厚壁, 且其连接方式和结构具有复杂性。山药块茎中含有较难分解的木质素, 其包裹着纤维素和半纤维素, 虽然半纤维素聚合度较低、易分解, 但纤维素降解却受晶体结构的阻碍和温度限制, 因此多糖的提取应形成合适的反应环境, 以打破纤维素、半纤维素和木质素之间的紧密结合, 增大空隙和接触率, 提高水解程度^[5]。往往需要借助外界力量更好地将其提取, 目前常用的方式有: 传统的利用“相似相溶”原理的热水浸提法^[6]、酶解提取法^[7]、物理提取法 (包括超声波^[8]、微波^[9]、高压^[10]) 等能增加可溶性多糖的渗透率。常规的破碎方式虽然能促进多糖的溶出, 但效率低、能耗高, 效果不及挤压膨化方式。

挤压膨化处理能提供高温、高压、高剪切力和摩擦力环境, 并利用压力差使物料在出料口处膨胀, 形成多孔结构, 为多糖溶出提供巨大的空间与通道^[11]。同时, 挤压膨化能高效、快速地打破物料原有的紧密结构, 解决当前制约多糖提取率低的难题。基于此, 本文以垆土铁棍山药为原料, 采用单因素结合响应面法优化挤压膨化辅助热水浸提法的最佳提取工艺在此基础上对挤压前 (CYP) 后 (E-CYP) 山药多糖的微观结构及性能 (体外抗氧化活性等) 进行研究, 旨在更好地综合开发山药类食品或药品, 促进其剩余产量的消化及高值化利用。

1 实验

1.1 材料与仪器

主要材料: 垆土铁棍山药 (采收于 2022 年 3 月), 温县聚怀斋食品有限公司; 无水乙醇, 分析纯, 天津市富宇精细化工有限公司; 硫酸、苯酚、盐酸、磷酸,

分析纯, 广州化学试剂厂。

主要仪器: UV-4802S 紫外可见分光光度计, 尤尼柯 (上海) 仪器有限公司; SYSLG30-IV 双螺杆挤压膨化机, 山东赛百诺机械有限公司; Vertex 70 傅里叶红外光谱仪, 德国 BRUKER 公司; TG209F1LibraTM 热重分析仪, 德国耐驰仪器制造有限公司; Zetasizer NanoZS90 系列纳米粒度 (DLS) 及 ZETA 电位分析仪, 英国马尔文仪器有限公司; Verios 460 扫描电子显微镜, 美国 Thormos Fisher 公司。

1.2 方法

1.2.1 挤压原粉预处理

新鲜山药去皮去根后清洗干净, 切为 5 mm 左右的薄片, 平铺于铝盘中于 60 °C 鼓风干燥箱中烘烤 24 h, 将烘干的山药于多功能粉碎机中粉碎后过 40 目筛, 装入密封袋贮藏于真空干燥器中备用, 即为山药原粉。

1.2.2 单因素试验

以上述得到的 40 目山药原粉为材料, 分别以水分含量 (15%、20%、25%、30%、35%), 挤压温度 (100、110、120、130、140 °C), 螺杆转动电机频率 (20、23、26、29、32 Hz), 喂料电机频率 (10、13、16、19、22 Hz) 为挤压考察因素, 探究各因素对山药多糖提取率的影响。

1.2.3 山药多糖的提取及测定

采用苯酚硫酸法^[12]进行山药多糖含量测定。选取不同系列浓度的葡萄糖标准品溶液, 在波长为 490 nm 处测定吸光度值, 并拟合得到 $y=13.404x+0.03314$ 的标准曲线方程, 相关系数 $R^2=0.9992$ 。将挤压前后山药样品进行粉碎后过 80 目筛。准确称取 1.00 g 样品, 加入 30 mL 的蒸馏水, 在 80 °C 恒温水浴振荡器 (转速为 170 r/min) 中浸提 1.5 h, 于 6 000 r/min 的高速离心机离心 10 min, 收集上清液, 重复以上操作 3 次。收集上述上清液于 100 mL 容量瓶中, 定容。取 5 mL 提取液于离心管中, 按体积比为 1:4 加入无水乙醇混匀, 后于 4 °C 冰箱静置醇沉 24 h, 离心 (5 000 r/min、8 min), 弃去上清液, 得到白色沉淀, 用无水乙醇洗涤 3 次, 将多糖复溶、稀释、定容, 按下式计算多糖提取率, 试验均平行 3 次。经实验 3 次得到 CYP 的多糖提取率为 13.30 %。

$$R_t = \frac{C \times V \times N \times 10^{-3}}{m} \times 100\% \quad (1)$$

式中: R_t 为多糖提取率, %; C 为样品质量浓度, mg/mL; V 为定容体积, mL; N 为稀释倍数; m 为样品的质量, g。

1.2.4 山药多糖的制备

称取挤压前后山药粉 10.0 g, 加入无水乙醇 200 mL, 在 35 °C 下水浴回流 6 h 脱脂, 再在 40 °C 下真空干燥。按 1.2.3 节方法浸提, 离心、复溶、浓缩、冻干后得到白色山药多糖。

1.2.5 响应面优化实验设计

在单因素实验基础上, 以自变量为挤压温度 (A)、螺杆转动电机频率 (B)、水分含量 (C), 响应目标为挤压山药多糖提取率, 设计三因素三水平 (Design-Expert 11 软件中 Box-Behnken 实验设计) 进行响应面优化 (表 1), 从而得到最佳挤压山药多糖提取参数。

表 1 挤压山药多糖的 Box-Behnken 实验设计
Tab.1 Box-Behnken experimental design of extruded Chinese yam polysaccharide

水平	因素		
	挤压温度 $A/^{\circ}\text{C}$	螺杆转动电机频率 B/Hz	水分含量 $C/\%$
-1	110	23	20
0	120	26	25
1	130	29	30

1.2.6 验证实验

根据响应面实验得出的因素水平最佳组合, 进行挤压山药多糖的提取实验, 每组实验平行 3 次, 计算多糖提取率。

1.3 山药多糖的性能研究

1.3.1 粒径分析

将挤压前后山药多糖冻干样配制为 1 mg/mL 的样品溶液, 将其放入样品池中, 多糖折射率设为 1.638, 散射角为 90°, 于 25 °C 下使用纳米粒度及 ZETA 电位分析仪测定粒径及 PDI 变化。

1.3.2 紫外光谱分析

将挤压前后山药多糖冻干样配制成 1 mg/mL 的待测溶液, 置于紫外可见分光光度计 (波长范围为 200~400 nm) 中扫描, 并分别观察在 260 nm 和 280 nm 处是否存在紫外吸收峰。

1.3.3 傅里叶红外光谱分析

取 1 mg 挤压前后山药多糖冻干样和 100 mg KBr 粉末于已消毒的玛瑙研钵中充分混匀、研磨至无光泽并且

粒径减小至微米级, 在 -10 MPa 的压片机中制作成薄片, 并置于傅里叶红外光谱仪中扫描采集 4 000~400 cm^{-1} 波数范围内的红外光谱图, 探究其官能团特征。

1.3.4 热重分析

采用 TG209F1LibraTM 热重分析仪考察挤压前后山药多糖的热稳定性而分别对其进行 TG 和 DTG 测定。分析条件: 在 N_2 环境中 (20 mL/min) 从 20 °C 加热至 600 °C (10 °C/min)。

1.3.5 扫描电镜分析

取少量 CYP 和 E-CYP 均匀地黏于带有导电胶的样品台上, 并进行喷金处理, 利用扫描电子显微镜观察 15 000 倍下的表现形貌。

1.3.6 $\text{OH}^{\cdot}$ 清除率的测定

分别将不同质量浓度的样品溶液 (1 mL) 加入试管中, 依次加入 FeSO_4 溶液 (9 mmol/L) 及 H_2O_2 (8.8 mmol/L) 溶液各 1 mL, 充分振荡反应后静置 10 min, 与乙醇-水杨酸溶液 (9 mmol/L, 1 mL) 混合, 在 37 °C 下水浴 30 min (恒温反应), 取出冷却后于 510 nm 处测其吸光度 (A_s); 用等体积去离子水代替乙醇-水杨酸溶液 (A_{s0}); 用等体积去离子水代替样品溶液 (A_0)。同时以 Vc 为阳性对照, 按式 (2) 计算 $\text{OH}^{\cdot}$ 清除率^[13]。

$$W_{\text{OH}^{\cdot}} = \left(1 - \frac{A_s - A_{s0}}{A_0}\right) \times 100\% \quad (2)$$

1.3.7 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 清除率的测定

$\text{O}_2^{\cdot-}$ 的测定参照 Zhou 等^[14]的方法并稍作修改。取不同质量浓度的样品溶液 (1 mL)、Tris-HCl 缓冲液 (50 mmol/L、3 mL、pH=8.2) 及邻苯三酚溶液 (30 mmol/L、12 μL) 于 10 mL 塞管中, 置于 25 °C 下恒温反应 4 min, 后加入 HCl 溶液 (8 mol/L、0.5 mL), 于 320 nm 处测定吸光度值 (A_s); 用等体积去离子水代替邻苯三酚溶液 (A_{s0}); 用等体积去离子水代替样品溶液 (A_0)。以 Vc 为阳性对照, 蒸馏水为空白, 按式 (3) 计算超氧阴离子自由基的清除率。

$$W_{\text{O}_2^{\cdot-}} = \left(1 - \frac{A_s - A_{s0}}{A_0}\right) \times 100\% \quad (3)$$

1.4 数据统计与分析

使用 Design Expert 11 软件进行 Box-Behnken 试验设计及响应面数据优化分析并建立二次回归模型, 采用 Microsoft Excel 软件计算实验数据均值和标准偏差分析, 在 Origin 2023 软件中进行绘图处理。试验均重复测定 3 次, 取平均值。

2 结果与分析

2.1 单因素试验结果

挤压山药多糖提取率随着各挤压参数水平的增

加呈现先升高后降低的趋势。机筒内温度能直接影响物料挤压膨化的作用效果, 适当的温度可促进水分子与物料的相互作用, 促进细胞破碎和多糖的溶出^[15]。图 1a、b 可知, 当水分或挤压温度较低时, 山药粉润湿度较低, 机腔中产生的蒸气量过少, 导致机筒内腔压力太小, 不能有效破坏山药粉的致密结构; 而若含水量过高时, 会使得挤压过程中物料流动性加快, 应考虑物料未能在机腔内获得所需的剪切力、压力及摩擦力而不能充分改性处理即被挤出, 达不到挤压膨化的预期效果。此外, 温度过高时, 水分蒸发剧烈, 导致挤出物呈现焦糊状态, 多糖与其他成分发生反应, 且可能发生降解, 使得多糖提取率降低。由图 1c 可知, 在转速为 26 Hz 时提取率达到最大值, 为 46.68%, 此时山药粉在机筒中受到合适的剪切力和摩擦力, 细胞壁受破坏程度大, 促进了多糖的溶出。随着设备快速运送物料下, 且处于低压环境下, 导致山药粉在机腔内没有充分进行反应, 还未充分打开物料的致密结构而阻隔了多糖的输出, 降低了改

性效果^[16]。在适当的喂料电机频率的条件下, 喂料量饱和, 物料受到的剪切作用增强, 有利于细胞壁的破裂、多糖的溶出和糖苷键断裂, 使多糖含量增加^[17]。如图 1d 所示, 在喂料电机频率大于 16 Hz 时, 多糖含量呈现出下降的趋势, 喂料量过大, 容易堵住机筒内部, 使设备无法运转。在喂料电机频率实验设定范围内, 当喂料电机频率为 16 Hz 时, 多糖含量达到最高, 为 46.49%。

2.2 响应面试验结果与分析

2.2.1 响应面试验结果

利用 DesignExpert 11 软件对响应值提取率(表 2)进行多元回归拟合分析, 可得到二次项回归方程: $Y=45.84+1.26A+1.21B-0.4063C-0.0675AB-0.2700AC+0.4525BC-1.79A^2-4.64B^2-0.9555C^2$, 其中, 决定系数 $R^2=0.9773$, 表明该模型具有良好的拟合度, $R^2_{Adj}=0.9482$, R^2_{Adj} 与 R^2_{Pre} 的差值 <0.2 , 表明没有显著差异, 无须进一步优化响应面方程。

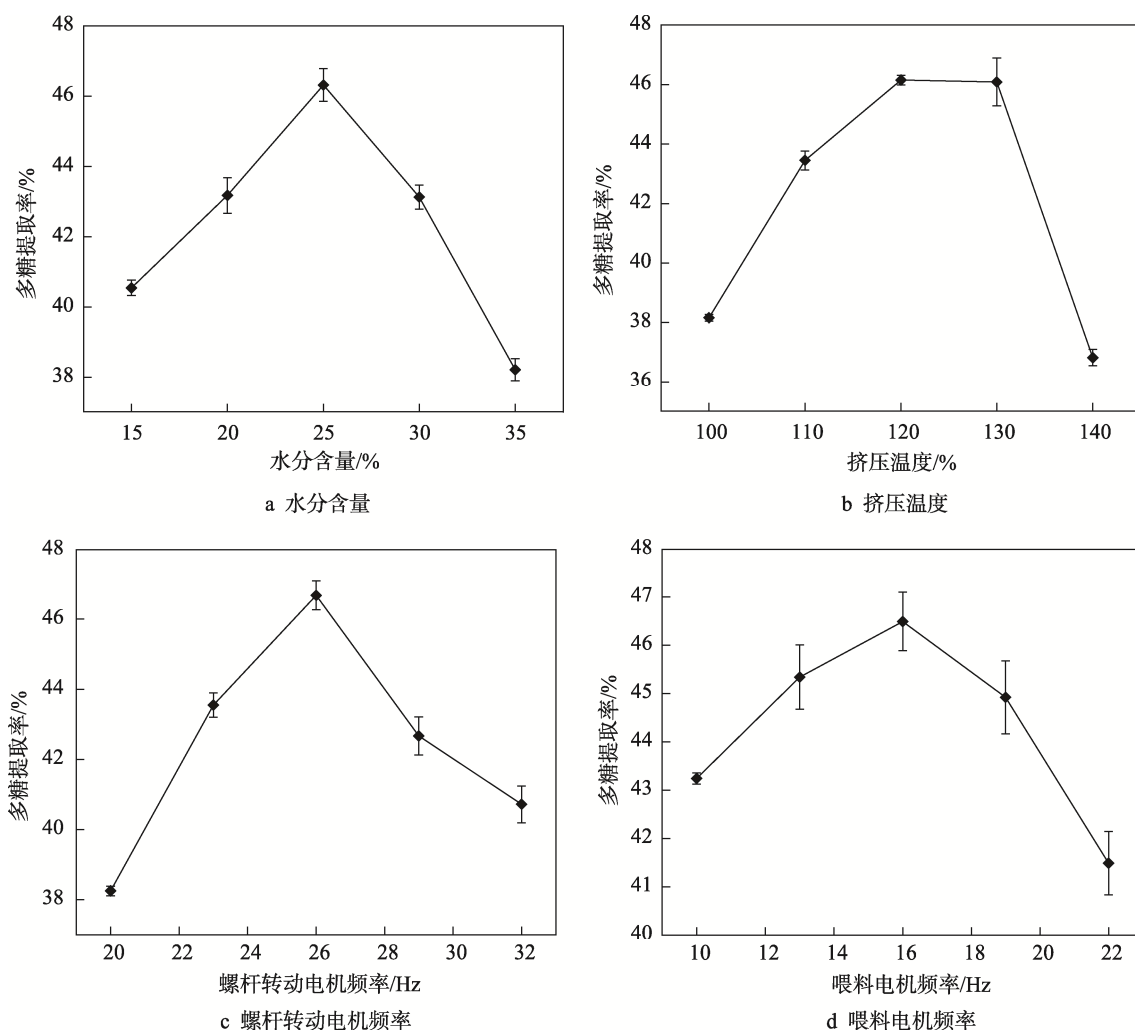


图 1 挤压参数对挤压山药多糖提取率的影响

Fig.1 Effect of extrusion parameters on extraction rate of extruded Chinese yam polysaccharide

表 2 对 E-CYP 的响应面试验设计与结果
Tab.2 Design and results of response surface methodology for E-CYP

实验号	A/°C	B/Hz	C/%	提取率/%
1	110	23	25	36.71
2	130	23	25	39.39
3	110	29	25	39.57
4	130	29	25	41.98
5	110	26	20	41.70
6	130	26	20	44.72
7	110	26	30	42.01
8	130	26	30	43.95
9	120	23	20	40.34
10	120	29	20	41.54
11	120	23	30	38.04
12	120	29	30	41.05
13	120	26	25	46.85
14	120	26	25	44.78
15	120	26	25	46.05
16	120	26	25	45.42
17	120	26	25	46.08

2.2.2 响应值回归方程分析

由表 3 可知, 回归模型的 $P < 0.000\ 1$, 回归模型极显著, 说明该模型的可信度水平大于 99.90%, 失拟项的 P 值为 0.713 3 > 0.05, 呈现不显著水平, 表明所得的回归方程模拟与实际拟合中非正常误差所占比例较小。同时也真实反映了挤压过程中的各因素与提取率之间的关系。 A 、 B 、 A^2 、 B^2 的 P 值均小于 0.01, 呈极显著水平, C^2 的 P 值=0.024 4 < 0.05, 为显著水平, 而 C 、 AB 、 AC 、 BC 均为不显著 ($P > 0.05$), 表中 F 值 (回归系数检验值) 的大小可反映出 3 个因素在实验范围内对挤压山药多糖提取率的影响依次为 A (挤压温度) > B (螺杆转动电机频率) > C (水分含量)。

2.2.3 挤压山药多糖提取率残差分析

通过构建残差的正态概率图来检查正态性假设, 以及残差和预测响应之间的分析。一般来说, 当残差图沿直线近似时, 正态性假设得到满足。图 2 可发现残差随机散布在显示器上, 这意味着这些数字的原始观测值的方差对所有响应值 (挤压山药多糖提取率) 都是恒定的。

2.2.4 因素间相互作用的结果

为了研究变量之间的相互作用, 并确定每个变量的最大响应最佳水平, 生成了 3D 响应面和 2D 等高线图 (图 3)。响应面中各因素的影响是交错的, 其影响程度可以通过等高线图中等高线的强度和响应面的陡峭角度清楚地反映出来^[18]。

表 3 方差分析
Tab.3 Variance analysis

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	142.00	9	15.78	33.52	< 0.000 1	**
A 挤压温度	12.63	1	12.63	26.82	0.001 3	**
B 螺杆转动电机频率	11.66	1	11.66	24.78	0.001 6	**
C 水分含量	1.32	1	1.32	2.81	0.137 9	
AB	0.018 2	1	0.018 2	0.038 7	0.849 6	
AC	0.291 6	1	0.291 6	0.619 6	0.457 0	
BC	0.819 0	1	0.819 0	1.74	0.228 6	
A^2	13.42	1	13.42	28.52	0.001 1	**
B^2	90.57	1	90.57	192.44	< 0.000 1	**
C^2	3.84	1	3.84	8.17	0.024 4	*
残差	3.29	7	0.470 7			
失拟	0.872 9	3	0.291 0	0.480 6	0.713 3	
纯误差	2.42	4	0.605 4			
综合	145.29	16				

注: **表示差异极显著, $P < 0.01$; *表示差异显著, $P < 0.05$

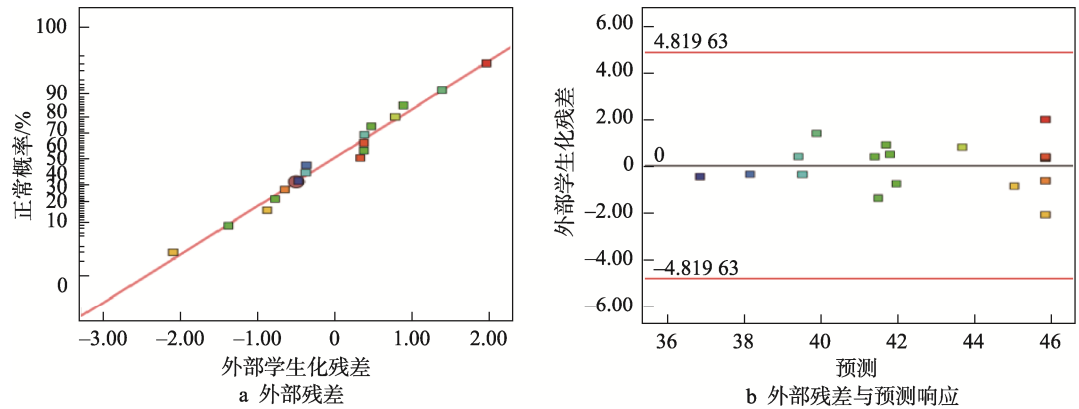


图 2 正态概率
Fig.2 Diagram of normal probability

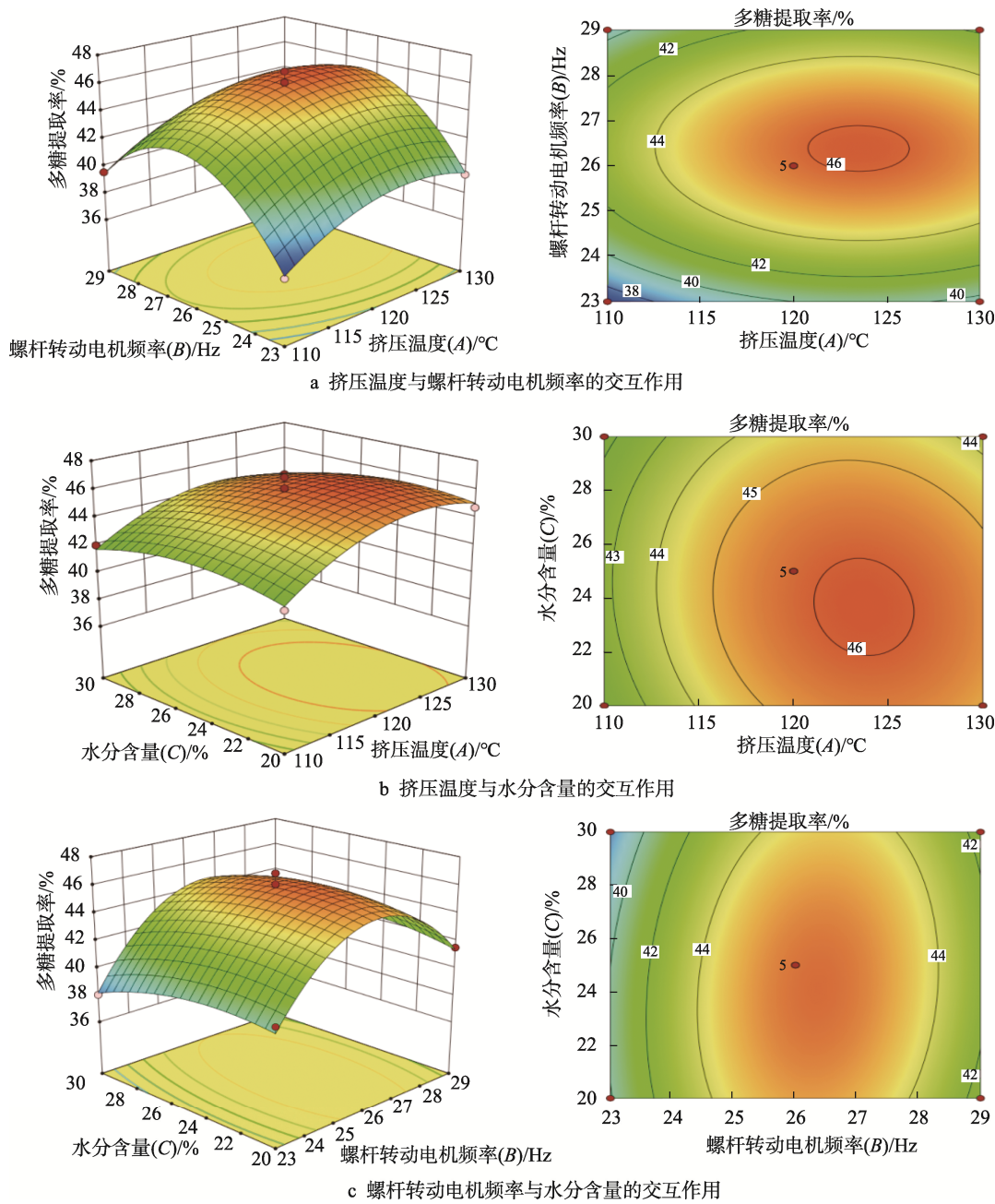


图 3 3 个响应因素的交互作用对 E-CYP 提取率的影响
Fig.3 Effect of interaction of three response factors on extraction rate of E-CYP

图 3a、图 3b 中, 挤压温度和螺杆转动电机频率对交互作用曲面坡面较为陡峭, 等高线密集呈现椭圆状, 说明交互作用影响显著且在螺杆转动电机频率的曲面比挤压温度的曲面陡峭度更大, 反映出螺杆转动电机频率对山药多糖的提取影响比挤压温度更明显。图 3b 中, 在试验范围内, 山药多糖提取率均随着挤压温度和水分含量的升高而先增大后下降, 2 条曲线均有一定的抛物变化, 说明挤压温度和水分含量均对响应值有一定的显著性; 其中, 挤压温度曲线较水分含量来说比较陡峭, 相对来说挤压温度对响应值较显著。图 3c 中, 3D 建模中模型有一定弧度, 呈拱形形状, B 曲线较陡, 图像弧度较明显, C 曲线较平缓, 说明螺杆转动电机频率对山药多糖的提取影响效果较显著。两曲线均呈现抛物变化, 可知当 B (螺杆转动电机频率) 和 C (水分含量) 因素为较低水平时, E-CYP 提取率的增大幅度较大; 后当这 2 个因素均持续增加后, E-CYP 提取率则处于逐渐降低趋势。

2.3 确定最佳提取工艺参数与验证试验

针对表 2 所得的试验结果, 利用 Design-Expert 11 软件进行优化后得到模型预测理论值为 45.06%, 该模型得到最佳的工艺参数为挤压温度 129.9 °C、螺杆转动电机频率 26.3 Hz、水分含量 20.0%。为了方便操作, 将参数设置为挤压温度 130 °C、螺杆转动电机频率 26 Hz、水分含量 20%、喂料电机频率 16 Hz, 并以该条件进行 3 次重复试验, 测得实际值为 44.97%, 与理论预测值吻合度较好。说明该模型优化得到的挤压膨化工艺参数具有可靠性和准确性。

2.4 山药多糖性能分析

2.4.1 粒径分析

CYP 的平均粒径达 (463.8±15) nm, 平均 PDI 值为 (0.38±0.03), 分布较宽, 表明其在水中形成了不均匀的聚集; 而 E-CYP 平均粒径为 (781.6±20) nm, 平均 PDI 值为 (0.116±0.015), 多糖粒度的有效直径增大, 分子质量分布较均匀, 表明经挤压处理后山药多糖的结构确实发生了变化。

2.4.2 紫外光谱分析

紫外光谱在一定程度上可以反映有机物的分子结构。若多糖中含有核酸或蛋白质时, 谱线会在 260 nm 或者 280 nm 处出现吸收峰^[19]。如图 4 所示, CYP 和 E-CYP 的谱线在 260 nm 或者 280 nm 均无明显的吸收峰, 说明使用热水浸提方法和挤压辅助法进行提取能获得极少或无核酸、蛋白质等杂质的山药多糖, 效果较好, 可予参考。

2.4.3 傅里叶红外光谱分析

红外光谱中谱峰的位置和形状可以提供多糖的某些结构特征信息^[20]。如图 5 所示, CYP 和 E-CYP

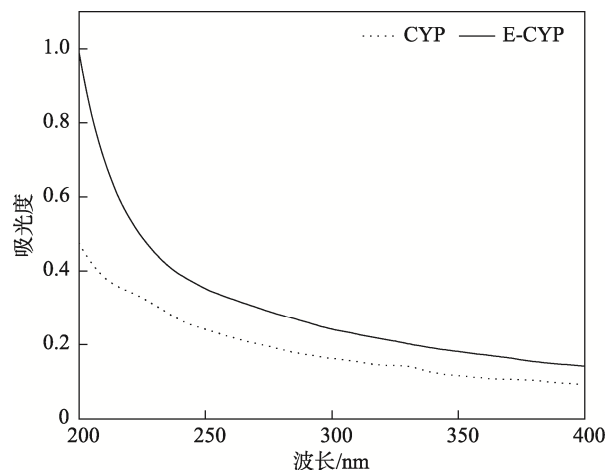


图 4 挤压前后山药多糖的紫外吸收曲线
Fig.4 Ultraviolet absorption curve of Chinese yam polysaccharide before and after extrusion

的光谱吸收带基本一致, 在 3 370 cm^{-1} 区域具有较强且较宽的谱带, 是多糖分子内或分子间羟基 (O—H) 的伸缩振动强吸收^[21], 2 930 cm^{-1} 和 1 415 cm^{-1} 区域附近的吸收峰是甲基 (—CH₃) 和次甲基 (—CH₂) 中的 C—H 的伸缩振动结果^[22], 这说明了挤压前后的山药多糖具有多糖的典型特征吸收峰^[23-24]。CYP 和 E-CYP 分别在 1 651 cm^{-1} 和 1 643 cm^{-1} 区域有吸收信号, 可能是存在 —COOH 中的 C=O 的不对称伸缩振动, 证明了两者的均含有糖醛酸^[25], 同时 E-CYP 强度相对有所降低, 可能是挤压处理促进了多糖中纤维成分的降解。C—O 常常在 1 200~950 cm^{-1} 区域有伸缩振动而产生吸收信号, 这包括吡喃糖环上的 C—O—H 和糖苷键 C—O—C^[26]; CYP 和 E-CYP 均在 853 cm^{-1} 和 763 cm^{-1} 处有吸收强度, 说明山药多糖中存在 α -糖苷键, 这一结果也与薛丽洁^[27]结果一致。

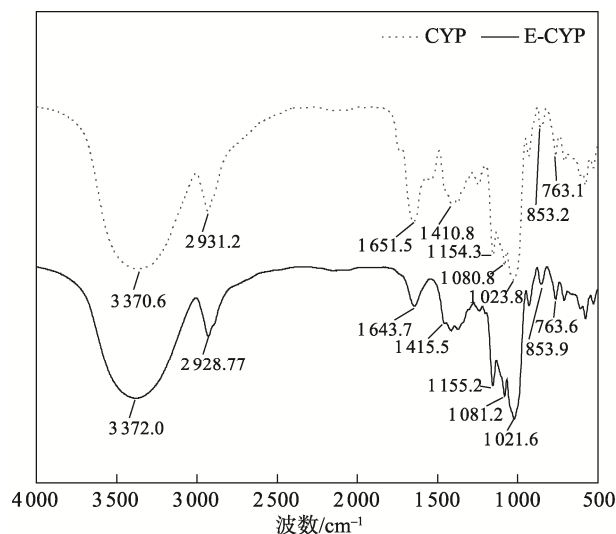


图 5 挤压前后山药多糖的红外光谱
Fig.5 Infrared spectrum of Chinese yam polysaccharide before and after extrusion

2.4.4 热重分析

图 6 中, 挤压前后的山药多糖均有相似的分解过程。其中, 当温度为 35~110 °C 时, CYP 质量损失了 9.72%, E-CYP 损失了 5.98%; 当温度为 170~400 °C 时, 挤压前后的山药多糖质量损失大约为 67%, 均有较明显的降解峰, 反映出在这个阶段中多糖发生明显的质量损失, 可能是多糖发生降解或者结构退化的原因^[28]。当质量损失率为 50% 时, CYP 和 E-CYP 对应的分解温度为 305.41 °C 和 309.82 °C, 说明挤压处理提高了山药多糖的热稳定性, 这可能与山药多糖的单糖组成有关, 也可能是挤压处理影响了多糖的空间结构, 导致其稳定性的变化^[29]; 同时, CYP 和 E-CYP 对应的最大降解速率分别发生在 292.5 °C 和 298.7 °C。质量损失的现象在温度为 350 °C 时开始有所减缓, 降解速率放缓, CYP 和 E-CYP 最后的残留

质量分别为 25.20% 和 26.20%, 说明挤压预处理的山药多糖残留量大于未处理山药。

2.4.5 扫描电镜分析

图 7 所示, 未挤压处理的山药多糖表面光滑, 组织结构紧密连接在一起。经过挤压处理的山药多糖的表面显示出了大量不规则的孔结构, 并且整体结构相对松散。显然, 挤压膨化预处理改变了山药多糖的整体结构, 打开了山药多糖的致密结构, 一定程度上增加了 CYP 的孔状结构, 使得比表面积在原基础上增大, 给予了溶出试剂更广阔的溶出通道及接触率, 提高了山药多糖的溶出率。因此, 利用挤压膨化处理方式能够在一定程度上降解山药粉, 促进提取试剂与山药粉之间的接触与反应, 以及纤维素和半纤维素的相互转化作用, 从而提高了山药多糖在提取过程中的提取率。

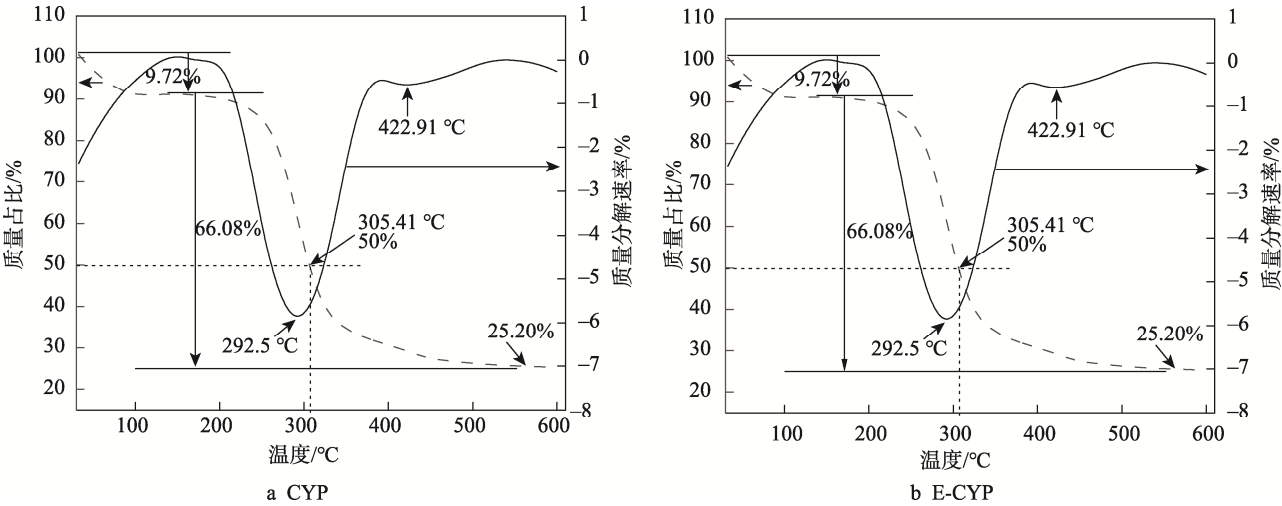


图 6 挤压前后山药多糖的热重分析
Fig.6 Thermogravimetric analysis of Chinese yam polysaccharide before and after extrusion

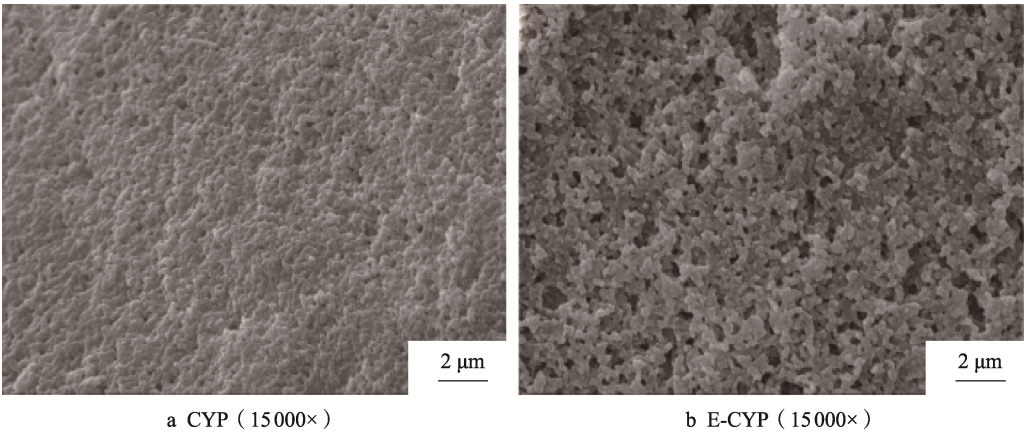


图 7 挤压前后山药多糖的电镜图像
Fig.7 Electron microscopic images of Chinese yam polysaccharide before and after extrusion

2.4.6 OH·和O₂⁻清除作用的分析

羟基自由基可穿过细胞膜与蛋白质等生物大分子发生化学反应^[30],导致细胞突变、死亡或组织一定程度的损伤,甚至能引起器官的病变及机体的衰老,也因此被认为是诱导氧化损伤的主要原因^[31]。还有一种活性氧自由基是种类繁多的超氧阴离子自由基(O₂⁻),能攻击生物大分子,使其交联或断裂,对细胞结构和功能造成损害,还能与其他种类的自由基发生结合形成新的自由基,与生物体的衰老和病理变化有密切关系^[32]。图8a所示,在质量浓度为0.5~2.5 mg/mL时,CYP、E-CYP和Vc均随着浓度的增加而升高,呈现出量效关系。当质量浓度为2.5 mg/mL时,E-CYP的清除能力达到了67.42%,而CYP的清除能力为58.20%,说明在同等条件下,经过挤压预处理的山药多糖对羟基自由基的清除效果优于未处理的山药多糖,证明了山药多糖经过挤压预处理后抗氧化性能有显著改善。如图8b所示,

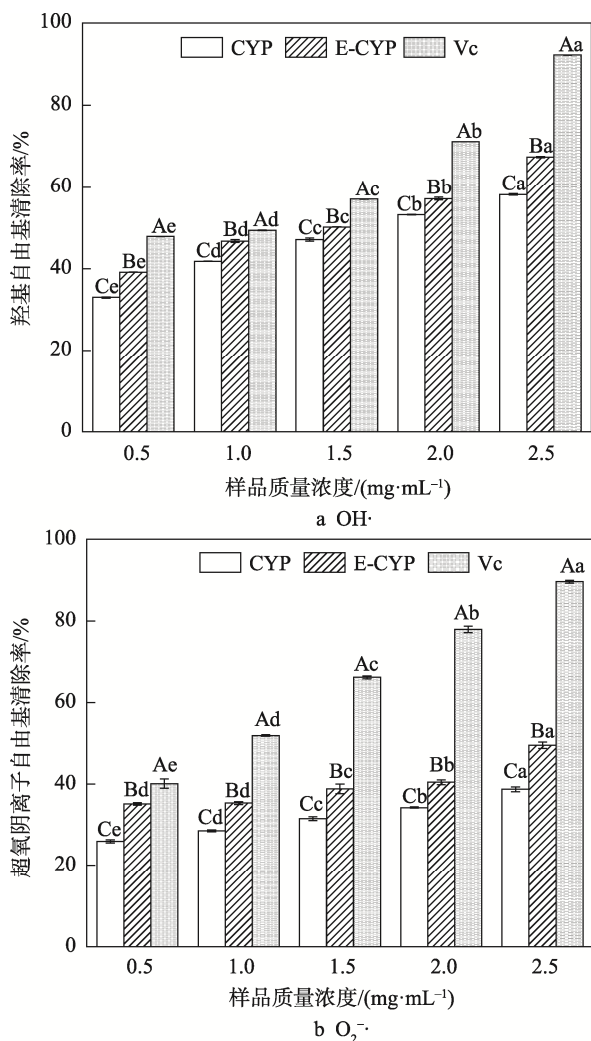


图8 挤压前后山药多糖对OH·和O₂⁻的清除作用

Fig.8 Scavenging effect of Chinese yam polysaccharide on OH· and O₂⁻ before and after extrusion

注:同一浓度梯度中,不同大写字母表示各组(CYP、E-CYP与Vc)之间差异显著($P < 0.05$);同一物质中,不同小写字母表示各浓度梯度(0.5~2.5 mg/mL)之间差异显著($P < 0.05$)。

CYP和E-CYP 2个样品的超氧阴离子清除率随浓度的增加而增加,但增长趋势相对较慢,最大清除率不超过50%,但E-CYP清除能力较CYP高。

3 结语

本文以垆土铁棍山药为原料,将山药多糖提取率作为响应值,采用单因素实验和响应面实验设计进行双螺杆挤压山药的最佳工艺优化,得到了最优的工艺参数:挤压温度为130℃,螺杆转动电机频率为26 Hz,水分含量为20%,喂料电机频率为16 Hz。

在最优挤压条件下,山药多糖的提取率达到了44.97%,是未挤压处理山药多糖提取率(13.30%)的3.38倍,极大地增加了多糖的溶出率。紫外光谱测定发现CYP和E-CYP在260 nm和280 nm处均无吸收峰的存在,即不含有核酸和蛋白质。傅里叶红外光谱测定发现CYP和E-CYP均具有多糖的特征吸收峰,糖链中也均以 α -糖苷键为连接方式,且含有吡喃糖等结构,不同的是E-CYP在1 643 cm^{-1} 处强度下降,可能是挤压处理促进了多糖中纤维成分的降解。热重分析表明E-CYP的热稳定性有所提高。扫描电镜表明挤压膨化打破了山药固有结构,促进了纤维素和半纤维素的转化,这一结果呼应了红外光谱测定结论。2种体外抗氧化试验结果表明,挤压前后的山药多糖对OH·的清除能力均高于对O₂⁻的清除能力,E-CYP的抗氧化活性高于CYP的,并且随着多糖浓度的增加,清除能力逐渐增大。上述所得研究结果可为山药多糖类药食同源的高值化利用提供理论依据,推动其剩余产量的消化及附加值的综合开发利用。

参考文献:

- [1] PADHAN B, PANDA D. Potential of Neglected and Underutilized Yams (*Dioscorea* spp.) for Improving Nutritional Security and Health Benefits[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2020, 11: 496.
- [2] YANG Ying, JI Jing, DI Liu-qing, et al. Resource, Chemical Structure and Activity of Natural Polysaccharides Against Alcoholic Liver Damages[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 241: 116355.
- [3] CHENG Zhen-yong, HU Min, TAO Jun, et al.. The Protective Effects of Chinese Yam Polysaccharide Against Obesity-Induced Insulin Resistance[J]. *Journal of Functional Foods*, 2019: 238-247.
- [4] 罗婷. 苹果渣多糖的羧甲基化修饰及其抗氧化活性研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2019: 6-7.
LUO Ting. Study on Carboxymethylation Modification and Antioxidant Activity of Apple Pomace Polysaccharide[D]. Xi'an: Shaanxi University of Science & Tech-

- nology, 2019: 6-7.
- [5] 李昊阳. 挤压膨化预处理辅助亚临界水法提取玉米皮多糖的研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2017: 2-3.
- LI Hao-yang. Study on Extraction of Polysaccharides from Corn Bran by Extrusion Pretreatment and Subcritical Water Method[D]. Zhengzhou: Henan University of Technology, 2017: 2-3.
- [6] WANG Chao, LI Jing, CAO Yi, et al. Extraction and Characterization of Pectic Polysaccharides from *Chorospondias Axillaris* Peels: Comparison of Hot Water and Ultrasound-Assisted Extraction Methods[J]. Food Chemistry, 2023, 401: 134156.
- [7] YIN X, YOU Q, JIANG Z. Optimization of Enzyme Assisted Extraction of Polysaccharides from *Tricholoma Matsutake* by Response Surface Methodology[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 86(3): 1358-1364.
- [8] LAI F, WEN Q, LI L, et al. Antioxidant Activities of Water-Soluble Polysaccharide Extracted from Mung Bean (*Vigna Radiata* L.) Hull with Ultrasonic Assisted Treatment[J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 81(2): 323-329.
- [9] RODRIGUEZ-JASSO R M, MUSSATTO S I, PASTRANA L, et al. Microwave-Assisted Extraction of Sulfated Polysaccharides (Fucoidan) from Brown Seaweed[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 86(3): 1137-1144.
- [10] HOU Zhi-qiang, CHEN Shi-guo, YE Xing-qian. High Pressure Processing Accelerated the Release of RG-I Pectic Polysaccharides from Citrus Peel[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 263: 118005.
- [11] ZHANG X, CHEN H, ZHANG N, et al. Extrusion Treatment for Improved Physicochemical and Antioxidant Properties of Highmolecular Weight Polysaccharides Isolated from Coarse Tea[J]. Food Research International, 2012, 136(4): 735-741.
- [12] XUE H, LI J, LIU Y, et al. Optimization of the Ultrafiltration-Assisted Extraction of Chinese Yam Polysaccharide Using Response Surface Methodology and Its Biological Activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 121: 1186-1193.
- [13] WANG Shi-qiang, LI Gang, ZHANG Xin-fei, et al. Structural Characterization and Antioxidant Activity of *Polygonatum Sibiricum* Polysaccharides[J]. Carbohydrate Polymers, 2022, 291: 119524.
- [14] ZHOU Shi-yang, HUANG Gang-liang, HUANG Hua-liang. Extraction, Derivatization and Antioxidant Activities of Onion Polysaccharide[J]. Food Chemistry, 2022, 388: 133000.
- [15] 王冰, 张光, 刘琳琳, 等. 挤压预处理对桦褐孔菌多糖溶出率的影响[J]. 中国食品学报, 2016, 16(5): 109-114.
- WANG Bing, ZHANG Guang, LIU Lin-lin, et al. Effect of the Extrusion Pretreatment Conditions on the Dissolution Rate of Polysaccharide from *Inonotus*[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2016, 16(5): 109-114.
- [16] GUO Yi-ting, LIU Wan, WU Ben-gang, et al. Modification of Garlic Skin Dietary Fiber with Twin-Screw Extrusion Process and in Vivo Evaluation of Pb Binding[J]. Food Chemistry, 2018, 268: 550-557.
- [17] QIAO Han-zhen, SHAO Hui-min, ZHENG Xiao-jing, et al. Modification of Sweet Potato (*Ipomoea Batatas* Lam.) Residues Soluble Dietary Fiber Following Twin-Screw Extrusion[J]. Food Chemistry, 2021, 335: 127522.
- [18] 孙俊良, 杜寒梅, 梁新红, 等. 响应面法优化蒸汽爆破技术提取苹果果胶工艺[J]. 食品科学, 2017, 38(14): 270-275.
- SUN Jun-liang, DU Han-mei, LIANG Xin-hong, et al. Optimization of Apple Pomace Pectin Extraction by Steam Explosion Employing Response Surface Methodology[J]. Food Science, 2017, 38(14): 270-275.
- [19] 吴金松, 耿广威, 任聪, 等. 超声辅助酶法提取山药皮水溶性多糖的工艺优化[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(8): 90-97.
- WU Jin-song, GENG Guang-wei, REN Cong, et al. Optimization of Enzymolysis-Ultrasonic Assisted Extraction of Water-Soluble Polysaccharides from Peel of *Rhizoma Dioscoreae*[J]. Food Research and Development, 2022, 43(8): 90-97.
- [20] 汪艳群. 五味子多糖的分离、结构鉴定及免疫活性研究[D]. 辽宁: 沈阳农业大学, 2012: 89-91.
- WANG Yan-qun. Isolation, Structural Identification and Immunological Activity of *Schisandra Chinensis* Polysaccharide[D]. Shenyang, Shenyang Agricultural University, 2012: 89-91.
- [21] SHI Mei-jia, WEI Xiao-yi, XU Jie, et al. Carboxymethylated Degraded Polysaccharides from *Enteromorpha Prolifera*: Preparation and in Vitro Antioxidant Activity[J]. Food Chemistry, 2017, 215: 76-83.
- [22] QIAO Cong-cong, ZENG Fan-kun, WU Na-na, et al. Functional, Physicochemical and Structural Properties of Soluble Dietary Fiber from Rice Bran with Extrusion Cooking Treatment[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 121(6): 107057.
- [23] 程萌. 水溶性豌豆多糖的提取及其性能研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2018: 24-25.

- CHENG Meng. Extraction and Properties of Water-Soluble Pea Polysaccharide[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2018: 24-25.
- [24] LI Xiao-yu, WANG Lu, WANG Zhen-yu. Structural Characterization and Antioxidant Activity of Polysaccharide from *Hohenbuehelia Serotina*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 98: 59-66.
- [25] WANG Li-li, ZHANG Xiao-feng, NIU Ying-ying, et al. Anticoagulant Activity of Two Novel Polysaccharides from Flowers of *Apocynum Venetum* L[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 124: 1230-1237.
- [26] XIAO Heng, CHEN Chun, LI Chao, et al. Physicochemical Characterization, Antioxidant and Hypoglycemic Activities of Selenized Polysaccharides from *Sargassum Pallidum*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 132: 308-315.
- [27] 薛丽洁, 马丽苹, 焦昆鹏, 等. 挤压对山药中非淀粉多糖理化性质和生物活性的影响[J]. 中国食品添加剂, 2022, 33(1): 164-172.
- XUE Li-jie, MA Li-ping, JIAO Kun-peng, et al. Effect of Extrusion on Physicochemical Properties and Biological Activity of Non-Starch Polysaccharides from Chinese Yam[J]. China Food Additives, 2022, 33(1): 164-172.
- [28] REN J, PENG F, SUN R. Preparation and Characterization of Hemicellulosic Derivatives Containing Carbamoyl and Carboxyethyl Groups[J]. Carbohydrate Research, 2008, 343(16): 2776-2782.
- [29] 王文侠, 李馥邑, 徐伟丽, 等. 挤压处理提高玉米麸皮水溶性多糖含量及其抗氧化活性研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(11): 107-111.
- WANG Wen-xia, LI Fu-yi, XU Wei-li, et al. Improving Effect on the Yield of Corn Fiber Soluble Polysaccharides by Extrusion and Evaluation of Antioxidant Activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(11): 107-111.
- [30] WU Yun-tao, HUO Yun-feng, XU Lin, et al. Purification, Characterization and Antioxidant Activity of Polysaccharides from *Porphyra Haitanensis*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 165: 2116-2125.
- [31] PHANIENDRA A, JESTADI D B, PERIYASAMY L. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases[J]. Indian Journal of Clinical Biochemistry: IJCB, 2015, 30(1): 11-26.
- [32] SU Yue, LI Liang. Structural Characterization and Antioxidant Activity of Polysaccharide from Four *Auriculariales*[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 229: 115407.

责任编辑: 曾钰婵