

9-11-2024

Research progress on extraction, purification and structural modification of polysaccharides from edible fungi

ZHENG Tingting

College of Tea & Pu'er, West Yunnan University of Applied Sciences, Pu'er, Yunnan 665000, China; Pu'er Institute of Pu-erh Tea, Pu'er, Yunnan 665000, China; College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201, China

ZHANG Wenjie

College of Tea & Pu'er, West Yunnan University of Applied Sciences, Pu'er, Yunnan 665000, China; Pu'er Institute of Pu-erh Tea, Pu'er, Yunnan 665000, China

GONG Wanying

College of Tea & Pu'er, West Yunnan University of Applied Sciences, Pu'er, Yunnan 665000, China; Pu'er Institute of Pu-erh Tea, Pu'er, Yunnan 665000, China

See next page for additional authors

Follow this and additional works at: <https://www.ifoodmm.cn/journal>

Recommended Citation

Tingting, ZHENG; Wenjie, ZHANG; Wanying, GONG; Cong, LIU; Miaomiao, ZHAO; and Liang, YAN (2024) "Research progress on extraction, purification and structural modification of polysaccharides from edible fungi," *Food and Machinery*. Vol. 40: Iss. 7, Article 33.

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2023.81199

Available at: <https://www.ifoodmm.cn/journal/vol40/iss7/33>

This Advances is brought to you for free and open access by Food and Machinery. It has been accepted for inclusion in Food and Machinery by an authorized editor of Food and Machinery.

Research progress on extraction, purification and structural modification of polysaccharides from edible fungi

Authors

ZHENG Tingting, ZHANG Wenjie, GONG Wanying, LIU Cong, ZHAO Miaomiao, and YAN Liang

食用菌多糖提取纯化及结构修饰研究进展

Research progress on extraction, purification and structural modification of polysaccharides from edible fungi

郑婷婷^{1,2,3}张文杰^{1,2}龚婉莹^{1,2}ZHENG Tingting^{1,2,3}ZHANG Wenjie^{1,2}GONG Wanying^{1,2}刘 聪^{1,2}赵苗苗^{1,2}严 亮^{1,2}LIU Cong^{1,2}ZHAO Miaomiao^{1,2}YAN Liang^{1,2}

(1. 滇西应用技术大学普洱茶学院, 云南 普洱 665000; 2. 普洱茶研究院,

云南 普洱 665000; 3. 云南农业大学食品科学技术学院, 云南 昆明 650201)

(1. College of Tea (Pu'er), West Yunnan University of Applied Sciences, Pu'er, Yunnan 665000, China; 2. Pu'er Institute of Pu-erh Tea, Pu'er, Yunnan 665000, China; 3. College of Food Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201, China)

摘要:食用菌多糖的提取纯化方法决定其结构表征,进而影响其生物活性,是食用菌多糖研究的基础。一些特定的结构特征使得食用菌多糖的生物活性显著增强,因此,研究人员采用物理、生物和化学方法来修饰食用菌多糖的分子结构,以提高其生物活性。文章综述了食用菌多糖的提取、纯化及结构修饰方法,总结了食用菌多糖提取纯化方法及其优缺点,食用菌多糖化学修饰方法对其结构及生物活性的影响,展望了适当的提取纯化方法对于获取目标多糖的重要性,以及化学修饰方法对于改变食用菌多糖分子结构,改善其功能特性及生物活性的重要性。

关键词:食用菌;多糖;提取;纯化;结构修饰

Abstract: The extraction and purification methods of polysaccharides from edible fungi determine their structure, which in turn affects their biological activity, and is the basis of research on edible fungi polysaccharides. Some specific structural features make the biological activity of edible mushroom polysaccharides significantly enhanced. Therefore, researchers have used physical, biological and chemical methods to modify the molecular structure of edible mushroom polysaccharides to improve their biological activity. The review introduced the extraction, purification and structural modification methods of

edible fungi polysaccharides. The advantages and disadvantages of extraction, purification of polysaccharides from edible fungi, and the effects of chemical modification on their structure and biological activity were summarized. The importance of appropriate extraction and purification methods for obtaining the target polysaccharides and the importance of chemical modification methods for changing the molecular structure and improving the functional properties and biological activities of polysaccharides from edible fungi were prospected.

Keywords: edible fungi; polysaccharides; extraction; purification; structural modification

食用菌作为日常饮食的一部分,富含蛋白质、多糖、脂肪、维生素、矿物质等营养物质,可以作为治疗和预防慢性疾病的天然佐剂^[1]。多糖在自然界中含量丰富,主要来源于植物、动物、微生物、藻类,因其具有免疫调节、抗肿瘤、抗病毒、抗氧化、降血脂、降血糖等多种生物活性,深受人们关注^[2]。多糖来源的广泛性使其可以通过分子修饰(化学、物理和生物法)改善其理化性质及生物活性,从而被广泛运用于医疗、食品、能源、木材、造纸、纺织、石油钻探等领域^[3]。食用菌多糖因具有降血糖^[4]、增强免疫^[5]、抗氧化^[6]、抗肿瘤、抗炎、减肥、降血脂、护肝等^[7-8]多种生物活性,在分子生物学、免疫学、生物技术和药物化学等不同领域具有巨大的应用潜力。

食用菌多糖的提取纯化方法决定食用菌多糖的结构表征,而结构与生物活性密切相关,对食用菌多糖结构进

基金项目:云南省“三区”科技人才项目

作者简介:郑婷婷,女,普洱茶研究院助理研究员,硕士。

通信作者:严亮(1983—),男,普洱茶研究院研究员,博士。

E-mail: yanliang@pecxy.com

收稿日期:2023-12-01 **改回日期:**2024-04-14

行适当修饰以提高生物活性已成为多糖领域的研究重点之一。研究拟对影响食用菌多糖生物活性的提取纯化方法及结构修饰进行综述,以期为食用菌多糖的深入研究及产业化利用提供理论依据。

1 食用菌多糖提取纯化

1.1 提取技术

多糖提取方法决定了多糖的回收率、单糖组成、相对分子质量、结构和空间构型,并且影响多糖的生物活性^[9]。除了热水提取(HWE)、酸/碱溶液提取等传统提取方法,一些新型的提取技术如超声波辅助提取(UAE)、微波辅助提取(MAE)、超声波—微波协同提取(UMSE)、双水相萃取(ATPE)、酶辅助提取(EAE)、亚临界水提取(SWE)、脉冲电场辅助提取(PEFAE)、联合提取等也不断涌现。

1.1.1 传统提取技术 热水提取与碱液提取是目前最常用的传统提取方法。Saetang 等^[10]在提取温度 100~110℃,提取时间 2~3 h 条件下提取的裂褶菌多糖,总糖含量达到 461.56 mg/g。Wang 等^[11]采用热水法提取长根菇多糖,在提取温度 84℃,提取时间 2.3 h,料水比 20:1 (mL/g) 的条件下长根菇多糖的提取率为 (5.37±0.15)%。Sakdasri 等^[12]采用高压热水法(PHW)从灰平菇中提取多糖的最佳提取条件为 140℃,0.92 MPa,40 min,该条件下多糖得率为 (3.20±0.17) g/100 g,β-葡聚糖含量为 (43.84±3.86) mg/100 g。碱液提取法通过破坏细胞壁强共价和非共价聚合物网络,而使其多糖充分释放。Gabriele 等^[13]采用碱液提取管形喇叭菌水提残渣中的多糖,当 KOH 用量为 2% 时,低相对分子质量多糖的含量增加,导致双峰相对分子质量分布,对热稳定性影响不大;相反,用 KOH 25% 提取的低相对分子质量多糖热稳定性大大降低。传统提取方法操作简单,易于获取目标多糖,但提取温度高,时间长,使得更多的杂质溶于提取液,增加后续分离纯化的难度,并且高温会导致多糖结构改变,最终影响其生物活性^[14]。

1.1.2 新型提取技术 针对传统提取技术的局限性,新型提取技术不断涌现。超声波辅助提取(UAE)利用超声波产生的空化效应和强剪切力,释放大量能量,水动力促进了细胞壁的破裂,减小粒径,增强穿透力,从而缩短提取时间,提高提取效率^[15]。张恒等^[16]采用 UAE 提取鸡枞菌多糖,在提取时间 36 min,提取温度 41℃,水料比 37:1 (mL/g) 条件下,多糖提取率可达 6.32%。超声提取的灵芝多糖相比热水提取和索氏提取,可以在较短时间、较低的温度下获得较高的多糖产率,且 (1-3;1-6)-β-葡聚糖含量为 44.42 mg/g^[17]。王思芦^[18]采用 UAE 和 HWE 提取鸡枞菌粗多糖,结果表明,采用 UAE 在

20 kHz 超声功率下超声 20 min 提取的鸡枞菌粗多糖产率为 7.55%,比 HWE 提高了 4%。当超声时间达到 40 min 时,提取率最高达 11.65%,但是随着时间的延长,超声波引起的水分子的剪切力破坏了部分粗多糖而导致多糖提取率下降。

微波提取技术通过电磁波引起物体内部分子的振动和摩擦,从而破坏细胞壁,促进多糖分子的释放。超声波—微波协同提取法(UMSE)结合了超声波的振动空化和微波的高能量作用的优点,已被用于鸡枞菌、羊肚菌、东方栓菌多糖的提取^[19-21]。Alicia 等^[22]采用微波辅助法提取香菇多糖,在料水比 1:30 (g/mL),功率 850 W,频率 2 455 MHz,压力 3 MPa,提取温度 180℃,提取时间 30 min 条件下提取得到香菇多糖得率为 (19.1±0.3)%,总碳水化合物为 (224.4±6.1) mg/g。

Yin 等^[23]采用复合酶法提取双孢菇粗多糖,在木瓜蛋白酶、果胶酶、纤维素酶的比例为 1:1:1,用量为 2.2%,温度 62℃,时间 3 h,pH 4 条件下提取得到的双孢菇粗多糖得率可达 6.87%。酶辅助提取(EAE)操作条件温和、环保、高效且通常不会破坏多糖的三维分子结构,从而有助于维持其生物活性,但是该法成本较高,且对操作条件如提取温度、时间、料液比、pH 值等要严格控制以保证酶活,因此,并未被广泛用于工业化生产。

加压液体萃取是提高多糖提取率的有效方法,特别是亚临界水提取(SWE)指在足够的压力(1.0~22.1 MPa)下,水在温度超过沸点(100~374℃)时保持液态的萃取技术,与常温常压水相比,亚临界条件降低了水的介电常数和黏度,使其能够溶解极性、中等极性和非极性化合物,包括高相对分子质量的多糖^[9]。此外,亚临界水的电离常数随温度显著增加,使其在不需要催化剂的情况下催化聚合物链中醚键和酯键的降解和水解等化学反应^[24]。孙林超^[25]采用超声辅助亚临界水提取香菇多糖,在料液比为 1:20 (g/mL),提取温度为 110℃,提取压力为 7 MPa,提取时间为 7 min,超声提取功率为 300 W,重复提取 3 次,多糖含量可达 151 mg/g。Liceth 等^[26]研究了香菇多糖采用 SWE 提取过程中温度和时间的影响,结果表明,随着加工温度的升高和加工时间的延长,香菇多糖的含量稳定增加。随着温度的升高,亚临界水的极性逐渐变小,接近非极性,因此,可以利用不同的加工温度提取不同极性的多糖^[27]。

脉冲电场辅助提取(PEFAE)是一种利用持续时间为 100~1 000 μs 的高压脉冲(10~100 kV/cm)的电穿孔技术,该技术通过引起局部膜破裂和结构改变,增加细胞壁的孔隙率和细胞膜的通透性,利于提取胞内活性成分^[28]。Liu^[29]采用高压脉冲电场(HVPEF)提取液态深层发酵羊肚菌菌丝体多糖,多糖最佳提取工艺为:电场强度

18 kV/cm,脉冲数 7,液料比 27:1 (mL/g),多糖得率达到了最大值为 56.03 $\mu\text{g/mL}$ 。

1.1.3 联合提取技术 以经济可持续和节能的方式从食用菌中回收生物活性多糖的主要障碍之一是多糖结构的复杂性,阻碍了多糖从细胞内和复杂的基质中释放。为弥补单一提取技术的不足,提高食用菌多糖提取效率,两种或两种以上提取技术联用的方法不断涌现。Jhonatas 等^[30]采用二元热水技术,加入超临界二氧化碳($\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2\text{-SFE}$)提取平菇多糖:提取压力 25 MPa、提取温度 433.15 K、20% H_2O ,该条件下得到的平菇子实体多糖为 0.092 1 mg/g。Lin 等^[31]以乙醇/硫酸铵双水相萃取体系(ATPS)为萃取剂,采用微波辅助双水相萃取技术(MAATPE)同时萃取香菇多糖,在乙醇质量分数为 26.0%,硫酸铵质量分数为 19.58%,萃取温度 78.7 $^{\circ}\text{C}$,萃取时间 19.55 min,固溶比 1:50 (g/mL)条件下,从顶相(PTP)和底相(PBP)中提取多糖的得率分别为(2.12 $\pm$ 0.21)%, (11.16 $\pm$ 0.28)%。Yin 等^[32]采用酶—微波—超声波辅助提取法(EMUE)提取香菇多糖,在酶解温度 48 $^{\circ}\text{C}$,酶解 pH 值 5.0,微波功率 440 W,微波时间 10 min 条件下得到的多糖产率最高为 9.38%。李湘利等^[19]采用超声—微波协同提取技术,在微波功率 250 W,超声功率 250 W,提取温度 50 $^{\circ}\text{C}$ 、料液比 1:40 (g/mL),提取时间 35 min 条件下从鸡枞菌中提取得到 6.413%的多糖,且该多糖表现出较好的抗氧化活性。Yue 等^[33]采用超声协同复合酶法提取蜜环菌多糖,复合酶配比 $m_{\text{纤维素酶}}:m_{\text{木瓜蛋白酶}}$ 为 2:1,复合酶添加量为 1.9%,液料比 30:1 (mL/g),提取温度 50 $^{\circ}\text{C}$,提取时间 138 min,酶提取结束后再在功率 360 W 下超声 20 min,得到 40.56%的蜜环菌多糖。隋志方等^[34]采用复合酶协同超高压法提取黑木耳多糖,在复合酶添加量 3%,酶解温度 50 $^{\circ}\text{C}$,酶解 pH 值 6.5 条件下酶解时间 50 min,酶解结束后,再在压力 400 MPa,温度 50 $^{\circ}\text{C}$,料液比 1:30 (g/mL),保压 8 min 进行超高压提取,该条件下黑木耳多糖得率为 12.23%。

新兴的提取技术由于成本高,操作技术要求严格,仅限于实验室研究。因此,开发高效的食用菌多糖工业化提取技术,在提升提取率的同时,不破坏多糖结构甚至最大限度提高多糖生物活性以满足食用菌多糖资源的开发与利用需要更深入的研究与探索。

1.2 纯化技术

1.2.1 脱蛋白脱色 目前常用的脱蛋白技术有 Sevag 法、三氯乙酸沉淀法、蛋白酶酶解法、 CaCl_2 盐析法及几种方法的联合使用。Govindan 等^[35]采用热水提取、醇沉、Sevag 法脱蛋白得到真姬菇水溶性多糖(HUP)可以通过其抗氧化活性,保护生物系统免受氧化应激影响,从而对大鼠急性酒精性肝损伤有显著的保护作用。Zeng 等^[36]

比较了中性蛋白酶法、TCA 沉淀法、 CaCl_2 盐析法对灵芝粗多糖(GLP)的脱蛋白效果,3 种方法对蛋白质的去除率为 71.50%~87.36%,多糖的损失率为 8.35%~11.39%,3 种脱蛋白方法对多糖的主要官能团影响不大,中性蛋白酶法处理后的多糖糖苷键保留最多,且抗氧化活性最高。同样的,Li 等^[37]研究表明,中性蛋白酶法相比 Sevag 法对香菇柄多糖脱蛋白效率更高且抗氧化活性更好。Sevag 法对于食用菌粗多糖中游离蛋白的脱除效果好,目前使用较为广泛。但是对于结合蛋白,往往需要酶的引入,通常采用酶法与其他蛋白脱除方法联合使用,以提高脱除效率。

粗多糖的色素会严重影响蛋白质、总糖和还原糖等与颜色反应有关的测定试验结果,因此,多糖脱色是去除多糖杂质非常重要的步骤。目前常用的脱色法有活性炭吸附、过氧化氢氧化、大孔树脂吸附及反胶束体系等方法。活性炭吸附脱色容易造成多糖的损失,过氧化氢氧化脱色容易造成多糖降解从而影响多糖结构,而大孔树脂吸附法因条件温和、简单、有效,常用于食用菌多糖的脱色。Wang 等^[38]采用 AB-8 大孔树脂去除灵芝多糖色素。李欣欣等^[39]采用聚酰胺层析法对桦褐孔菌多糖进行脱色脱蛋白,脱色率为 75.8%,脱蛋白率为 93.1%,多糖的保留率为 90.3%。Huang 等^[40]采用极性树脂 A-722MP 对发酵银耳胞外多糖进行脱色,脱色率为 (62.14 $\pm$ 2.30)%,脱蛋白率为 (81.21 $\pm$ 2.13)%,多糖回收率为 (73.42 $\pm$ 1.96)%。反胶束液液萃取技术因其选择性强、传质速度快、成本相对较低等优点,被广泛应用于极性生物分子的萃取和纯化。Zhou 等^[41]采用正己醇—异辛烷($V_{\text{正己醇}}:V_{\text{异辛烷}}=3:7$)和 200 mmol/L 十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)组成的反胶束体系对疣孢黄枝瑚菌粗多糖进行脱色,脱色率为 27.43%,多糖保留率为 84.36%。

1.2.2 分级纯化 相比于多糖除杂,多糖的分级通常更为精细。多糖组分的分级纯化方法通常根据相对分子质量分布、电荷性质、亲和性等方面的特点进行选择,多糖分级纯化常用的方法有乙醇分级沉淀法、柱层析法、盐析法、超滤法等^[42],前两种方法在食用菌多糖分级纯化中应用较多。

(1) 乙醇分级沉淀法:多糖的溶解性与其相对分子质量呈负相关,多糖可以被水和乙醇组成的溶液脱水,从而使高相对分子质量的分子和低相对分子质量的分子分离^[43-44]。因此,改变乙醇体积分数是有效的多糖分级方法。乙醇分级沉淀法是逐渐向多糖溶液中加入乙醇,使乙醇体积分数不断变大,从而使不同相对分子质量的多糖析出,该法设备简单,操作简便。但是操作过程需要注意乙醇加入的速度、乙醇体积分数及醇沉温度等操作条

件^[44-45]。Wang 等^[46]通过乙醇分步醇沉和凝胶过滤柱层析纯化碱提茶树菇多糖(JACP),得到 4 个相对分子质量分布不同的均一组分。同样,Wang 等^[47]采用该法从海鲜菇多糖(SHMP)中分离得到 5 个含糖量高,均一性好的纯化组分。

(2) 离子交换柱层析与凝胶柱层析法:离子交换柱层析与凝胶柱层析通常联合使用。离子交换色谱已被广泛应用于根据分子电荷分离极性和离子性分子,一般采用阴离子树脂分离中性和酸性组分。糖醛酸含量较高的多糖组分与阴离子交换基团的相互作用较强,因此中性和酸性多糖可以通过使用不同的离子强度的洗脱剂进行梯度洗脱来进行分离^[42,48-49]。阴离子交换剂包括 DEAE Sepharose Fast Flow、DEAE-cellulose、DEAE-Sephadex、DEAE-Sephadex Fast Flow、Q-Sepharose 等。通常需要少量样品进行预试验来选择弱或强阴离子交换剂。凝胶柱层析利用分子筛对多糖进行分级,通常是多糖纯化的最后一步。根据多糖相对分子质量分布选择合适的凝胶,常用的凝胶主要有 Sephadex、Sepharose、Bio-gel、Sephacryl、Superdex、Superose 等^[49-50]。

Zhao 等^[51]通过 DEAE-cellulose 与 Sephadex-200 层析分离得到两种保护肝脏的毛木耳多糖肽 APPI 和 APPII,通过体外和体内试验表明 APPI 和 APPII 能减少细胞、血液和肝脏中的脂质沉积,提高细胞抗氧化活性和生存能力,保护肝脏免受损伤。Zheng 等^[52]通过 DEAE-cellulose52 和 Sephadex G-100 柱层析从牛肝菌多糖(BAP)中分离纯化出一种具有 α 型和 β 型糖苷残基的吡喃糖 BAPF。Thimmaraju 等^[53]通过 DEAE cellulose-52 与 Sepharose-6B 纯化得到榆干玉蕈纯化组分 HUP-2,表现出较好的抗氧化活性且对 PC3 细胞有明显的抑制作用。

2 食用菌多糖结构修饰

天然多糖具有的增强免疫、抗肿瘤、抗病毒、抗凝血、抗氧化等生物活性归因于其特定的结构特征^[54]。因此,为了增强多糖的生物活性,研究人员采用生物、物理和化学方法来修饰天然多糖的分子结构,并确定其构效关系。常用的生物法为酶法修饰,如 β -葡聚糖酶常用来降低 β -葡聚糖的相对分子质量,以增加其水溶性和生物活性^[55]。物理修饰是通过断裂糖苷键、增强分子链的伸展、引发自由基的氧化还原反应等引起多糖结构变化的方法如超声、微波、辐照、加热等。高压微射流是一种新型的物理修饰法,该技术是通过泵送并将溶液分成两股微流,两股微流相互碰撞,产生剪切力、湍流和空化力。高压微射流可以降低多糖的相对分子质量,改变多糖的微观结构,促进多糖的吸水性,提高多糖的溶解性^[56]。化学方法

是修饰天然多糖分子结构最常用的方法,如硫酸化、羧甲基化、磷酸化、乙酰化、硒化等,任何一种修饰手段都能显著改变多糖的功能特性和生物活性。

2.1 硫酸化修饰

多糖的硫酸化修饰已成为近年来应用最广泛的多糖结构修饰方法之一,多糖的羟基、羧基或氨基可以在各种条件下随机或选择性地硫酸化,以增加其生物活性。通常采用氯磺酸-吡啶法、三氧化硫-吡啶法、浓硫酸法等进行硫酸化修饰^[57]。

Rizkyana 等^[58]采用氯磺酸-吡啶法对平菇多糖进行硫酸化修饰,表现出较强的抗凝血活性与抗氧化活性。张迪等^[59]采用氯磺酸-吡啶法对绣球菌水溶性多糖组分酸性糖和中性糖进行硫酸化修饰,结果表明低浓度酸性、中性硫酸化多糖促进脾淋巴细胞增殖的活性较未修饰多糖均显著提高,且中性硫酸化多糖优于酸性硫酸化多糖。但硫酸化多糖在高浓度下脾淋巴细胞的增殖显著下降,可能是因为高浓度的硫酸基团的毒性抑制了脾淋巴细胞的增殖。李梦圆等^[60]采用氯磺酸-吡啶法对黄山花菇多糖进行修饰,得到硫酸基取代度为 2.08 的硫酸化多糖,能提高黄山花菇多糖抑制肝癌细胞(HepG2)的增殖活性,且不同硫酸化条件修饰的多糖表现出最高抗肿瘤活性的最适质量浓度不同。唐瑜婉等^[61]采用氯磺酸-吡啶法对羊肚菌多糖进行硫酸化修饰,获得取代度为 1.106 7 的硫酸化多糖具有较好的降低大鼠血清胆固醇的能力。Gunasekaran 等^[62]采用三氧化硫-吡啶络合法对平菇酸性组分进行了硫酸化处理,修饰前后多糖的单糖组成相同,但摩尔比不同。修饰后多糖的相对分子质量降低,抗氧化、抗凝血、抗肿瘤和抗菌活性增强。

2.2 食用菌多糖的羧甲基化修饰

多糖的羧甲基化修饰是指多糖残基上的羟基被羧甲基取代。羧甲基化法制备工艺简单、试剂成本低、产品无毒,将羧甲基引入多糖,可以提高多糖的水溶性和活性^[63-64]。多糖羧甲基化修饰有两种制备方法:水介质法和有机溶剂法。

水介质法是将多糖溶解于碱溶液中,再向混合液中加入适量的氯乙酸,然后将其加热到 50~70℃,使多糖中的羟基被氯乙酸中的氯乙基所替代形成羧甲基化多糖。但是该法的缺点是副反应多,致使醚化剂利用率低且处理困难,因此该方法在多糖改性中的应用研究较少^[65-66]。

有机溶剂法又称溶媒法,是羧甲基改性多糖最常用的方法。该法首先将多糖悬浮于乙醇、异丙醇、丙酮等有机溶剂中,然后向混合物中加入碱溶液,再加入适量氯乙酸,加热反应液进行醚化反应,最后制备羧甲基改性多

糖。相比于水介质法,有机溶剂工艺稳定,副反应少,主反应快,醚化剂利用率高。Zhang 等^[67]采用有机溶剂法制备滑子菇羧甲基多糖,相比未改性多糖具有显著的抗氧化活性和水溶性。周际松等^[68]采用有机溶剂法对碱性茯苓多糖进行羧甲基化结构修饰,修饰后茯苓多糖的抗氧化活性明显增强。赵迪^[69]采用有机溶剂法制备的羧甲基化黑木耳多糖溶解度提高了 71%,但抗氧化活性降低,可能与羧甲基化过程破坏了黑木耳多糖中三螺旋结构有关。别蒙等^[70]采用二次碱化法制备不同取代度(0.350~0.728)的羧甲基茯苓多糖,并对其进行理化性质分析、结构表征与体外抑菌活性研究,结果表明,羧甲基取代度越高,羧甲基茯苓多糖的相对分子质量越小,空间结构越紧密,裂解情况越严重;羧甲基茯苓多糖对食源性致病菌的抑制能力随取代度的增加而增强,对革兰氏阳性菌的抑制能力强于革兰氏阴性菌。

2.3 食用菌多糖的磷酸化修饰

天然存在的磷酸化多糖是有限的,因此,在过去几年中,多糖的磷酸化已成为降低天然多糖黏度、提高其水溶性和生物活性的一个重要途径,这也是目前食品和医药领域的研究热点。目前常用的适合磷酸化的试剂有三聚磷酸钠和三偏磷酸钠,这些试剂通过与多糖上的羟基反应,引入磷酸基团。

陈玥彤等^[71]以三聚磷酸钠与三偏磷酸钠作为磷酸化试剂对加压剪切联合萃取技术提取的黑木耳多糖进行磷酸化修饰,修饰后多糖相对分子质量明显下降,表现出较好的降血糖活性,原因可能是黑木耳多糖经过磷酸化修饰后其分子结构发生变化,磷酸化后的供氢能力增加从而表现出较好的降血糖活性。于方园等^[72]对桦褐孔菌多糖进行磷酸化修饰,最佳工艺条件为 $m_{\text{三聚磷酸钠}} : m_{\text{三偏磷酸钠}} = 6 : 1$ 、反应温度 75 °C,反应时间 4 h, pH 8.6, 修饰后的桦褐孔菌多糖溶液中磷酸根含量为 9.58%。Li 等^[73]采用聚磷酸钠与三偏磷酸钠作为磷酸化试剂修饰红平菇菌丝体多糖,经动物试验表明,修饰后的多糖能够缓解腺嘌呤诱导的慢性肾衰竭(CRF)小鼠的肾脏损伤。廖兵武^[74]以三聚磷酸钠、三偏磷酸钠和硫酸钠为磷酸化试剂修饰得到产率和磷酸根含量分别为 19.3%, 7.95% 的磷酸化猴头菇多糖,相比未修饰多糖在加热环境中具有较好的溶解性,能耐受低浓度有机酸,表现出较好的抗氧化活性;细胞试验结果表明,磷酸化猴头菇多糖可通过恢复细胞活力、促进细胞增殖、抑制细胞坏死、维持受损 GES-1 细胞的基本分泌功能和缓解受损 GES-1 细胞的线粒体功能障碍等途径修复 CH_3COOH 诱导的 GES-1 细胞急性损伤。Duan 等^[75]以三聚磷酸钠、三偏磷酸钠为磷酸化试剂修饰得到的磷酸化平菇多糖,是一种由鼠李糖、半乳糖醛酸和木糖以 0.10 : 1.98 : 1.00 的摩尔比组成的酸性杂

多糖,具有多链结构和 $\text{P}=\text{O}$ 、 $\text{P}-\text{O}-\text{C}$ 的吸收峰。磷酸化平菇多糖相比未修饰多糖表现出更强的保肝作用和体内抗氧化活性。路垚等^[76]以三聚磷酸钠与三偏磷酸钠配比为磷酸化试剂修饰姬松茸多糖,姬松茸多糖含量为 74.28%,磷酸根含量为 13.99%,磷酸根接枝量可达 9.14%,其对沙门氏菌和大肠杆菌抑菌作用优于未修饰姬松茸多糖。

2.4 食用菌多糖的乙酰化修饰

乙酰化修饰发生在多糖的氨基或羟基上,反应快速温和、转化率高,可以改变延伸的分子结构、引起羟基暴露,增加多糖的溶解性、提高多糖的生物活性。乙酰化常用的试剂为乙酸酐^[77]。

Li 等^[78]以乙酸酐为试剂制备得到乙酰取代度为 0.54 ± 0.04 的乙酰化侧耳菌丝体多糖,体内与体外试验表明,其在体外具有良好的抗氧化活性,在体内具有抗衰老作用,对肝、肾、脑具有保护作用。李顺峰等^[79]采用 NaOH-乙酸酐法对不同纯化度的香菇柄多糖进行修饰,结果表明纯化可显著提高香菇柄多糖及其对应乙酰化多糖的纯度,而对多糖结构无显著影响,香菇柄多糖及其乙酰化多糖对 α -淀粉酶和 α -葡萄糖苷酶的抑制活性试验表明乙酰化修饰可进一步提高多糖的降血糖活性。Peng 等^[80]采用 NaOH-乙酸酐法对茶树菇多糖进行乙酰化修饰,得到取代度为 0.475 ± 0.011 的乙酰化茶树菇多糖,相比未修饰多糖表现出更强的 DPPH 自由基和超氧阴离子清除能力。Ren 等^[81]对蛹虫草多糖进行羧甲基化和乙酰化修饰并对比两者物理化学特性及 α -葡萄糖苷酶的抑制活性,以确定构效关系,研究表明向蛹虫草多糖中引入乙酰基和羧甲基只是略微改变了其 α -葡萄糖苷酶抑制活性,而取代度和取代基的位置才是其重要的影响因素。

2.5 食用菌多糖的硒化修饰

通过硒化将硒附着在多糖上,不仅可以增加硒的生物利用率利于人体吸收,并且可以增强多糖的抗氧化、抗肿瘤、免疫调节、保护肝脏等生物活性^[82-83],通常采用亚硒酸盐在一定条件下与多糖上的羟基形成亚硒酸酯键^[55]。

古佩娟等^[84]采用 V_c 和亚硒酸钠的氧化还原体系对猴头菇纯化多糖进行硒化修饰,制备得到形态规则的猴头菇多糖纳米硒颗粒,其能显著抑制人前列腺癌细胞 DU145、人肺癌细胞 A549 的增殖活性,并呈明显的剂量效应。Li 等^[85]采用硝酸—亚硒酸钠($\text{HNO}_3-\text{Na}_2\text{SeO}_3$)法对纯化的灰树花多糖进行硒化修饰,修饰后多糖与 Con A 或 LPS 联用对 T 或 B 淋巴细胞增殖具有协同刺激作用,淋巴细胞增殖能力、体外抗氧化活性均强于未修饰多糖,硒化多糖表现出较强的抗氧化和免疫刺激活性可能

与其相对分子质量、硒含量、单糖组成、糖苷键和官能团有关。林怡辰^[86]采用 $\text{HNO}_3\text{-Na}_2\text{SeO}_3$ 法制备黑木耳硒化多糖,经研究发现,硒化后的多糖并未过多改变天然多糖的官能团,但是形态结构由硒化前的光滑片状变为硒化后的粗糙孔状并出现球状颗粒;黑木耳多糖硒化衍生物对酒精性肝损伤导致的脂质代谢紊乱和氧化应激反应具有较好的预防作用。

生物硒化是一个在含硒培养基中培养菌丝体的发酵过程,是对菌丝体多糖进行改性的另一种方法^[83]。Dong 等^[87]以亚硒酸钠处理灵芝菌丝体,并通过提取纯化得到水溶性硒化多糖组分,该组分相比未硒化多糖总糖含量、单糖组成、糖苷键类型与比例并没有明显变化,但相对分子质量略低。细胞内外抗氧化试验表明,硒化灵芝菌丝体多糖能更有效地清除自由基,抑制 AAPH 诱导的红细胞溶血,保护过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性,并且能够促进巨噬细胞 RAW 264.7 的吞噬作用及 NO、TNF- α 和 IL-6 的分泌。

不同的化学修饰手段对于食用菌多糖功能特性和生物活性的影响不同,因此,通过合适的提取纯化方法得到食用菌多糖纯化组分,对其进行结构表征及生物活性研究,明确食用菌多糖的构效关系,针对性地对食用菌多糖进行硫酸化、羧甲基化、磷酸化、乙酰化、硒化等化学修饰对于改善其功能特性,提升其生物活性具有重要的意义。

3 展望

食用菌多糖因来源广、种类多、安全性高、生物活性丰富等特点备受研究人员关注,如何针对性地获取含量高、生物活性好的食用菌多糖成为其开发与利用的重要前提。获取食用菌活性多糖最主要的是提取与纯化,目前提取技术多关注多糖提取率,往往忽视多糖生物活性,值得注意的是,以多糖提取率为目标的最佳提取条件下得到的多糖,并不一定具有较好的生物活性。因此,选用合适的提取方法得到提取率高,生物活性好的多糖,对于目标多糖的获取尤为重要。对于多糖的纯化方法,越来越多的研究者倾向于使用阴离子交换柱和凝胶柱层析来纯化多糖,虽然纯化效果好,但是成本高、效率低,不适合工业化生产,而对于具有工业潜力的纯化方法如乙醇分级醇沉、盐析法和超滤膜法,因其存在容易形成共沉淀、分辨率低等缺点往往使用较少。因此,开发纯化效果好、效率高、适合工业化生产的多糖分离纯化方法,将成为未来食用菌多糖分离纯化研究的重点。通过硫酸化、羧甲基化、磷酸化、乙酰化、硒化等化学修饰方法改变食用菌多糖的分子结构,改善其功能特性及生物活性,为食用菌多糖在功能性食品、保健食品及药品的开发利用方面提供了更广阔的应用前景,但目前的研究多限于体外试验,

尚未探明其作用机制。因此,未来应结合食品功能、营养健康及医药疗效等方面阐明其作用机理。

参考文献

- [1] IRENE R R, CRISTINA D A. The beneficial role of edible mushrooms in human health[J]. Current Opinion in Food Science, 2017, 14: 122-128.
- [2] DARGE H F, ANDRGIE A T, TSAI H C, et al. Polysaccharide and polypeptide based injectable thermo-sensitive hydrogels for local biomedical applications [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 133: 545-563.
- [3] TIM L, CLAUDIA H, THOMAS H. Click chemistry with polysaccharides[J]. Macromolecular Rapid Communications, 2006, 27(3): 208-213.
- [4] RUBIYA K, SACHIN K S, SHEETU W, et al. Therapeutic potential of mushrooms in diabetes mellitus: role of polysaccharides [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 164: 1 194-1 205.
- [5] LIANG Q X, ZHAO Q C, HAO X T, et al. The effect of flammulina velutipes polysaccharide on immunization analyzed by intestinal flora and proteomics[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 841230.
- [6] MWANGI R W, MACHARIA J M, WAGARA I N, et al. The antioxidant potential of different edible and medicinal mushrooms [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2022, 147: 112621.
- [7] SANG T T, GUO C J, GUO D D, et al. Suppression of obesity and inflammation by polysaccharide from sporoderm-broken spore of *Ganoderma lucidum* via gut microbiota regulation[J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 256: 117594.
- [8] LUAN F, PENG X, ZHAO G, et al. Structural diversity and bioactivity of polysaccharides from medicinal mushroom *Phellinus* spp.: a review[J]. Food Chemistry, 2022, 397: 133731.
- [9] DIEGO M, FHERNANDA R S, MARISOL V, et al. Testing the effect of combining innovative extraction technologies on the biological activities of obtained β -glucan-enriched fractions from *Lentinula edodes*[J]. Journal of Functional Foods, 2019, 60: 103446.
- [10] SAETANG N, RATTANAPOT T, MANMAI N, et al. Effect of hot water extraction process on schizophyllan from split gill mushroom[J]. Biomass Conversion and Biorefinery, 2024, 14(1): 1 017-1 026.
- [11] WANG Y F, JIA J X, REN X J, et al. Extraction, preliminary characterization and in vitro antioxidant activity of polysaccharides from *Oudemansiella radicata* mushroom [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 120: 1 760-1 769.
- [12] SAKDASRI W, ARNUTPONGCHAI P, PHONSAVAT S, et al. Pressurized hot water extraction of crude polysaccharides, β -glucan, and phenolic compounds from dried gray oyster mushroom [J]. LWT-Food Science and Technology, 2022, 168: 113895.

- [13] GABRIELE B, JANI T, JANI R, et al. Structural investigation of cell wall polysaccharides extracted from wild Finnish mushroom *Craterellus tubaeformis* (Funnel Chanterelle) [J]. Food Chemistry, 2019, 301: 125255.
- [14] JHONATAS R B, MAURICIO M S F, LUIZA H S M, et al. Polysaccharides of mushroom *Pleurotus* spp.: new extraction techniques, biological activities and development of new technologies[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 229: 115550.
- [15] 王文丽, 张金玲, 魏亚宁, 等. 天然多糖提取、纯化及生物活性研究进展[J]. 食品工业科技, 2022, 43(22): 470-480.
- WANG W L, ZHANG J L, WEI Y N, et al. Extraction, purification and bioactivity of natural polysaccharides: a review[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(22): 470-480.
- [16] 张恒, 郑俏然, 李敏. 响应面法优化超声波辅助提取鸡枞菌多糖及其抗氧化活性研究[J]. 食品与发酵科技, 2017, 53(2): 13-18, 121.
- ZHANG H, ZHENG Q R, LI M. Optimization of ultrasound assisted extraction of *Collybia albuminosa* polysaccharides and its antioxidative activity by response surface method[J]. Food and Fermentation Science & Technology, 2017, 53(2): 13-18, 121.
- [17] ALZORQI I, SUDHEER S, LU T J, et al. Ultrasonically extracted β -D-glucan from artificially cultivated mushroom, characteristic properties and antioxidant activity[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2017, 35: 531-540.
- [18] 王思芦. 鸡枞菌多糖的免疫调节作用及其注射液的研制[D]. 雅安: 四川农业大学, 2012: 35-45.
- WANG S L. Study on immunological regulation effect and injection of polysaccharides from *Termitomyces albuminosus* (Berk.) Heim[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2012: 35-45.
- [19] 李湘利, 刘静, 邓英立, 等. 超声—微波协同提取鸡枞菌多糖的工艺优化及抗氧化性[J]. 食品科技, 2022, 47(1): 184-189.
- LI X L, LIU J, DENG Y L, et al. Optimization of ultrasonic-microwave extraction and antioxidant activity of polysaccharides from *Termitomyces albuminosus* [J]. Food Science and Technology, 2022, 47(1): 184-189.
- [20] XU N, SUN Y H, GUO X L, et al. Optimization of ultrasonic-microwave synergistic extraction of polysaccharides from *Morchella conica*[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2018, 42(2): e13423.
- [21] ZHENG Y, CUI J, CHEN A H, et al. Optimization of ultrasonic-microwave assisted extraction and hepatoprotective activities of polysaccharides from *Trametes orientalis* [J]. Molecules, 2019, 24(1): 147.
- [22] ALICIA G R, FHERNANDA R S, DIEGO M, et al. Strengths and weaknesses of the aniline-blue method used to test mushroom (1 $\rightarrow$ 3)- β -D-glucans obtained by microwave-assisted extractions [J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 217: 135-143.
- [23] YIN X L, YOU Q H, ZHOU X H. Complex enzyme-assisted extraction, purification, and antioxidant activity of polysaccharides from the button mushroom, *Agaricus bisporus* (Higher Basidiomycetes) [J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2015, 17(10): 987-996.
- [24] ZHANG J, WEN C, GU J, 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: 1 002-1 011.
- [25] 孙林超. 超声辅助亚临界水提取香菇多糖工艺的研究[J]. 粮食与油脂, 2019, 32(4): 81-84.
- SUN L C. Study on ultrasonic assisted subcritical water extraction of lentinan from *Lentinus edodes*[J]. Cereals & Oils, 2019, 32(4): 81-84.
- [26] LICETH R H L, MARIA J G M, CATALINA F A, et al. Autohydrolysis of *Lentinus edodes* for obtaining extracts with antiradical properties[J]. Foods, 2020, 9(1): 74.
- [27] SUN Y J, HE H Q, WANG Q, et al. A review of development and utilization for edible fungal polysaccharides: extraction, chemical characteristics, and bioactivities[J]. Polymers, 2022, 14(20): 4 454.
- [28] XUE D, MOHAMMED M F. Pulsed electric field extraction of valuable compounds from white button mushroom (*Agaricus bisporus*) [J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2015, 29: 178-186.
- [29] LIU C. Extraction, separation and purification of acidic polysaccharide from *Morchella esculenta* by high voltage pulsed electric field[J]. International Journal Bioautomation, 2019(2): 193-202.
- [30] JHONATAS R B, MAURICIO M S F, OLIVEIRA C L, et al. Obtaining extracts rich in antioxidant polysaccharides from the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* using binary system with hot water and supercritical CO₂[J]. Food Chemistry, 2020, 330: 127173.
- [31] LIN Y Y, ZENG H Y, WANG K, et al. Microwave-assisted aqueous two-phase extraction of diverse polysaccharides from *Lentinus edodes*: process optimization, structure characterization and antioxidant activity [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 136: 305-315.
- [32] YIN C M, FAN X Z, FAN Z, et al. Optimization of enzymes-microwave-ultrasound assisted extraction of *Lentinus edodes* polysaccharides and determination of its antioxidant activity[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 111: 446-454.
- [33] YUE C H, ZANG X D, CHEN C, et al. Purification, characterization and in vitro bile salt-binding capacity of polysaccharides from *Armillaria mellea* mushroom [J]. Czech Journal of Food Sciences, 2019, 37(1): 51-56.
- [34] 隋志方, 刘延奇, 秦令祥. 复合酶协同超高压法提取黑木耳多糖的工艺优化[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(24): 107-113.

- SUI Z F, LIU Y Q, QIN L X. Extraction optimization of *Auricularia auricular* polysaccharides by a compound enzyme-assisted ultra-high pressure method [J]. Food Research and Development, 2021, 42(24): 107-113.
- [35] GOVINDAN S, JAYABAL A, SHANMUGAM J, et al. Antioxidant and hepatoprotective effects of *Hypsizygus ulmarius* polysaccharide on alcoholic liver injury in rats[J]. Food Science and Human Wellness, 2021, 10(4): 523-535.
- [36] ZENG X T, LI P Y, CHEN X, et al. Effects of deproteinization methods on primary structure and antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharides[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 126: 867-876.
- [37] LI S F, WANG A J, LIU L N, et al. Effect of deproteinization methods on the antioxidant activity of polysaccharides extracted from *Lentinus edodes stipe*[J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2019, 13(2): 1 382-1 389.
- [38] WANG Z C, ZHANG H R, SHEN Y B, et al. Characterization of a novel polysaccharide from *Ganoderma lucidum* and its absorption mechanism in Caco-2 cells and mice model [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 118: 320-326.
- [39] 李欣欣, 李文香. 桦褐孔菌多糖的分离纯化及其抗氧化活性测定[J]. 食品工业科技, 2021, 42(11): 192-197.
- LI X X, LI W X. Isolation, purification and antioxidant activity of *Inonotus obliquus* polysaccharide[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(11): 192-197.
- [40] HUANG Q, LIU Y, DENG Y, et al. Preparation and antioxidant activity in vitro of fermented *Tremella fuciformis* extracellular polysaccharides[J]. Fermentation, 2022, 8(11): 616.
- [41] ZHOU R, WANG Y T, LI C, et al. A preliminary study on preparation, characterization, and prebiotic activity of a polysaccharide from the edible mushroom *Ramaria flava*[J]. Journal of Food Biochemistry, 2022, 46(9): 14371.
- [42] TANG W, LIU D, YIN J Y, et al. Consecutive and progressive purification of food-derived natural polysaccharide: based on material, extraction process and crude polysaccharide[J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 99: 76-87.
- [43] ANDREA C R, FHERNANDA R S, MARCELLO I. d-Glucans from edible mushrooms: a review on the extraction, purification and chemical characterization approaches [J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 117: 753-761.
- [44] HU X T, GOFF H D. Fractionation of polysaccharides by gradient non-solvent precipitation: a review[J]. Trends in Food Science & Technology, 2018, 81: 108-115.
- [45] RAM S F, FARZIN Z A. The effect of pH, ethanol volume and acid washing time on the yield of pectin extraction from peach pomace[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2007, 42(10): 1 177-1 187.
- [46] WANG Y X, ZHANG T, XIN Y, et al. Comprehensive evaluation of alkali-extracted polysaccharides from *Agrocybe cylindracea*: comparison on structural characterization [J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 255: 117502.
- [47] WANG Y X, YIN J Y, ZHANG T, et al. Utilizing relative ordered structure theory to guide polysaccharide purification for structural characterization[J]. Food Hydrocolloids, 2021, 115: 106603.
- [48] INAMUDDI N. Applications of ion exchange materials in biomedical industries[M]. Cham: Springer International Publishing, 2019: 125-137.
- [49] CHEN Y J, JIANG X, XIE H Q, et al. Structural characterization and antitumor activity of a polysaccharide from *ramulus mori*[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 190: 232-239.
- [50] HAN K, JIN C, CHEN H J, et al. Structural characterization and anti-A549 lung cancer cells bioactivity of a polysaccharide from *Houttuynia cordata* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 120: 288-296.
- [51] ZHAO S, ZHANG S M, ZHANG W W, et al. First demonstration of protective effects of purified mushroom polysaccharide-peptides against fatty liver injury and the mechanisms involved [J]. Scientific Reports, 2019, 9(1): 13725.
- [52] ZHENG J L, ZHANG T T, FAN J, et al. Protective effects of a polysaccharide from *Boletus aereus* on S180 tumor-bearing mice and its structural characteristics [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 188: 1-10.
- [53] THIMMARAJU A, GOVINDAN S. Novel studies of characterization, antioxidant, anticoagulant and anticancer activity of purified polysaccharide from *Hypsizygus ulmarius* mushroom [J]. Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre, 2022, 27: 100308.
- [54] 段语嫣, 冯杰, 刘艳芳, 等. 灵芝液态发酵胞内外多糖结构特征及其活性研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(6): 2 721-2 737.
- DUAN Y Y, FENG J, LIU Y F, et al. Structural characteristics and biological activity of polysaccharides produced by liquid fermentation of *Ganoderma*: a review [J]. Microbiology China, 2023, 50(6): 2 721-2 737.
- [55] SONG S, LIU X Y, ZHAO B T, et al. Effects of *Lactobacillus plantarum* fermentation on the chemical structure and antioxidant activity of polysaccharides from Bulbs of Lanzhou Lily[J]. ACS Omega, 2021, 6(44): 29 839-29 851.
- [56] WANG Q, SHENG X J, SHI A M, et al. β -Glucans: relationships between modification, conformation and functional activities[J]. Molecules, 2017, 22(2): 257.
- [57] WANG Z J, XIE J H, SHEN M Y, et al. Sulfated modification of polysaccharides: synthesis, characterization and bioactivities [J]. Trends in Food Science & Technology, 2018, 74: 147-157.
- [58] 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]. The Journal of Supercritical Fluids, 2022, 179: 105412.
- [59] 张迪, 王宏雨, 林衍铨. 绣球菌水溶性多糖的硫酸化修饰及其

- 对鼠脾淋巴细胞体外刺激活性[J]. 中国食用菌, 2020, 39(11): 83-88.
- ZHANG D, WANG H Y, LIN Y Q. Sulfation modification of water soluble polysaccharide from *Sparassis latifolia* and its stimulating activity on rat spleen lymphocytes in vitro[J]. Edible Fungi of China, 2020, 39(11): 83-88.
- [60] 李梦圆, 徐金龙, 刘咏, 等. 黄山花菇多糖硫酸化修饰条件的优化及修饰产物抗肿瘤活性研究[J]. 合肥工业大学学报(自然科学版), 2020, 43(7): 992-995, 1 008.
- LI M Y, XU J L, LIU Y, et al. Optimization of sulfated modification conditions of polysaccharides from Huangshan floral mushroom and determination of antitumor activity of modified products[J]. Journal of Hebei University of Technology (Natural Science), 2020, 43(7): 992-995, 1 008.
- [61] 唐瑜婉, 张月巧, 李瑶, 等. 硫酸化羊肚菌多糖调控胆固醇代谢作用[J]. 食品科学, 2019, 40(21): 136-142.
- TANG Y W, ZHANG Y Q, LI Y, et al. Regulation of cholesterol metabolism by sulfated polysaccharides from *Morchella angusticeps* Peck[J]. Food Science, 2019, 40(21): 136-142.
- [62] GUNASEKARAN S, GOVINDAN S, RAMANI P. Sulfated modification, characterization and bioactivities of an acidic polysaccharide fraction from an edible mushroom *Pleurotus eous* (Berk.) Sacc.[J]. Heliyon, 2021, 7(1): e05964.
- [63] LIU Y T, YOU Y X, LI Y W, et al. Characterization of carboxymethylated polysaccharides from *Catathelasma ventricosum* and their antioxidant and antibacterial activities[J]. Journal of Functional Foods, 2017, 38: 355-362.
- [64] LIU W, HU C, LIU Y M, et al. Preparation, characterization, and α -glycosidase inhibition activity of a carboxymethylated polysaccharide from the residue of *Sarcandra glabra* (Thunb.) Nakai [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 99: 454-464.
- [65] XIE L M, SHEN M Y, HONG Y Z, et al. Chemical modifications of polysaccharides and their anti-tumor activities[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 229: 115436.
- [66] WANG Z J, XIE J H, SHEN M Y, et al. Carboxymethylation of polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* and their characterization and antioxidant properties evaluation[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 136: 988-994.
- [67] ZHANG X, LIU J X, WANG X, et al. Structure characterization and antioxidant activity of carboxymethylated polysaccharide from *Pholiota nameko* [J]. Journal of Food Biochemistry, 2022, 46(7): e14121.
- [68] 周际松, 汪芷玥, 汤凯, 等. 羧甲基化茯苓多糖的抗氧化性分析[J]. 中国食品添加剂, 2020, 31(7): 120-125.
- ZHOU J S, WANG Z Y, TANG K, et al. Antioxidant analysis of carboxymethylated *Poria cocos*[J]. China Food Additives, 2020, 31(7): 120-125.
- [69] 赵迪. 黑木耳多糖对炎性肠病的预防作用及其化学修饰[D]. 上海: 华东理工大学, 2021: 44-55.
- ZHAO D. The Preventive effect of *Auricularia auricular-judae* (Bull.) polysaccharide against IBD and its modification [D]. Shanghai: East China University of Science and Technology, 2021: 44-55.
- [70] 别蒙, 谢笔钧, 孙智达. 不同取代度水溶性羧甲基茯苓多糖的制备、结构表征及体外抑菌活性[J]. 食品科学, 2020, 41(12): 67-76.
- BIE M, XIE B J, SUN Z D. Preparation, structural characterization and in vitro antibacterial activity of water-soluble carboxymethyl pachymaran with different degrees of substitution [J]. Food Science, 2020, 41(12): 67-76.
- [71] 陈玥彤, 张闪闪, 李文意, 等. 黑木耳多糖的磷酸化修饰、结构表征及体外降糖活性[J]. 食品科学, 2022, 43(8): 29-35.
- CHEN Y T, ZHANG S S, LI W Y, et al. Structural characterization and hypoglycemic effect in vitro of phosphorylated *Auricularia auriculata* polysaccharide[J]. Food Science, 2022, 43(8): 29-35.
- [72] 于方园, 胡森, 门雨薇, 等. 桦褐孔菌多糖磷酸化修饰工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2022, 43(12): 133-138.
- YU F Y, HU M, MEN Y W, et al. Phosphorylation modification process of *Inonotus obliquus* polysaccharides[J]. Food Research and Development, 2022, 43(12): 133-138.
- [73] LI H P, FENG Y B, SUN W X, et al. Antioxidation, anti-inflammation and anti-fibrosis effect of phosphorylated polysaccharides from *Pleurotus djamor* mycelia on adenine-induced chronic renal failure mice [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2021, 170: 652-663.
- [74] 廖兵武. 猴头菇多糖及其磷酸化衍生物对 GES-1 细胞损伤的保护作用研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2021: 79-104.
- LIAO W B. A study on protective effects of polysaccharide from *Hericium erinaceus* and its phosphorylated derivatives against injured GES-1 cells[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2021: 79-104.
- [75] DUAN Z, ZHANG Y, ZHU C P, et al. Structural characterization of phosphorylated *Pleurotus ostreatus* polysaccharide and its hepatoprotective effect on carbon tetrachloride-induced liver injury in mice[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 162: 533-547.
- [76] 路垚, 杨琳燕, 朱清杰, 等. 磷酸化姬松茸多糖制备、安全性及抑菌性研究[J]. 华北农学报, 2020, 35(S1): 371-377.
- LU Y, YANG L Y, ZHU Q J, et al. Research on preparation, safety and antibacterial activity of phosphorylated *Agaricus blazei* Murrill polysaccharide[J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2020, 35(S1): 371-377.
- [77] HITRI K, KUTTEL M M, BENEDETTO G D, et al. O-acetylation of typhoid capsular polysaccharide confers polysaccharide rigidity and immunodominance by masking additional epitopes[J]. Vaccine, 2019, 37(29): 3 866-3 875.
- [78] LI H P, ZHAO H J, GAO Z, et al. The antioxidant and anti-aging

- effects of acetylated mycelia polysaccharides from *Pleurotus djamor*[J]. *Molecules*, 2019, 24(15): 2 698.
- [79] 李顺峰, 许方方, 崔国梅, 等. 不同纯化程度香菇柄多糖的乙酰化修饰及降血糖活性[J]. *食品科学技术学报*, 2022, 40(6): 127-133.
- LI S F, XU F F, CUI G M, et al. Acetylation modification and hypoglycemic activity of *Lentinus edodes* stipe polysaccharide with different purification degrees[J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2022, 40(6): 127-133.
- [80] PENG Y Y, ZHANG J H, YANG H L, et al. Acetylation modification and antioxidant activity of polysaccharides from *Agrocybe cylindracea* [J]. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2022, 16(3): 1 911-1 919.
- [81] REN Y Y, SUN P P, JI Y P, et al. Carboxymethylation and acetylation of the polysaccharide from *Cordyceps militaris* and their α -glucosidase inhibitory activities [J]. *Natural Product Research*, 2020, 34(3): 369-377.
- [82] 邓婕, 牟璐, 童宇航, 等. 硒多糖的制备、结构表征及抗氧化活性的研究进展[J]. *食品科技*, 2022, 47(10): 8-15.
- DENG J, MOU L, DONG Y H, et al. Research progress in preparation, structure characterization and antioxidant activity of selenium polysaccharides[J]. *Food Science and Technology*, 2022, 47(10): 8-15.
- [83] SIMSEK M, ASIYANBI-HAMMED T T, RASDAQ N, et al. Progress in bioactive polysaccharide-derivatives: a review[J]. *Food Reviews International*, 2023, 39(3): 1 612-1 627.
- [84] 古佩娴, 尹惠双, 胡坤, 等. 硒化猴头菇多糖的制备、结构表征及抗增殖活性[J]. *食品科学*, 2022, 43(22): 68-73.
- GU P X, YIN H S, HU K, et al. Preparation, structural characterization and anti-proliferation activity of selenized *Hericium erinaceus* polysaccharide[J]. *Food Science*, 2022, 43(22): 68-73.
- [85] LI Q, ZHU L F, QI X P, et al. Immunostimulatory and antioxidant activities of the selenized polysaccharide from edible *Grifola frondosa*[J]. *Food Science & Nutrition*, 2022, 10(4): 1 289-1 298.
- [86] 林怡辰. 黑木耳多糖硒对酒精性肝损伤的预防作用及其机制探究[D]. 福州: 福建农林大学, 2022: 30-77.
- LIN Y C. Preventive effect of *Auricularia auricula* Selenium polysaccharide on alcoholic liver injury and its mechanism [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2022: 30-77.
- [87] DONG Z, DONG G, LAI F R, et al. Purification and comparative study of bioactivities of a natural selenized polysaccharide from *Ganoderma lucidum* mycelia[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 190: 101-112.
- YOU L R, ZHAO Y, SHANG H Y, et al. Effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation on protein synthesis in skeletal muscle of aged mice[J]. *Journal of Capital University of Physical Education and Sports*, 2018, 30(5): 466-472.
- [24] HAN X J, GOH K Y G, WEN X L, et al. The importance of mtorc1-autophagy axis for skeletal muscle diseases [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 24(1): 297.
- [25] 夏志, 赵艳, 丁孝民, 等. 抗阻训练改善骨骼肌衰老的关键基因与信号通路鉴定[J]. *中国体育科技*, 2021, 57(12): 92-100.
- XIA Z, ZHAO Y, DING X M, et al. Identification of crucial differentially expressed genes and signaling pathways in ameliorating skeletal muscle aging by resistance training[J]. *China Sport Science and Technology*, 2021, 57(12): 92-100.
- [26] 尤莉蓉, 赵艳, 尚画雨, 等. β -羟基- β -甲基丁酸对衰老小鼠腓肠肌蛋白质合成的影响研究[J]. *首都体育学院学报*, 2018, 30(5): 466-472.
- [27] ASADI A, ARAZI H, SUZUKI K. Effects of β -hydroxy- β -methylbutyrate-free acid metabolism on strength, power and adaptability following resistance training [J]. *Nutrients*, 2017, 9(12): 1 316-1 329.
- [28] ARAZI H, TAATI B, SUZUKI K. A review of the effects of leucine metabolite (β -hydroxy- β -methylbutyrate) supplementation and resistance training on inflammatory markers: A new approach to oxidative stress and cardiovascular risk factors[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2018, 7(10): 148.
- [40] 胡庆国, 张慙, 杜卫华, 等. 不同干燥方式对颗粒状果蔬品质变化的影响[J]. *食品与生物技术学报*, 2006, 25(2): 28-32.
- HU Q G, ZHANG M, DU W H, et al. Effect of different drying methods on the quality changes of the granular fruits and vegetables[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2006, 25(2): 28-32.
- [41] 张裕仁. 板栗热风—真空分段联合干燥的干燥动力学及工艺优化[D]. 南京: 南京农业大学, 2019: 25-36.
- ZHANG Y R. Drying kinetics and process optimization of the persimmon combined hot air and vacuum drying [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2019: 25-36.
- [42] OUYANG M Y, CAO S, HUANG Y Q, et al. Phenolics and ascorbic acid in pumpkin (*Cucurbita maxima*) slices: effects of hot air drying and degradation kinetics [J]. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2021, 15: 247-255.
- [43] 钟旭美, 陈铭中, 庄婕, 等. BP神经网络结合遗传算法优化玫瑰茄火龙果固体饮料工艺条件[J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(19): 173-179.
- ZHONG X M, CHEN M Z, ZHUANG J, et al. Optimization of solid beverage process of rosette and dragon fruit by BP neural network combined with genetic algorithms [J]. *Food and Fermentation Industries*, 2019, 45(19): 173-179.