

杨冰洁, 张雨, 赵婧, 等. 亚临界水萃取、改性多糖的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2023, 44(1): 492–499. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022040051

YANG Bingjie, ZHANG Yu, ZHAO Jing, et al. Research Progress on Extraction and Modification of Polysaccharide by Subcritical Water[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(1): 492–499. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2022040051

· 专题综述 ·

亚临界水萃取、改性多糖的研究进展

杨冰洁, 张雨, 赵婧, 李全宏*

(中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘要: 多糖具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤等多种生理功能, 被广泛应用于食品、医药等领域。多糖的提取方法对多糖的提取率、结构以及生物活性都有影响, 对其后续的研究应用十分重要。亚临界水具有绿色环保、无毒副作用、提取率高等特点, 被广泛应用于天然产物的提取。在高温高压下, 亚临界水可以改变溶剂的极性和介电常数, 从而有助于改善提取工艺, 提高提取物的传质效率, 保持其生物活性, 具有很好的应用前景。本文综述了关于亚临界水萃取的基本原理并介绍了亚临界水技术在果蔬、食用菌、海产品等多糖的提取及改性中的应用, 为多糖的进一步研究以及利用亚临界水萃取技术大规模工业化提取多糖和针对性获得目标多糖提供理论依据和参考。

关键词: 亚临界水, 多糖, 萃取, 改性

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2023)01-0492-08

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2022040051



本文网刊:

Research Progress on Extraction and Modification of Polysaccharide by Subcritical Water

YANG Bingjie, ZHANG Yu, ZHAO Jing, LI Quanhong*

(College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: Polysaccharides are important natural products exhibiting many biological functions, such as antioxidant, anti-inflammatory and anti-tumor activities. They are widely used in food and pharmaceutical industries. The extraction method affects the yield, structure and activity of polysaccharides, influencing their application. Subcritical water extraction is environmentally friendly, non toxic and with high extraction efficiency. It is widely used in the preparation of natural products. Under high temperature and high pressure, subcritical water changes the polarity and dielectric constant of the solvent, thereby improving the mass transfer efficiency, in the meantime maintaining the biological activity of the extracts. In this paper, we introduced the basic principles of subcritical water extraction and summarized the application of subcritical water in the extraction of fruits and vegetables, edible fungus, seafood and other polysaccharides and modification, which provides theoretical basis and references for further researches on the application of subcritical water extraction technology in polysaccharide preparation.

Key words: subcritical water; polysaccharides; extraction; modification

多糖是一种重要的生物大分子, 越来越多的证据表明, 多糖具有抗氧化、降血糖、降血压、降血脂、抗肿瘤、抗炎等多种有益的生理活性^[1-5], 与人类健康和疾病预防密切相关。此外, 多糖还具有乳化、增稠、凝胶等特性。多糖来源十分广泛, 具有毒副作用小、无耐药性等特点, 被广泛应用于功能食品、食品

添加剂、疾病治疗等领域。多糖的生物活性与其单糖组成、分子量、硫酸基团含量、链构象、糖苷键的类型和位置等特征密切相关^[6-8], 而不同的提取方法会导致多糖的单糖组成、分子量等不同, 进而影响多糖的生物活性。因此, 通过合适的提取方法从天然产品中获得更有价值的多糖具有十分重要的意义。工

收稿日期: 2022-04-07

作者简介: 杨冰洁 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 天然功能性成分提取, E-mail: yangbingjie925@163.com。

* 通信作者: 李全宏 (1966-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 天然功能因子的提取与保健食品理论与技术、农产品精深加工与产业化的理论与实践, E-mail: liquanhong66@163.com。

艺简单、提取率高且能较好地保留多糖生物活性的提取方法是多糖产业化利用的关键。目前常用的提取方法有热水提取法、酸碱提取法、酶提取法、超声辅助提取法和微波辅助提取法等, 此外还有超临界 CO₂ 流体萃取法、高压脉冲电场法、亚临界水提取法等。其中, 亚临界水因其环境友好、提取率高、耗时短、无有机溶剂残留且能很好地保持多糖生物活性而引起广泛的关注。

近年来, 多糖的研究受到广泛关注, 有许多关于亚临界水萃取技术提取与改性天然多糖的研究, 同时越来越多的研究发现亚临界水萃取得到的多糖具有更好的生物活性。鉴于此, 本文系统阐述亚临界水萃取技术在多糖提取与改性方面的应用, 以期工业化大规模制备具有良好生物活性的天然多糖提供重要参考。

1 亚临界水萃取技术

水是一种绿色提取溶剂, 廉价、易得且绿色环保, 但由于其较高的极性和介电常数, 难以提取中等极性和非极性的化合物。水在不同的温度和压力下可分为固态水、液态水、亚临界水和超临界水, 而水的极性、介电常数等性质会随着温度和压力等条件的改变而发生明显的变化。因此, 可以通过调控水的性质使其更有利于物质的提取。

亚临界水萃取技术作为一种绿色高效的提取方法, 被广泛应用于多糖、多酚、精油、植物蛋白等天然产物的提取。亚临界水是指温度在 100~374 °C 范围内, 通过改变压力使水体仍保持液体状态的水, 即高于沸点和低于临界点的水。在亚临界状态下, 随着温度和压力的变化, 水的介电常数、密度、粘度、扩散率、表面张力等性质均发生变化。随着温度的升高, 水分子间氢键断裂, 水的电离常数(K_w)从 25 °C 时的 10⁻¹⁴ mol²/L² 增加到 300 °C 时的 10⁻¹¹ mol²/L², 而温度超过 300 °C 后, 电离常数再次下降^[9]。水的电离常数增加使其更像酸性溶液^[10], 离子强度的增加, 更容易电离生成氢离子和氢氧根离子, 这些离子在水解过程中充当酸/碱催化剂前体促进水解^[11]。温度升高也会使水的介电常数迅速降低, 极性从强极性逐渐变为非极性^[12]。当温度从 25 °C 升高到 250 °C (2.5 MPa) 时, 水的介电常数从 80 迅速下降到 25。在 250 °C 时, 水的介电常数介于甲醇(ε=33)和乙醇(ε=24)之间^[13]。在这种条件下, 水的某些性质类似于有机溶剂, 可以通过改变温度和压力实现选择性的提取不同极性的化合物, 如在较低温度下提取极性较大的化合物, 在较高温度下提取极性较小的化合物。温度和压力升高, 水的表面张力和粘度降低, 更容易渗透到细胞中, 扩散速率和传质速率增加。同时, 高温也会破坏多糖和固体基质间的氢键, 加快多糖溶出, 缩短提取时间^[14]。亚临界水提供的能量可以通过降低解吸过程所需的活化能来中断粘合性(溶质-基质)和内聚性(溶质-溶质)之间的相互作用^[15], 而升高压力

可以通过迫使水渗透到基质(孔隙)中来帮助提取^[16]。此外, 亚临界水对分子结构具有一定的修饰和改性作用, 有利于提高活性成分的生物活性^[17]。

亚临界水的萃取过程分为四个步骤: 首先在高温和高压条件下, 样品基质中不同活性位点的溶质被亚临界水解吸; 其次将提取物扩散到基质中; 随后, 根据样品基质的不同, 溶质从样品基质中分离到萃取液中; 最后, 从萃取液中洗脱和收集样品^[18]。研究表明, 亚临界水的萃取机理符合热力学模型^[19]。因此, 可以通过提高溶解度和传质效果以及增加对表面平衡的破坏来提高亚临界水的萃取效率^[20]。随着亚临界水温度的升高, 其性质不断变化, 溶解分析物的能力也随之增强。在亚临界水动态提取过程中, 水不断地流入, 可以提高传质效率, 提高提取率。温度升高可以克服由氢键、范德华力、基质中活性位点和溶质分子的偶极吸引力引起的溶质基质相互作用。此外, 在高温和高压下材料表面被破坏, 这也有利于物质的提取^[21]。当水的温度超过沸点时, 需要施加足够的压力使其保持液态。压力的存在可以进一步促进分析物从基质孔隙中溶出^[22]。

亚临界水提取只用水做溶剂, 无有机溶剂残留, 可以安全地用于食品、医药、保健品和化妆品。亚临界水提取可以分为动态提取模式和静态提取模式, 主要的影响因素有提取温度、提取压力、提取时间、料液比、颗粒尺寸等, 其中温度是最主要的影响因素^[23]。

2 亚临界水技术在多糖提取中的应用

目前, 亚临界水技术已经广泛应用于天然多糖的萃取, 如果蔬多糖、食用菌多糖等。亚临界水萃取不仅能够提高多糖的提取率, 缩短提取时间, 还能够较好地保留多糖的抗氧化、抗肿瘤等生物活性。除了单一使用亚临界水技术提取多糖, 还可将其与超声、微波等方法联合使用, 提高提取性能。

2.1 亚临界水提取果蔬中的多糖

果蔬是日常饮食中必不可少的一部分, 富含多种营养成分, 多糖是果蔬中一类重要的活性物质。果蔬来源十分丰富, 果蔬多糖的研究应用具有一定的优势。Liu 等^[24]采用亚临界水提取法从枣中提取得到 ZP1、ZP2 和 ZP3 三种多糖组分, 主要由阿拉伯糖、半乳糖、葡萄糖、甘露糖、鼠李糖和半乳糖醛酸组成。其中, ZP3 由于高糖醛酸含量和低分子量表现出最强的抗氧化活性, 而低分子量多糖的末端可能具有更多的还原性羟基作用于自由基。Liew 等^[25]采用动态亚临界水提取柚皮中的低甲氧基果胶, 并发现产量和提取速率主要受温度影响。当提取温度 120 °C、提取压力 3 MPa 时, 果胶提取率最高为 19.6%, 且提取过程符合单点动力学解吸模型($R^2>0.94$)。此外, 在动态亚临界水条件下水的 pH 降低替代酸性溶剂且长时间暴露于压力下促进了低分子量果胶而不是高分子量果胶的形成, 取代了传统的两步提取-脱酯化工艺。Peighamardoust 等^[26]比较了亚临界水提

取与传统方法提取甜菜果肉多糖的差异。传统方法的最佳条件为温度 90 ℃、时间 240 min、pH1, 果胶回收率为 20.8%。亚临界水法在提取温度 130 ℃, 提取时间 20 min, 液固比 30:1(v/w)条件下, 果胶产量最高为 20.7%。与传统方法相比, 提取时间显著减少, 且亚临界水法提取的果胶中半乳糖醛酸含量、甲基化度、乙酰化度和阿魏酸含量均较高, 而分子量较低。Zhang 等^[27]研究了不同亚临界水条件对苹果渣果胶提取的影响, 并阐明了提取条件与果胶多糖理化性质之间的相互关系。其中, 温度在亚临界提取中比提取时间起更重要的作用, 在低温区(100~120 ℃), 果胶的提取作用明显强于降解, 提取的多糖以果胶为主, 分子量、酯化度、半乳糖醛酸含量高, 颜色呈浅灰色, 具有用作凝胶、增稠剂和抗氧化补充剂的潜力。在中温区(140 ℃), 提取和降解作用达到平衡, 果胶提取率最高, 颜色趋于白色。而在高温区(160~180 ℃), 降解作用比提取作用强, 提取的多糖中性糖含量增加, 多糖呈深褐色, 具有低表观粘度和分子量、高溶解性和流动性以及良好的体外抗氧化活性, 适合开发功能性食品。刘焕燕等^[28]和马若影等^[29]还利用亚临界水优化了无花果和红心火龙果茎多糖的提取工艺并得到较好的抗氧化效果。

利用亚临界水萃取技术提取果蔬中的多糖, 不仅可以提高多糖的产量与生物活性, 还能全面利用果蔬原料, 对果蔬废弃物(果蔬皮、籽、渣等)进行回收利用, 可以实现果蔬垃圾“减量化、无害化、资源化”利用, 对提升相关产业的经济效益、构建低碳绿色环保生产模式具有重要的现实意义。

2.2 亚临界水提取食用菌中的多糖

食用菌主要是指可供食用的蕈菌, 包括香菇、平菇、金针菇、黑木耳、猴头菇等。食用菌口感较好且含有很多营养物质, 多糖是食用菌中重要的活性成分, 在菌丝、子实体、发酵液和菌渣中含量较多^[30], 食用菌多糖因其抗氧化、抗肿瘤、免疫调节等活性受到广泛关注。Li 等^[31]对亚临界水提取法和热水提取法提取的羊肚菌多糖进行了比较, 亚临界水提取法得到的粗多糖得率为 18.09%, 高于热水提取法(4.95%), 且具有更高的纯度以及更强的脂肪结合能力。两者含有相同的单糖组成且主要化学结构没有改变, 但具有明显不同的分子量和微观结构, 其中亚临界水萃取后多糖分子量降低。生物活性测定结果表明, 亚临界水提取法提取的羊肚菌多糖具有较强的体外抗氧化和免疫调节活性, 能显著促进 RAW264.7 细胞增殖和 NO 生成。Rizkyana 等^[32]采用不同温度(120~200 ℃)的亚临界水提取平菇多糖, 并对不同条件下获得的多糖进行硫酸化修饰。结果表明, 随着温度升高, 平菇多糖的提取率先增加后减少, 在 180 ℃ 时具有最高的提取率 20.35%。在此条件下通过化学修饰得到的硫酸多糖具有较好抗凝活性和抗氧化活性, 且对 HaCaT 和 HEK293 正常细胞系的细胞毒性相对

较低。Zhang 等^[33]研究了不同亚临界水提取条件对香菇多糖的结构和生物活性的影响。不同条件下获得的香菇多糖均为杂多糖, 由葡萄糖、甘露糖和半乳糖组成, 但摩尔比不同。多糖的分子量随着温度升高先升高再降低, 在 150 ℃ 作用 15 min 后得到的多糖三螺旋结构消失。不同亚临界水条件下获得的多糖对 HepG2 细胞和 MCF-7cells 均具有明显的体外抗肿瘤活性。

亚临界水微环境对食用菌多糖的结构和生物活性具有极其重要的影响。不同提取条件下得到的多糖分子量有明显差异, 当温度过高时, 多糖的三螺旋结构和一些糖苷键被破坏。因此, 未来可以通过改变亚临界水微环境来开发一种更可控、更有效的多糖提取方法。

2.3 亚临界水提取中药材中的多糖

中药材来源广泛, 且与化学合成药物相比毒副作用较小, 近年来对中药材的研究不断深入。中药材中的天然活性成分是其防治疾病的基础, 其中, 多糖物质具有保肝、抗氧化等重要的生物活性。Luo 等^[34]采用亚临界水技术提取蛹虫草多糖, 提取率为 7.13%, 高于碱提取法、微波辅助提取法、索氏提取法和热水提取法。用 DEAE-52 和 Sephadex G-100 层析纯化获得两种多糖组分, 体外免疫活性试验表明这两种多糖组分能与 ConA 或 LPS 协同显著刺激淋巴细胞的增殖。Zhang 等^[35]研究了亚临界水、水和乙醇提取三种人参中的糖、蛋白质和多酚等活性成分。其中, 当提取温度为 200 ℃ 时, 亚临界水提取人参多糖提取率为 67.87%, 显著高于水提法和乙醇提取法。Liu 等^[36]采用亚临界水技术提取石斛多糖, 采用响应面法确定最佳试验条件为提取温度 129.83 ℃、提取时间 16.71 min 和提取压力 1.12 MPa, 多糖提取率最高可达 21.88%, 显著高于搅拌、回流、超声提取法, 且提取的多糖具有较好的羟基自由基和 ABTS 自由基清除活性。Limsangouan 等^[37]采用亚临界水提取罗望子种子木聚糖, 在 175 ℃ 条件下提取率最高, 可达 62.28%, 与传统提取方法相比, 亚临界水提取木聚糖得率较高且纯度较高, 分子量减小、黏度降低、总酚含量和抗氧化能力下降。Zhao 等^[38]采用响应面法优化亚临界水提取葛根中活性成分的工艺参数, 最佳提取条件为: 提取温度 141 ℃、提取时间 58 min、液料比为 23:1 mL/g, 在此条件下, 活性成分提取率为 28.9%; 与热水提取法和乙醇回流提取法相比, 亚临界水提取率最高, 并且能显著提高总多糖产量。Cheng 等^[39]利用亚临界水强化提取 *Semen richonsanthis* 中的多糖, 在提取温度 140 ℃、提取时间 10 min、载水量 4 mL 的条件下的多糖产率最高为 0.474%, 与超声和加热回流提取相比具有更高的提取率、抗氧化活性和对 HeLa 细胞的体外抑制作用。此外, 亚临界水和超声提取对提取物细胞壁的破坏作用更大, 而加热回流提取则能够保持相对完整的细胞结构。

为了从中药材中提取多糖等活性成分, 人们开发了各种提取方法, 其中, 使用乙醇或有机溶剂的传统方法被广泛使用。然而, 这些传统方法大多耗时长、能源效率低, 并且涉及一些对环境或人类健康具有潜在毒性的有机溶剂。因此, 亚临界水萃取技术作为一种加工成本低、操作条件温和、加工时间短、溶剂环保的新型萃取技术在中药材活性成分的提取利用中有着至关重要的作用。

2.4 亚临界水提取谷物多糖

谷物含有蛋白质、碳水化合物、矿物质等多种营养物质, 人类生长和生命活动所需的营养物质很大一部分是从谷物中获取的。谷物加工会产生大量副产品, 这些副产品仍用于低价值应用, 例如动物饲料或材料填料。谷糠因其富含有价值的生物分子如细胞壁多糖和酚类物质, 成为第二代生物精炼厂的宝贵原料, 而谷物细胞壁中的非淀粉多糖是其中十分重要的一种活性成分。Ruthes 等^[40] 采用亚临界水从小麦、黑麦和大麦的麸质中提取多糖并进行比较, 结果表明亚临界水提取能够分离出具有目标分子结构的细胞壁多糖, 随着提取时间的推移, 提取物从富含葡聚糖转变为更高含量的阿魏酰化阿拉伯木聚糖, 从而产生显著的自由基清除活性。Li 等^[41] 以麦麸为原料, 利用亚临界水和酶法交联制备多种阿拉伯木聚糖水凝胶, 采用亚临界水萃取法从麦麸中提取阿拉伯木聚糖, 并与水萃取法和碱萃取法进行比较, 亚临界水提取的阿拉伯木聚糖具有更高的分子量, 阿魏酸等组分也较多, 交联能力更强, 而阿拉伯木聚糖的连接模式相似。Benito-Roman 等^[14] 利用加压热水提取糯性大麦中的 β -葡聚糖, 研究了提取温度、提取时间和提取压力对糯性大麦中 β -葡聚糖提取率、分子量的影响, 当提取温度为 155 $^{\circ}\text{C}$, 提取时间为 18 min, 提取压力为 5 MPa 时, β -葡聚糖的分子量和提取率均达到最大值, 提取率为 53.7%, 平均分子量为 200 kDa。与传统提取方法相比缩短了提取的时间, 也大大提高了 β -葡聚糖的分子量。Yoo 等^[42] 利用亚临界水提取燕麦粉中的 β -葡聚糖, 并研究了提取温度对中试亚临界水提取中 β -葡聚糖和羟甲基糠醛含量的影响, 评估 β -葡聚糖的规模化提取的可行性。实验室规模最佳提取条件为提取温度 200 $^{\circ}\text{C}$, pH4.0, 提取时间 10 min, 燕麦粉粒径 425~850 μm , 在此条件下 β -葡聚糖提取率为 6.98%, 是 60 $^{\circ}\text{C}$ 热水提取 3 h 的 2 倍以上。然而, 在高温条件下 β -葡聚糖则会降解为 5-羟甲基-2-糠醛。因此, 控制适当的提取温度可使亚临界水法萃取多糖达到最佳效果。Zhang 等^[43] 采用亚临界水预处理从芝麻皮中提取纤维素并与传统碱预处理比较, 两种预处理方法提取纤维素的提取率无显著差异, 但亚临界水预处理提取的样品结晶度更高, 直径更小, 热稳定性更好。

谷物是人类主要的食物资源, 又是重要的工业原料。利用亚临界水技术对谷物副产物进行综合开

发和利用, 可使其综合利用得到进一步发展, 而且还可增加产品的附加值, 从而提高企业的经济效益和社会效益。同时, 相比于其他提取技术, 亚临界水提取的产物具有更好的性质。

2.5 亚临界水提取海洋产品中的多糖

海产品资源十分丰富, 海藻等海产品中含有丰富的褐藻多糖、卡拉胶、琼脂和海藻酸盐等, 是良好的天然多糖的来源。越来越多的海产品多糖被广泛应用于食品工业、医药、化妆品等行业。Getachew 等^[44] 利用亚临界水提取牡蛎多糖, 得到最佳提取条件为提取温度 125.01 $^{\circ}\text{C}$, 提取时间 14.93 min, 液固比 44.69:1 mL/g, 多糖的得率可达到 18.66%。该牡蛎多糖由葡萄糖组成、 α -(1 $\rightarrow$ 4)糖苷键连接的 D-葡聚糖, 且具有较好的抗氧化、抗高血压和抗糖尿病活性。Saravana 等^[45] 优化了亚临界水提取 *Saccharina japonica* (Areschoug) 中褐藻多糖的工艺条件, 当提取温度为 127.01 $^{\circ}\text{C}$, 提取压力为 8 MPa, 液固比为 25:1 mL/g, 搅拌速度为 300 r/min, 反应时间为 11.98 min 时, 褐藻多糖的产率为 13.56%。提取的褐藻多糖还具有较好的抗氧化、抗有丝分裂和抗增殖活性, 并认为利用亚临界水萃取褐藻多糖可能是工业规模生产褐藻糖胶的首选方法。Alboofetileh 等^[46-47] 优化了 *Nizamuddiniana zanardinii* 中硫酸多糖的提取工艺条件, 并与酶、超声、微波、超声-微波复合和热水提取方法进行对比, 最佳提取条件为: 提取时间 29 min, 提取温度 150 $^{\circ}\text{C}$, 料液比 21:1 g/mL。在此条件下, 褐藻多糖的得率为 25.98%, 并具有抗氧化、抗癌和免疫调节活性。与其他方法相比, 亚临界水提取率最高。Bordoloi 等^[48] 优化了亚临界水提取 *Ecklonia maxima* 中生物活性成分的工艺条件。在提取温度 120 $^{\circ}\text{C}$, 提取时间 5 min, 液料比 30:1 mL/g 条件下, 多糖得率最高为 58.25%, 硫酸盐含量为 48.53 mg SO_4^{2-} /g, 海藻酸盐含量为 15.65%。

海洋产品多糖以硫酸多糖为主且具有更好的生物活性。在亚临界水环境下提取得到的硫酸多糖产量高、活性强, 而硫酸基团取代度则降低^[47]。而石德玲等^[49] 则认为海参硫酸多糖在高温高压条件下未见明显降解, 且在 121 $^{\circ}\text{C}$ 加热加压条件下降解并不会导致海参硫酸多糖上硫酸根的脱落。这一结果与 Lahrsen 等^[50] 和 Morimoto 等^[51] 的研究结果一致。因此, 亚临界水萃取技术对海洋产品硫酸多糖的作用还有待进一步研究。

2.6 亚临界水提取其他种类原料中的多糖

亚临界水萃取技术除被应用在果蔬多糖、食用菌多糖、中药材多糖、谷物多糖和海洋产品多糖等的提取外, 在茶多糖、坚果多糖等提取中也广泛应用。Munoz-Almagro 等^[52] 比较了亚临界水法和柠檬酸法从可可豆壳副产品中提取果胶, 亚临界水提取具有更高的效率、半乳糖醛酸含量和甲酯化程度, 与柠檬酸法相比, 在更短的时间内获得了更高的提取率, 且含

有的杂质较少。顾艳耿等^[53]采用亚临界水提取法提取茶多糖,并与热水浸提法进行比较。亚临界水提取法的得率为5.86%,高于热水浸提法,且缩短了提取的时间。同时,两者具有相似的抗氧化能力和保护修复DNA损伤作用。Gu等^[54]利用热水、超声波辅助和亚临界水三种方法提取慈姑多糖,与热水、超声波辅助提取相比,亚临界水提取的多糖的糖醛酸含量更高,Zeta电位更大,有更好的稳定性,且体外抗氧化活性和免疫调节活性更好。Rincon等^[55]采用连续亚临界水提取月桂树修剪废弃物多糖,并用于制备杂化壳聚糖膜,连续亚临界水提取能够保留多糖附着的功能性酚酸,改善薄膜的阻水性能、光学性能和清除自由基的能力,并保持壳聚糖的抗菌活性。

2.7 亚临界水提取多糖的辅助强化方法

将亚临界水提取技术与超声、微波等方法联合使用,通过协同作用提取多糖,能够明显提高多糖产率和生物活性。

超声波能够在介质中产生热效应、机械效应等,破坏细胞壁,促进多糖的溶出,提高多糖的提取率^[56]。Zhang等^[57]利用亚临界水-超声波两步萃取法(USWE)提取香菇多糖,在提取温度140℃,提取时间40 min,料液比25:1 mL/g,超声功率190 W条件下,多糖的提取率达17.34%。与亚临界水、超声波和热水提取法相比,亚临界水-超声波两步萃取法获得的多糖具有更好的抗氧化活性。此外,四种样品单糖组成的摩尔比不同,形态存在显著差异,表明USWE是一种从香菇中提取和分离多糖的有效技术。Zhao等^[58]优化了超声强化亚临界水萃取枸杞多糖的工艺,当提取温度、时间、料液比、超声功率为100℃、53 min、26:1 mL/g、160 W时,多糖提取率最高为5.728%,与热水、超声波和亚临界水提取相比,该方法预处理简单、萃取率高,且能较好的保留枸杞多糖的抗氧化性。Yan等^[59]对比了亚临界水、亚临界柠檬酸水溶液、超声辅助亚临界柠檬酸水溶液提取麦麸中可溶性膳食纤维。超声辅助亚临界柠檬酸水溶液提取的提取率和碳水化合物含量最高,提取的可溶性膳食纤维分子量低、粒径小、更均匀,具有更好的热稳定性、体外抗氧化活性和 α -淀粉酶抑制活性。

微波辐射会使细胞内的水分子获取大量热量,细胞中水分子蒸发会对细胞壁产生巨大的压力,导致细胞壁扩张破裂,加快多糖从细胞中溶出^[60]。杜易平等^[61]通过微波辅助亚临界萃取杨黄多糖,得到在压强、料水比、萃取时间、微波功率分别为1.0 MPa、1:20、8 min、400 W时,粗多糖得率为19.68%,高于传统的加热回流提取法得率。此外,可以在亚临界水中添加适量的乙醇、二氧化碳和酶等绿色添加剂提高提取性能,改变亚临界水的性质。Saravana等^[62]在亚临界水中加入深共晶溶剂提高了褐藻多糖的提取率,在提取温度150℃、提取压力1.985 MPa、含

水量70%、液固比36.81:1 mL/g时为最佳提取条件,此条件下褐藻多糖提取率为14.93%。Klinchongkon等^[63]研究了乙醇添加量对亚临界水提取西番莲果皮果胶的影响。结果表明,亚临界水法提取可获得低分子量的果胶多糖,且随着乙醇含量的增加,提取的果胶中抗氧化物质增多,果胶的抗氧化性增强。

通过亚临界萃取技术与其他技术手段联用,可以发挥各自优势,提高多糖产量的同时增加其活性功能。此外,绿色添加剂的使用可以改变亚临界水的性质,并大量获得理想结构的目标多糖。因此,如何选取与亚临界水萃取技术联用手段和更好的添加剂是未来探索的方向。

3 亚临界水对多糖的改性作用

利用亚临界水还可以对多糖进行改性,改变多糖的物理化学性质及生物活性。Yu等^[64]采用亚临界水对南瓜多糖进行改性。亚临界水处理能有效降解南瓜多糖并改变其分子量分布。亚临界水处理的南瓜多糖特性粘度、粘均分子量和表观粘度降低,活化和乳化活性增加,抗氧化活性增强。Khajavi等^[65]采用管式反应器研究了麦芽糖在亚临界水中的分解过程。麦芽糖的分解是连续进行的,温度越高,麦芽糖的分解速度越快。随着反应时间延长,溶液pH降低,麦芽糖分解速率加快。Oomori等^[66]采用管式反应器测量由两个葡萄糖残基或葡萄糖、果糖或半乳糖残基组成的二糖在亚临界水中的水解。二糖在亚临界水中水解的敏感性在很大程度上取决于单糖组成和糖苷键的类型。降解速率常数可能与糖苷氧原子的静电势电荷有关。二糖在亚临界水中的水解具有焓-熵补偿,水解基本上按照相同的反应机理进行。Getachew^[17]利用亚临界水技术(180℃/220℃; 3/6 MPa)对咖啡多糖进行改性,改性后的多糖具有较好的抗氧化活性和DNA保护作用,且改变了多糖的结晶度与热特性。因此,多糖的亚临界水修饰可以作为一种绿色、高效的方法,对天然多糖的结构和分子进行改变,以增强其生物功能。

亚临界水对多糖的糖苷键具有一定破坏作用,可以在一定条件下使某些糖苷键断裂。然而,对于亚临界水对糖苷键作用机制的研究较少,亚临界水是否可以在某一特定的温度和压力条件下使特定的糖苷键断裂还有待进一步研究。

4 结论

多糖具有十分重要的生理活性,其生物活性与其结构特征具有密切联系。多糖的提取是多糖应用的基础,也是关键的一步。在研究多糖提取技术时,不仅要考虑提高多糖的提取率,还要对多糖结构的进行表征、测定生物活性,并探究多糖结构和生物活性间的关系,在保证多糖提取率的同时更好地发挥其生物活性。亚临界水提取技术具有环境友好、萃取率高等优点,被广泛用于多糖的提取。将亚临界水提取技术与超声波、微波辅助等方法协同作用能进一步

提高提取效能。但是亚临界水提取也存在一些局限性,且不易精准控制提取温度与压力,有待进一步完善。一方面在高温高压条件下某些大分子物质可能会发生降解,在亚临界水中适当添加绿色添加剂能够提高提取率、抑制大分子物质水解,可以进一步探究绿色添加剂的种类以及添加量,提高亚临界水提取的提取效能;另一方面,亚临界水提取目前还停留在实验室阶段,缺少大规模的亚临界水提取设备,需要加强进一步研究,将亚临界水提取应用于工业化大规模提取。除了用于多糖的提取,亚临界水还可用于多糖的改性,而在不同亚临界水状态下制备的多糖具有不同的理化性质与结构组成。根据现有的亚临界技术文献,亚临界水对生物活性化合物的提取具有良好的选择性,可用于通过控制温度和压力来提取不同的目标多糖。此外,亚临界水高温高压环境对多糖糖苷键及链构像也具有一定影响,而这种影响是导致多糖(三级)结构转变的重要因素,同时,多糖的活性功能随多糖的结构转变而发生变化。因此,加强对亚临界水提取多糖的相关研究,有望能够针对性地获得多糖。基于亚临界技术的潜力和前景,未来的研究应该集中在亚临界水制备目标多糖以及大规模运营和工业设备的设计上,使亚临界技术在食品工业中得到有效应用。

参考文献

- [1] CHEN L, LONG R, HUANG G L, et al. Extraction and antioxidant activities *in vivo* of pumpkin polysaccharide[J]. *Industrial Crops and Products*, 2020, 146: 112199.
- [2] BAI Z Y, MENG J X, HUANG J X, et al. Comparative study on antidiabetic function of six legume crude polysaccharides[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 154: 25–30.
- [3] LI Q Q, LI J, LI H, et al. Physicochemical properties and functional bioactivities of different bonding state polysaccharides extracted from tomato fruit[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 219: 181–190.
- [4] CHENG L Z, CHEN L, YANG Q Q, et al. Antitumor activity of Se-containing tea polysaccharides against sarcoma 180 and comparison with regular tea polysaccharides and Se-yeast[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 120: 853–858.
- [5] LI Q, LI Q, HAO Z H, et al. A novel polysaccharide from *Rhizoma panacis japonica* exerts anti-inflammatory effects via STAT3 signal pathway[J]. *RSC Advances*, 2018, 8(46): 26371–26376.
- [6] XU X Q, CHANG Y G, XUE C H, et al. Gastric protective activities of sea cucumber fucoidans with different molecular weight and chain conformations: A structure-activity relationship investigation[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2018, 66(32): 8615–8622.
- [7] HOU C Y, CHEN L L, YANG L Z, et al. An insight into anti-inflammatory effects of natural polysaccharides[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 153: 248–255.
- [8] WU G J, SHIU S M, HSIEH M C, et al. Anti-inflammatory activity of a sulfated polysaccharide from the brown alga *Sargassum cristaefolium*[J]. *Food Hydrocolloids*, 2016, 53: 16–23.
- [9] MILLER M, NILGES P, HARNISCH F, et al. Subcritical water as reaction environment: Fundamentals of hydrothermal biomass transformation[J]. *Chemosuschem*, 2011, 4(5): 566–579.
- [10] BARBOSA J R, FREITAS M M D, MARTINS L H D, et al. Polysaccharides of mushroom *Pleurotus* spp.: New extraction techniques, biological activities and development of new technologies[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 229: 115550.
- [11] POWELL T, BOWRA S, COOPER H J. Subcritical water processing of proteins: An alternative to enzymatic digestion[J]. *Analytical Chemistry*, 2016, 88(12): 6425–6432.
- [12] THANI N M, KAMAL S S M, TAIP F S, et al. Hydrolysis and characterization of sugar recovery from bakery waste under optimized subcritical water conditions[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2020, 57(8): 3108–3118.
- [13] ZHANG J X, WEN C T, ZHANG H H, et al. Recent advances in the extraction of bioactive compounds with subcritical water: A review[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2020, 95: 183–195.
- [14] BENITO-ROMAN O, ALONSO E, COCERO M J. Pressurized hot water extraction of beta-glucans from waxy barley[J]. *Journal of Supercritical Fluids*, 2013, 73: 120–125.
- [15] TEO C C, TAN S N, YONG J W H, et al. Pressurized hot water extraction (PHWE)[J]. *Journal of Chromatography A*, 2010, 1217(16): 2484–2494.
- [16] PILLOT M, LEBEAU B, NOUALI H, et al. High pressure intrusion of water and LiCl aqueous solutions in hydrophobic KIT-6 mesoporous silica: Influence of the grafted group nature[J]. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2019, 280: 248–255.
- [17] GETACHEW A T, CHUN B S. Molecular modification of native coffee polysaccharide using subcritical water treatment: Structural characterization, antioxidant, and DNA protecting activities[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2017, 99: 555–562.
- [18] HAWTHORNE S B, YANG Y, MILLER D J. Extraction of organic pollutants from environmental solids with subcritical and supercritical water[J]. *Analytical Chemistry*, 1994, 66(18): 2912.
- [19] HOLGATE H R, TESTER J W. Oxidation of hydrogen and carbon-monoxide in subcritical and supercritical water-Reaction-kinetics, pathways, and water-density effects. 2. elementary reaction modeling[J]. *The Journal of Physical Chemistry*, 1994, 98(3): 810–822.
- [20] ONG E S, CHEONG J, GOH D. Pressurized hot water extraction of bioactive or marker compounds in botanicals and medicinal plant materials[J]. *Journal of Chromatography A*, 2006, 1112(1–2): 92–102.
- [21] BUBALO M C, VIDOVIĆ S, REDOVNIKOVIC I R, et al. Green solvents for green technologies[J]. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 2015, 90(9): 1631–1639.
- [22] WIJNGAARD H, HOSSAIN M B, RAI D K, et al. Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant origin[J]. *Food Research International*, 2012, 46(2): 505–513.
- [23] BORISOVA D, STATKUS M, TSIZIN G, et al. Subcritical water: Use in chemical analysis[J]. *Journal of Analytical Chem-*

istry, 2017, 72(8): 823–836.

[24] LIU X X, LIU H M, YAN Y Y, et al. Structural characterization and antioxidant activity of polysaccharides extracted from jujube using subcritical water[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2020, 117: 108645.

[25] LIEW S Q, TEOH W H, TAN C K, et al. Subcritical water extraction of low methoxyl pectin from pomelo (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) peels[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 116: 128–135.

[26] PEIGHAMBARDOUST S H, Jafarzadeh-Moghaddam M, Pateiro M, et al. Physicochemical, thermal and rheological properties of pectin extracted from sugar beet pulp using subcritical water extraction process[J]. *Molecules*, 2021, 26(5): 1413.

[27] ZHANG F, ZHANG L S, CHEN J X, et al. Systematic evaluation of a series of pectic polysaccharides extracted from apple pomace by regulation of subcritical water conditions[J]. *Food Chemistry*, 2021, 368: 130833.

[28] 刘焕燕, 郑光耀, 贺亮, 等. 亚临界水提取无花果多糖的工艺研究[J]. *食品与发酵科技*, 2017, 53(4): 20–26. [LIU H Y, ZHENG G Y, HE L, et al. Study on subcritical water extraction of polysaccharide from *Ficus carica* Linn[J]. *Food and Fermentation Technology*, 2017, 53(4): 20–26.]

[29] 马若影, 杨慧强, 李国胜, 等. 亚临界水提取红心火龙果茎多糖及其抗氧化活性[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(10): 286–290. [MA R Y, YANG H Q, LI G S, et al. Study on the extraction and antioxidant activity of polysaccharides from red pulp *Hylocereus undatus* stem by subcritical water[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2017, 38(10): 286–290.]

[30] YIN C M, NORATTO G D, FAN X Z, et al. The impact of mushroom polysaccharides on gut microbiota and its beneficial effects to host: A review[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 250: 116942.

[31] LI F, LEI H J, XU H D. Influences of subcritical water extraction on the characterization and biological properties of polysaccharides from *Morchella sextelata*[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2021: 16024.

[32] RIZKYANA A D, HO T C, ROY V C, et al. Sulfation and characterization of polysaccharides from oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) extracted using subcritical water[J]. *Journal of Supercritical Fluids*, 2020, 179: 105412.

[33] ZHANG J X, WEN C T, GU J Y, et al. Effects of subcritical water extraction microenvironment on the structure and biological activities of polysaccharides from *Lentinus edodes*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 123: 1002–1011.

[34] LUO X P, DUAN Y Q, YANG W Y, et al. Structural elucidation and immunostimulatory activity of polysaccharide isolated by subcritical water extraction from *Cordyceps militaris*[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2017, 157: 794–802.

[35] ZHANG Y J, ZHANG Y, TAHA A A, et al. Subcritical water extraction of bioactive components from ginseng roots (*Panax ginseng* CA Mey)[J]. *Ind Crop Prod*, 2018, 117: 118–127.

[36] LIU J, LI Y C, LIU W Q, et al. Extraction of polysaccharide from *Dendrobium nobile* Lindl. by subcritical water extraction[J].

ACS Omega, 2019, 4(24): 20586–20594.

[37] LIMSANGOUAN N, MILASING N, THONGNGAM M, et al. Physical and chemical properties, antioxidant capacity, and total phenolic content of xyloglucan component in tamarind (*Tamarindus indica*) seed extracted using subcritical water[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2019, 43(10): 14146.

[38] ZHAO T, LUO Y B, ZHANG X Y, et al. Subcritical water extraction of bioactive compounds from *Radix puerariae* and optimization study using response surface methodology[J]. *Chemical Engineering Communications*, 2019, 206(9): 1218–1227.

[39] CHENG Y, LIU W, GAO Q S, et al. Enhanced extraction of bioactive components of 3, 29-dibenzoylkarounidiol and polysaccharides from *Semen richonsanthi* using subcritical water technology[J]. *Chemistry Select*, 2020, 4(46): 13689–13694.

[40] RUTHES A C, RUDJITO R C, RENCORET J, et al. Comparative recalcitrance and extractability of cell wall polysaccharides from cereal (wheat, rye, and barley) brans using subcritical water[J]. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2020, 8(18): 7192–7204.

[41] LI C, WANG L, CHEN Z X, et al. Facile and green preparation of diverse arabinoxylan hydrogels from wheat bran by combining subcritical water and enzymatic crosslinking[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 241: 116317.

[42] YOO H U, KO M J, CHUNG M S. Hydrolysis of beta-glucan in oat flour during subcritical-water extraction[J]. *Food Chemistry*, 2019, 308: 125670.

[43] ZHANG R Y, LIU H M, HOU J, et al. Cellulose fibers extracted from sesame hull using subcritical water as a pretreatment[J]. *Arabian Journal of Chemistry*, 2021, 14(6): 103178.

[44] GETACHEW A T, LEE H J, CHO Y J, et al. Optimization of polysaccharides extraction from Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) using subcritical water: structural characterization and biological activities[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 121: 852–86.

[45] SARAVANA P S, TILAHUN A, GERENEW C, et al. Subcritical water extraction of fucoidan from *Saccharina japonica*: Optimization, characterization and biological studies[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2018, 30(1): 579–590.

[46] ALBOOFETILEH M, REZAEI M, TABARSA M, et al. Subcritical water extraction as an efficient technique to isolate biologically-active fucoidans from *Nizamuddiniana zanardinii*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 128: 244–253.

[47] ALBOOFETILEH M, REZAEI M, TABARSA M, et al. Effect of different non-conventional extraction methods on the antibacterial and antiviral activity of fucoidans extracted from *Nizamuddiniana zanardinii*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 124: 131–137.

[48] BORDOLOI A, GOOSEN N J. A greener alternative using subcritical water extraction to valorize the brown macroalgae *Ecklonia maxima* for bioactive compounds[J]. *Journal of Applied Phycology*, 2020, 32(4): 2307–2319.

[49] 石德玲, 齐俊华, 卢海燕, 等. 海参硫酸多糖的高温高压降解工艺及其降解机制[J]. *中国海洋药物*, 2019, 38(1): 1–10. [SHI

- D L, QI J H, LU H Y, et al. Hydrothermal degradation process and mechanism of sulfated polysaccharides from sea cucumber[J]. *Chinese Journal of Marine Drugs*, 2019, 38(1): 1–10.]
- [50] LAHRSEN E, LIEWERT I, ALBAN S. Gradual degradation of fucoidan from *Fucus vesiculosus* and its effect on structure, antioxidant and antiproliferative activities[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2018, 192: 208–216.
- [51] MORIMOTO M, TAKATORI M, HAYASHI T, et al. Depolymerization of sulfated polysaccharides under hydrothermal conditions[J]. *Carbohydrate Research*, 2014, 384: 56–60.
- [52] MUNOZ-ALMAGRO N, VALADEZ-CARMONA L, MENDIOLA J A, et al. Structural characterisation of pectin obtained from cacao pod husk. Comparison of conventional and subcritical water extraction[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2019, 217: 69–78.
- [53] 顾艳耿, 胡仲秋, 邱月, 等. 亚临界水法提取茶多糖及抗氧化活性研究[J]. *食品科技*, 2019, 44(6): 194–201. [GU Y G, HU Z Q, QIU Y, et al. Extraction and antioxidant activity of tea polysaccharides by subcritical water from tea[J]. *Food Science and Technology*, 2019, 44(6): 194–201.]
- [54] GU J Y, ZHANG H B, YAO H, et al. Comparison of characterization, antioxidant and immunological activities of three polysaccharides from *Sagittaria sagittifolia* L[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 235: 115939.
- [55] RINCON E, ESPINOSA E, GARCIA-DOMINGUEZ M T, et al. Bioactive pectic polysaccharides from bay tree pruning waste: Sequential subcritical water extraction and application in active food packaging[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2021, 272: 118477.
- [56] WEN C T, ZHAO J X, ZHANG H H, et al. Advances in ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from cash crops-A review[J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2018, 48: 538–549.
- [57] ZHANG J X, WEN C T, QIN W, et al. Ultrasonic-enhanced subcritical water extraction of polysaccharides by two steps and its characterization from *Lentinus edodes*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 118: 2269–2277.
- [58] ZHAO C, YANG R F, QIU T Q. Ultrasound-enhanced subcritical water extraction of polysaccharides from *Lycium barbarum* L[J]. *Separation and Purification Technology*, 2013, 120: 141–147.
- [59] YAN J K, WU L X, CAI W D, et al. Subcritical water extraction-based methods affect the physicochemical and functional properties of soluble dietary fibers from wheat bran[J]. *Food Chemistry*, 2019, 298: 124987.
- [60] BAGADE S B, PATIL M. Recent advances in microwave assisted extraction of bioactive compounds from complex herbal samples: A review[J]. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 2019, 51(2): 138–149.
- [61] 杜易平, 张亚婕, 李艳, 等. 微波辅助亚临界水提取杨黄多糖[J]. *实用药物与临床*, 2017, 20(12): 1407–1409. [DU Y P, ZHANG Y J, LI Y, et al. Extraction of polysaccharides from *Inonotus vaninii* with microwave-subcritical water method[J]. *Practical Pharmacy and Clinical Remedies*, 2017, 20(12): 1407–1409.]
- [62] SARAVANA P S, CHO Y N, WOO H C, et al. Green and efficient extraction of polysaccharides from brown seaweed by adding deep eutectic solvent in subcritical water hydrolysis[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2018, 198: 1474–1484.
- [63] KLINCHONGKON K, CHANTHONG N, RUCHAIN K, et al. Effect of ethanol addition on subcritical water extraction of pectic polysaccharides from passion fruit peel[J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2016, 41(5): 13138.
- [64] YU G Y, ZHAO J, WEI Y L, et al. Physicochemical properties and antioxidant activity of pumpkin polysaccharide (*Cucurbita moschata* Duchesne ex Poiret) modified by subcritical water[J]. *Foods*, 2021, 10(1): 197.
- [65] KHAJAVI S H, KIMURA Y, OOMORI T, et al. Decomposition kinetics of maltose in subcritical water[J]. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 2004, 68(1): 91–95.
- [66] OOMORI T, KHAJAVI S H, KIMURA Y, et al. Hydrolysis of disaccharides containing glucose residue in subcritical water[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2004, 18(2): 143–147.