

玉竹全粉的酶解改性及功能品质评价

李慧敏^{1,2}, 张芳铭¹, 徐攀¹,
曹雨欣¹, 郑淘¹, 赵利平³, 郑慧^{1*}, 杨勇^{1*}

¹湖南中医药大学药学院食品药品工程系,长沙 410208; ²嘉实(湖南)医药科技有限公司,长沙 410006;

³湖南省天宏药业有限公司,邵东 422800

摘要:采用酶解方法改善玉竹全粉的应用特性和功能品质,通过比较酶解玉竹全粉与真空冷冻干燥、传统炮制及真空微波干燥制备的玉竹全粉品质特性差异,以评估玉竹全粉酶解改性效果。以果胶酶、纤维素酶和木瓜蛋白酶组成的复合酶对玉竹全粉进行酶解,以物性指标(冲调性和色泽)、化学指标(总多糖和总黄酮含量)为评价指标,通过响应面法考察复合酶用量、时间、温度及 pH 值对改性玉竹全粉品质指标的影响,并优化工艺参数。采用体外抗氧化能力(Fe^{3+} 还原能力、DPPH·清除能力和·OH清除能力)及体外降血糖能力(α -淀粉酶及 α -葡萄糖苷酶抑制作用)等指标综合比较酶解改性对玉竹全粉功能活性的影响。结果通过响应面法优化获得玉竹全粉的最佳酶解工艺条件为:酶用量 3%,酶解时间 80 min,温度 40 °C,pH 值 5.5。酶解改性后玉竹全粉 Fe^{3+} 还原能力和·OH清除能力增强, α -淀粉酶的抑制能力亦增强,酶解改性提高了玉竹全粉的体外抗氧化和体外降血糖作用。复合酶解改性能有效改善玉竹全粉的应用特性和功能品质,可提升玉竹全粉的保健功能价值。

关键词:玉竹全粉;酶解改性;理化特性;体外抗氧化;降血糖;权重分析法

中图分类号:R915

文献标识码:A

文章编号:1001-6880(2022)12-2098-12

DOI:10.16333/j.1001-6880.2022.12.014

Enzymatic modification and functional quality evaluation of *Polygonatum odoratum* whole powder

LI Hui-min^{1,2}, ZHANG Fang-ming¹, XU Pan¹,
CAO Yu-xin¹, ZHENG Tao¹, ZHAO Li-ping³, ZHENG Hui^{1*}, YANG Yong^{1*}

¹Department of Food and Drug Engineering, College of Pharmacy, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China; ²Harvest (Hunan) Pharmaceutical Co., Ltd., Changsha 410006, China; ³Hunan Province Tianhong Medicine Co., Ltd., Shaodong 422800, China

Abstract: The enzymatic modification was used to improve the application characteristics and functional quality of *Polygonatum odoratum* whole powder (PWP). The application characteristics and functional quality were evaluated by comparing the quality characteristics of PWP prepared by enzymatic modifying, vacuum freeze-drying, traditional processing and vacuum microwave drying. PWP was modified by compound enzymes consisting of pectinase, cellulase and papain, and the process parameters of enzymatic modification were studied and optimized by response surface method, and physical properties (dispersity and colour) and chemical index (total polysaccharides and flavonoids content) as evaluation indexes. *In vitro* antioxidant capacity (Fe^{3+} reducing ability, DPPH· scavenging ability and ·OH scavenging ability) and *in vitro* hypoglycemic ability (α -amylase and α -glucosidase inhibition) were applied to evaluate the functional activities of PWP. The optimum enzymatic hydrolysis conditions of PWP were as follows: 3% enzyme dosage, 80 min enzymatic hydrolysis time, 40 °C temperature, pH 5.5. The Fe^{3+} reducing ability and ·OH scavenging ability of PWP were enhanced, and the inhibitory ability of α -amylase was also enhanced. The antioxidant and hypoglycemic effects of PWP were improved by enzymatic modification. The performance of compound enzymatic modification can effectively improve the application characteristics and functional qualities of PWP.

ty, and enhance the health function value of PWP.

Key words: *Polygonatum odoratum* whole powder; enzymatic modification; physical and chemical properties; antioxidative ability *in vitro*; hypoglycemic ability; weight analysis

玉竹为百合科植物玉竹(*Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce)的干燥根茎,具有滋阴润燥,生津止渴的功效,现代药理学认为玉竹具有辅助降血糖及抗氧化等功能^[1,2]。玉竹经过传统炮制后再行制粉往往因黏性而制粉困难,故市场上的玉竹产品以玉竹片及玉竹条为主,采用新方法开发玉竹全粉对拓宽玉竹用途和提升价值具有重要意义,本课题组前期研发了玉竹全粉的趁鲜制备方法,通过该法制备的玉竹全粉可保持玉竹外观色泽,但其流动性和冲调性仍不理想。酶解改性处理是常用的功能性粉体改性技术,前期初步研究发现复合酶解可有效改善玉竹全粉品质^[3]。本实验拟采用多指标综合评价方法,通过响应面法优化玉竹全粉的酶解工艺条件,通过与不同玉竹全粉产品的体外抗氧化和体外降血糖作用多维度比较,综合评估酶解改性后玉竹全粉的功能特性,拟为提升玉竹全粉保健功能价值和健康应用范围提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

玉竹(品种猪屎尾):产地湖南邵东,湖南天宏药业有限公司提供;D(+) -无水葡萄糖(D(+)-glucose;DSTDW000501;纯度HPLC≥98%;成都德思特生物技术有限公司);芦丁(rutin;B20771;纯度HPLC≥98%;上海源叶生物科技有限公司);纤维素酶(cellulase;20170915;15 000 U/g;100%;国药集团化学试剂有限公司);果胶酶(pectinase;S10007;50 U/g;100%;上海源叶生物科技有限公司);木瓜蛋白酶(papin;S10011;800 U/mg;100%;上海源叶生物科技有限公司)。

DZKW-4电子恒温水浴锅(北京中兴伟业仪器有限公司);WB-5真空微波干燥箱(福州法莫优科机械科技有限公司);KQ-1000DE型数控超声波清洗机(昆山市超声仪器有限公司);CS-580分光测色仪(杭州彩谱科技有限公司);UV-1800紫外-可见分光光度计(日本岛津公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 玉竹全粉的制备

新鲜玉竹根茎5 kg洗净后去除须根,沥水,净制后的玉竹采用多功能料理机破碎后得鲜玉竹浆。将部分玉竹匀浆真空冷冻干燥至水分含量为10%

以下得到真空冷冻干燥玉竹全粉(LD)。部分玉竹浆于温度60℃、真空度-0.08 MPa真空微波干燥至水分含量为10%以下得真空微波干燥玉竹全粉(ZW)。取净制玉竹采用传统工艺干制后制粉,即于50℃常压鼓风干燥柔软后反复揉搓至断面无硬心半透明,继续干燥至水分含量为10%以下,取出打粉过50目筛,得到传统炮制玉竹全粉(CT)。

1.2.2 玉竹全粉的酶解改性工艺研究

称取100 g真空微波干燥玉竹全粉(ZW),加5倍蒸馏水分散后用0.1 mol/L柠檬酸调节pH,添加复合酶^[4,5](纤维素酶:木瓜蛋白酶:果胶酶=1:1:1),混匀后于一定温度酶解反应,反应完成后置80℃水浴灭酶10 min,采用真空微波干燥设备干燥即得酶解改性玉竹全粉(MJ)。

1.2.2.1 单因素实验

本实验选取酶用量、处理时间、温度和酶解pH值4个因素作为考察指标。因纤维素酶最适温度为45~65℃,最适pH为4.5~6.5;果胶酶最适温度为50℃,最适pH为3.0~6.0;木瓜蛋白酶最适温度为50~60℃,最适pH为5.0~7.0,故酶解温度及pH水平设定是根据3种酶的最适温度及pH进行综合考虑后拟定。

按照以下方法设计单因素实验:称取相同质量真空微波干燥玉竹全粉(ZW),加5倍量蒸馏水,于pH5.5、温度60℃条件下酶解50 min,干燥,考察酶用量(1%、2%、3%、4%和5%)对MJ品质的影响;称取相同质量ZW,加5倍量蒸馏水,于酶用量1%、pH5.5和酶解温度60℃条件下酶解,干燥,考察酶解时间(40、60、80、100和120 min)对MJ品质的影响;称取相同质量ZW,加5倍量蒸馏水,于酶用量1%、pH5.5条件下酶解50 min,干燥,考察酶解温度(30、40、50、60和70℃)对MJ品质的影响;称取相同质量ZW,加5倍量蒸馏水,于酶用量1%、温度60℃条件下酶解50 min,干燥,考察酶解pH(4.5、5.0、5.5、6.0、6.5)对MJ综合品质的影响。

1.2.2.2 响应面优化实验

本实验在单因素实验基础上,根据Box-Behnken的中心组合试验设计原理,考察酶用量、酶解时间、酶解温度和酶解pH值等4个因素,采用4因素3水平的响应面分析方法,以MJ综合评分为响应值

(Y),优化酶解工艺条件。

1.2.3 玉竹全粉的物性测定方法

1.2.3.1 冲调性测定

参照 Zhang 等^[6]的方法,将装有 100 mL 的 50 ℃蒸馏水烧杯置于磁力搅拌器上,保持转速 500 r/min,准确称取 1.0 g 样品,快速均匀分撒于水中,记录样品全部分散于水中所需时间。

1.2.3.2 色泽测定

采用分光测色仪 CS-580 对样品 L^* 、 a^* 、 b^* 值进行测定,分析其与白板的色差值,其中 L^* 值表示亮度(0 = 黑色,100 = 白色), a^* 值表示红绿色度($-a^*$ = 绿色, $+a^*$ = 红色), b^* 值表示黄蓝色度($-b^*$ = 蓝色, $+b^*$ = 黄色),每个样品重复 3 次,取平均值。按公式(1)计算 ΔE 值。

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2} \quad (1)$$

式中: L^* 、 a^* 、 b^* 为样品测量值, L_0^* 、 a_0^* 、 b_0^* 为白板测量值。

1.2.4 有效成分含量测定方法

1.2.4.1 总多糖含量测定方法

总多糖含量的测定参照 Peng 等^[7]方法。准确称取样品 0.5 g,按液料比 50:1 加蒸馏水,于 60 ℃、450 W 条件下超声提取 35 min,经 4 000 r/min 离心 15 min 后,取上清液定容至 50 mL,得到总多糖提取液。精密量取提取液 2 mL,加乙醇 10 mL,搅拌,4 000 r/min 离心 15 min,取沉淀加水溶解定容至 50 mL,摇匀后制备得到待测液。总多糖标准曲线的绘制:参照 2020 版《中国药典》玉竹多糖含量测定方法绘制总多糖标准曲线: $y = 6.4577x + 0.0177$ ($R^2 = 0.9982$)。

精密吸取待测样品溶液 2.0 mL,按照 2020 版《中国药典》中规定的苯酚-硫酸法测定各玉竹全粉样品的总多糖含量。总多糖含量测定结果计算以扣除样品水分含量后的干基为基准并根据标准曲线计算总多糖含量(mg/g DW)。

1.2.4.2 总黄酮含量测定方法

参照 Zhang 等^[8]方法超声辅助提取总黄酮,准确称取样品 1.0 g,按液料比 30:1 加入 70% 乙醇,在温度 60 ℃ 和功率 450 W 条件下超声提取 50 min,然后 4 000 r/min 离心 15 min,取上清液旋蒸至无乙醇味,蒸馏水定容至 50 mL,摇匀后制备得到待测液。总黄酮标准曲线绘制参照 Cheng 等^[9]方法,采用硝酸铝盐显色法测定玉竹中总黄酮含量。以含量(mg)为横坐标,吸光度值为纵坐标绘制标准曲线: y

$$= 1.2392x - 0.0029 (R^2 = 0.9999)。$$

精密吸取待测样品溶液 5.0 mL,按照总黄酮标准曲线绘制的方法测定吸光度。总黄酮含量测定结果计算以扣除样品水分含量后的干基为基准并根据标准曲线计算总黄酮含量(mg/g DW)。

1.2.5 玉竹全粉改性效果的综合指标评价方法

基于 AHP-CRITIC 权重分析计算方法^[3,10,11],为避免单指标评价的不足,本实验采用多指标综合评价方法对改性效果进行评价,以玉竹全粉物性(冲调性和色泽)及有效成分含量(总多糖和总黄酮含量)为综合权重指标形成的综合指标作为评价指标,优化玉竹全粉酶解改性工艺参数。

1.2.6 酶解玉竹全粉的体外功能评比

作为功能性食药原料,玉竹加工工艺对功能特性的影响是关键关注点。本实验分别以真空微波干燥玉竹全粉(ZW)、真空冷冻干燥玉竹全粉(LD)和传统炮制玉竹全粉(CT)为比较对象,通过测定采用体外抗氧化能力和体外降血糖作用等功能品质,以评估酶解改性工艺在功能特性方面的优势。

1.2.6.1 测试液的制备

水提物制备:准确称取玉竹全粉 2.5 g,按液料比 50 加入蒸馏水,于 60 ℃、450 W 条件下超声提取 35 min,经 4 000 r/min 离心 15 min 后,取上清液于 50 ℃减压浓缩,蒸馏水定容至 25 mL,得到质量浓度为 100 mg/mL 玉竹全粉水提物,并将其分别稀释为 20、40、60 和 80 mg/mL 的浓度,于 4 ℃冰箱中保存备用。

醇提物制备:准确称取玉竹全粉 5.0 g,按液料比 30 加入 70% 乙醇,于 60 ℃、450 W 条件下超声提取 50 min,经 4 000 r/min 离心 15 min 后,取上清液于 45 ℃减压浓缩至无乙醇味,蒸馏水定容至 50 mL,得到质量浓度为 100 mg/mL 玉竹全粉醇提物,并将其分别稀释为 20、40、60 和 80 mg/mL 的浓度,于 4 ℃冰箱中保存备用。

1.2.6.2 体外抗氧化功能测定

Fe³⁺ 还原能力测定^[12]:取醇提物各浓度提取液 1 mL,分别加 2.5 mL 磷酸盐缓冲液(0.2 mol/L, pH = 6.6),2.5 mL 铁氰化钾(10 mg/mL)充分混匀,50 ℃水浴 20 min 后加入 2.5 mL 三氯乙酸(100 mg/mL),3 000 r/min 离心 10 min,取上清液 2.5 mL,加 2.5 mL 蒸馏水,0.5 mL 三氯化铁(1 mg/mL)充分混匀,静置 10 min,以蒸馏水为空白,在 700 nm 处测定吸光度。

DPPH · 清除能力测定^[13]:取醇提物各浓度提

取液 2 mL, 分别加入 2 mL DPPH⁺ 溶液 (0.2 mol/mL) 摆匀, 避光放置 30 min, 以无水乙醇调零, 测定 517 nm 波长处的吸光度 (A_1); 测定不同浓度提取液与无水乙醇混合后的吸光度为 A_2 ; 以蒸馏水代替样液, 加入 2 mL DPPH⁺ 溶液, 测定吸光度 A_0 , 按公式(2)计算 DPPH⁺ 清除率。

$$\text{清除率} = [1 - (A_1 - A_2)/A_0] \times 100\% \quad (2)$$

·OH 清除能力测定: 取醇提物各浓度提取液 1 mL, 分别加入 1 mL FeSO₄ 溶液 (9 mmol/L), 1 mL 水杨酸溶液 (9 mmol/L), 并加入 1 mL H₂O₂ 溶液 (8.8 mmol/L) 启动反应, 于 37 °C 反应 30 min, 以蒸馏水为空白, 于 510 nm 处测定吸光度 (A_1); 以蒸馏水代替样品溶液测定空白对照液的吸光度 (A_0); 测定不加 H₂O₂ 的样品溶液本底吸收值 (A_2), 按公式(2)计算 ·OH 清除率。

1.2.6.3 体外降血糖功能测定

α -糖苷酶活性抑制作用^[14]: 于酶标板上加入 50 μL α -糖苷酶 (20 U/mL) 及 50 μL 样液, 混匀, 于 50 °C 恒温反应 20 min, 加入 100 μL PNPG 溶液 (4 mg/mL), 混匀, 于 50 °C 恒温反应 30 min, 最后加入 200 μL Na₂CO₃ 溶液 (2 mol/L), 测定吸光度 $A_{405\text{ nm}}$, 按公式(3)计算抑制率。

$$\text{抑制率} = [1 - (A_1 - A_0)/A_2] \times 100\% \quad (3)$$

式中: A_1 : 样品组 (样品 + 酶液 + 底物) 吸光度;

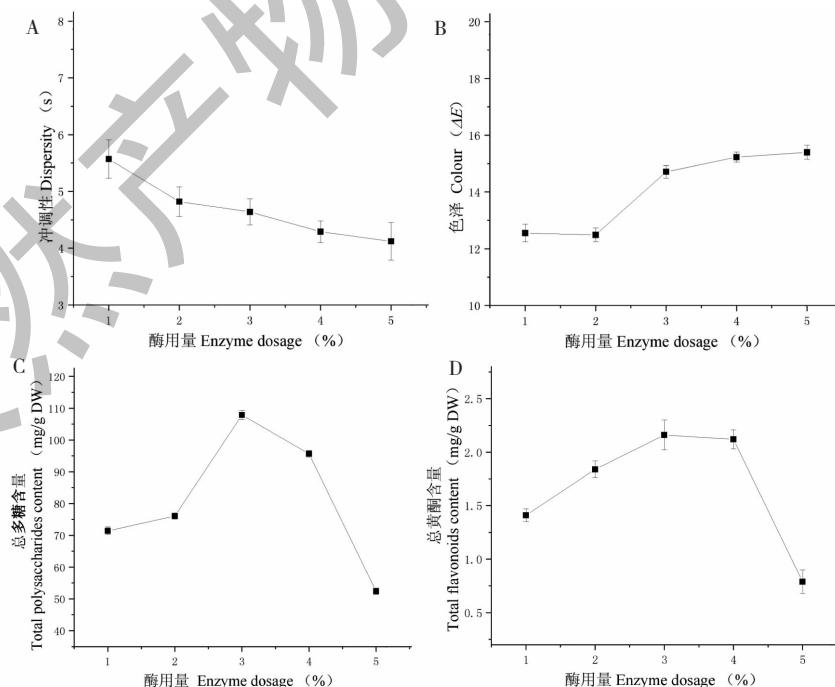


图 1 酶用量对玉竹全粉各指标的影响

Fig. 1 Effect of enzyme dosage on all indexes of *P. odoratum* whole powder

A_2 : 对照组 (缓冲液 + 酶液 + 底物) 吸光度; A_0 : 样品空白组 (样品 + 缓冲液) 吸光度。

α -淀粉酶活性抑制作用: 吸取 200 μL 样液与 200 μL α -淀粉酶溶液 (20 U/mL) 于 10 mL 离心管中, 混匀, 37 °C 水浴活化 10 min, 加入 400 μL 1% 可溶性淀粉溶液, 于 37 °C 水浴准确反应 10 min。加入 400 μL DNS 显色剂, 沸水浴 5 min 后立即流水冷却以终止反应, 加蒸馏水 6 mL 稀释, 测定吸光度 $A_{540\text{ nm}}$, 以蒸馏水代替样液测定 A_0 , 按公式(4)计算抑制率。

$$\text{抑制率} = (A_0 - A)/A_0 \times 100\% \quad (4)$$

1.2.7 数据分析

采用 SPSS 20.0 对数据进行 ANOVA 分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。采用 Origin Pro 2015 进行图表绘制。

2 结果与分析

2.1 酶解改性工艺优化

分别对选出的四个反应条件酶用量、处理时间、温度和酶解 pH 值进行单因素和响应面优化实验, 获取玉竹全粉复合酶解改性的最佳反应工艺参数。

2.1.1 复合酶用量对 MJ 品质的影响

由图 1A 可知, MJ 冲调性随着酶用量的增加而改善, 酶解使大分子降解增加了冲调性; 由图 1B 可知, 随着酶用量的增加 MJ 色泽逐渐加深, 可能与酶

蛋白添加增加后续工艺过程中的美拉德反应。由图 1C 可知,随着酶用量的增加 MJ 总多糖含量先增后减,酶用量为 3% 时达到最大值,酶用量适量增加促进细胞多糖物质的释放,当酶用量过大则会导致多糖的部分降解;由图 1D 可知,总黄酮含量随着酶用量增加而增加,酶解促进黄酮类物质由结合态转变为游离态,酶用量继续增加总黄酮含量则减少,可能

与黄酮类物质与酶蛋白之间的吸附作用导致游离黄酮产生新的结合有关。

酶用量过低时,冲调性、总多糖含量及总黄酮含量相对较低,色泽较好;酶用量过高时,色泽、总多糖含量及总黄酮含量较低,冲调性较好。通过综合权重分析法评价结果(见表 1)可知当酶用量为 3% 时,MJ 综合品质最佳。

表 1 酶用量对玉竹全粉品质的影响

Table 1 Effect of enzyme dosage on the quality of *P. odoratum* whole powder

酶用量 Enzyme dosage(%)	水分含量 Moisture content(%)	冲调性 Dispersity(s)	色泽 Colour(ΔE)	总多糖 Total polysaccharides (mg/g DW)	总黄酮 Total flavonoids (mg/g DW)	评分 Score
1	7.84	5.57 ± 0.34 ^a	12.55 ± 0.31 ^b	71.41 ± 1.18 ^d	1.41 ± 0.06 ^c	51.93
2	4.72	4.82 ± 0.26 ^b	12.49 ± 0.24 ^b	76.09 ± 0.99 ^c	1.84 ± 0.08 ^b	70.01
3	8.57	4.64 ± 0.23 ^b	14.71 ± 0.22 ^a	107.87 ± 1.45 ^a	2.16 ± 0.14 ^a	75.56
4	10.48	4.29 ± 0.19 ^b	15.23 ± 0.18 ^a	95.65 ± 1.07 ^b	2.12 ± 0.09 ^a	65.14
5	5.10	4.12 ± 0.33 ^b	15.40 ± 0.25 ^a	52.44 ± 1.01 ^e	0.79 ± 0.11 ^d	9.63

注:字母不同表示有显著性差异, $P < 0.05$, 下同。

Note: Different letter indicates significant differences, $P < 0.05$, the same below.

2.1.2 酶解时间对 MJ 品质的影响

随着酶解时间增加,小分子成分将越来越多,冲调性增加,当时间超过一定值,酶解作用结束,对 MJ 冲调性的影响将趋于平缓。如图 2A 所示,酶解时间在 120 min 以内,时间增加会降低玉竹全粉的冲调性;由图 2B 可知,酶解时间增加 MJ 色泽略有加

深,这可能与酶解过程中产生非酶褐变等有关。酶解作用可以催化氢键等水解,影响蛋白质与多糖间的相互作用^[15],而玉竹中蛋白质含量较高^[16],酶解时间增加将导致总多糖含量增加(见图 2C);由图 2D 可知,总黄酮含量随着酶解时间的延长先增后减,当酶解时间超过 80 min,总黄酮含量减少。

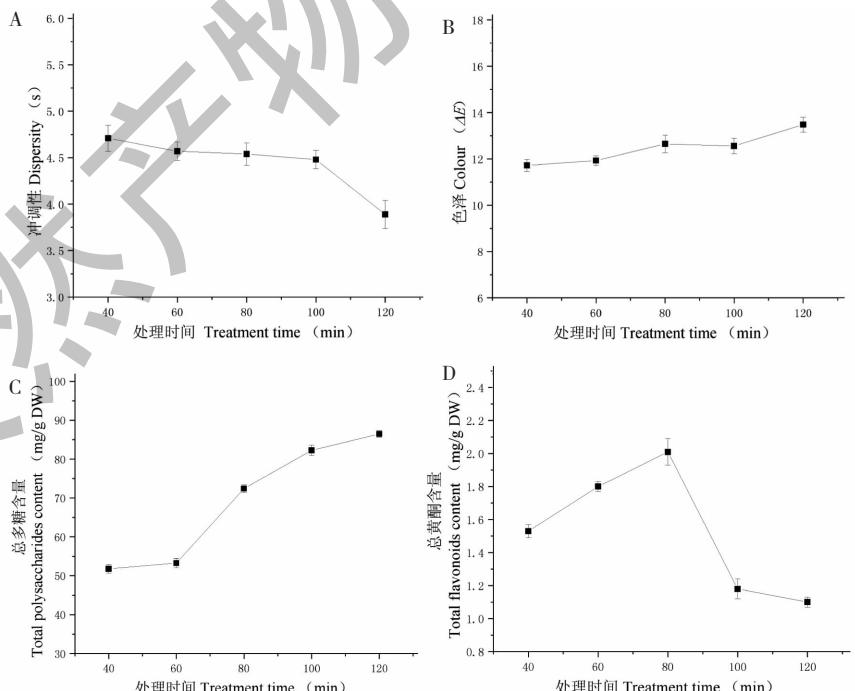


图 2 酶解时间对玉竹全粉各指标的影响

Fig. 2 Effect of treatment time on all indexes of *P. odoratum* whole powder

通过综合权重分析法评价结果(见表2)可知当

酶解时间为80 min时,MJ综合评分最高。

表2 处理时间对玉竹全粉综合品质的影响

Table 2 Effect of treatment time on the quality of *P. odoratum* whole powder

时间 Treatment time (min)	水分含量 Moisture content (%)	冲调性 Dispersity (s)	色泽 Colour (ΔE)	总多糖 Total polysaccharides (mg/g DW)	总黄酮 Total flavonoids (mg/g DW)	评分 Score
40	6.80	4.71 ± 0.14 ^a	11.72 ± 0.26 ^b	51.78 ± 1.11 ^e	1.53 ± 0.04 ^b	33.28
60	5.88	4.57 ± 0.10 ^a	11.93 ± 0.21 ^b	53.28 ± 1.19 ^d	1.80 ± 0.03 ^a	45.35
80	9.82	4.54 ± 0.12 ^a	12.65 ± 0.38 ^{ab}	72.42 ± 0.98 ^c	2.01 ± 0.08 ^a	70.48
100	10.38	4.48 ± 0.10 ^a	12.56 ± 0.33 ^{ab}	82.26 ± 1.30 ^b	1.18 ± 0.06 ^c	49.08
120	8.40	3.89 ± 0.15 ^b	13.48 ± 0.32 ^a	86.47 ± 0.88 ^a	1.10 ± 0.03 ^c	46.91

2.1.3 酶解温度对MJ品质的影响

由图3A可知,MJ冲调性随着酶解温度增加而逐渐改善;由图3B可知,MJ色泽随着酶解温度升高呈先降后增趋势,可能与低温时酶解作用使部分深色物质降解,较高温度时褐变反应增强有关。由图3C可知,酶解温度升高,MJ总多糖含量先增后减,其含量变化的原因除与多糖水解有关外,还可能与复

合酶最适温度有关,研究表明木瓜蛋白酶对玉竹中总多糖含量的影响较大^[5],而木瓜蛋白酶的最适温度为40~60℃;由图3D可知,总黄酮含量温度增加先增后减,温度为40℃时总黄酮含量的增加作用最佳,温度过高可能会导致酶活力降低和加快黄酮的氧化降解。

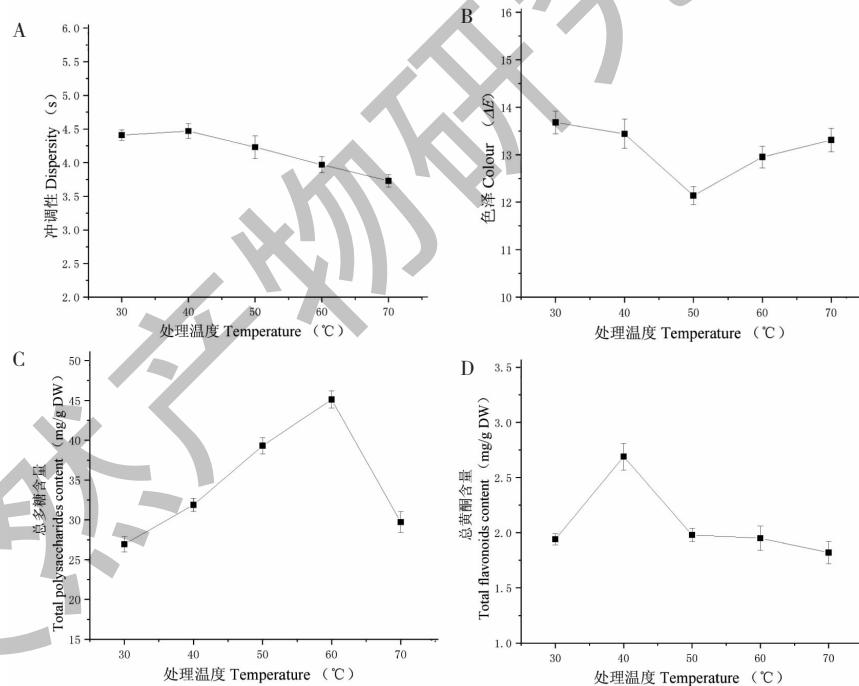


图3 处理温度对玉竹全粉各指标的影响

Fig. 3 Effect of treatment temperature on all indexes of *P. odoratum* whole powder

通过综合权重分析法评价结果(见表3)可知当温度为40℃时,MJ综合评分最高。

2.1.4 酶解pH对MJ品质的影响

酶解pH对MJ品质产生的影响主要通过影响各酶活性来达到,由图4A可知,随着pH增加,MJ

冲调性逐渐降低。由图4B可知,随着酶解pH增加,色泽呈先增后降。由图4C可知,pH增加总多糖含量呈先增后减,pH为5.5时达到最佳,可能与复合酶在此pH条件下活性基团解离,基团活性较强有关^[17];由图4D可知,总多糖含量随pH增加先

增后降,多糖含量最高值为 pH 为 5.5 的条件。

表 3 酶解温度对玉竹全粉综合品质的影响

Table 3 Effect of treatment temperature on the quality of *P. odoratum* whole powder

温度 Treatment temperature(°C)	水分含量 Moisture content (%)	冲调性 Dispersity(s)	色泽 Colour(ΔE)	总多糖 Total polysaccharides (mg/g DW)	总黄酮 Total flavonoids (mg/g DW)	评分 Score
30	9.00	4.41 ± 0.08 ^a	13.68 ± 0.24 ^b	26.94 ± 0.96 ^d	1.94 ± 0.05 ^c	8.10
40	8.16	4.47 ± 0.11 ^b	13.44 ± 0.31 ^b	31.89 ± 0.82 ^c	2.69 ± 0.12 ^b	61.63
50	5.15	4.23 ± 0.17 ^b	12.14 ± 0.19 ^a	39.31 ± 1.02 ^a	1.98 ± 0.06 ^a	43.47
60	7.92	3.97 ± 0.12 ^b	12.95 ± 0.23 ^a	45.12 ± 1.09 ^b	1.95 ± 0.11 ^a	47.13
70	6.25	3.73 ± 0.09 ^b	13.31 ± 0.25 ^a	29.73 ± 1.31 ^e	1.82 ± 0.10 ^d	14.83

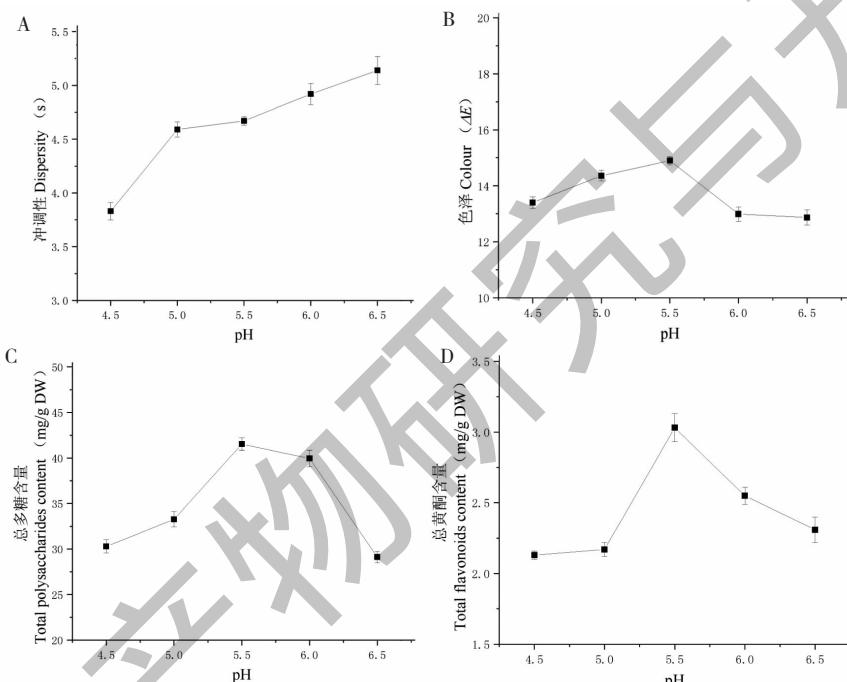


图 4 pH 值对玉竹全粉各指标的影响

Fig. 4 Effect of pH value on all indexes of *P. odoratum* whole powder

通过综合权重分析法评价结果(见表 4)可知,当酶解 pH 为 5.5 时 MJ 综合评分最高。

表 4 pH 值对玉竹全粉品质的影响

Table 4 Effect of pH value on the quality of *P. odoratum* whole powder

pH	水分含量 Moisture content (%)	冲调性 Dispersity (s)	色泽 Colour (ΔE)	总多糖 Total polysaccharides (mg/g DW)	总黄酮 Total flavonoids (mg/g DW)	评分 Score
4.5	8.60	3.83 ± 0.08 ^c	13.40 ± 0.21 ^{bc}	30.28 ± 0.72 ^d	2.13 ± 0.03 ^b	25.64
5	8.74	4.59 ± 0.07 ^b	14.36 ± 0.19 ^{ab}	33.27 ± 0.84 ^c	2.17 ± 0.05 ^b	22.44
5.5	8.16	4.67 ± 0.04 ^b	14.90 ± 0.15 ^a	41.52 ± 0.68 ^a	3.03 ± 0.10 ^a	75.09
6	8.25	4.92 ± 0.10 ^a	12.99 ± 0.26 ^c	39.95 ± 0.89 ^b	2.55 ± 0.06 ^{ab}	69.34
6.5	7.78	5.14 ± 0.13 ^a	12.87 ± 0.27 ^c	29.12 ± 0.61 ^d	2.31 ± 0.09 ^b	27.40

2.1.5 响应面实验结果

根据单因素试验结果,采用响应面软件 Design Expert 8.0.6.1 对酶解工艺参数进行 4 因素 3 水平

的中心组合设计(central composite design, CCD),以综合评分为响应值进行工艺参数优化。因素水平表见表 5。

表 5 响应面试验因素水平

Table 5 Response surface test factor level

水平 Level	A 酶用量 Enzyme dosage(%)	B 时间 (min)	C 温度 Temperature(℃)	D pH
-1	2	60	30	5
0	3	80	40	5.5
1	4	100	50	6

CCD 试验设计与结果见表 6,利用响应面软件对实验结果进行方差分析,结果见表 7。

表 6 响应面试验设计与结果

Table 6 Response surface test design and results

实验组 Experimental group	A 酶用量 Enzyme dosage(%)	B 时间 Time(min)	C 温度 Temperature(℃)	D pH	综合评分 Score
1	-1	0	1	0	40.97
2	0	0	-1	1	26.76
3	0	0	0	0	50.40
4	1	0	0	1	8.31
5	1	0	-1	0	22.60
6	0	0	0	0	60.16
7	0	1	-1	0	36.75
8	0	-1	0	1	27.07
9	1	1	0	0	25.66
10	1	0	1	0	17.06
11	0	0	1	-1	46.18
12	0	-1	-1	0	29.56
13	-1	0	0	-1	33.00
14	-1	-1	0	0	34.90
15	-1	0	0	1	43.26
16	0	1	0	-1	35.82
17	0	1	0	1	26.74
18	0	0	1	1	47.01
19	0	0	0	0	51.70
20	-1	1	0	0	32.33
21	0	0	0	0	40.59
22	-1	0	-1	0	28.24
23	0	0	0	0	35.96
24	0	1	1	0	26.20
25	0	-1	0	-1	40.73
26	1	-1	0	0	16.07
27	0	-1	1	0	26.23
28	0	0	-1	-1	29.55
29	1	0	0	-1	27.77

由表 7 可知, 回归模型 $F = 4.95$, $P = 0.0017 < 0.01$, 表明该回归方程模型差异极显著, 模型具有统计学意义。失拟项 $F = 0.42$, $P = 0.8923 > 0.05$, 影响不显著, 表明模型拟合良好, 可用此模型对玉竹全粉酶解改性工艺进行分析并预测最佳工艺参数。由回归方程显著性差异结果可知, 酶添加量(A)及 B^2 对试验结果影响极显著($P < 0.01$), A^2 对试验结果

影响高度显著, C^2 对试验结果影响显著。由 P 值大小可知, 各因素对玉竹全粉综合品质的影响排序为: 酶添加量(A)>pH(D)>温度(C)>时间(B)。以综合评分为响应值, 得到综合评分预测值对编码自变量的回归方程为: $Y = 47.76 - 7.94A + 0.75B + 2.52C - 2.83D + 3.04AB - 4.57AC - 7.43AD - 12.98A^2 - 9.49B^2 - 7.11C^2 - 5.22D^2$

表 7 回归模型方差分析

Table 7 Regression model analysis of variance

方差来源 Variance source	平方和 Sum of squares	自由度 <i>df</i>	均方 Mean square	<i>F</i> 值 <i>F</i> -value	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	显著性 Significance
模型 Model	2 795.94	11	254.18	4.95	0.0017	**
<i>A</i>	755.73	1	755.73	14.72	0.0013	**
<i>B</i>	6.66	1	6.66	0.13	0.7231	
<i>C</i>	75.95	1	75.95	1.48	0.2405	
<i>D</i>	95.77	1	95.77	1.87	0.1898	
<i>AB</i>	36.97	1	36.97	0.72	0.4079	
<i>AC</i>	83.45	1	83.45	1.63	0.2195	
<i>AD</i>	220.82	1	220.82	4.3	0.0536	
<i>A</i> ²	1 092.03	1	1 092.03	21.27	0.0002	***
<i>B</i> ²	584.04	1	584.04	11.38	0.0036	**
<i>C</i> ²	327.69	1	327.69	6.38	0.0217	*
<i>D</i> ²	176.84	1	176.84	3.44	0.0809	
残差 Residual	872.75	17	51.34			
失拟 Lack of fit	505.84	13	38.91	0.42	0.8923	不显著
误差 Pure error	366.9	4	91.73			
总和 Cor total	3 668.68	28				

注: * $P < 0.05$, 差异显著; ** $P < 0.01$, 差异高度显著; *** $P < 0.001$, 差异极显著。

Note: * $P < 0.05$, significant difference; ** $P < 0.01$, highly significant difference; *** $P < 0.001$, extremely significant difference.

各酶解工艺因素对玉竹全粉综合品质影响的响应曲面图及等高线图见图 5。经回归模型预测玉竹全粉酶解改性最佳工艺参数为: 酶用量 3%, 处理时间为 80 min, 温度为 40 °C, pH 值为 5.5, 在此条件下制备的 MJ 理论综合评分为 47.76。验证试验结果 MJ 产品的综合评分与理论评分接近, 表明此模型可较好地预测玉竹全粉酶解工艺参数。

2.2 酶解玉竹全粉的体外功能评估

分别选用真空微波干燥玉竹全粉(ZW)、真空冷冻干燥玉竹全粉(LD)和传统炮制玉竹全粉(CT)作为比较对象, ZW 为改性前参照, LD 为较为理想制粉工艺参照, CT 为常规制粉参照, 以充分评估改性工艺在功能特性的优劣变化。

2.2.1 抗氧化功能

由图 6A 可知, 4 种玉竹全粉的醇提物均具有较好的 Fe^{3+} 还原能力, 且表现出明显的剂量-效应关系。其中, LD 醇提物对 Fe^{3+} 的还原能力相对较差, CT 醇提物对 Fe^{3+} 还原能力优于 LD, 采用真空微波干燥技术制备的玉竹全粉对 Fe^{3+} 的还原作用增强, 经过酶解改性后, 玉竹全粉的 Fe^{3+} 还原能力进一步增强, 且明显高于其他 3 种玉竹全粉, 这可能与酶解后可溶性多糖和游离黄酮等有效成分增加有关。

由图 6B 可知, 4 种玉竹全粉均具有较好的 DPPH·自由基清除能力, 且随着醇提物浓度的增加, 其对 DPPH·自由基清除能力逐渐增强, 呈现出明显的量效关系。ZW、LD 及 MJ 的醇提物对 DPPH·

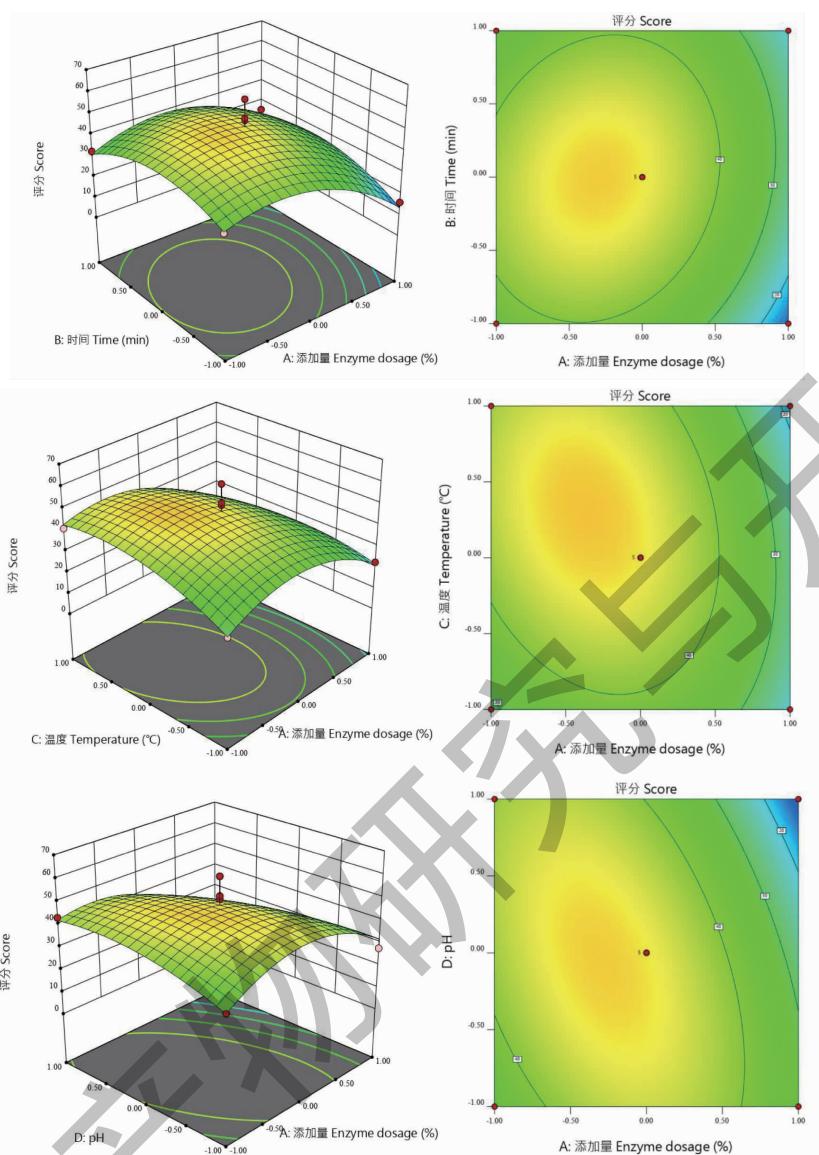


图 5 各因素对玉竹全粉品质影响的响应曲面图及等高线图

Fig. 5 Response surface plot and contour plot of the influence of various factors on the quality of the *P. odoratum* whole powder

清除能力均优于 CT, 真空微波干燥玉竹全粉的醇提物对 DPPH[·] 的清除能力最强, 其次为真空冷冻干燥及酶解改性处理的玉竹全粉。

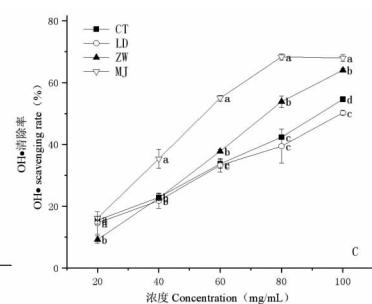
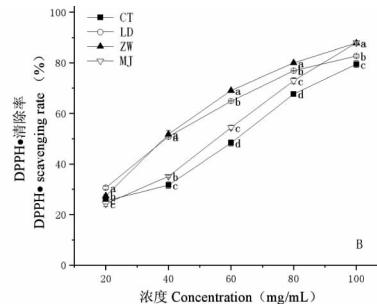
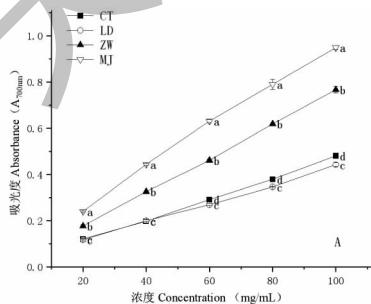


图 6 4 种玉竹全粉的抗氧化功能

Fig. 6 Antioxidant function of 4 kinds of *P. odoratum* whole powder

由图 6C 可知, MJ、ZW 及 CT 醇提物对 ·OH 的清除能力均优于真空冷冻干燥玉竹全粉, 且呈现明显的量效关系, 其中酶解改性处理的 ·OH 清除能

力最强,其次为真空微波干燥及传统炮制处理的玉竹全粉,这可能与酶解反应能分解释放出更多的对·OH具有清除能力的小分子物质有关。

2.2.2 降血糖功能

α -淀粉酶活性抑制作用:由图7A可知,玉竹水提物对 α -淀粉酶活性的抑制作用呈明显的剂量-效应关系。玉竹全粉经过酶解后,其水提物对 α -淀粉酶活性的抑制作用明显增强,可能是由于玉竹全粉经过酶解后,大分子物质水解为小分子,易于溶解在

水中,导致水提液中具有抑制 α -淀粉酶活性的有效物质增加。ZW水提物对 α -淀粉酶活性的抑制作用仅次于MJ,CT水提物对 α -淀粉酶活性的抑制效果相对较差。由图7B可知,各浓度的玉竹全粉醇提物对 α -淀粉酶活性均具有一定的抑制作用,且呈现明显的剂量-效应关系。其中真空微波干燥玉竹全粉与酶改性玉竹全粉醇提物对 α -淀粉酶活性的抑制作用效果相差不大,但相对于CT及LD抑制效果较好。

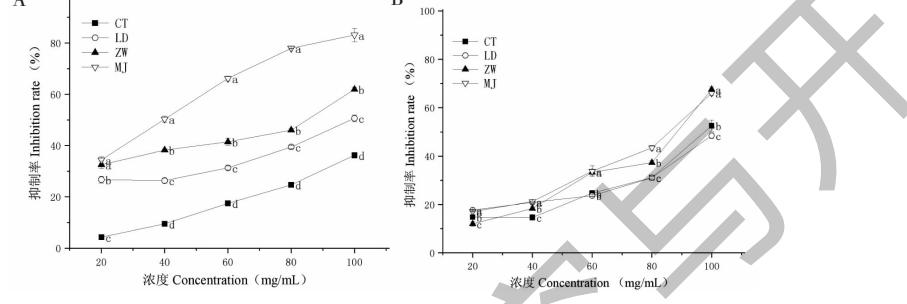


图7 α -淀粉酶活性的抑制作用

Fig. 7 Inhibition of α -amylase activity

注:A-水提物;B-醇提物 Note: A-Water extract; B-Ethanol extract

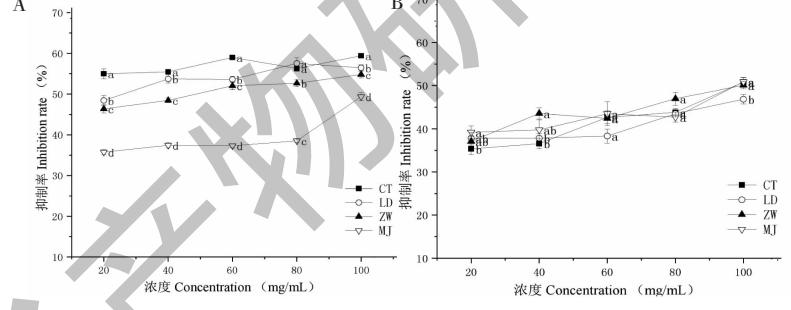


图8 α -糖苷酶活性的抑制作用

Fig. 8 Inhibition of α -glycosidase activity

注:A-水提物;B-醇提物 Note: A-Water extract; B-Ethanol extract

α -糖苷酶活性抑制作用:由图8可知,玉竹全粉的水提物及醇提物对 α -糖苷酶活性均具有一定抑制作用,随着提取物浓度的增加,对 α -糖苷酶活性的抑制作用逐渐增强,呈现出一定的浓度-效应关系。相比于醇提物,玉竹样品水提物对 α -糖苷酶活性的抑制作用略强,这与Zhang^[18]的研究结果一致,但总体上玉竹两种提取物的 α -糖苷酶活性抑制作用均较弱。

3 结论

玉竹全粉酶解工艺优化结果为酶用量3%,时间80 min,温度40 °C,pH值5.5。与CT、LD和ZW

等玉竹全粉产品比较,酶改性后玉竹全粉的Fe³⁺还原能力、·OH清除能力均增加,其醇提物及水提物对 α -淀粉酶活性的抑制作用均增加。玉竹全粉经复合酶解改性后其综合品质(物性和化学质量)可得到有效改善,保健功能特性(体外抗氧化及降血糖作用)也能得到增强,提示复合酶解改性工艺可有效改善玉竹全粉的应用价值,提高商业品质。酶解改性技术具有反应条件温和、反应快速、无污染、无其他化学物质带入等优势,但将酶解改性工艺推广至生产仍存在成本高和反应条件控制困难等问题,因此对玉竹全粉改性技术及其质量综合评价技

术仍需深入研究。

参考文献

- 1 Li R, Miao M. Modern research and analysis about *Polygonatum odoratum*[J]. *China J Chin Med*(中医学报), 2014, 29:548-550.
- 2 Tao AE, Zhang XC, Du ZF, et al. Research progress on flavonoids in plants of *Polygonatum* Mill. and their pharmacological activities[J]. *Chin Tradit Herb Drugs*(中草药), 2018, 49:2163-2171.
- 3 Li HM, Zheng T, Zeng YQ, et al. Comprehensive optimization of modified technology of *Polygonatum odoratum* whole powder by AHP-CRITIC weighted evaluation[J]. *Food Ferment Ind*(食品与发酵工业), 2021, 47:138-146.
- 4 Qin LX, Zhou JQ, Cui SW, et al. Optimization of ultrasonic-assisted compound enzyme extraction technology of lentinan [J]. *Food Res Dev*(食品研究与开发), 2018, 39:63-67.
- 5 Li Z, Luo YL, Liu TS. Optimization of enzymatic extraction of crude polysaccharide from Rhizoma Polygonati Odorati by response surface methodology [J]. *J Guangzhou Univ Tradit Chin Med*(广州中医药大学学报), 2013, 30:218-222.
- 6 Zhang Y, Gao L, Wang ZH, et al. Response surface optimization of production of instant walnut diaphragm powder by spray drying and analysis of its reconstitution properties[J]. *Food Sci*(食品科学), 2016, 37:47-51.
- 7 Peng YJ, Zhang AQ, Ma X, et al. Optimization of ultrasonic extraction process for polysaccharides from Rhizoma Polygonati Odorati and determination of moisture retention capacity [J]. *Food Sci*(食品科学), 2012, 33:96-99.
- 8 Zhang JJ, Zhang R, Ning W. Study on the polysaccharide content of *Polygonatum macropodium* Turcz. and the ultrasonic extraction method of total flavonoids [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*(时珍国医国药), 2015, 26: 2870-2871.
- 9 Cheng HB, Li XB, Jia XY, et al. Determination of the content of polysaccharides, flavonoids and polyphenols in *Pandanus tectorius* Sol. and its antioxidant research[J]. *Mod Food*(现代食品), 2021:83-89.
- 10 Liu XM, Wang SS, Shi CJ, et al. Optimization of extraction technique for Shenxi oral liquid by Box-Behnken response surface methodology based on AHP-CRITIC weighted analysis[J]. *J Chin Med Mater*(中药材), 2019, 42:150-155.
- 11 Li C, Yu H, Wen R, et al. Optimization of processing technology of salt-processed products of *Plantaginis Semen* based on response surface method and AHP-CRITIC mixed weighting method and investigation of its diuretic effect[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志), 2020, 26: 131-138.
- 12 Xu DL, Lin H, Li SQ, et al. Experimental study on the internal and external antioxidant of *Polygonatum odoratum* water extraction liquid[J]. *Chin Med Mater*(中药材), 2008, 31: 729-731.
- 13 Cao YH, Cheng LL, Zhang XF. Study on extraction of polyphenol from onion by response surface methods and antioxidant activity[J]. *Food Res Dev*(食品研究与开发), 2020, 41:164-170.
- 14 Liu ZH, Li C, Yan RY. Separation of water-soluble constituents in *Polygonati Odorati Rhizoma* and their glucosidase inhibitory activity[J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志), 2016, 22:51-55.
- 15 Liu J, Sun SX, Wang AN, et al. Research progress on interactions between proteins and polysaccharides[J]. *Cereals Oils*(粮食与油脂), 2012, 25:1-5.
- 16 Liu TY, Zhang JJ, Tong CQ, et al. Research progress on glycoprotein of *Polygonatum odoratum*[J]. *Farm Prod Process*(农产品加工), 2021:69-71.
- 17 Zhang Y, Feng Q, Yang XF, et al. Optimization of enzymatic coupled with ultrasonic-assisted extraction of polysaccharide from *Polyporus umbellatus* and its antioxidant activity [J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发), 2015, 27:1657-1662.
- 18 Zhang Q. Screening of inhibition of α -glucosidase active Chinese medicine and observation of hypoglycemic effect[D]. Zhengzhou: Zhengzhou University(郑州大学), 2011.