

酶解辅助压热法制备紫山药抗性淀粉的工艺优化及理化特性分析

梁浩^{1,2,3}, 陈良华³, 许传俊³, 李焯², 陶均¹, 明艳林^{2,3*}

(1. 海南大学热带农林学院, 海南省热带生物资源可持续利用重点实验室, 海南 儋州 571737; 2. 厦门华侨亚热带植物引种园, 厦门市植物引种检疫与植物源产物重点实验室, 福建 厦门 361002; 3. 福建省亚热带植物研究所, 福建省亚热带植物生理生化重点实验室, 福建 厦门 361006)

摘要: [目的] 探究酶解辅助压热法制备紫山药(*Dioscorea alata*)抗性淀粉(RS)的技术工艺及 RS 理化特性。[方法] 以紫山药淀粉为原料, 在单因素试验基础上进行响应面优化山药 RS 制备工艺, 并测定最佳条件下山药 RS 的理化特性。[结果] 淀粉乳质量分数 9.2%、酶添加量 239 ASPU/g(ASPU 表示普鲁兰酶活力)、酶作用时间 6.7 h、压热时间 82 min 为最佳制备工艺, 制备的山药 RS 质量分数为 21.72%。与原淀粉相比, 山药 RS 颗粒形貌呈片层状, 结晶度(35.90%)、短程有序度(1.40 ± 0.02)和双螺旋度(1.29 ± 0.02)均有所增大。体外消化实验表明, 慢消化型淀粉(SDS)和 RS 质量分数有所增加。[结论] 响应面优化的结果有效提高了 RS 的得率, 促进了淀粉分子有序排列和双螺旋结构的形成, 增强了 RS 的结晶度和抗酶水解性, 该结果可为酶解辅助压热制备山药 RS 的应用提供理论依据, 有助于天然山药淀粉的低血糖指数食品开发。

关键词: 抗性淀粉制备; 响应面优化; 理化性质; 淀粉消化

中图分类号: TS235.2

文献标志码: A

文章编号: 0438-0479(2025)05-0858-10

Enzymolysis-assisted thermocompression method for preparation of resistant starch from purple yam: process optimization and physicochemical characteristics analysis

LIANG Hao^{1,2,3}, CHEN Lianghua³, XU Chuanjun³, LI Xuan², TAO Jun¹, MING Yanlin^{2,3*}

(1. School of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Key Laboratory of Sustainable Utilization of Tropical Biological Resources, Danzhou 571737, China; 2. Xiamen Overseas Chinese Subtropical Plant Introduction Garden, Plant Introduction & Quarantine and Plant Source Product Key Laboratory of Xiamen City, Xiamen 361002, China; 3. Fujian Key Laboratory of Subtropical Plant Physiology and Biochemistry, Fujian Institute of Subtropical Botany, Xiamen 361006, China)

Abstract: [Objective] Resistant starch (RS) has the ability to regulate blood glucose, which can prevent sharp increase in blood glucose after eating and help maintain the balance of intestinal flora. It has attracted much attention because of its rich nutritional value and its special function as dietary fiber. In practical application, various methods of starch modification have been developed. The combined method showed an incomparable advantage over single traditional methods in terms of output efficiency and purity. Therefore, optimized RS was prepared by enzymolysis-assisted thermocompression method, and the relationship between the

收稿日期: 2024-09-30 录用日期: 2024-12-06

基金项目: 厦门市科技扶贫项目(3502Z20194520); 厦门市重大科技计划项目(3502Z20211006, 3502Z20211005)

*通信作者: xmyanlin@hotmail.com

引文格式: 梁浩, 陈良华, 许传俊, 等. 酶解辅助压热法制备紫山药抗性淀粉的工艺优化及理化特性分析[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2025, 64(5): 858-867.

Citation: LIANG H, CHEN L H, XU C J, et al. Enzymolysis-assisted thermocompression method for preparation of resistant starch from purple yam: process optimization and physicochemical characteristics analysis[J]. J Xiamen Univ Nat Sci, 2025, 64(5): 858-867. (in Chinese)



structural and functional characteristics of RS was explored. [Methods] Purple yam (*Dioscorea alata*) was collected from the production base of Masha Town, Jianyang District, Nanping City, Fujian Province, in May 2024. After starch extraction by alkaline extraction method, yam RS was prepared by enzymolysis-assisted thermocompression method. Then, enzyme addition amount, enzyme action time, thermocompression time, starch milk mass fraction, as four single factors, were designed through a single-factor experiment combined with the response surface model, with the RS mass fraction in the prepared sample used as the response value to optimize the process conditions. At the same time, scanning electron microscopy, Fourier transformer infrared spectroscopy (FT-IR), X-ray diffraction (XRD) analysis and *in vitro* digestion simulation experiments were performed on the RS before and after the enzyme decompression heat treatment. The relationship between structure change and peptic properties was investigated. [Results] The optimal preparation conditions were as follows: starch milk mass fraction of 9.2%, enzyme dosage of 239 ASPU/g (dry base), enzyme action time of 6.7 h and thermocompression time of 82 min. Under these conditions, the yield rate of RS was 21.72%, which was close to the predicted value of 20.87%, proving that the response surface model fits well with the actual situation. Scanning electron microscopy showed that the granules in RS were completely gelatinized and disintegrated, with rough surfaces and lamellated shapes. Compared with yam starch, no new chemical bonds or functional groups were produced by FT-IR analysis. $R_{1\ 047/1\ 022}$ was 1.40 ± 0.02 , and $R_{1\ 022/1\ 995}$ was 1.29 ± 0.02 . The $R_{1\ 047/1\ 022}$ and $R_{1\ 022/995}$ values of RS were higher than those of yam starch, the relative crystallinity increased from 29.11% to 35.90%, and the crystalline structure of yam starch changed from A-type to B-type. Hydrolysis characteristics showed that the slowly digestion starch (SDS) and RS mass fractions increased compared with yam starch, the hydrolysis index was $(54.79 \pm 0.45)\%$, the glycemic index was $(69.79 \pm 0.25)\%$, and the hydrolysis index and glycemic index were both lower than those of yam starch. [Conclusion] The hydrolysis characteristics were studied after the enzymolysis-assisted thermocompression, the response surface optimization could improve the yield rate of the RS. The SDS and RS mass fractions increased, and the type changed from natural RS (RS2) to retrograded RS (RS3), making yam RS3 have good digestibility. FT-IR spectroscopy and XRD analysis confirmed that this process could promote the formation of RS and optimize the crystalline crystal type, which helped prevent sharp fluctuations in blood sugar, stabilize blood sugar levels and aid in body weight control. The results of this study provide a theoretical basis for the industrial production of yam RS prepared by enzymolysis-assisted thermocompression. With the increasing demand from consumers for health food, RS, as a functional food ingredient with various health benefits, has broad application prospects in the food industry.

Keywords: resistant starch preparation; response surface optimization; physicochemical property; starch digestion

紫山药 (*Dioscorea alata*) 属于薯蓣科薯蓣属植物, 作为一种药食两用的经济作物, 其块茎中不仅含有淀粉、多糖和蛋白质等主要物质, 还含有游离氨基酸、尿囊素和胆碱等活性成分^[1]. 这些成分赋予山药诸多生理功能, 例如: 山药多糖能调节人体免疫系统并增强抗病能力, 具有抗氧化、降血糖等功效^[2]; 山药中的淀粉、皂甙等成分能够显著降低糖尿病模型小鼠的血糖水平, 有效平衡机体总胆固醇、三酰甘油等相关血脂指标^[3-4]. 这使得山药在改善血糖和血脂水平方面具有一定潜力.

淀粉作为山药中主要的碳水化合物, 新鲜山药中淀粉的质量分数占比为 20%~45%^[5], 干山药中淀粉的质量分数为 60.7%~80.6%, 是山药食品质量的决定因素之一. 淀粉根据其在体内的消化速率, 可以划分为快消化型淀粉 (RDS)、慢消化型淀粉 (SDS) 和抗性淀粉 (RS) 3 种. 其中, RS 在小肠内不能被淀粉酶消化而最终在结肠内被微生物群发酵^[6], 按其抗性机制可划分为 5 类, 即物理包埋式淀粉 (RS1)、天然抗性淀粉 (RS2)、老化回生淀粉 (RS3)、化学改性淀粉 (RS4)

和淀粉-脂质复合物淀粉 (RS5)^[7]. 随着生活水平的提高, 人们越来越注意饮食结构的合理性, RS 因其作为膳食纤维的特殊功能而深受关注.

近年来出现了多种淀粉改性方法^[8], 物理方法因其简单、低成本和无毒等优势而备受关注; 而生物酶处理法则展现出高度特异性和选择性, 能够最大程度地降低淀粉改性过程中副产物与副反应的生成^[9]. 通过多种方法的组配可以有效提升 RS 的产量与纯度, 譬如酶解辅助压热法、超声协同酶法等. Kumar 等^[10]通过普鲁兰酶协同湿热处理小米 RS, 使小米 RS 产率增至 86.17%. 李涛等^[11]采用酶解辅助压热法制备紫山药 RS, 产率从 30.81% 增至 48.85%. Liu 等^[12]以超声波结合高压灭菌法制备马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) RS, 产率从 7.5% 增至 15.9%.

当前, 研究人员主要以天然高直链淀粉或经人工选培的高直链品种来制备 RS^[13], 但这类资源成本昂贵且获取难度大. 相比之下, 组合法在产出效率或纯净度方面展现出传统方法无法比拟的优势. 近年来, RS 的研究领域普遍倾向于利用组合法进行制备^[14].

基于此,本研究选用紫山药淀粉作为原料,采用酶解辅助压热法制备 RS,通过单因素试验结合响应面设计对不同因素组合下的结果进行预测,对山药 RS 的最佳生产工艺条件参数进行优化,并对其理化性质进行分析,以期对山药 RS 工业化生产及其在功能性食品中的应用提供理论支持。

1 材料与方 法

1.1 材料与仪器

紫山药于 2024 年 5 月采自福建省南平市建阳区麻沙镇生产基地;普鲁兰酶(1 000 ASPU/mL,ASPU 表示每克样品中普鲁兰酶的活性单位)购自北京索莱宝生物科技有限公司;AKSU016C 直链淀粉试剂盒购自北京盒子生工科技有限公司;K-RSTAR 抗性淀粉测定试剂盒、K-DSTRS 可消化淀粉试剂盒购自爱尔兰 Megazyme 公司;其他试剂均为国产分析纯。

DJ12X-D135 打浆机购自九阳股份有限公司;WT100-2 恒温水浴槽购自杭州米欧仪器有限公司;Lambda25 紫外-可见分光光度计购自上海珀金埃尔默仪器上海有限公司;BPG-9140A 精密鼓风干燥箱购自上海恒科学仪器有限公司;LC-4006G 台式低速离心机购自上海百赛生物技术股份有限公司;150B 高速摇摆式粉碎机购自浙江瑞安市永厉制造机械有限公司;MiniFlex 600 X 射线粉末衍射(XRD)仪购自日本电子公司(Rigaku);Nicolet iS 50 傅里叶变换红外光谱(FT-IR)仪、Apreo S LoVac 场发射扫描电子显微镜购自美国赛默飞(Thermo Fisher)世尔科技有限公司;DSC200 差示扫描量热仪购自日本日立(Hitachi)有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 山药淀粉的提取

参考 Zou 等^[15]的方法并进行修改,采用碱浸提法制备紫山药淀粉:将新鲜紫山药洗净,削皮,切成厚度 1~3 mm 的薄片,加适量蒸馏水后置于打浆机中粉碎,过 100 目筛,除去残渣并收集滤液;将质量分数 0.2% 的 NaOH 溶液与滤液按体积比 1:6 混合,静置至上清液澄清状态,去除上清液,用去离子水反复冲洗沉淀,直到溶液变中性;将沉淀进行离心(4 000 r/min, 10 min),在 50 °C 干燥 24 h,最后用高速摇摆式粉碎机粉碎,过 100 目筛制得紫山药淀粉。

1.2.2 酶解辅助压热法制备 RS

参考 Wang 等^[16]的方法并进行修改,准确称量

3.00 g 紫山药淀粉,加入 pH 5.5 的乙酸缓冲液配成质量分数 25% 的淀粉乳,90 °C 加热搅拌预糊化 30 min,而后平衡至 60 °C,使用 180 ASPU/g(按底物干质量计)的普鲁兰酶溶液酶解 8 h,而后于 100 °C 沸水浴酶灭活 10 min,再于 121 °C 压热处理 60 min;取出冷却至室温,置于 4 °C 老化回生 24 h;取出样本进行干燥、粉碎,过 100 目筛,最终获得山药 RS 样品。

1.2.3 单因素试验设计

分别考察普鲁兰酶添加量(120,150,180,210,240,270 ASPU/g)、酶作用时间(4,6,8,10,12,14 h)、压热时间(40,50,60,70,80,90 min)及淀粉乳质量分数(5%,10%,15%,20%,25%,30%)对山药 RS 制备的影响。

1.2.4 响应面优化试验设计

采用 Design-Expert 8.0.6 软件设计 4 因素 3 水平响应面优化试验(表 1),并对试验结果进行分析。

表 1 响应面优化试验因素水平

Tab. 1 Experimental factors and levels of response surface optimization

因素	水平		
	-1	0	1
酶添加量(x_1)/(ASPU · g ⁻¹)	210	240	270
酶作用时间(x_2)/h	4	6	8
压热时间(x_3)/min	70	80	90
淀粉乳质量分数(x_4)/%	5	10	15

1.2.5 颗粒形貌观察

参考 Qin 等^[17]的方法,采用场发射扫描电子显微镜观察淀粉颗粒形貌。在导电胶表面,涂抹少许淀粉,确保分布均匀后对样品进行喷金处理,加速电压设定 10 kV,调节焦距和对比度使图像清晰,观察淀粉颗粒的形貌特征并采集图像。

1.2.6 FT-IR 分析

参考 Qin 等^[17]的方法,通过 FT-IR 分析获得谱图。将淀粉与溴化钾(KBr)按质量比 1:60 混合,研磨至均匀,将微量样本均匀散布于衰减全反射晶体附件的晶体表面,确保全面覆盖;随后旋紧金属压块,在波数 4 000~400 cm⁻¹ 的范围内进行扫描分析。

1.2.7 晶体结构分析

根据 Biswas 等^[18]的方法,采用 XRD 仪分析 RS

晶体结构,扫描范围(2θ)为 $3.0^\circ\sim 40.0^\circ$,扫描速度为 $8.0^\circ/\text{min}$,步长为 0.02 s ,生成衍射图.使用衍射峰积分面积与总积分面积的比值计算相对结晶度.

1.2.8 山药淀粉组分测定

采用 K-RSTAR 抗性淀粉测定试剂盒测定 RS 含量.

样品与胰 α -淀粉酶和淀粉葡萄糖苷酶(AMG)于 37°C 摇床水浴 16 h ,加入乙醇终止反应;随后离心($1\ 500\text{ g}$, 10 min ,下同)得沉淀,用体积分数 50% 的乙醇洗涤沉淀两次,离心并收集上清;取沉淀溶解于 2 mol/L KOH 溶液,而后加入 1.2 mol/L 乙酸钠缓冲液中和,添加 0.1 mL AMG 后于 50°C 水浴 30 min ;蒸馏水定容至 100 mL ,离心取 0.1 mL 上清液,加入 3 mL 葡萄糖氧化酶+过氧化物酶(GOPOD)试剂测定.

1.2.9 消化性分析

可利用碳水化合物的水解率使用 K-DSTRS 可消化淀粉试剂盒测定.水解指数(I_H)的测定参照 Thiranusomkij 等^[19]的方法进行.

$$I_H = A_0/A \times 100\%,$$

以白面包作为基准, A_0 为淀粉在 $0\sim 180\text{ min}$ 内水解率曲线积分面积, A 为参照样本在 $0\sim 180\text{ min}$ 内水解率曲线积分面积.

血糖生成指数 $I_G = 39.71 + 0.549I_H$ (相关系数 $r = 0.894$).

1.3 数据处理

每组实验重复 3 次,用 Excel2010 创建并整理数据,用 Design-Expert 8.0.6 Trial 进行响应面数据的分析处理,用 IBM SPSS Statistics 29.0.1.0、Origin 2021 进行数据分析和统计图绘制,用 Adobe Photoshop 2024 进行图像处理.

2 结果与分析

2.1 RS 制备的单因素试验分析

如图 1(a)与(b)所示,随着酶添加量和作用时间的增加,山药 RS 质量分数总体呈现先升高后降低的波动变化趋势.这可能是因为酶在添加量较少和作用时间较短时,不足以完全催化淀粉分子的水解和重排,影响 RS 生成;然而,酶添加量和作用时间的增加过大,则会导致淀粉分子链的聚合度过低且分子过度水解^[20],RS 质量分数降低.当酶添加量为 240 ASPU/g ,酶作用时间为 6 h 时,RS 质量分数最高.因此,设定酶添加量为 $210, 240, 270\text{ ASPU/g}$,酶作用时间为 $4, 6, 8\text{ h}$,进行后续响应面试验.

如图 1(c)所示,随着压热时间增加,RS 质量分数呈现先上升后下降的趋势.这可能是因为当压热时间过短时,淀粉颗粒未能充分糊化,导致其晶体结构未能完全破坏,从而影响后续的老化过程;而当压热时间过长,淀粉分子会过度水解,难以形成有效的聚集.

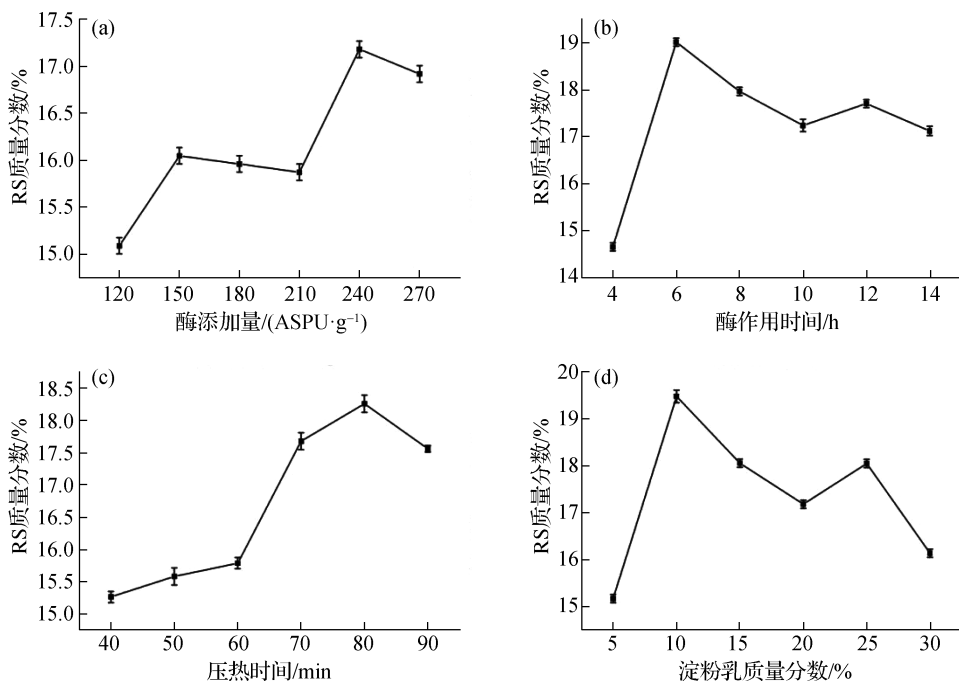


图1 单因素试验结果

Fig. 1 Single-factor trial results

当压热时间为 80 min 时,RS 质量分数达到峰值. 基于此,后续的压热时间研究设计采用 70,80,90 min 进行响应面实验. 如图 1(d)所示,随着淀粉乳质量分数的增加,RS 质量分数呈现先上升后波动下降的趋势,这可能是由于过高的淀粉乳质量分数使淀粉颗粒间的相互作用增强,减少了直链淀粉分子的流动性^[21]. 当淀粉乳质量分数为 10%时,RS 质量分数达到峰值. 基于此,后续的响应面实验设计 5%,10%,15%这 3 个淀粉乳质量分数水平.

2.2 响应面法优化山药 RS 制备工艺

2.2.1 响应面实验结果与回归方程分析

响应面实验结果如表 2 所示. 利用 Design-Expert 8.0.6 软件对数据进行回归分析,二次多元回归方程为: $Y=20.79+0.096x_1+0.34x_2+0.082x_3-0.19x_4-0.49x_1x_2+0.22x_1x_3+0.058x_1x_4+0.13x_2x_3-0.045x_2x_4-0.48x_3x_4-0.57x_1^2-0.56x_2^2-0.57x_3^2-0.95x_4^2$.

表 2 响应面实验设计与结果

Tab. 2 Design and results of response surface experiment

实验号	因素				RS 质量分数/%
	$x_1/(\text{ASPU} \cdot \text{g}^{-1})$	x_2/h	x_3/min	$x_4/\%$	
1	210	4	80	10	18.75
2	270	4	80	10	19.80
3	210	8	80	10	20.44
4	270	8	80	10	19.54
5	240	6	70	5	18.78
6	240	6	90	5	19.97
7	240	6	70	15	19.48
8	240	6	90	15	18.75
9	210	6	80	5	19.50
10	270	6	80	5	19.71
11	210	6	80	15	18.75
12	270	6	80	15	19.19
13	240	4	70	10	19.27
14	240	8	70	10	19.80
15	240	4	90	10	19.27
16	240	8	90	10	20.32
17	210	6	70	10	19.79
18	270	6	70	10	19.53
19	210	6	90	10	19.36
20	270	6	90	10	19.97

续表

实验号	因素				RS 质量分数/%
	$x_1/(\text{ASPU} \cdot \text{g}^{-1})$	x_2/h	x_3/min	$x_4/\%$	
21	240	4	80	5	19.10
22	240	8	80	5	19.74
23	240	4	80	15	18.93
24	240	8	80	15	19.39
25	240	6	80	10	20.67
26	240	6	80	10	20.75
27	240	6	80	10	20.84
28	240	6	80	10	20.67
29	240	6	80	10	21.02

由表 3 可以看出,回归模型 $P < 0.0001$,失拟 P 值为 0.5759,模型与实际数据拟合程度可接受,二次多项回归模型有效,可适用于预测酶解辅助压热法制备山药 RS 质量分数. 实验变量 $x_2, x_4, x_1x_2, x_1x_3, x_3x_4, x_1^2, x_2^2, x_3^2, x_4^2$ 的 P 值显示均小于 0.01,对山药

表 3 响应面回归方程及回归系数显著性检验

Tab. 3 Response surface regression equation and significance test for regression coefficients

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P	显著性
模型	12.34	14	0.88	42.87	< 0.0001	极显著
x_1	0.11	1	0.11	5.36	0.0363	显著
x_2	1.41	1	1.41	68.5	< 0.0001	极显著
x_3	0.082	1	0.082	3.97	0.0661	
x_4	0.44	1	0.44	21.64	0.0004	极显著
x_1x_2	0.95	1	0.95	46.26	< 0.0001	极显著
x_1x_3	0.19	1	0.19	9.21	0.0089	极显著
x_1x_4	0.013	1	0.013	0.64	0.4358	
x_2x_3	0.068	1	0.068	3.29	0.0912	
x_2x_4	0.0081	1	0.0081	0.39	0.5402	
x_3x_4	0.92	1	0.92	44.84	< 0.0001	极显著
x_1^2	2.09	1	2.09	101.65	< 0.0001	极显著
x_2^2	2.07	1	2.07	100.76	< 0.0001	极显著
x_3^2	2.13	1	2.13	103.45	< 0.0001	极显著
x_4^2	5.82	1	5.82	283.36	< 0.0001	极显著
残差	0.29	14	0.021			
失拟项	0.2	10	0.02	0.94	0.5759	
纯误差	0.086	4	0.021			
总离差	12.62	28				

RS 质量分数有极显著影响; x_1 的 P 值小于 0.05, 表明它对反应效果有显著影响; 而 x_3 、 x_1x_4 、 x_2x_3 、 x_2x_4 的 P 值均大于 0.05, 表明它们对反应无显著影响. 回归模型 R^2 值为 0.977 2, 意味着模型能较好地解释因变量的变异情况, 检验误差小, 说明模型的预测精度较高, 可用来进行有效的预测和优化.

2.2.2 优化条件的确定及验证

根据表 2 的结果, 响应面实验各因素交互作用如图 2 所示, 图中数据点表示实验值, 而曲面拟合了实验数据. 所有响应面形状均为凸面, 说明所建模型拟合方程

有极大值, 显示双因素交互作用对 RS 质量分数有显著影响. 模型拟合出的最佳工艺条件为酶添加量 238.79 ASPU/g, 酶作用时间 6.69 h, 压热时间 81.68 min, 淀粉乳质量分数 9.23%, 该模型预测的 RS 质量分数为 20.87%. 综合实际情况进行调整, 酶添加量 239 ASPU/g, 酶作用时间 6.7 h, 压热时间 82 min, 淀粉乳质量分数 9.2%. 在此实验工艺条件下验证山药 RS 质量分数为 21.72%, 标准偏差为 0.94%, 与预测值相近, 相对误差为 4.07%, 表明采用响应面分析法优化 RS 工艺条件是合理的.

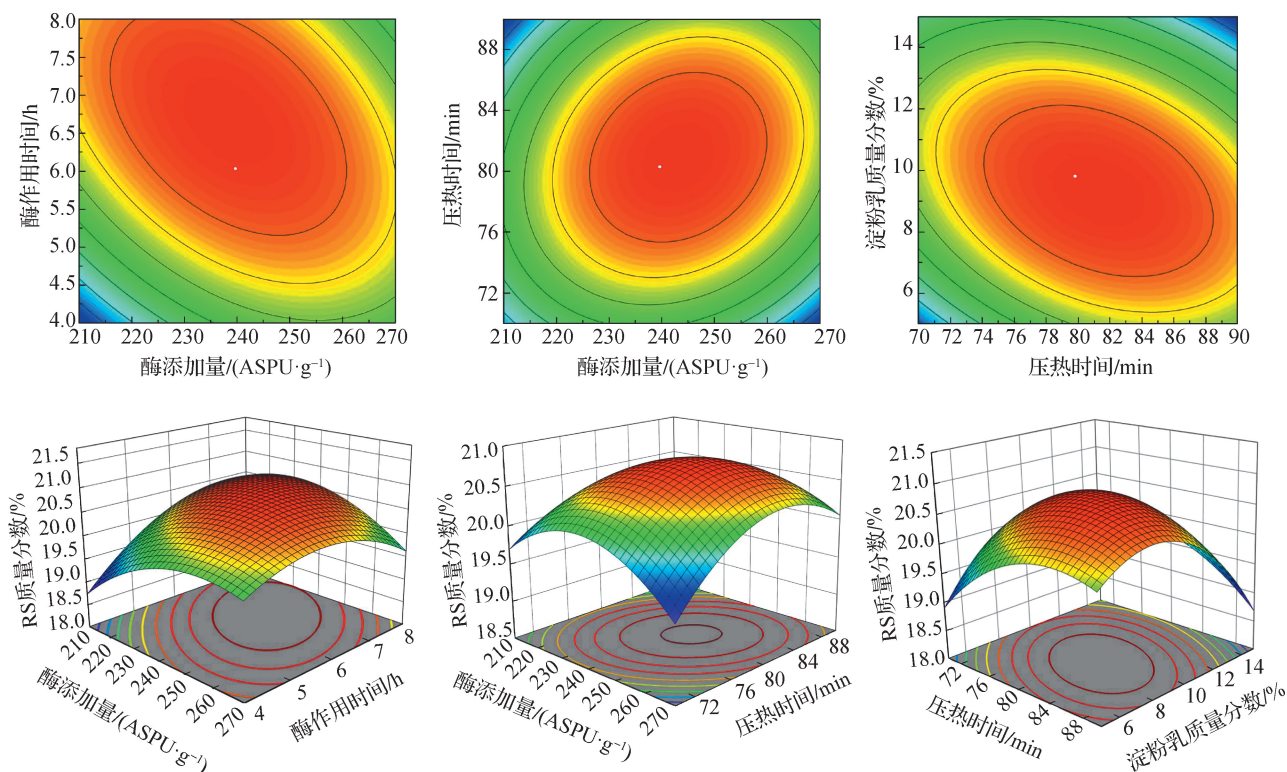


图 2 不同因素交互作用对 RS 质量分数影响的响应面图

Fig. 2 Response surface diagram of interaction of different factors impacting on RS mass fraction

2.3 理化特性

2.3.1 淀粉颗粒微观结构

如图 3 所示: 山药淀粉显示完整光滑的椭圆或圆形颗粒外观; 而山药 RS 的结构则被破坏, 颗粒的有序形态被打乱, 取代的是表面粗糙和形状不规则的微小颗粒及碎片. 放大 2×10^4 倍后可观察到 RS 表面呈现片层条带状的形态特征, 表面有明显的侵蚀迹象, 整体结构紧密[图 3(f)].

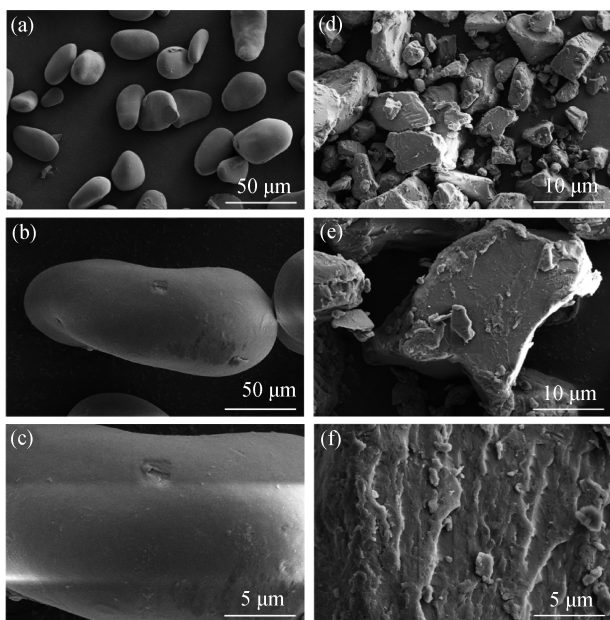
2.3.2 化学键振动

由图 4 可知: C—H 键在糖基甲基和亚甲基上的变形振动在 2930 cm^{-1} 附近产生特征峰^[22], 山药淀粉

和山药 RS 的 C—H 键伸缩振动吸收峰分别出现在 2926.45 和 2925.97 cm^{-1} 处; 山药淀粉和山药 RS 的羰基(C=O)不对称伸缩振动吸收峰分别出现在 1640.16 和 1640.64 cm^{-1} 处, 可知两者主要吸收峰位置相近. $R_{1047/1022}$ 和 $R_{1022/995}$ 是 FT-IR 分析中用来表征淀粉分子结构有序性的重要参数, 山药淀粉的 $R_{1047/1022}$ 和 $R_{1022/995}$ 分别为 1.35 ± 0.02 和 1.28 ± 0.02 , 山药 RS 为 1.40 ± 0.02 和 1.29 ± 0.02 , 可知山药 RS 的分子结构有序性高于山药淀粉.

2.3.3 晶体类型和结晶度

由图 5 可知: 山药淀粉在 2θ 为 15° , 17° 和 23° 处有较强的衍射峰, 20° 附近有弱衍射峰, 为典型的 A 型晶



山药淀粉

山药RS

图3 山药淀粉与RS的扫描电镜图像

Fig. 3 Scanning electron microscopy of yam starch and RS

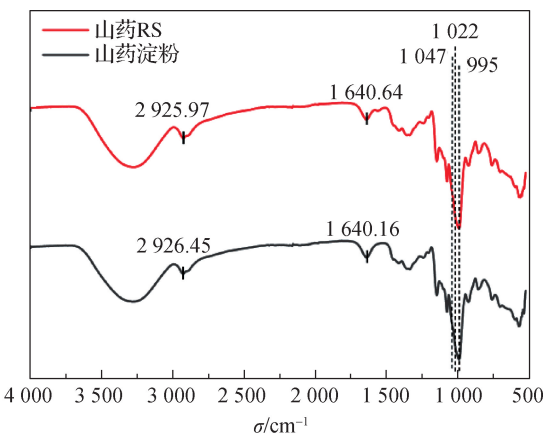


图4 山药淀粉和RS的FT-IR谱图

Fig. 4 FT-IR spectra of yam starch and RS

体;山药RS在17°,20°,22°,24°处有较强的衍射峰,而在5.8°和15°处有弱衍射峰,为B型晶体.酶解辅助压热法制备后,山药RS的结晶度增加,达35.90%,明显高于山药淀粉的结晶度29.11%,这与FT-IR分析中 $R_{1047/1022}$ 的峰强度比值的相对大小一致.

2.3.4 体外消化特性

图6为3h内山药淀粉和RS的体外消化水解率曲线:0~20min两者的曲线斜率都较大,山药淀粉和RS分别于20和60min后曲线逐渐平稳,120min后缓慢提升,直至达到最大值.在20min时,山药RS的水解率为(41.23±0.91)%,山药淀粉的水解率为

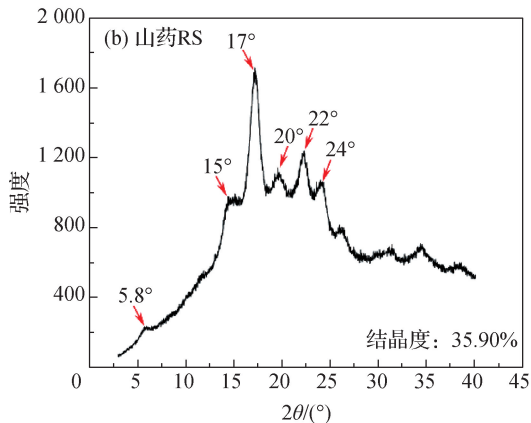
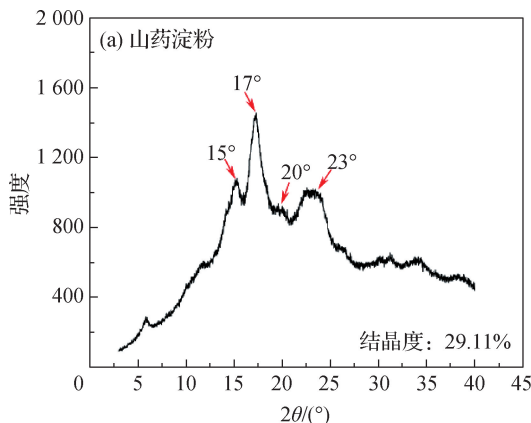


图5 山药淀粉(a)和RS(b)的XRD图谱

Fig. 5 XRD patterns of yam starch (a) and RS (b)

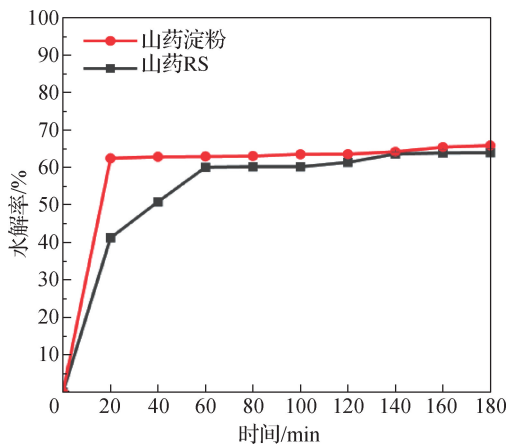


图6 山药淀粉和RS体外消化的水解率

Fig. 6 Hydrolysis rates of yam starch and RS during *in vitro* digestion

(62.46±0.80)%,差异显著.

由表4可知:经压热处理后的山药RS与山药淀粉相比,RDS质量分数降低,SDS和RS质量分数升高,山药RS水解指数 I_H 为(54.79±0.45)%,血糖生成指数 I_G 为(69.79±0.25)%,均与山药淀粉存在显著差异,表明酶解压热处理能显著改变淀粉的体外消

表 4 山药淀粉和 RS 的体外消化参数

Tab. 4 Digestibility parameters of yam starch and RS *in vitro*

样品	RDS 质量分数/%	SDS 质量分数/%	RS 质量分数/%	I_H	I_G
山药淀粉	62.46±0.80	1.10±0.78	36.44±0.30	60.07±0.13	72.68±0.07
山药 RS	41.23±0.91*	20.16±0.76*	38.61±0.53*	54.79±0.45*	69.79±0.25*

注: * 表示差异显著($P < 0.05$).

化性,提高山药淀粉的 SDS 和 RS 质量分数,具有良好的抗消化性.

3 讨 论

3.1 RS 制备的响应面优化分析

在普鲁兰酶辅助压热法制备山药 RS 的响应面优化实验中,最佳工艺条件被确定为酶添加量 239 ASPU/g,酶作用时间 6.7 h,压热时间 82 min,淀粉乳质量分数 9.2%,在此条件下制得的 RS 质量分数为 21.72%. 本研究中 RS 优化的得率虽与压热法制备山药 RS^[23]的得率相近,但远低于压热辅助双酶法制备蜡质玉米(*Zea mays* L.)RS^[24]的得率. 这可能一方面是因为 RS 的测定方法不同,另一方面受品种 RS 质量分数的不同影响. 本研究中 RS 的得率与 Wang 等^[16]压热协同普鲁兰酶法制备青稞(*Hordeum vulgare* L.)RS 的得率相近. 这些研究结果表明,普鲁兰酶辅助压热法是一种有效的 RS 制备方法,通过优化工艺参数可以显著提高 RS 的产量和质量,具有良好的工业化应用前景.

3.2 淀粉颗粒形态分析

扫描电镜显示山药 RS 与山药淀粉在颗粒形貌上具有明显差异. Wang 等^[16]采用酶解结合压热工艺制备 RS,发现其排列方式呈平面片状分布,与本研究中表征的山药 RS 颗粒相似. 可能是酶解后受热膨胀,淀粉颗粒逸出,在回生阶段淀粉分子链聚合重新排列形成新的结晶结构^[25]. 而相较于压热与微波处理方法,使用普鲁兰酶处理淀粉所产生的直链淀粉含量和结晶度明显更高^[26]. 这些变化对于理解 RS 的消化机制和生理功能具有重要意义.

3.3 化学键振动分析

FT-IR 谱图显示山药 RS 与山药淀粉的主要吸收峰位置相近,意味着两者在结构上具有相似的结晶和无定形区域. 刘云芬等^[27]采用微波-压热法制备马蹄

[*Eleocharis dulcis* (Burm. f.) Trin.]RS,结果显示 RS 与原淀粉吸收峰相近,未引入新的功能基团,与本研究结果类似. 由此推断,采取酶解辅助压热处理没有改变山药 RS 中各成分的一级结构,对山药淀粉的化学基团几乎没有影响. 在 FT-IR 谱图中 1 047 cm^{-1} 处的吸收峰与淀粉的结晶结构相关,而 1 022 cm^{-1} 处的吸收峰与淀粉的无定形区域相关, $R_{1\ 047/1\ 022}$ 的峰强度比值可以用来评估淀粉的短程有序度,比值越大通常意味着淀粉的结晶度越高,同时 $R_{1\ 022/995}$ 的峰强度比值还可以评估淀粉的双螺旋程度^[28]. 本研究中山药 RS 的 $R_{1\ 047/1\ 022}$ 和 $R_{1\ 022/995}$ 值均高于山药淀粉,可能是因为加热糊化使得淀粉分子链的流动性增加,RS 分子内部和分子间的氢键重新结合形成新的精密连接方式和晶型结构. 这表明山药 RS 在结构上具有更高的有序性和结晶度,与其在小肠中的抗酶解性和在大肠中的可发酵性密切相关^[25],这些特性共同赋予山药 RS 独特的生理功能.

3.4 晶体类型和结晶度分析

淀粉结晶度是表征淀粉颗粒结晶性质的一个重要参数,结晶度受其双螺旋之间取向、相互作用程度和晶体结晶量的影响^[29]. 本研究中山药 RS 的结晶度相较于山药淀粉明显增加,表明山药 RS 具有更高的抗酶解性. 张楚佳^[30]通过普鲁兰酶协同湿热法制备粳米抗性淀粉后,相对结晶度由(25.92±1.32)%增加至(53.45±1.61)%,与本研究结果相当. 这可能是因为较高的结晶区域结构紧密,消化酶难以接近并作用于淀粉分子,使其抗消化能力增强^[31].

RS 的晶型结构是其抗酶解性的关键因素. 由 XRD 分析可知,山药 RS 的晶体类型由 A 型转变为 B 型,表明其抗酶解性提高. 这可能是因为淀粉在低温下回生退化后,糊化淀粉中的直支链淀粉通过氢键重新排列,形成有序的 B 型微晶结构,与 Niu 等^[32]的研究结果一致. 不同晶体类型的 RS 具有不同程度的抗消化性,A 型晶体可能相对较快地被部分消化,而 B 型和 C 型晶体则消化速度较慢^[33]. 这种消化速度的差

异可以影响食物的血糖生成指数,对于糖尿病患者和需要控制血糖的人群具有重要意义。

3.5 体外模拟消化分析

RS的体外消化实验可以研究淀粉在人体消化系统中的消化特性。本研究中山药淀粉的消化水解率大于山药RS,山药RS水解指数为 $(54.79 \pm 0.45)\%$,血糖生成指数为 $(69.79 \pm 0.25)\%$,显著低于山药淀粉的值,这反映出山药淀粉在日常热处理过程中淀粉颗粒遭受破坏,这种变化可能会增加淀粉与酶的结合能力,从而提高原淀粉的水解率^[34];而改性后重结晶的RS具有较高的抗消化性,因此消化水解率较原淀粉降低。李涛等^[35]以酶解-压热法制备紫山药抗消化淀粉,其水解指数为 52.84% ,血糖生成指数为 68.72% ,与本研究结果相当。这说明酶解-压热法制备抗消化淀粉具有较好的水解能力和消化特性。

4 结论

本研究采用普鲁兰酶辅助压热法制备山药RS,响应面优化的最佳制备工艺条件为酶添加量239 ASPU/g,酶作用时间6.7 h,压热时间82 min,淀粉乳质量分数9.2%。在此优化条件下,制备的山药RS质量分数为21.72%。优化后的RS能显著增加淀粉结晶度、短程有序度和双螺旋度,改性后的RS颗粒形貌呈片层结晶状,具有较低的消化水解率和较高的SDS和RS质量分数。这些变化表明,响应面优化后的工艺不仅有效提高了RS质量分数,还改善了其理化性质,可为工业化生产和应用提供理论依据。

参考文献:

- [1] 潘景芝,孟庆龙,崔文玉,等. 山药功能性成分及药理作用研究进展[J]. 食品工业科技,2023,44(1):420-428.
- [2] 向洋,凌静. 山药淀粉的研究进展[J]. 食品研究与开发,2009,30(1):147-150.
- [3] LI T, TENG H, AN F P, et al. The beneficial effects of purple yam (*Dioscorea alata* L.) resistant starch on hyperlipidemia in high-fat-fed hamsters[J]. Food Funct, 2019,10(5):2642-2650.
- [4] YU L, ZHANG J, JIAO J, et al. Effect of nano yam polysaccharide on the blood glucose and blood lipid in rats [J]. Pak J Pharm Sci, 2020,33:481-487.
- [5] SHAN N, WANG P T, ZHU Q L, et al. Comprehensive characterization of yam tuber nutrition and medicinal quality of *Dioscorea opposita* and *D. alata* from different geographic groups in China [J]. J Integr Agr, 2020, 19

(11):2839-2848.

- [6] ENGLYST H N, KINGMAN S M, CUMMINGS J H. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions[J]. Eur J Clin Nutr, 1992, 46 (Sup2): S33-S50.
- [7] JIANG F, DU C W, JIANG W Q, et al. The preparation, formation, fermentability, and applications of resistant starch[J]. Int J Biol Macromol, 2020, 150: 1155-1161.
- [8] TAPPIBAN P, SRAPHET S, SRISAWAD N, et al. Cutting-edge progress in green technologies for resistant starch type 3 and type 5 preparation: an updated review [J]. Food Chem: X, 2024, 23: 101669.
- [9] PARK E Y, MA J G, KIM J, et al. Effect of dual modification of HMT and crosslinking on physicochemical properties and digestibility of waxy maize starch[J]. Food Hydrocoll, 2018, 75: 33-40.
- [10] KUMAR S R, TANGSRIANUGUL N, SRIPRABLOM J, et al. Effects of single and dual modifications with debranching and heat-moisture treatments on physicochemical, rheological, and digestibility properties of proso millet starch[J]. Carbohydr Polym Technol Appl, 2023(6):100399.
- [11] 李涛,童金华,宋洪波,等. 紫山药淀粉与其抗性淀粉理化性质的比较[J]. 包装与食品机械, 2017, 35(4): 13-18, 54.
- [12] LIU X Y, MA Q Y, CHENG D W, et al. Preparation and characterization of type 3 resistant starch by ultrasound-assisted autoclave gelatinization and its effect on steamed bread quality[J]. Ultrason Sonochem, 2023, 92: 106248.
- [13] TIAN Y, PETERSEN B L, LIU X X, et al. Characterization of different high amylose starch granules. Part II: structure evolution during digestion and distinct digestion mechanisms [J]. Food Hydrocoll, 2024, 149: 109593.
- [14] SUN H R, FAN J Y, TIAN Z G, et al. Effects of treatment methods on the formation of resistant starch in purple sweet potato [J]. Food Chem, 2022, 367: 130580.
- [15] ZOU J, XU M J, WEN L R, et al. Structure and physicochemical properties of native starch and resistant starch in Chinese yam (*Dioscorea opposita* Thunb.) [J]. Carbohydr Polym, 2020, 237: 116188.
- [16] WANG C, ZHANG X Y, TIAN X Y, et al. Physical and enzymatic modifications of starch from blue highland barley and their characterizations, digestibility, and lipolysis inhibitory activities [J]. LWT Food Science and Technology, 2023, 180: 114722.
- [17] QIN W, WEN C T, ZHANG J X, et al. Structural characterization and physicochemical properties of

- arrowhead resistant starch prepared by different methods[J]. *Int J Biol Macromol*, 2020, 157: 96-105.
- [18] BISWAS P, DAS M, BORAL S, et al. Enzyme mediated resistant starch production from Indian fox nut (*Euryale ferox*) and studies on digestibility and functional properties[J]. *Carbohydr Polym*, 2020, 237: 116158.
- [19] THIRANUSOMKIJ L, THAMNARATHIP P, CHAN-DRACHAI A, et al. Comparative studies on physico-chemical properties, starch hydrolysis, predicted glycemic index of Hom Mali rice and Riceberry rice flour and their applications in bread[J]. *Food Chem*, 2019, 283: 224-231.
- [20] CAI L M, SHI Y C. Structure and digestibility of crystal-line short-chain amylose from debranched waxy wheat, waxy maize, and waxy potato starches[J]. *Carbohydr Polym*, 2010, 79(4): 1117-1123.
- [21] YANG Q, LIU L, LI X D, et al. Physicochemical characteristics of resistant starch prepared from Job's tears starch using autoclaving-cooling treatment [J]. *CyTA-Journal of Food*, 2021, 19(1): 316-325.
- [22] 蔡文, 帅良, 廖玲燕, 等. 压热辅助酶解法制备马蹄抗性淀粉的工艺优化及理化特性研究[J]. *食品科技*, 2023, 48(7): 234-242.
- [23] 张红霞, 金佳幸, 李炎, 等. 响应面法优化山药抗性淀粉制备及结构分析[J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(6): 46-52.
- [24] SU Q, CHEN L R, SUN L L, et al. Differences and mechanism of waxy corn starch and normal corn starch in the preparation of recrystallized resistant starch (RS3)[J]. *Foods*, 2024, 13(13): 2039.
- [25] TRUNG P T B, NGOC L B B, HOA P N, et al. Impact of heat-moisture and annealing treatments on physico-chemical properties and digestibility of starches from different colored sweet potato varieties [J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 105: 1071-1078.
- [26] LIU G D, HONG Y, GU Z B, et al. Preparation and characterization of pullulanase debranched starches and their properties for drug controlled-release [J]. *RSC Advances*, 2015, 5(117): 97066-97075.
- [27] 刘云芬, 郭珍红, 殷菲彤, 等. 响应面优化微波-压热法制备马蹄抗性淀粉的工艺研究[J]. *食品研究与开发*, 2022, 43(21): 74-82.
- [28] SUN H R, FAN J Y, TIAN Z G, et al. Effects of treatment methods on the formation of resistant starch in purple sweet potato [J]. *Food Chem*, 2022, 367: 130580.
- [29] CHI C D, LI X X, HUANG S X, et al. Basic principles in starch multi-scale structuration to mitigate digestibility: a review[J]. *Trends Food Sci Technol*, 2021, 109: 154-168.
- [30] 张楚佳. 普鲁兰酶协同湿热法制备改性粳米淀粉及其结构性质研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨商业大学, 2024.
- [31] MARTENS B M J, GERRITS W J J, BRUININX E M A M, et al. Amylopectin structure and crystallinity explains variation in digestion kinetics of starches across botanic sources in an *in vitro* pig model[J]. *J Anim Sci Biotechnol*, 2018, 9: 1-13.
- [32] NIU H L, ZHAO F J, JI W X, et al. Structural, physicochemical properties and noodle-making potential of quinoa starch and type 3, type 4, and type 5 quinoa resistant starch [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 258: 128772.
- [33] 程冰, 林顺顺, 李梦琴, 等. 2种抗性淀粉的结构特征及体外消化性研究[J]. *中国粮油学报*, 2022, 37(2): 81-88, 96.
- [34] WEI H X, LIANG B D, CHAI Y R, et al. Effect of different heat treatments on physicochemical properties and structural and digestibility of water caltrop starch [J]. *Starch-Stärke*, 2020, 72(9/10): 1900275.
- [35] 李涛, 黄群, 宋洪波, 等. 紫山药抗消化淀粉的制备及水解特性[J]. *中国粮油学报*, 2017, 32(9): 160-166.

(责任编辑:徐婷婷)