

不同酶解工艺对鲜木薯块根粗多糖得率的影响

余厚美^{1,2}, 林立铭^{1,2}, 王琴飞^{1,2}, 姚庆群^{1,2}, 杜培旭¹, 张金泉¹, 张振文^{1,2*}

1. 中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所/国家薯类加工技术研发分中心, 海南海口 571101; 2. 农业农村部木薯种质资源保护与利用重点实验室, 海南海口 571101

摘要: 本研究以木薯块根为原料, 采用单因素试验结合 Box-Behnken 响应面方法, 优化超声波辅助木薯粗多糖的提取工艺, 分析 4 种不同酶解鲜木薯块根的工艺, 比较木薯粗多糖 (crude polysaccharide of cassava root, CPCR) 得率的差异。结果表明: 4 种酶解最优工艺均有所差异, 加酶提取 CPCR 得率显著高于不加酶, 4 种酶解的 CPCR 得率大小为中温 α -淀粉酶>普鲁兰酶>半纤维素酶>低温 α -淀粉酶, 其中低温 α -淀粉酶酶解超声处理时间最长 (360 min), 但 CPCR 得率最低为 7.02%; 中温 α -淀粉酶 CPCR 得率最高 (20.25%), 其最佳酶解提取工艺为超声功率 300 W, 超声温度 70 °C, 加酶量 5 KU/g, 料液比 (g/mL) 1 : 2.5, 超声时间 240 min; 普鲁兰酶酶解超声处理时间最短 (60 min), CPCR 得率为 13.98%; 半纤维素酶酶解条件下 CPCR 得率为 7.99%。进一步对优化条件进行验证, 结果表明, 粗多糖得率和预测值接近, 但是在仅加入酶不加木薯样本的条件下也检测到粗多糖含量, 扣除酶的影响后中温 α -淀粉酶的提取率仍然为最高 (17.22%), 可见, 中温 α -淀粉酶酶解木薯块根是一种高效率提取 CPCR 的方法。本研究有望为鲜木薯粗多糖的深入研究和开发利用提供技术基础。

关键词: 木薯; 粗多糖; 响应面分析; 酶解提取

中图分类号: Q814.9, S533 文献标志码: A

Effect of Different Enzymatic Hydrolysis Processes on the Yield of Crude Polysaccharide from Fresh Cassava Roots

YU Houmei^{1,2}, LIN Liming^{1,2}, WANG Qinfei^{1,2}, YAO Qingqun^{1,2}, DU Peixu¹, ZHANG Jinquan¹, ZHANG Zhenwen^{1,2*}

1. Institute of Tropical Crops Genetic Resources, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / National R&D Center for Potato Processing, Haikou, Hainan 571101, China; 2. Key Laboratory of Germplasm Resources Conservation and Utilization of Cassava, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Haikou Hainan 571101, China

Abstract: Cassava roots were used as the raw material. Single factor tests combined with the Box-Behnken response surface method were used to optimize the extraction process of cassava crude polysaccharide (CPCR) assisted by ultrasonic wave, and the process of enzymatic hydrolysis of cassava tuber roots by four different enzymes was analyzed. The results showed that the four enzymatic hydrolysis processes were different. The extraction yield of CPCR with enzyme was significantly higher than that without enzyme. The CPCR yield of the four enzymes was α -medium temperature>pullulanase>hemicellulase> α -low-temperature amylase, the ultrasonic treatment time of α -low-temperature amylase was the longest (360 min), but the CPCR yield was the lowest (7.02%). The α -medium temperature CPCR yield was the highest (20.25%), and the best enzymatic extraction process was as follows: ultrasonic power 300 W, ultrasonic temperature 70 °C, enzyme content 5 KU/g, solid-liquid ratio (g/mL) 1 : 2.5, and ultrasonic time 240 min. The ultrasonic treatment time of pullulanase was the shortest (60 min), and the CPCR yield was 13.98%. The yield of CPCR under hemicellulase hydrolysis was 7.99%. The optimized conditions were further verified, and the results showed that the

收稿日期 2024-07-28; 修回日期 2024-08-30

基金项目 海南省自然科学基金项目 (No. 322QN396); 现代农业产业技术体系项目 (No. CARS-11-HNZZW); 科技部重点研发专项 (No. 2023YFD1600601)。

作者简介 余厚美 (1984—), 女, 硕士, 实验师, 研究方向: 木薯采后与加工。*通信作者 (Corresponding author): 张振文 (ZHANG Zhenwen), E-mail: scuta96@163.com。

yield of crude polysaccharide was close to the predicted value. However, the crude polysaccharide content was also detected under the condition that only enzyme was added without cassava sample, and the extraction rate of medium temperature α -amylase was still the highest (17.22%) after deducting the influence of enzyme. It can be seen that medium temperature α -amylase enzymatic hydrolysis of cassava tuber roots is an efficient way to extract CPCR. This study is expected to provide technique basis for its further research and utilization of crude polysaccharide.

Keywords: cassava; crude polysaccharides; response surface analysis; enzymolysis extraction

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.02.016

多糖是一类由单糖通过糖苷键连接在一起形成的生物大分子物质^[1-2], 广泛存在于自然界中, 并因其独特的生物活性, 如免疫调节、抗氧化、抗肿瘤、降血糖等备受关注, 并在医药、食品和化妆品等领域具有广泛的应用价值^[3-7]。木薯 (*Manihot esculenta* Crantz) 作为一种在全球热带地区广泛种植的粮食作物, 为超过 10 亿人口提供了基本的营养来源^[8], 其块根含有淀粉、纤维素、蛋白质等营养物质, 且已被证实是制备活性多糖的重要物质基础^[9-11]。已有研究表明, 木薯块根中的多糖不仅种类繁多, 而且具有显著的生物活性。例如, CHARLES 等^[12]从木薯块根中分离出一种由蔗糖、果糖、葡萄糖、半乳糖和阿拉伯糖等组成的粘多糖, 具有特定的分子量和组成, 该粘多糖来自半纤维素; CHIA 等^[13]的研究则揭示了木薯多糖对大鼠耐力的积极影响; 此外, 木薯粉提取的粗多糖亦被证实具有抗氧化活性和对大鼠肝损伤的保护作用^[14]; UTHUMPORN 等^[15]进一步研究发现, 木薯多糖的添加能够显著改善小麦粉面团的加工特性。

多糖的提取是多糖活性评价的前提, 其方法的选择对于多糖的得率、性质及生物活性具有显著影响^[16-19], 传统的提取方法如热水提取、酸碱提取虽操作简单, 但存在得率低、活性低等缺点。相比之下, 超声提取和酶法提取因具有条件温和、提取率高、活性强等优势而逐渐受到重视^[20-21]。超声波能够破坏植物细胞壁结构, 促进多糖的释放, 而酶法则具有专一性强、反应条件温和、活性强、成本低、环保等特点, 特别是当把 2 种方法结合使用时, 能够进一步提高多糖的得率和活性^[22]。然而, 值得注意的是, 尽管超声辅助酶法在多糖提取领域展现出巨大的潜力, 但该方法尚未被应用于木薯多糖的提取。因此, 本研究旨在充分利用超声和酶解法的优点, 通过响应面法优化不同酶解条件下的最佳提取工艺, 以期对木薯多糖的深入研究和综合高效利用提供理论支持和

实践指导。

1 材料与方法

1.1 材料

华南 9 号木薯 (South China 9, SC9) 块根采自中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所国家薯类加工技术研发分中心 (海南儋州); 无水葡萄糖、葡萄糖醛酸、牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA)、四硼酸钠、考马斯亮蓝均购自北京索莱宝公司; 低温 α -淀粉酶、半纤维素酶均购自上海源叶生物公司; 中温 α -淀粉酶、普鲁兰酶、三氯乙酸均购自上海麦克林公司; 无水乙醇、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠、氯化钠、硫酸等所有分离用有机试剂均购自国药集团化学试剂有限公司。

KQ-600DE 超声波清洗器 (昆山舒美公司); TU-1810APC 紫外分光光度计 (北京普析公司); Simple-Q15 超纯水系统 (上海芷昂公司); Multiskan FC 酶标仪 (美国 Thermo 公司); PHS-3E pH 计 (上海仪电科学仪器公司); SRY-150 生化培养箱 (宁波赛福公司); IJXFSTPRP-24 全自动样品快速研磨仪 (上海净信实业公司); Z327K 高速冷冻离心机 (德国 HERMLE 公司)。

1.2 方法

1.2.1 木薯粗多糖提取样本预处理 采收生长期 1 年的华南 9 号木薯块根, 木薯块根洗净泥沙、去掉外表皮和木薯内层皮, 切块、研磨成浆、分装, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻待用。

1.2.2 超声辅助酶解木薯粗多糖提取工艺 CPCPR 的提取参考 CHARLES 等^[12]、CHEN 等^[23]的方法并优化, 按照图 1 流程进行提取: 在木薯样本中加入一定量的去离子水和酶, 300 W 条件下超声浸提, $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, 8000 r/min 离心 10 min 后取上清, 加 4% 三氯乙酸去蛋白, 离心后在上清中加无水乙醇至浓度为 80%, 混匀后室温静置 2 h 离心取沉淀, 沉淀用去离子水复溶后使用截留量为 3.5 kDa 透析袋在去离子水中透析 72 h。

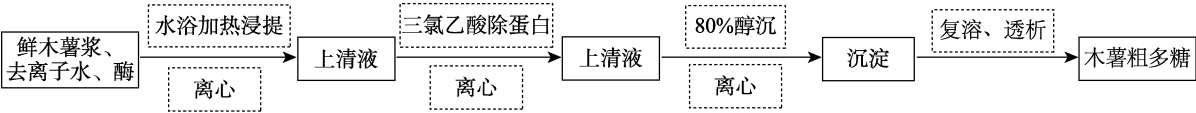


图 1 木薯粗多糖提取工艺流程
Fig. 1 Extraction process flow of CPCR

1.2.3 单因素试验 低温 α -淀粉酶：以 CPCR 得率为指标，在超声功率 300 W、超声温度 45 $^{\circ}\text{C}$ 条件下，按照 1.2.2 提取 CPCR，依次分别考察加酶量（0、0.1、0.3、0.5、0.7、0.9、1.1 KU/g）、料液比（g/mL）（1 : 2、1 : 3、1 : 5、1 : 8）、超声时间（60、120、180、240、300、360 min）对 CPCR 得率的影响。

中温 α -淀粉酶：以 CPCR 得率为指标，在超声功率 300 W、超声温度 70 $^{\circ}\text{C}$ 条件下，按照 1.2.2 提取 CPCR，依次分别考察加酶量（0、1.0、2.0、3.5、4.5、6.0 KU/g）、料液比（g/mL）（1 : 1.5、1 : 2、1 : 3、1 : 5、1 : 8）、超声时间（30、60、120、240、360、480 min）对 CPCR 得率的影响。

普鲁兰酶：以 CPCR 得率为指标，在超声功率 300 W、超声温度 55 $^{\circ}\text{C}$ 条件下，按照 1.2.2 提取 CPCR，依次考察加酶量（0、1.0、2.0、3.0、4.0 KU/g）、料液比（g/mL）（1 : 1.5、1 : 2、1 : 3、1 : 5、1 : 8）、超声时间（30、60、120、240、360、480 min）对 CPCR 得率的影响。

半纤维素酶：以 CPCR 得率为指标，在超声功率 300 W、超声温度 50 $^{\circ}\text{C}$ 条件下，按照 1.2.2 提取 CPCR，依次考察加酶量（0、0.3、0.5、0.7、1.0、2.0、3.0 KU/g）、料液比（g/mL）（1 : 2、1 : 3、1 : 5、1 : 8、1 : 10）、超声时间（15、30、45、60、80、100、120 min）对 CPCR 得率的影响。

1.2.4 响应面优化 基于单因素试验结果，采用 Design-Expert 12 的 Box-Behnken 设计响应面组合试验方案^[24]，以加酶量、料液比和超声时间为正交因子，CPCR 得率为响应值，优化木薯粗多糖的超声波辅助提取工艺参数，具体试验因素水平如表 1 所示。

1.2.5 粗多糖组成测定 采用苯酚-硫酸法测定木薯粗多糖总糖含量，采用间羟基联苯法测定酸性糖含量，采用考马斯亮蓝法测定可溶性蛋白质含量^[25]。

1.3 数据处理

每个试验至少重复 3 次，采用 Excel 2016 软件计算试验数据平均值和相对标准偏差，响应面

试验数据由 Design-Expert 12 软件处理，采用 IBM SPSS Statistics 27 软件进行单因素显著性统计分析，相关图形数据均由 Origin 2021 软件处理。

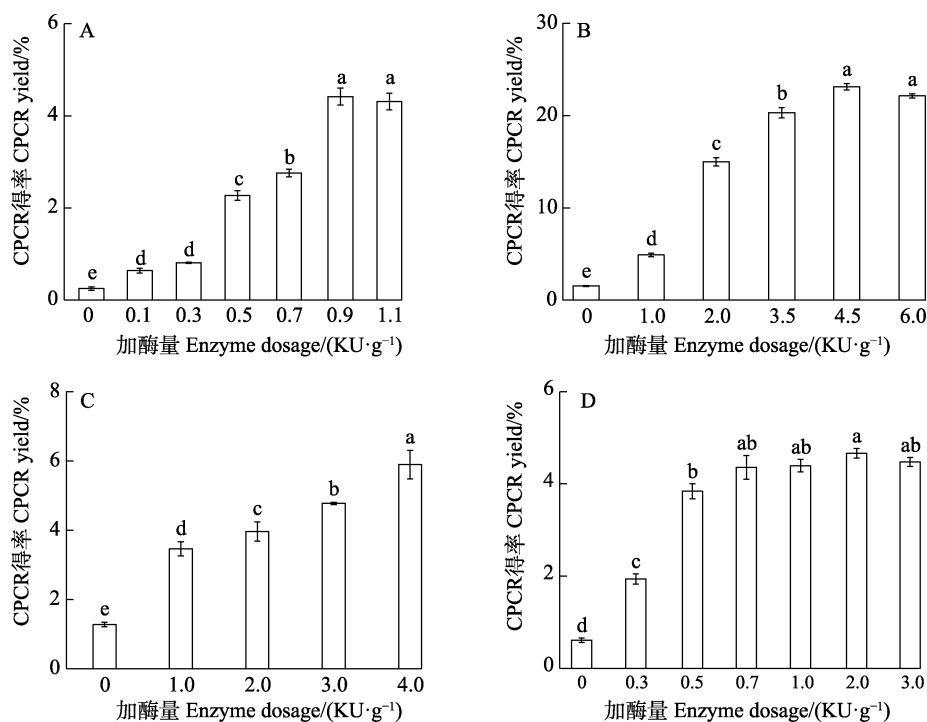
表 1 响应面试验因素与水平设计
Tab. 1 Factors and levels in RSM experiment

酶 Enzyme	因素 Factor	水平 Level		
		-1	0	1
低温 α -淀粉酶	加酶量/(KU·g ⁻¹)	0.6	0.8	1.0
	料液比/(g·mL ⁻¹)	1 : 2	1 : 3	1 : 5
	超声时间/min	180	270	360
中温 α -淀粉酶	加酶量/(KU·g ⁻¹)	2.0	3.5	5.0
	料液比/(g·mL ⁻¹)	1 : 1.5	1 : 2.3	1 : 3.0
	超声时间/min	60	150	240
普鲁兰酶	加酶量/(KU·g ⁻¹)	2.0	3.0	4.0
	料液比/(g·mL ⁻¹)	1 : 2	1 : 5	1 : 8
	超声时间/min	60	210	360
半纤维素酶	加酶量/(KU·g ⁻¹)	0.3	1.7	3.0
	料液比/(g·mL ⁻¹)	1 : 3	1 : 5	1 : 8
	超声时间/min	45	82	120

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 加酶量对 CPCR 得率的影响 4 种酶的不同加酶量对 CPCR 得率的影响表明，在未添加和低剂量添加酶时，CPCR 得率较低。随着加酶量的增加，CPCR 得率逐渐升高，当加酶量达到一定程度时，CPCR 得率不再显著增加，部分情况下反而有所降低（图 2）。这可能是因为加酶量较低时，酶可以充分与底物接触，随着加酶量增加底物被完全反应，进一步增加加酶量可能导致酶的活性被抑制^[26]。低温 α -淀粉酶在加酶量为 0.9 KU/g 时得率达到最高，进一步增加加酶量未显著提高 CPCR 得率（图 2A），因此，选择 0.6~1.0 KU/g 作为优化范围；中温 α -淀粉酶加酶量达到 4.5 KU/g 时，粗多糖得率达到最高，为 23.11%（图 2B），其优化范围为 2.0~5.0 KU/g。普鲁兰酶



A: 低温 α-淀粉酶; B: 中温 α-淀粉酶; C: 普鲁兰酶; D: 半纤维素酶; 不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

A: α-low-temperature amylase; B: α-medium temperature; C: Pullulanase; D: Hemicellulase;
Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 2 加酶量对 CPCR 得率的影响

Fig. 2 Effect of enzyme dosage on CPCR yield

为液体型,加酶量增加会导致料液比相应增加,结合料液比数据(图 2C),其优化范围选择为 2.0~4.0 KU/g。半纤维素酶在加酶量达到 2.0 KU/g 时 CPCR 得率达到最大,但在 0.7 KU/g 后增加不显著(图 2D),其优化范围为 0.3~3.0 KU/g。

2.1.2 料液比对 CPCR 得率的影响 4 种酶解条件下料液比对 CPCR 得率的影响见图 3,随着溶剂增加,图 3A、图 3B、图 3D 中粗多糖得率均呈现先增加后减少的趋势。当溶剂较少时对本薯酶解不充分,随着料液比增加,可能杂质的溶出抑制了多糖的提取,使得多糖呈现先增加后减少的趋势^[27]。从图 3A 中可知,料液比在 1:3 时粗多糖得率最高,与 1:2 的料液比无显著性差异,料液比 1:5 或 1:8 时,多糖得率显著下降,因此,料液比选择 1:2~1:5 作为优化范围;图 3B 料液比在 1:2 时粗多糖得率最高,因此选 1:1.5~1:3.0 作为其优化范围;图 3C 中料液比 1:2 后 CPCR 得率未显著增加,料液比选择 1:2~1:8 作为其优化范围;图 3D 料液比在 1:5 时粗多糖得率最高,随着料液比上升粗多糖得率迅速下降,料液比选择 1:3~1:8 进一步优化。

2.1.3 超声时间对 CPCR 得率的影响 超声时间

对 CPCR 得率的影响如图 4 所示。随着超声时间延长,木薯粗多糖得率逐渐增加,说明适当延长超声时间可以提高 CPCR 得率,但时间过长,多糖得率呈现下降趋势,可能是粗多糖溶解到平衡后,会引起粗多糖结构的改变从而降低得率^[28]。低温 α-淀粉酶在超声时间 60~300 min 时 CPCR 得率和超声时间成正比,超过 300 min 后 CPCR 得率下降(图 4A),可能是超声时间太长导致水温上升,超过了低温 α-淀粉酶的最适温度 45 °C 导致酶失活,导致得率下降,因此提取时间选取 180~360 min 作为优化范围;中温 α-淀粉酶在超声时间大于 120 min 后粗多糖得率并未显著增加(图 4B),表明经过 120 min 的超声处理,大部分木薯粗多糖都已溶出^[25],随着超声时间延长水温升高,但是仍然在中温 α-淀粉酶的活性温度范围内,所以随着超声时间延长,CPCR 得率未减少,因此提取时间选取 60~240 min 作为优化范围;普鲁兰酶超声时间对木薯粗多糖的得率如图 4C 所示,随着提取时间延长,CPCR 得率逐渐增加,但超过 360 min 后未显著提高粗多糖得率,因此提取时间选取 60~360 min 作为优化范围;半纤维素酶在 15~100 min 随着超声时间延长,CPCR

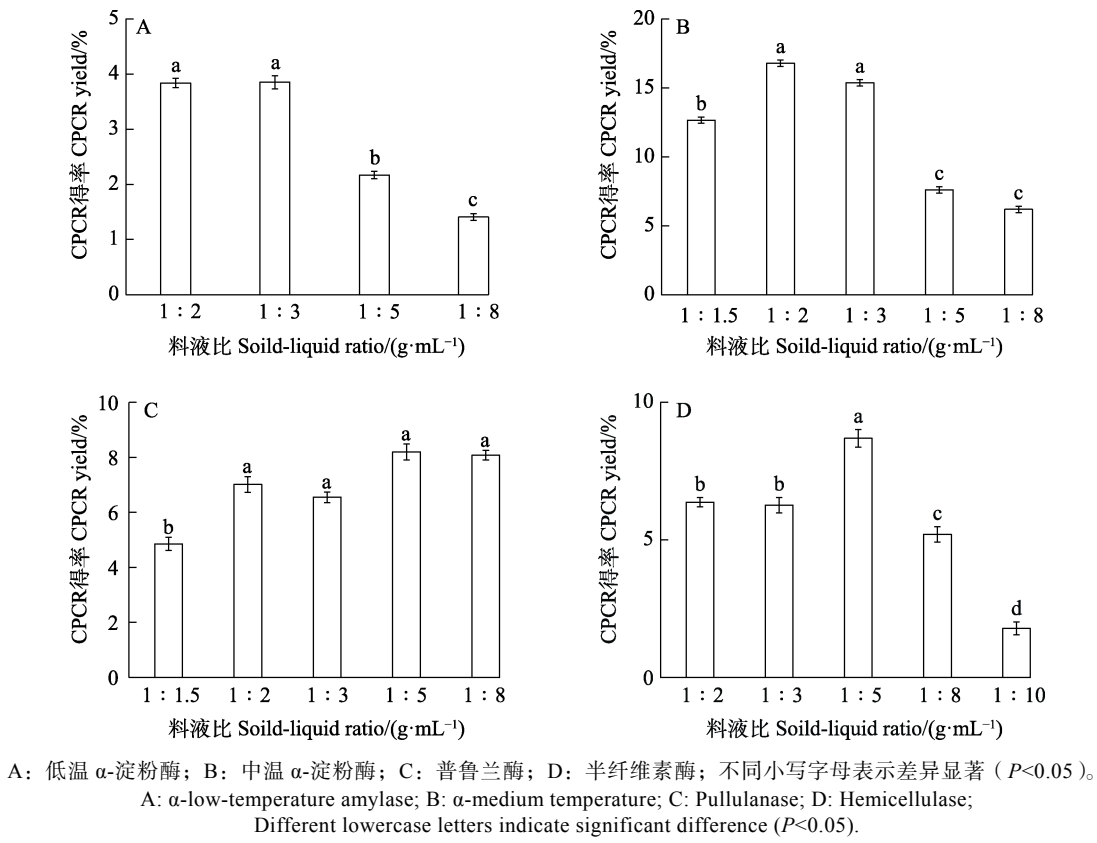


图 3 料液比对 CPCR 得率的影响

Fig. 3 Effect of soild-liquid ratio on CPCR yield

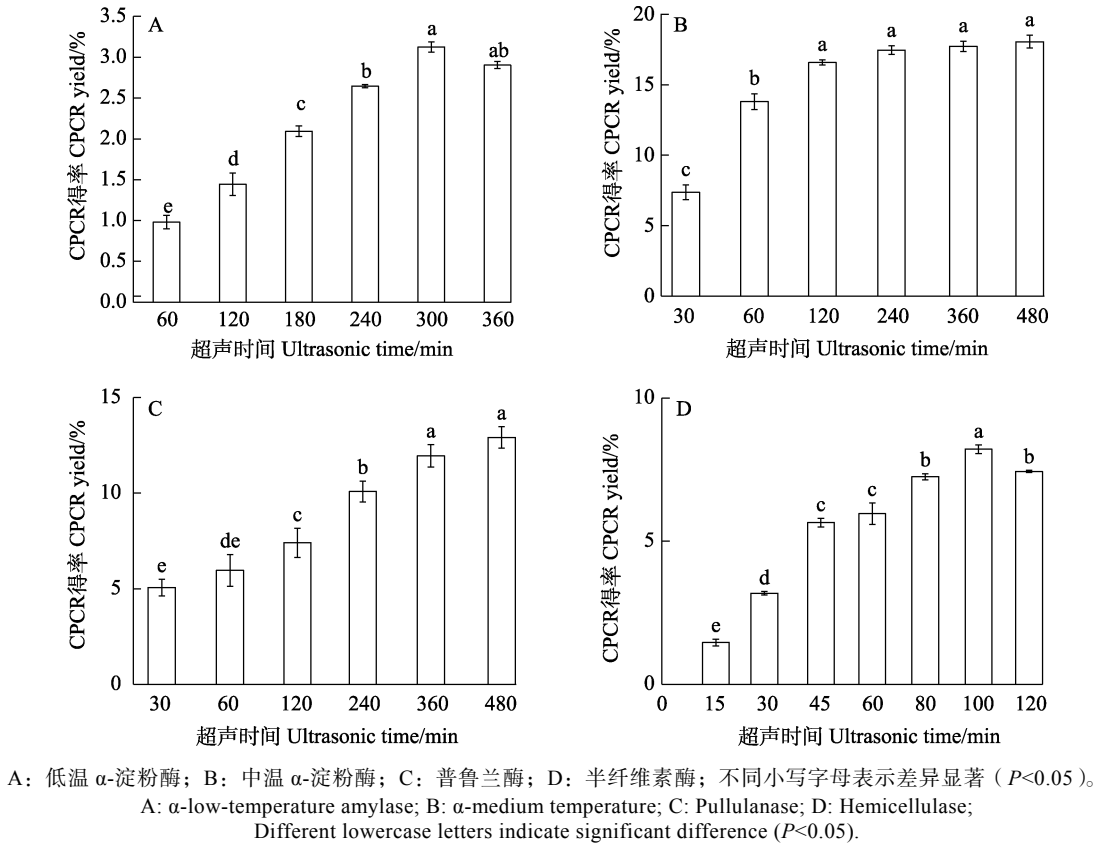


图 4 超声时间对 CPCR 得率的影响

Fig. 4 Effect of ultrasonic time on CPCR yield

得率逐渐增加,并在 100 min 时达到最大(图 4D),说明适当延长超声时间可以提高木薯粗多糖得率,可能是超声能破坏细胞壁促进粗多糖溶出,但超声时间超过 100 min 后木薯粗多糖得率开始下降,可能长时间超声破坏了多糖结构并使其降解,导致得率下降^[29-30],因此超声时间选取 45~120 min 作为优化范围。

2.2 响应面优化

2.2.1 低温 α-淀粉酶 应用 Design-Expert 12 软件对表 2 中的数据进行建模和分析,得到了粗多糖得率(*R*)的加酶量(*A*)、料液比(*B*)、和超声时间(*C*)的多元回归方程: $R=3.7600+1.2700A-1.3000B+0.1613C-0.3725AB+0.0150AC-0.4975BC-0.3590A_2-0.3365B_2+0.3410C_2$ 。响应面试验数据的分析结果见表 3,模型 $P=0.0413<0.05$, $R^2=83.62\%$,说明此模型显著,失拟项 $P=0.9053>0.05$,说明明显的失拟因素不存在,因此该回归方程可信。根据 *F* 值可判断 3 项因素对 CPCR 得率影响大小排序为 *B*(料液比)>*A*(加酶量)>*C*(超声时间)。

根据回归模型分析结果,运用 Design-Expert 12 软件中的 Optimization 功能,以粗多糖含量最大为条件,求解回归模型优化得到最优参数:加酶量为 1 KU/g,料液比(g/mL)为 1:2,超声时间为 360 min,粗多糖得率为 7.02%。

2.2.2 中温 α-淀粉酶 应用 Design-Expert 12 软件对表 4 中的数据进行建模和分析,得到粗多糖得率(*R*)的加酶量(*A*)、料液比(*B*)、和超声时间(*C*)的多元回归方程: $R=16.4300+2.8400A+1.9300B+$

表 2 响应面法试验设计与结果
Tab. 2 Design and results of response surface experiment

编号 No.	加酶量 Enzyme dosage (KU·g ⁻¹)	料液比 Raw material to water ratio (g·mL ⁻¹)	超声时间 Ultrasonic time/min	CPCR 得率 CPCR yield/%
1	0.8	1:2	180	4.04±0.64
2	0.8	1:2	360	5.81±0.62
3	1.0	1:2	270	6.03±0.21
4	0.6	1:3	180	2.43±0.28
5	1.0	1:3	360	5.08±0.22
6	0.8	1:3	270	5.44±0.47
7	0.6	1:3	360	2.27±0.29
8	0.8	1:5	180	2.71±0.13
9	0.8	1:3	270	3.76±0.39
10	0.8	1:3	270	3.75±0.22
11	0.8	1:5	360	2.49±0.32
12	1.0	1:3	180	5.18±0.56
13	0.6	1:5	270	0.84±0.11
14	1.0	1:5	270	2.39±0.23
15	0.8	1:3	270	2.25±0.22
16	0.6	1:2	270	2.99±0.16
17	0.8	1:3	270	3.59±0.28

表 3 Box-Behnken 数据分析结果
Tab. 3 Box-Behnken data analysis results

项目 Item	自由度 dt	均方 Mean square	平方和 Sun of squares	<i>P</i> 值 <i>P</i> value	<i>F</i> 值 <i>F</i> value	显著性 Significance
模型	9	3.3000	29.7200	0.0413	3.9700	*
<i>A</i>	1	12.8800	12.8800	0.0056	15.4900	**
<i>B</i>	1	13.6200	13.6200	0.0049	16.3800	**
<i>C</i>	1	0.2080	0.2080	0.6323	0.2501	
<i>AB</i>	1	0.5550	0.5550	0.4409	0.6674	
<i>AC</i>	1	0.0009	0.0009	0.9747	0.0011	
<i>BC</i>	1	0.9900	0.9900	0.3113	1.1900	
<i>A</i> ₂	1	0.5427	0.5427	0.4458	0.6526	
<i>B</i> ₂	1	0.4768	0.4768	0.4737	0.5733	
<i>C</i> ₂	1	0.4896	0.4896	0.4860	0.5888	
残差	7	0.8316	5.8200			
失拟项	3	0.2299	0.6896	0.9053	0.1792	
纯误差	4	1.2800	5.1300			
总回归	16		35.54			
$R^2=83.62\%$			$R_{adj}^2=62.56\%$			

注: *表示差异显著 ($P<0.05$); **表示差异极显著 ($P<0.01$)。
Note: * indicates significant difference ($P<0.05$); ** indicates extremely significant difference ($P<0.01$).

表 4 响应面法试验设计与结果

Tab. 4 Design and results of response surface experiment				
编号 No.	加酶量 Enzyme dos- age/(KU·g ⁻¹)	料液比 Raw material to water ratio (g·mL ⁻¹)	超声时间 Ultrasonic time/min	CPCR 得率 CPCR yield/%
1	3.5	1 : 2.3	150	15.64±0.26
2	3.5	1 : 1.5	60	11.76±0.32
3	5.0	1 : 1.5	150	15.75±0.23
4	2.0	1 : 2.3	60	10.82±0.51
5	3.5	1 : 1.5	240	13.96±0.92
6	5.0	1 : 2.3	240	20.49±1.02
7	5.0	1 : 3.0	150	18.04±0.73
8	5.0	1 : 2.3	60	18.09±0.26
9	3.5	1 : 3.0	60	16.34±1.32
10	3.5	1 : 2.3	150	16.75±0.62
11	2.0	1 : 1.5	150	8.92±0.28
12	2.0	1 : 2.3	240	16.66±0.69
13	3.5	1 : 2.3	150	15.14±1.15
14	2.0	1 : 3.0	150	13.27±0.73
15	3.5	1 : 3.0	240	18.17±0.49
16	3.5	1 : 2.3	150	18.13±0.81
17	3.5	1 : 2.3	150	16.49±0.88

$1.5300C-0.5163AB-0.8623AC-0.0935BC-0.4883A_2-1.9400B_2+0.5730C_2$ 。响应面试验数据的分析结果见表 5, $P=0.0014<0.01$, $R^2=94.34\%$, 说明此模型极显著, 失拟项 $P=0.5926>0.05$, 说明明显的失拟因素不存在, 因此该回归方程可信。F 值可评估判断自变量对因变量产生的影响, 可知 3 个因素影响 CPCR 提取率的程度为 A (加酶量) > B (料液比) > C (超声时间)。

根据回归模型分析结果, 运用 Design-Expert 12 软件中的 Optimization 功能, 以粗多糖含量最大为条件, 求解回归模型优化得到最优参数: 加酶量为 5 KU/g, 料液比为 1 : 2.5, 超声时间为 240 min, 粗多糖得率为 20.25%。

2.2.3 普鲁兰酶 应用 Design-Expert 12 软件对表 6 中的数据进行建模和分析, 得到了粗多糖得率(R)的加酶量(A)、料液比(B)、和超声时间(C)的多元回归方程: $R=8.4900+3.2100A+0.0072B-0.4989C-0.1425AB-0.3443AC+0.6830BC+0.3117A_2-0.0120B_2+0.3152C_2$ 。响应面试验数据的分析结果见表 7, $P<0.01$, $R^2=98.04\%$, 说明此模型极显著, 失拟项 $P=0.0564>0.05$, 说明该回归方程可信。由 F 值可知 3 个因素影响 CPCR 提取率的程度为 A (加酶量) > C (超声时间) > B (料液比)。

表 5 Box-Behnken 数据分析结果

Tab. 5 Box-Behnken data analysis results						
项目 Item	自由度 dt	均方 Mean square	平方和 Sun of squares	P 值 P value	F 值 F value	显著性 Significance
模型	9	15.0300	135.2600	0.0014	12.9600	**
A	1	64.4100	64.4100	0.0001	55.5400	**
B	1	29.7600	29.7600	0.0015	25.6700	**
C	1	18.8200	18.8200	0.005	16.2300	**
AB	1	1.0700	1.0700	0.3696	0.9193	
AC	1	2.9700	2.9700	0.1533	2.5600	
BC	1	0.0350	0.0350	0.8671	0.0302	
A ₂	1	1.0000	1.0000	0.3832	0.8655	
B ₂	1	15.9000	15.9000	0.0076	13.7100	**
C ₂	1	1.3800	1.3800	0.3111	1.1900	
残差	7	1.1600	8.1200			
失拟项	3	0.9442	2.8300	0.5926	0.7146	
纯误差	4	1.3200	5.2900			
总回归	16		143.3800			
$R^2=94.34\%$		$R_{adj}^2=87.06\%$				

注: **表示差异极显著 ($P<0.01$)。
Note: ** indicates extremely significant difference ($P<0.01$).

表 6 响应面法试验设计与结果
Tab. 6 Design and results of response surface experiment

编号 No.	加酶量 Enzyme dos- age/(KU·g ⁻¹)	料液比 Raw material to water ratio /(g·mL ⁻¹)	超声时间 Ultrasonic time/min	CPCR 得率 CPCR yield/%	编号 No.	加酶量 Enzyme dos- age/(KU·g ⁻¹)	料液比 Raw material to water ratio /(g·mL ⁻¹)	超声时间 Ultrasonic time/min	CPCR 得率 CPCR yield/%
1	3.0	1 : 5	210	8.54±0.20	10	4.0	1 : 5	60	13.68±0.22
2	2.0	1 : 5	60	6.05±0.23	11	3.0	1 : 5	210	8.08±0.11
3	3.0	1 : 5	210	8.55±0.16	12	3.0	1 : 2	360	8.09±0.13
4	3.0	1 : 5	210	8.44±0.28	13	4.0	1 : 2	210	11.65±0.08
5	4.0	1 : 5	360	11.49±0.21	14	3.0	1 : 8	360	9.00±0.03
6	2.0	1 : 2	210	5.44±0.23	15	3.0	1 : 8	60	8.13±0.15
7	3.0	1 : 2	60	9.96±0.07	16	3.0	1 : 5	210	8.86±0.02
8	2.0	1 : 5	360	5.25±0.31	17	2.0	1 : 8	210	6.21±0.05
9	4.0	1 : 8	210	11.85±0.19					

表 7 Box-Behnken 数据分析结果
Tab. 7 Box-Behnken data analysis results

项目 Item	自由度 dt	均方 Mean square	平方和 Sun of squares	<i>P</i> 值 <i>P</i> value	<i>F</i> 值 <i>F</i> value	显著性 Significance
模型	9	9.7700	87.9700	<0.0010	38.9100	**
<i>A</i>	1	82.6800	82.6800	<0.0010	329.1200	**
<i>B</i>	1	0.0004	0.0004	0.9685	0.0017	
<i>C</i>	1	1.9900	1.9900	0.0260	7.9300	*
<i>AB</i>	1	0.0812	0.0812	0.5874	0.3233	
<i>AC</i>	1	0.4740	0.4740	0.2119	1.8900	
<i>BC</i>	1	1.8700	1.8700	0.0295	7.4300	*
<i>A</i> ₂	1	0.4091	0.4091	0.2426	1.6300	
<i>B</i> ₂	1	0.0006	0.0006	0.9621	0.0024	
<i>C</i> ₂	1	0.4184	0.4184	0.2379	1.6700	
残差	7	0.2512	1.7600			
失拟项	3	0.4813	1.4400	0.0564	6.1200	
纯误差	4	0.0787	0.3148			
总回归	16		89.7300			
	<i>R</i> ² =98.04%		<i>R</i> _{adj} ² =95.52%			

注：*表示差异显著 ($P<0.05$)；**表示差异极显著 ($P<0.01$)。
Note: * indicates significant difference ($P<0.05$); ** indicates extremely significant difference ($P<0.01$).

根据回归模型分析结果, 运用 Design-Expert 12 软件中的 Optimization 功能, 以粗多糖含量最大为条件, 求解回归模型优化得到最优参数: 加酶量为 4 KU/g, 料液比为 1 : 2 g/mL, 超声时间为 60 min, 粗多糖得率为 13.98%。

2.2.4 半纤维素酶 应用 Design-Expert 12 软件对表 8 中的数据进行建模和分析, 得到粗多糖得率(*R*)的加酶量(*A*)、料液比(*B*)、和超声时间(*C*)的多元回归方程: $R=3.59000+0.72000A-0.20250B+$

$0.86250C+0.13000AB+0.34500AC+1.82000BC-1.11000A_2+1.53000B_2+0.06957C_2$ 。响应面试验数据的分析结果见表 9, $P=0.0060<0.01$, $R^2=91.14\%$, 说明此模型极显著, 失拟项 $P=0.4365>0.05$, 说明该回归方程可信。由 *F* 值可评估 3 个因素影响提取率的程度为 *C* (超声时间) > *A* (加酶量) > *B* (料液比)。

根据回归模型分析结果, 运用 Design-Expert 12 软件中 Optimization 功能, 以粗多糖含量最大

表 8 响应面法试验设计与结果
Tab. 8 Design and results of response surface experiment

编号 No.	加酶量 Enzyme dosage /(KU·g ⁻¹)	料液比 Raw material to water ratio/(g·mL ⁻¹)	超声时间 Ultrasonic time/min	CPCR 得率 CPCR yield/%	编号 No.	加酶量 Enzyme dos- age/(KU·g ⁻¹)	料液比 Raw material to water ratio /(g·mL ⁻¹)	超声时间 Ultrasonic time/min	CPCR 得率 CPCR yield/%
1	0.3	1 : 8	82	3.36±0.25	10	1.7	1 : 5	82	3.07±0.11
2	1.7	1 : 3	45	6.22±0.12	11	0.3	1 : 5	45	0.93±0.03
3	1.7	1 : 8	45	2.27±0.23	12	1.7	1 : 8	120	7.79±0.17
4	1.7	1 : 5	82	3.26±0.15	13	3.0	1 : 5	120	4.85±0.18
5	3.0	1 : 8	82	4.15±0.15	14	1.7	1 : 3	120	4.46±0.12
6	3.0	1 : 3	82	4.39±0.28	15	1.7	1 : 5	82	4.84±0.28
7	0.3	1 : 3	82	4.12±0.35	16	1.7	1 : 5	82	3.37±0.17
8	3.0	1 : 5	45	2.59±0.25	17	0.3	1 : 5	120	1.81±0.06
9	1.7	1 : 5	82	3.39±0.24					

表 9 Box-Behnken 数据分析结果
Tab. 9 Box-Behnken data analysis results

项目 Item	自由度 dt	均方 Mean square	平方和 Sun of squares	P 值 P value	F 值 F value	显著性 Significance
模型	9	4.2900	4.2900	0.0060	8.0000	**
A	1	4.1500	4.1500	0.0272	7.7400	*
B	1	0.3280	0.3280	0.4597	0.6120	
C	1	5.9500	5.9500	0.0126	11.1000	*
AB	1	0.0676	0.0676	0.7330	0.1261	
AC	1	0.4761	0.4761	0.3774	0.8881	
BC	1	13.2500	13.2500	0.0016	24.7200	**
A ₂	1	5.1900	5.1900	0.0170	9.6900	*
B ₂	1	9.8500	9.8500	0.0036	18.3700	**
C ₂	1	0.0203	0.0203	0.8511	0.0379	
残差	7	0.5361	3.7500			
失拟项	3	0.5741	1.7200	0.4367	1.1300	
纯误差	4	0.5075	2.0300			
总回归	16		42.3400			
	R ² =91.14%		R _{adj} ² =79.74%			

注：*表示差异显著 ($P<0.05$)；**表示差异极显著 ($P<0.01$)。
Note: * indicates significant difference ($P<0.05$); ** indicates extremely significant difference ($P<0.01$).

为条件，求解回归模型优化得到最优参数：加酶量为 2.4 KU/g，料液比为 1 : 8，超声时间为 120 min，粗多糖得率为 7.99%。

2.3 参数验证

根据多元回归方程和模型，预测了 4 种酶法辅助超声波提取木薯粗多糖最优参数。经过 5 次平行试验，CPCR 的得率如表 10 所示。结果显示，4 种酶对木薯肉粗多糖得率大小：中温 α-淀粉酶 > 普鲁兰酶 > 半纤维素酶 > 低温 α-淀粉酶，中温

α-淀粉酶酶解木薯浆时 CPCR 得率最高。进一步分析发现，所有加酶条件下的 CPCR 得率均极显著高于未加酶条件的得率，这证明了超声波辅助酶解能极显著提高 CPCR 的提取效率。此外，在仅加入酶而不加木薯样本的试验中也检测到了多糖成分，无样本只加酶提取的粗多糖得率大小为普鲁兰酶 (5.23%) > 低温 α-淀粉酶 (2.97%) > 中温 α-淀粉酶 (2.58%) > 半纤维素酶 (0.04%)，这可能是由于菌种自身的胞壁多糖，或者在酶的生

表 10 不同酶解工艺提取 CPCR 实测
Tab. 10 Actual detection of CPCR extracted by different enzymatic hydrolysis processes

编号 No.	酶解提取条件 Enzymatic hydrolysis extrac- tion conditions	样本 Sample	酶 Enzyme	粗多糖得率 Yield of crude polysaccharide/%		
				葡萄糖 Glucose	葡萄糖醛酸 Glucuronic acid	蛋白质 Protein
1 [#]	低温 α-淀粉酶	木薯浆	+	7.03±0.40 ^d	0.98±0.04 ^c	0
2 [#]		木薯浆	-	1.49±0.18 ^g	0.39±0.04 ^{fg}	0
3 [#]		无	+	2.97±0.25 ^f	0.41±0.04 ^{fg}	0
4 [#]	中温 α-淀粉酶	木薯浆	+	19.80±0.33 ^a	3.09±0.22 ^c	0.12±0.04 ^b
5 [#]		无	+	2.58±0.08 ^f	0.46±0.03 ^f	0
6 [#]	普鲁兰酶	木薯浆	+	14.23±0.57 ^b	3.91±0.23 ^b	0.25±0.06 ^a
7 [#]		木薯浆	-	0.30±0.03 ^h	0.07±0.01 ^h	0
8 [#]	半纤维素酶	无	+	5.23±0.17 ^e	5.39±0.17 ^a	0.06±0.01 ^c
9 [#]		木薯浆	+	7.94±0.40 ^c	1.17±0.08 ^d	0.09±0.02 ^{bc}
10 [#]		木薯浆	-	1.69±0.08 ^g	0.27±0.03 ^g	0.08±0.01 ^{bc}
11 [#]		无	+	0.04±0.00 ^h	0.02±0.00 ^h	0

注：同列不同小写字母表示差异显著（ $P<0.05$ ）；+表示添加，-表示未添加。
Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$); + indicates added, - indicates not added.

产过程中菌种培养等原因而残留的能产生多糖的成分所致^[31-33]。具体而言，在未加样本只加酶的情况下，普鲁兰酶的多糖得率最高，达到 5.23%，而半纤维素酶的多糖得率最低，仅为 0.04%。在扣除酶本身产生的多糖影响后，我们发现中温 α-淀粉酶对木薯浆中 CPCR 的提取得率仍然为最高（17.22%）。值得注意的是，中温 α-淀粉酶的最佳作用温度为 70℃，这与木薯淀粉的糊化温度相近^[34]，因此，不加酶的情况下，由于样本大部分已凝固，导致无法有效提取木薯粗多糖，所以，中温 α-淀粉酶提取条件下不加酶无法获得木薯粗多糖。总的来说，建立的回归模型能准确反映 3 个因素对木薯粗多糖得率的影响，并且实际结果与预测值非常接近。经过响应面法优化的超声波辅助酶法提取的参数具有实际应用价值，为 CPCR 的提取提供了有效的技术方法。

3 讨论

木薯是世界重要的粮食作物，其块根富含淀粉和纤维素，是传统的植物基多糖提取制备的优质原料。传统采用热水浸提法提取多糖时，过高的提取温度（65℃以上）会引起淀粉的糊化^[34]，进而影响非淀粉多糖的提取效率。而采用 α-淀粉酶和糖化酶联合酶解处理山药的多糖得率为温水浸提的 3.5 倍左右^[35]，为此，常见能降解淀粉的酶类如 α-淀粉酶、糖化酶、普鲁兰酶等常被用于高淀粉含量样本的粗多糖提取。本研究表明，中

温 α-淀粉酶提取的多糖得率最高，这可能中温 α-淀粉酶的作用温度为 70℃，超声过程中温度会升高，导致实际作用温度高于 70℃，但是还是在中温 α-淀粉酶的最佳作用温度范围内，在该范围内木薯淀粉已糊化，糊化的淀粉空间结构更松散，更易于被酶解，提高了粗多糖的得率^[36]。

从提取工艺看，超声辅助提取多糖也是一种常用的物理提取方法，超声形成的空化效应具有高强度的冲击力和剪切力，能够穿透细胞壁，从而促进胞内物质的溶出^[37]，缩短时间，提高得率^[38]，使多糖分子量更小，活性更高^[39]。本研究结果表明 300 W 超声波辅助酶解能显著提高 CPCR 得率，但不同的酶最适作用条件不同，所得产物也有差异。许多研究也表明，不同的酶解条件下所得到的多糖在含量、单糖组成、分子量、外观形态等方面有显著差异^[40-42]。可见，超声波辅助酶水解植物基提取功能多糖可能是今后产业化应用的主流技术。本研究系统分析了 CPCR 的提取工艺，为后续 CPCR 的分离纯化及活性组分研究奠定基础，有助于进一步揭示其结构与生物活性之间的关系。然而，不同超声时间和酶是如何高效水解淀粉、CPCR 主要来源于淀粉还是纤维或细胞壁等科学问题尚不清楚，这将是今后研究的重点。

参考文献

[1] 路欣彤, 齐欣, 高雪峰, 崔承弼. 辐照处理对桦褐孔菌多

- 糖抗疲劳作用的影响[J]. 食品工业科技, 2022, 43(3): 351-357.
- LU X T, QI X, GAO X F, CUI C B. Effect of irradiated process on anti-fatigue activity of inonotus obliquus polysaccharide[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(3): 351-357. (in Chinese)
- [2] SHI L. Bioactivities, isolation and purification methods of polysaccharides from natural products: a review[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 92: 37-48.
- [3] WANG M X, FU C Y, ZHANG M C, ZHANG Y X, CAO L. Immunostimulatory activity of soybean hull polysaccharide on macrophages[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2022, 23(6): 389.
- [4] HUANG R R, WU E H, DENG X L. Potential of lycium barbarum polysaccharide for the control of glucose and lipid metabolism disorders: a review[J]. International Journal of Food Properties, 2022, 25(1): 673-680.
- [5] DENG R, WANG F, WANG L F, XIONG L, SHEN X C, SONG H Z. Advances in plant polysaccharides as antiaging agents: effects and signaling mechanisms[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(19): 7175-7191.
- [6] WANG A Q, LIU Y, ZENG S, LIU Y Y, LI W, WU D T, WU X, ZOU L, CHEN H J. Dietary plant polysaccharides for cancer prevention: role of immune cells and gut microbiota, challenges and perspectives[J]. Nutrients, 2023, 15(13): 3019.
- [7] 刘爽, 曲孟, 齐欣, 及长城, 崔承弼. 辐照富硒木耳多糖对1型糖尿病小鼠的降血糖作用研究[J]. 食品工业科技, 2024, 45(18): 334-343.
- LIU S, QU M, QI X, JI C C, CUI C B. Hypoglycemic effect of irradiation Se-enriched *A. auricularia* polysaccharide on type 1 diabetes mice[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(18): 334-343. (in Chinese)
- [8] LIN L M, LUO X Q, YU H M, WANG Q F, ZHANG Z W, LI K M. The effect of postharvest water migration on metabolism of cassava root by hypobaric storage[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2024, 93: 103609.
- [9] 张振文, 李开绵. 木薯及其加工利用100问[M]. 北京: 中国农业出版社, 2017.
- ZHANG Z W, LI K M. 100 Questions on cassava and its processing and utilization[M]. Beijing: China Agricultural Publishing House, 2017. (in Chinese)
- [10] 姜太玲, 刘光华, 周迎春, 熊贤坤, 刘超, 段春芳, 宋记明, 刘倩, 李月仙, 沈绍斌, 严炜, 易怀锋, 卢诚, 张林辉. 不同品种木薯的主要品质特征与综合评价[J]. 食品工业科技, 2019, 40(20): 251-255, 261.
- JIANG T L, LIU G H, ZHOU Y C, XIONG X K, LIU C, DUAN C F, SONG J M, LIU Q, LI Y X, SHEN S B, YAN W, YI H F, LU C, ZHANG L H. Main quality characteristics and comprehensive evaluation of different varieties of cassava[J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(20): 251-255, 261. (in Chinese)
- [11] 喻珊, 王友印, 邢晓东, 李开绵, 王志勇, 欧文军. 木薯饲料化应用研究进展[J]. 热带作物学报, 2023, 44(12): 2369-2383.
- YU S, WANG Y Y, XING X D, LI K M, WANG Z Y, OU W J. Research progress on feed application of cassava[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2023, 44(12): 2369-2383. (in Chinese)
- [12] CHARLES A L, HUANG T C, CHANG Y H. Structural analysis and characterization of a mucopolysaccharide isolated from roots of cassava (*Manihot esculenta* Crantz L.)[J]. Food Hydrocolloids, 2008, 22(1): 184-191.
- [13] CHIA H Y, TE H T, CHENG U H, CHANG B Y, CHUNG S K. Effects of sweet cassava polysaccharide extracts on endurance exercise in rats[J]. Journal of the International Society Sports Nutrition, 2013, 10(1): 18.
- [14] CHARLES A L, HUANG T. Sweet cassava polysaccharide extracts protects against CCl4 liver injury in wistar rats[J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23(6): 1494-1500.
- [15] UTHUMPORN U, NADIAH I, IZZUDDIN I, CHENG L, AIDA H. Physicochemical characteristics of non-starch polysaccharides extracted from cassava tubers[J]. Saine Malaysiana, 2017, 46(2): 223-229.
- [16] XI T, XIN Z, CHEN H G. Structure-activity relationship of plant polysaccharides[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2017, 42(21): 4104-4109.
- [17] 陈超鹏, 全伟, 吴明亮, 张文韬. 基于离散元法的油菜移栽垂直入土式成孔部件参数优化[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2019, 45(4): 433-439.
- CHEN C P, QUAN W, WU M L, ZHANG W T. Parameter optimization of vertical soil-filling hole-forming parts for rapeseed transplantation based on discrete element method[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2019, 45(4): 433-439. (in Chinese)
- [18] 陆建能, 麦碧仪, 刘义军, 赵雨诗, 陈云兰, 林丽静, 周大圣, 张明. 梯度乙醇沉淀工艺对灵芝多糖结构特征及生物活性的影响[J]. 热带作物学报, 2023, 44(4): 816-824.
- LU J N, MAI B Y, LIU Y J, ZHAO Y S, CHEN Y L, LIN L J, ZHOU D S, ZHANG M. Effect of gradient alcohol precipitation process on the structural characteristics and biological activity of ganoderma lucidum polysaccharides[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2023, 44(4): 816-824. (in Chinese)
- [19] 谭婉碧, 王琴飞, 余厚美, 何毅, 张振文. 植物源功能活

- 性多糖的提取及其研究进展[J]. 热带农业科学, 2022, 42(7): 90-98.
- TAN W B, WANG Q F, YU H M, HE Y, ZHANG Z W. Research progress, extraction and functional activity of plant polysaccharides[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2022, 42(7): 90-98. (in Chinese)
- [20] WU H Y, SHANG H M, GUO Y, ZHANG H X, WU H X. Comparison of different extraction methods of polysaccharides from cup plant (*Silphium perfoliatum* L.)[J]. Process Biochemistry, 2020, 90: 241-248.
- [21] LIAO D W, CHENG C, LIU J P, ZHAO L Y, HUANG D C, CHEN G T. Characterization and antitumor activities of polysaccharides obtained from ginger (*Zingiber officinale*) by different extraction methods[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 152: 894-903.
- [22] 董宇, 林翰清, 缪松, 卢旭. 酶法提取多糖的研究进展[J]. 食品工业科技, 2021, 42(3): 351-358.
- DONG Y, LIN H Q, MIAO S, LU X. Advances in enzymatic extraction of polysaccharides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(3): 351-358. (in Chinese)
- [23] CHEN X, ZHANG H, DU W Q, QIAN L Y, XU Y, HUANG Y G, XIONG Q P, LI H L, YUAN J. Comparison of different extraction methods for polysaccharides from *Crataegus pinnatifida* bunge[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 150: 1011-1019.
- [24] GUO L, TAN D C, HUI F Y, GU F, XIAO K M, HUA Y. Optimization of the cellulase-ultrasonic synergistic extraction conditions of polysaccharides from *Lenzites betulina*[J]. Chemistry & Biodiversity, 2019, 16(11): e1900369.
- [25] 徐湘, 庞旭佳, 张名位, 张瑞芬, 贾树超, 董丽红, 马勤, 赵东, 黄菲. 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 X, PANG X J, ZHANG M W, ZHANG R F, JIA X C, DONG L H, MA Q, ZHAO D, HUANG F. Physicochemical properties and antioxidant activity of chinese yam polysaccharides extracted by different methods[J]. Modern Food Science & Technology, 2023, 39(10): 128-138. (in Chinese)
- [26] 喻随, 邓霞, 陈思颖, 吴鹏, 占剑峰, 胡婷. 纤维素酶法提取佛手山药多糖的工艺[J]. 食品工业, 2020, 41(9): 60-63.
- YU S, DENG X, CHEN S Y, WU P, ZHAN J F, HU T. Extraction technology of polysaccharide from Foshou yam by enzymatic hydrolysis of cellulase[J]. The Food Industry, 2020, 41(9): 60-63. (in Chinese)
- [27] 张婷阳, 张伶, 蒋雨森, 刘洋, 王新惠, 赵欣欣, 苗保河. 玫瑰花渣多糖提取工艺优化及体外抗氧化活性分析[J/OL]. 食品工业科技, 1-18 (2024-05-13)[2024-06-22]. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023120256.
- ZHANG T Y, ZHANG L, JIANG Y Q, LIU Y, WANG X H, ZHAO X X, MIAO B H. Study of extraction process of polysaccharides from rosa residue and and evaluation of antioxidative activity[J/OL]. Science and Technology of Food Industry, 1-18(2024-05-13)[2024-06-22]. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023120256. (in Chinese)
- [28] 李晨京, 冯怡华, 王春玲. 紫甘薯水溶性多糖的提取工艺优化及结构研究[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(24): 125-133.
- LI C J, FENG Y H, WANG C L. Extraction optimization and structure of water-soluble polysaccharides from purple sweet potato[J]. Food Research and Development, 2022, 43(24): 125-133. (in Chinese)
- [29] 刘鑫, 陈香玉, 郭锐, 李旭娇, 寇宇星, 张俊爱, 吴艳. 碧螺春多糖的超声辅助酶提取工艺优化、分离纯化及性质分析[J]. 食品工业科技, 2021, 42(16): 138-146.
- LIU X, CHEN X Y, GUO R, LI X J, KOU Y X, ZHANG J A, WU Y. Process optimization of ultrasound-assisted enzyme extraction of Biluochun polysaccharide and its separation, purification and property analysis[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(16): 138-146. (in Chinese)
- [30] 陆源添, 刘迪. 杨树桑黄与紫孢侧耳共培养胞内多糖提取工艺优化及抗氧化活性分析[J/OL]. 食品工业科技, 1-19 (2024-05-31)[2024-06-22]. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024020046.
- LU Y T, LIU D. Optimization of intracellular polysaccharide extraction process and analysis of antioxidant activity in co-cultures of sanghuangporus vaninii and pleurotus sapidus[J/OL]. Science and Technology of Food Industry, 1-19 (2024-05-31)[2024-06-22]. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2024020046. (in Chinese)
- [31] 韩宗辰. 烟草专用 α -淀粉酶的基因挖掘及其表达优化[D]. 武汉: 华中农业大学, 2023.
- HAN Z C. Gene mining and expression optimization of tobacco-specific alpha-amylase[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2023. (in Chinese)
- [32] 胡晓龙, 冯大鸿, 田瑞杰, 王永亮, 曹满堂, 魏涛, 韩素娜, 沈祥坤, 何培新. 中温大曲产淀粉酶菌株的筛选鉴定及培养条件优化[J]. 中国酿造, 2023, 42(1): 78-85.
- HU X L, FENG D H, TIAN R J, WANG Y L, CAO M T, WEI T, HAN S N, SHEN X K, HE P X. Isolation, identification and culture conditions optimization of amylase-producing strains in medium-temperature Daqu[J]. China Brewing, 2023, 42(1): 78-85. (in Chinese)
- [33] YEKTA G, PÜRLÉN U, SEVAL D. Optimization of pullulan production from hydrolysed potato starch waste by response surface methodology[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 83(3): 1330-1337.

- [34] 谭婉碧, 王琴飞, 张金泉, 余厚美, 张振, 何毅. 不同菌种发酵木薯粉品质和糊化特性比较分析[J]. 食品科学, 2023, 44(10): 56-63.
- TAN W B, WANG Q F, ZHANG J Q, YU H M, ZHANG Z W, HE Y. Comparative analysis on quality and gelatinization characteristics of cassava flour fermented by different strains[J]. Food Science, 2023, 44(10): 56-63. (in Chinese)
- [35] 董义, 沈才洪, 曾里, 黄张君, 刘晓碧, 刘文虎, 何强, 曾凡骏. 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.
- DONG Y, SHEN C H, ZENG L, HUANG Z J, LIU X B, LIU W H, HE Q, ZENG F J. Enzymolysis-assisted extraction of polysaccharides in Chinese yam[J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2015, 36(3): 56-60. (in Chinese)
- [36] ZHANG Y T, XU F, WANG Q F, ZHANG Y J, WU G, TAN L H, ZHANG Z W. Effects of moisture content on digestible fragments and molecular structures of high amylose jackfruit starch prepared by improved extrusion cooking technology[J]. Food Hydrocolloids, 2022, 133: 108023.
- [37] 陈雪梅, 刘夏蕾, 林标声, 陈小红, 黎英. 百香果果皮主要有效成分连续提取工艺[J]. 热带作物学报, 2023, 44(2): 405-418.
- CHEN X M, LIU X L, LIN B S, CHEN X H, LI Y. Continuous extraction technology of main active components of passion fruit peel[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2023, 44(2): 405-418. (in Chinese)
- [38] 郭蒙, 郭纯, 蒋青, 高林晓. 黄果茄中绿原酸超声辅助提取工艺优化及抗氧化活性[J]. 热带作物学报, 2023, 44(4): 825-833.
- GUO M, GUO C, JIANG Q, GAO L X. Ultrasound-assisted extraction process optimization of chlorogenic acid from *Solanum xanthocarpum* fruits and its antioxidant activity[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2023, 44(4): 825-833. (in Chinese)
- [39] JIA Y N, GAO X D, XUE Z H, WANG Y J, LU Y P, ZHANG M, PANICHAYUPAKARANANT P, CHEN H X. Characterization, antioxidant activities, and inhibition on α -glucosidase activity of corn silk polysaccharides obtained by different extraction methods[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 163: 1640-1648.
- [40] XIAO B, HUANG Q Q, CHEN S, YAO J, ZENG J Y, SHEN J M, WANG G, WANG W M, ZHANG Y J. Comparison on chemical features and antioxidant activity of polysaccharides from *Auricularia auricula* by three different enzymes[J]. Journal of Food Biochemistry, 2022, 46(5): e14051.
- [41] HONG S, ZHANG Z Q, LI Y X, ZHANG Y, YANG L N, WANG S N, HE Y T, LIU J, ZHU D S, LIU H. Effects of different enzyme extraction methods on the properties and prebiotic activity of soybean hull polysaccharides[J]. Heliyon, 2022, 8(11): e11053.
- [42] 张妮, 陶文扬, 罗梦帆, 周万怡, 郑晓杰, 李彦坡, 金火喜, 杨颖. 酶解辅助提取对铁皮石斛多糖结构和菌群调节功能的影响[J]. 浙江农业学报, 2024, 36(9): 2099-2109.
- ZHANG N, TAO W Y, LUO M F, ZHOU W Y, ZHENG X J, LI Y P, JIN H X, YANG Y. Effects of enzyme-assisted extraction on polysaccharide composition and gut microbiota regulation function of *Dendrobium officinale*[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2024, 36(9): 2099-2109. (in Chinese)