

超声波辅助提取柴达木大肥菇多糖工艺优化及其抗缺氧活性研究

焦迎春¹, 余梅², 张燕¹, 吴杉¹, 陈启和³

(1. 青海大学农牧学院, 青海西宁 810016) (2. 青海普兰特药业有限公司, 青海西宁 810007)

(3. 浙江大学食品科学与营养系, 浙江杭州 310058)

摘要: 以柴达木大肥菇(*Agaricus bitorquis* (Quél.) Sacc)子实体为原料, 基于超声波辅助提取手段, 采用单因素、响应面优化试验针对超声波提取多糖工艺参数进行优化, 结果表明: 通过响应面优化提取条件, 确定柴达木大肥菇粗多糖提取的最佳工艺为超声功率 126 W, 料液比 1:36 g/mL, 提取时间为 15 min。采用在此提取工艺条件下提取获得的粗多糖进行动物评价实验, 通过小鼠常压耐缺氧、亚硝酸钠中毒、急性脑缺血性缺氧三项抗缺氧试验, 分别检测小鼠死亡时间、存活时间及喘息时间等指标, 对数据进行方差分析, 与对照组、阳性(红景天苷)对照组比较($p < 0.05$)差异显著, 3项试验结果判断均为阳性; 粗多糖试验组与空白对照组比较对小鼠死亡时间、喘息时间及存活时间的延长率分别为 76.60%、50.33%及 144.96%, 粗多糖试验组与阳性对照组比较对小鼠死亡时间、喘息时间及存活时间的延长率分别为 19.20%、34.20%及 43.07%, 综上分析, 柴达木大肥菇子实体粗多糖具有较强的抗缺氧功效。

关键词: 柴达木大肥菇; 多糖; 提取; 抗缺氧; 响应面优化法

文章编号: 1673-9078(2019)01-114-120

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.1.017

Optimization of Polysaccharide from *Agaricus bitorquis* mushroom by Ultrasonic-assisted Extraction method and its Anti-hypoxia Activity

JIAO Ying-chun¹, YU Mei², ZHANG Yan¹, WU Shan¹, CHEN Qi-he³

(1. College of agriculture and animal husbandry, Qinghai University, Xining 810016, China)

(2. Qinghai Plateau Pharmaceutical Co. Ltd., Xining 810007, China)

(3. Department of Food Science and Nutrition, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: Ultrasonic-assisted extraction optimized by single factor experiment and response surface methodology (RSM) was implemented to extract polysaccharides from the fruiting body of *Agaricus bitorquis* (Quél.) Sacc. Results showed that the optimal condition was ultrasonic wave power 130 W, liquid/solid ratio 1:40, extracting time 15 min. The anti-hypoxia effect of crude polysaccharides extracted by the optimal condition was evaluated by national standard method. The death time, survival time and the gasp time of mice under atmospheric hypoxia, sodium nitrite poisoning and acute cerebral ischemic hypoxia were determined. Compared with the blank control and the positive control (*Rhodiola rosea*), variance analysis showed that the anti-hypoxia effect of polysaccharides prepared by the optimal extraction condition were significant ($P < 0.05$). Three test results were determined to be positive. Compared to blank, crude polysaccharides significantly extended the death time, survival time and the gasp time by 76.60%, 50.33% and 144.96%, respectively. The death time, survival time and the gasp time of the crude polysaccharides treatment were also 19.20%, 34.20% and 43.07% longer than the positive control, respectively. In conclusion, this study revealed that the crude polysaccharides from the fruiting body of *Agaricus bitorquis* (Quél.) Sacc have potent anti-hypoxia effects.

Keywords: *Agaricus bitorquis* (Quél.) Sacc; polysaccharide; extraction condition; anti-hypoxia; response surface methodology

柴达木大肥蘑菇[*Agaricus bitorquis* (Quél.) Sacc]

收稿日期: 2018-10-10

基金项目: 国家自然科学基金地区项目(31460391); 青海省国际合作项目(2018-HZ-801)

作者简介: 焦迎春(1972-), 女, 教授, 研究方向: 食药真菌工程

通讯作者: 陈启和(1975-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品生物安全与生物技术

又名沙菇、大蘑菇, 作为青藏高原真菌资源宝库中的代表种被公认为最有开发利用价值的名贵野生食用菌类之一, 具有子实体肥大、抗逆性强、地下结实、低温出菇等特点^[1], 主要分布在青海省柴达木盆地, 生长在海拔高度从四周的 4000 m 降到中部的 2600 m 盆地的戈壁地区表面盐层 50~60 cm 下, 富含多种营养成分^[2]与抗缺氧活性物质, 一直被当地牧民作为抗缺

氧的天然食材而广泛食用。为避免野生大肥菇的过度采摘和保护生态环境,高淑敏等^[3]对柴达木大肥菇的人工栽培试验已获得成功。目前对柴达木野生大肥菇的研究主要集中在栽培种植^[4]、营养成分^[5]与生理^[6]等方面,而对其活性研究,尤其是抗缺氧活性研究未见报道。笔者在对柴达木大肥菇子实体营养与药用成分提取研究中发现,其粗多糖含量明显高于青藏高原其它地面着生型珍稀食用菌,具有耐疲劳活性^[7]。

迄今,食用菌多糖提取多采用热水浸提法^[8]、微波提取法^[9]及超声波提取法^[10]等。热水浸提法虽操作简单,但耗时较长;微波提取法具有短时、高效的特点,但多糖得率低;超声波萃取技术是近年来发展较快的多糖提取方法,不仅具有高效、快速的优点,且兼有多糖提取得率高,多糖提取液稳定的特点^[11]。鉴于此,本研究以粗多糖提取得率为考察指标,立足于青藏高原特色食用菌资源-柴达木大肥菇,在单因素实验基础上,采取响应面法(Response surface methodology, RSM)对多糖的提取工艺进行优化^[12],对获得的粗多糖依据中国卫生部1996年公布的《保健食品功能学评价程序和检测方法》进行功效评价,从小鼠常压耐缺氧、急性脑缺血性缺氧及亚硝酸钠中毒三个抗缺氧试验总体评价柴达木大肥菇子实体粗多糖的抗缺氧活性,旨在为挖掘柴达木大肥菇中抗缺氧功效物质提供理论基础,也为青藏高原特色资源的开发提出新的研究思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 原材料及试剂

柴达木大肥菇子实体:采自青海省海西州宗加镇贝壳梁草滩,晾干后粉碎过60目筛。

葡萄糖、苯酚、浓硫酸、正丁醇、氯仿、95%乙醇等均为分析纯。

1.1.2 实验动物

SPF级昆明种小鼠,购自中国农业科学院兰州兽医研究所,许可证号:SCXK(甘)2015-0001,雌雄兼用,体重18~22 g,共140只。将小鼠随机分为7组:空白对照组,阳性(红景天苷)对照组、柴达木大肥菇多糖低、中、高剂量组。小鼠自由摄食、饮水,每次灌胃前2 h断食,每天灌胃一次^[13]。

1.1.3 主要仪器与设备

SB-3200DTD超声波提取仪(超声功率180 W),宁波新芝生物科技股份有限公司;721N可见分光光度计,上海仪电分析仪器有限公司;FA2004型电子分析

天平,力辰科技(宁波市鄞州华丰电子仪器厂)制造。

1.2 方法

1.2.1 提取工艺流程

柴达木大肥菇子实体→风干→粉碎→过筛(60目)→超声波提取→离心取上清→浓缩(10倍)→无水乙醇沉淀(80%)→静置过夜(4℃)→离心(收集沉淀)→干燥→粗多糖(CZP)

1.2.2 多糖含量及得率测定

粗多糖总糖含量测定:采用苯酚-硫酸法^[14]。以葡萄糖为标品,测定标准曲线: $y=0.031918x+0.0569$ ($R^2=0.9987$),其中,X为多糖质量浓度,Y为波长490 nm处样品的吸光度。取一定量的粗多糖液用蒸馏水稀释至2 mL,依次加入0.5 mL 6%的苯酚溶液、5 mL 浓硫酸,静置冷却至室温,测定吸光值,每组三个平行,按标准曲线计算粗多糖含量,以下列公式计算多糖的提取得率:

$$\text{多糖得率}(\%) = \frac{C \times V \times N}{M} \times 100\%$$

式中:C为粗多糖质量浓度(mg/mL);V为提取体积/mL;N为样品稀释倍数;M为样品质量/mg。

1.2.3 实验设计

1.2.3.1 单因素试验

按提取工艺流程,分别考察料液比1:10、1:20、1:30、1:40、1:50 mL/g,超声波时间5、10、15、20、25 min,超声波功率70、90、110、130、150 W,对柴达木大肥菇多糖得率的影响^[15]。

1.2.3.2 响应面设计

通过单因素试验结果确定对多糖提取影响显著的因素,以多糖提取得率为响应值,采取SAS V8.0 分析软件设计响应面实验^[16],对超声波功率、超声波时间及料液比进行优化,并研究各因素间的交互影响作用。

1.2.4 抗缺氧活性试验

依据中国卫生部1996年公布《保健食品功能学评价程序和检测方法》方法,按体重随机分为1个空白对照组、阳性(红景天苷)对照组、1个药物(粗多糖)各3个剂量组,共计7组,每组雌雄各10只(分笼饲养)。以人每公斤体重日推荐摄入量的10倍为其中一个中等剂量(150 mg/kg),另外2个剂量根据受试物的具体情况如下设定为高剂量(300 mg/kg)和低剂量(75 mg/kg)组。

小鼠常压耐缺氧试验:连续灌胃给药20~30 d,于末次给予受试物后1 h,将各组小鼠分别放入盛有15 g 钢石灰的250 mL广口瓶内(每瓶只放1只小鼠),用凡士林从涂抹瓶口,盖严,使之不漏气,立即计时,

以呼吸停止为指标,观察小鼠因缺氧而死亡的时间。

急性脑缺血试验:连续灌胃给药 20~30 d,于末次给予受试物后 1 h,将小鼠快速断头处死,观察小鼠张口喘息情况,以 5 s 内不再张口喘息作为观察指标,记录小鼠喘息时间。

亚硝酸钠中毒存活试验:连续灌胃给药 20~30 d,于末次给予受试物后 1 d 后,配置 20 mL 的 200%亚硝酸钠溶液,浓度为 2000 mg/mL,按照每只小鼠体重,小鼠按 200~240 mg/kg BW,进行灌胃,立即计时,记录小鼠存活时间。

1.3 数据处理

每个实验做三个平行,利用 SPSS statistic 20 软件进行数据处理以及误差分析,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,检验水准 $p < 0.05$ 为差异显著, $p < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果与讨论

2.1 多糖提取工艺优化

2.1.1 影响多糖提取的单因素试验

2.1.1.1 料液比对多糖得率的影响

分别以料液比 1:10、1:20、1:30、1:40、1:50 mL/g,在超声功率 110 W 条件下提取 15 min,计算粗多糖得率,结果如图 1 所示。

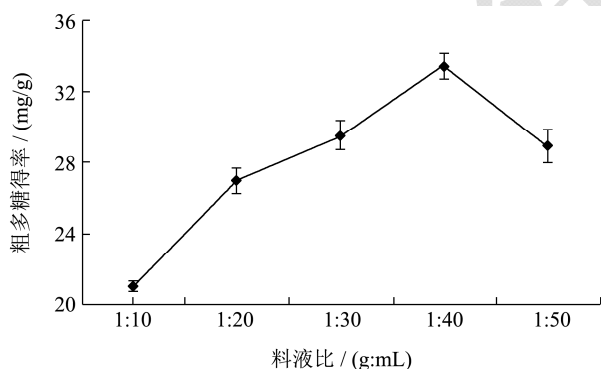


图1 料液比对多糖提取率的影响

Fig.1 Solid-liquid ratio on the yield of polysaccharide

多糖得率随着料液比的增加显著升高,在液料比为 1:40 mL/g 时最高,而后迅速下降。由于有效成分会随着溶剂量的增加而逐渐溶出,当溶剂水平超过一定水平时,细胞中水溶性物质的溶出会远远超过多糖,且多糖会在高水平溶剂量条件下被迅速稀释,导致多糖得率快速降低^[7],因此确定合适的液料比为 1:40 mL/g。

2.1.1.2 超声波时间对多糖得率的影响

按照料液比 1:40,在超声波功率 110 W 条件下,分别以 5、10、15、20、25 min 超声波提取,计算粗

多糖的提取得率,结果如图 2 所示。

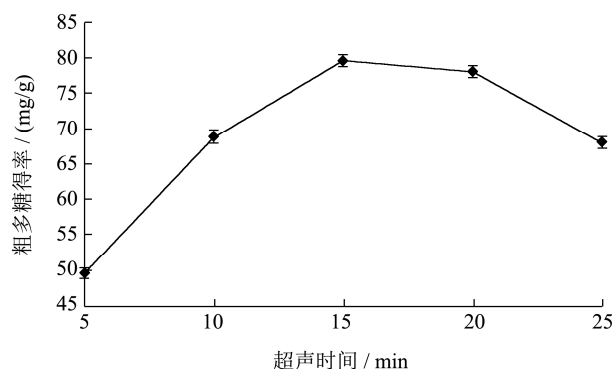


图2 超声时间对多糖提取得率的影响

Fig.2 Ultrasound time effect on the yield of polysaccharide

多糖得率先逐渐升高,在超声波 15 min 时达到最高,随后开始下降。发生这种现象的原因有可能是由于超声较强的剪切作用,长时间作用破坏多糖的分子结构,促使多糖在外力作用下发生水解反应^[18],使得多糖含量降低。故确定 15 min 为合适的超声处理时间。

2.1.1.3 超声波功率对多糖得率的影响

按照料液比 1:40,分别采用超声波功率为 70、90、110、130、150 W 条件,提取 15 min,计算粗多糖得率,结果如图 3 所示。

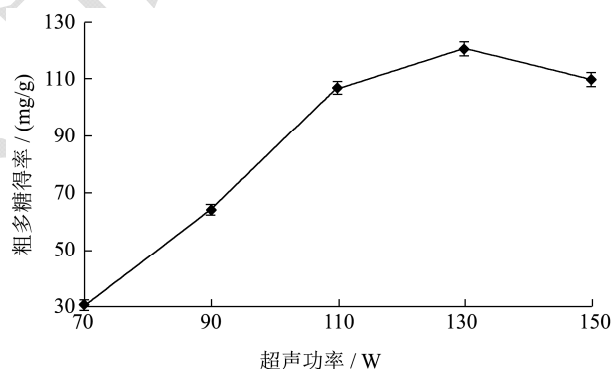


图3 超声波功率对多糖得率的影响

Fig.3 Ultrasound power on the yield of polysaccharide

粗多糖的提取得率在随超声波功率先增加后略有降低。其原因可能是由于超声功率的增加,对柴达木子实体细胞壁破坏逐渐加强,利于多糖的溶出,当超声功率达到一定值后,随着细胞壁的破坏其它可溶物也大量溶出,阻碍了柴达木子实体多糖的扩散^[19],同时较高的超声功率也会引起少量多糖降解^[20]。超声波功率为 130 W 时,粗多糖得率最高,确定 130 W 为最佳超声波功率。

2.1.2 响应面优化试验

在单因素试验基础上,确定超声波功率、料液比、超声波时间的最适中心值水平,设计响应面试验,因素及编码水平见表 1 所示。

表 1 试验因素水平及编码

Table 1 Test level factors and coding			
编码水平	因素		
	A 超声波 功率/W	B 料液比 / (g/mL)	C 超声波 时间/min
-1	110	1:30	10
0	130	1:40	15
1	150	1:50	20

以超声波功率、料液比、超声波时间为优化的三个因素，多糖提取得率为响应值，进行响应面试验设计与试验，共计 17 次，每个试验点三个平行，试验设计及其结果如表 2 所示。

表 3 中方方程相关系数 $R^2=0.9654$ ，说明 96% 以上实验数据可变性可以用该模型来描述^[21]。响应值的变异系数 (CV% 0.6324) 较小，说明试验稳定性好；失拟项 $p>0.05$ 不显著，说明本试验无其它显著影响因素。此外回归方程系数显著性检验可知，模型的一次项 A、B ($p<0.05$) 差异显著，C ($p>0.05$) 差异不显著；二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 ($p<0.01$) 差异极显著。

由表 3、表 4 结果可知，3 因素对响应值影响的显著性顺序为：超声波功率>液料比>超声波处理时间。将不显著的因素保持低水平状态，显著因素保持在最优代码水平上，得到粗多糖得率的回归方程为： $Y=8.39+0.37875A+0.3625B-0.16875C-0.4475AB-0.235AC+0.2075BC-2.1275A^2-1.045B^2-0.7375C^2$ ，根据回归方程绘制等高线图，考察各因素间的交互作用影响，

确定粗多糖提取条件的优化最佳工艺为超声功率 126.4 W、料液比 1:36.3 g/mL、提取时间为 15 min，在此条件下，粗多糖得率的最大预测值为 94.57 mg/g。考虑实际操作，确定最优提取工艺为超声功率 126 W、料液比 1:36 g/mL、提取时间为 15 min。

表 2 响应面设计试验结果

Table 2 Results of response surface experimental test				
序号	A/W	B/ (g/mL)	C/min	粗多糖得率/ (mg/g)
1	0	0	0	96.92
2	-1	-1	0	71.83
3	0	-1	-1	82.68
4	1	0	-1	81.64
5*	0	0	0	93.51
6	-1	0	-1	82.90
7*	0	0	0	92.85
8	0	-1	1	75.73
9	0	1	1	83.77
10	1	0	1	82.96
11*	0	0	0	95.22
12	0	1	-1	82.35
13	1	1	0	73.64
14*	0	0	0	93.97
15	-1	1	0	81.42
16	1	-1	0	87.96
17	-1	0	1	73.68

注：*为中心试验点。

表 3 响应面试验结果的方差分析

Table 3 Analysis of variance of response surface test results						
来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	31.83	9	3.54	21.80	0.0003	significant
A	1.15	1	1.15	7.07	0.0325	**
B	1.05	1	1.05	6.48	0.0383	**
C	0.23	1	0.23	1.40	0.2747	
A^2	19.04	1	19.04	117.38	<0.0001	**
B^2	4.59	1	4.59	28.29	0.0011	**
C^2	2.28	1	2.28	14.08	0.0070	**
相关系数 (R^2)	0.9654					
调整复相关系数 (R^2_{Adj})	0.9213		CV% 0.6324			

注：** $p<0.01$ ，差异极显著；* $p<0.05$ ，差异显著。

表 4 多糖回归方程系数显著性分析

Table 4 Analysis of significant of regression equation coefficient in polysaccharide						
因素	系数		标准差	95%可信区间		VIF
	估计	自由度		下限	上限	
模型	8.39	1	0.180049596	7.964250365	8.815749635	

转下页

接上页

A-A	0.37875	1	0.142341704	0.04216536	0.71533464	1
B-B	0.3625	1	0.142341704	0.02591536	0.69908464	1
C-C	-0.16875	1	0.142341704	-0.50533464	0.16783464	1
A ²	-2.1275	1	0.196204499	-2.591449908	-1.663550092	1.005882353
B ²	-1.045	1	0.196204499	-1.508949908	-0.581050092	1.005882353
C ²	-0.7375	1	0.196204499	-1.201449908	-0.273550092	1.005882353
AB	-0.4475	1	0.201301568	-0.923502562	0.028502562	1
AC	-0.235	1	0.201301568	-0.711002562	0.241002562	1
BC	0.2075	1	0.201301568	-0.268502562	0.683502562	1

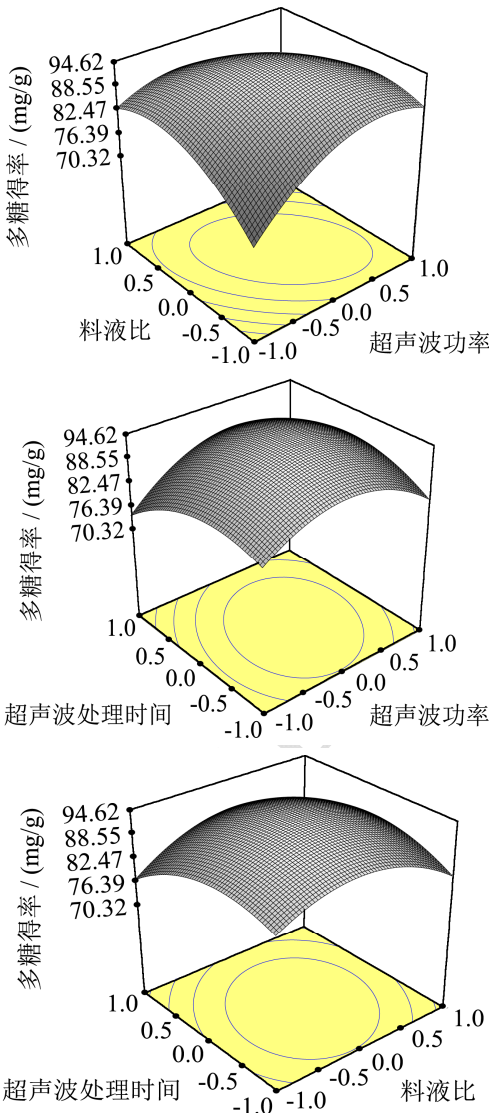


图4 超声波功率、料液比、超声处理时间对柴达木大肥菇粗多糖得率影响的响应曲面图

Fig. 4 Interactive effects of three extraction parameters on the extraction yield of polysaccharide

2.1.3 验证实验

采用最佳提取工艺条件进行3次验证重复实验，每次设定三个平行^[22]，测得柴达木大肥菇的粗多糖提取平均得率分别为95.42 mg/g、94.19 mg/g、93.78

mg/g，最终平均值为94.46 mg/g，与预测值接近。对验证结果进行多重比较分析，三次验证实验的结果比较均达到了差异显著或极显著程度。

2.2 抗缺氧活性评价

2.2.1 小鼠常压耐缺氧试验

表5 小鼠常压耐缺氧试验结果-死亡时间

Table 5 Results of Hypoxia tolerance test under normal pressure in mice-survival time ($\bar{x} \pm s$, n=20)

组分	死亡时间/min		
	低剂量	中剂量	高剂量
空白对照组	37.82±2.33 ^a		
阳性（红景天 苷）对照组	17.29±0.18 ^a	34.23±0.97 ^b	56.03±0.71 ^b
粗多糖组	35.78±2.16 ^b	58.16±2.21 ^{ab}	66.79±0.82 ^c

注：与空白组比较，小写字母表示差异显著（ $p<0.05$ ）。

由表5可知，粗多糖试验组与空白对照组、阳性（红景天苷）对照组对比小鼠死亡时间增加（ $p<0.05$ ）差异显著^[23]，可判定：柴达木大肥菇粗多糖的小鼠常压耐缺氧试验结果为阳性。高剂量粗多糖试验组小鼠死亡时间延长率是空白对照组的76.60%、阳性（红景天苷）对照组的19.20%，与西藏蔓菁（芜菁）的小鼠常压耐缺氧试验结果^[24]一致，都能有效延长小鼠死亡时间。

2.2.2 急性脑缺血性缺氧试验

表6 急性脑缺血性缺氧试验结果-喘息时间

Table 6 Results of acute cerebral ischemic hypoxia test in mice-pant time ($\bar{x} \pm s$, n=20)

组分	喘息时间/min		
	低剂量	中剂量	高剂量
空白对照组	16.85±1.51 ^a		
阳性（红景天 苷）对照组	18.74±0.57 ^{abc}	21.50±0.75 ^{ef}	22.52±0.16 ^f
粗多糖组	18.82±0.29 ^c	25.33±2.75 ^g	30.22±0.93 ^h

注：与空白组比较，小写字母表示差异显著（ $p<0.05$ ）。

由表6可知,在急性脑缺血性缺氧试验中,粗多糖组与空白对照组、阳性(红景天苷)对照组比较小鼠喘息时间延长($p<0.05$)差异显著^[25],可判定:柴达木大肥菇粗多糖的小鼠急性脑缺血性缺氧试验结果为阳性。中剂量的粗多糖试验组小鼠喘息时间高于空白对照组50.33%,高剂量的粗多糖试验组小鼠喘息时间高于阳性(红景天苷)对照组34.20%,与西藏蔓菁(芜菁)的小鼠急性脑缺血性缺氧试验结果^[24]一致,都能有效延长小鼠喘息时间。

2.2.3 亚硝酸钠中毒试验

由表7结果可知,在亚硝酸钠中毒试验中,粗多糖试验组与空白对照组、阳性(红景天苷)对照组比较小鼠存活时间增加($p<0.05$)差异显著^[26],可判定:柴达木大肥菇粗多糖的亚硝酸钠中毒试验结果为阳性。粗多糖高剂量组与空白对照组、红景天苷高剂量组对比小鼠存活时间延长率分别为144.96%、43.07%,与西藏蔓菁(芜菁)的小鼠急性脑缺血性缺氧试验结果^[24]不一致,粗多糖试验组可有效延长亚硝酸钠中毒试验小鼠存活时间。

表7 亚硝酸钠中毒实验结果-存活时间

Table 7 Results of Sodium nitrite poisoning test in mice-survival

组分	存活时间/min ($\bar{x} \pm s$, n=20)		
	低剂量	中剂量	高剂量
空白对照组(A)	31.89 $\pm$ 3.04 ^b		
阳性(红景天苷)对照组(B)	39.66 $\pm$ 2.71 ^c	46.95 $\pm$ 1.87 ^d	54.38 $\pm$ 1.96 ^e
粗多糖组(C)	43.92 $\pm$ 1.29 ^{cd}	67.46 $\pm$ 2.39 ^e	77.80 $\pm$ 1.88 ^h

注:与空白组比较,小写字母表示差异显著($p<0.05$)。

缺氧是高原、航空、潜水等特殊环境最普遍的应激因素。因此,增强机体在缺氧条件下的调适能力是提高人体低氧耐受性的重要途径,其中最为有效手段是进行低氧预适应和摄食耐缺氧的功能食品或药物^[27]。已有研究证明,红景天的主要活性成分为红景天皂苷,具有抗氧化、抗缺氧、抗炎和延缓衰老功效,对神经细胞的缺氧/缺糖性损伤及心肌细胞的活性氧损伤均具有很好的预防和保护活性。而食用菌多糖是一类可以控制细胞分裂分化、调节细胞生长和衰老的活性物质,食用菌多糖所具有生物活性的差异与其化学结构和分子量有密切关联^[28]。前期我们研究已发现,来自柴达木盆地的大肥菇多糖粗提物表现出强的抗氧化活性,能够明显提高试验小鼠的肝糖原等生理指标^[29]。本文采用动物实验发现柴达木大肥菇子实体提取的粗多糖具有明显的抗缺氧活性。而后,笔者为进一步探讨柴达木大肥菇多糖抗缺氧机制,先后开展

细胞、氧通道、多糖代谢组学等多方面研究,从分子水平、细胞水平及整体动物水平上系统研究柴达木大肥菇多糖功效成分及其作用机制,为柴达木大肥菇多糖功能食品的研究开发提供理论依据,相关文章陆续发表中。

3 结论

为确保提取多糖的活性不受影响,根据前期试验结果综合考虑,在提取温度确定为60℃条件下进行试验。通过单因素试验确定了超声波辅助提取子实体多糖的响应面优化实验中心点为超声波功率130W、料液比1:40 g/mL、提取时间15 min;通过响应面优化提取条件,确定柴达木大肥菇粗多糖提取的最佳工艺为超声功率126W,料液比1:36,提取时间为15 min。采用在此提取工艺条件下提取获得的粗多糖进行动物评价实验,通过小鼠常压耐缺氧、亚硝酸钠中毒、急性脑缺血性缺氧三项抗缺氧试验,分别检测小鼠死亡时间、存活时间及喘息时间等指标,对数据进行方差分析,与对照组、阳性(红景天苷)对照组比较($p<0.05$)差异显著,3项试验结果判断均为阳性;粗多糖试验组与空白对照组比较对小鼠死亡时间、喘息时间及存活时间的延长率分别为76.60%、50.33%及144.96%,粗多糖试验组与阳性对照组比较对小鼠死亡时间、喘息时间及存活时间的延长率分别为19.20%、34.20%及43.07%,综上分析,柴达木大肥菇子实体粗多糖具有较强的抗缺氧功效,其具体的作用机理有待深入探讨。

参考文献

- [1] 高淑敏.柴达木盆地野生大肥菇菌种培养基配方筛选[J].园艺与种苗,2011,2:52-54
GAO Shu-min. Screening of culture media formula for wild *Agaricus bitorquis* (Quél.) Sacc. growing in Qaidam Basin [J]. Horticulture & Seed, 2011, 2: 52-54
- [2] 高淑敏,罗春燕,刘海林.柴达木野生大肥菇菌丝体生物学特性研究[J].中国食用菌,2010,29(5):28-30
GAO Shu-min, LUO Chun-yan, LIU Hai-lin. The biological characteristics of mycelium from *Agaricus bitorquis* (Quél.) Sacc [J]. Edible Fungi of China, 2010, 29(5): 28-30
- [3] 高淑敏.柴达木盆地野生大肥菇菌种培养基配方筛选[J].园艺与种苗,2011,2:52-54
GAO Shu-min. Screening of culture media formula for wild *Agaricus bitorquis* (Quél.) Sacc growing in Chaidamu basin [J]. Horticulture & Seed, 2011, 2: 52-54
- [4] 高淑敏.青藏高原柴达木野生大肥菇驯化研究初报[J].食

- 用菌,2010,3:24-26
- GAO Shu-min. Domestication of *Agaricus bitorquis* (Quél.) Sacc in Chaidamu, Qinghai-Xizang plateau [J]. Edible Fungi, 2010, 3: 24-26
- [5] 罗春燕.柴达木大肥菇子实体营养成分分析与评价[J].中国食用菌,2015,34(3):25-27
- LUO Chun-yan. Nutrition ingredient analysis and evaluation on *Agaricus bitorquis* (Quél.) Sacc. Fruit Body [J]. Edible Fungi of China, 2015, 34(3): 25-27
- [6] 徐鸿雁,刘海林,罗春燕.柴达木盆地野生大肥菇营养生理研究[J].食用菌,2017,39(1):12-15
- XU Hong-yan, LIU Hai-lin, LUO Chun-yan. Nutrition physiology on *Agaricus bitorquis* (Quél.) Sacc. [J]. Edible Fungi, 2017, 39(1): 12-15
- [7] 焦迎春,旷惠,吴嘉南,等.柴达木大肥菇多糖对小鼠的抗疲劳作用[J].现代食品科技,2018,34(8):24-30
- JIAO Ying-chun, KUANG Hui, WU Jia-nan, et al. The Anti-fatigue activities of polysaccharides extracted from the *Agaricus bitorquis* (Quél.) Sacc. Chaidam [J]. Modern Food Science and Technology, 2018, 34(8): 24-30
- [8] Chenling Qu, Songcheng Yu, Li Luo, et al. Optimization of ultrasonic extraction of polysaccharides from *Ziziphus jujuba* Mill. by response surface methodology [J]. Chemistry Central, 2013, 7(160): 1-7
- [9] Jong-Hyun Jin, Ei-Hyun Chun, Ju Hwan Hyun, et al. Optimization of hot water extraction and ultra high pressure extraction for deer antler [J]. Food Science and Biotechnology, 2015, 24(2): 507-512
- [10] W Y Wan Ahmad, N Md Noor, M R Ahmad, et al. Microwave-assisted extraction as a rapid extraction to produce natural dyes from *Pycnoporus sanguineus* Mushroom [J]. Proceedings of the International Colloquium in Textile Engineering, 2014, 95-98
- [11] 于华峥,刘艳芳,周帅,等.灵芝子实体、菌丝体及孢子粉中多糖成分差异比较研究[J].菌物学报,2016,35(2):170-177
- YU Hua-Zheng, LIU Yan-Fang, ZHOU Shuai, et al. Comparison of the polysaccharides from fruiting bodies, mycelia and spore powder of *Ganoderma lingzhi* [J]. Mycosystema, 2016, 35(2): 170-177
- [12] Zhu M, Nie P, Liang Y, et al. Optimizing conditions of polysaccharide extraction from Shiitake mushroom using response surface methodology and its regulating lipid metabolism [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 95(2): 644-648
- [13] Bo B. Research on the Influence of anti-fatigue effect and movement ability of blueberry polysaccharides on aged mice [J]. Open Biomedical Engineering Journal, 2015, 9(1):314
- [14] Aguiló-Aguayo, Ingrid, Walton, Jennie et al. Ultrasound assisted extraction of polysaccharides from mushroom by-products [J]. LWT-Food Science and Technology, 2017, 77: 92-99
- [15] Ke, Le-Qin. Optimization of ultrasonic extraction of polysaccharides from *Lentinus edodes* based on enzymatic treatment [J]. Journal of Food Processing and Preservation. 2015, 39(3): 254-259
- [16] Luo Lin, Cai Lin Min, Hu Xiu Juan. Evaluation of the anti-hypoxia and anti-fatigue effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides [J]. Applied Mechanics and Materials, 2017, 522-524 (303-306)
- [17] Hua Li. Extraction, purification, characterization and antioxidant activities of polysaccharides from *Ramaria botrytis* (Pers.) Ricken [J]. Chemistry Central Journal. 2017, 11: 24
- [18] Yilmaz, Tuncay, Tavman, ebne, Ultrasound assisted extraction of polysaccharides from hazelnut skin [J]. Food Science and Technology International, 2016, 22(2): 112-121
- [19] Yu Ge, Zhang Sheng-jie, et al. Ultrasound-assisted extraction and comparison of extraction methods based on antioxidant activities of polysaccharides from *Flammulina velutipes* [J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2017, 11(4): 1752-1760
- [20] You Q, Yin X, et al. Extraction and purification of polysaccharides from pine medicinal mushroom, *Tricholoma matsutake* (Higher Basidiomycetes) Fruit Bodies [J]. Int J Med Mushrooms, 2014, 16(2): 149-60
- [21] 徐中香,胡浩,李季楠,等.青稞麸皮阿拉伯木聚糖的提取工艺优化及结构分析[J].食品科学.2018,39(8):191-200
- XU Zhong-xiang, HU Hao, LI Ji-nan, et al. Optimization of extraction process and structural analysis of arabinoxylans from hull-less barley bran [J]. Food Science, 2018, 39(8): 191-200
- [22] 位路路,林杨,王月华,等.黑果腺肋花楸花色苷提取工艺优化及其抗氧化活性和组成鉴定[J].2018,39(8):239-246
- WEI Lu-lu, LIN Yang, WANG Yue-hua, et al. Optimization of extraction of anthocyanins from berries of *Aronia melanocarpa* and their antioxidant activity and composition [J]. Food Science, 2018, 39(8): 239-246 (下转第 251 页)