

# Progress in the Study of the Biological Activities and Extraction and Purification of Edible Mushroom Polysaccharides

Zhiyun Wang

Teaching and Research Section of Biology, Chongqing Yubei Middle School, Chongqing

Email: [604563268@qq.com](mailto:604563268@qq.com)

Received: Aug. 31<sup>st</sup>, 2015; accepted: Sep. 14<sup>th</sup>, 2015; published: Sep. 21<sup>st</sup>, 2015

Copyright © 2015 by author and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

---

## Abstract

Edible Mushroom polysaccharides exhibit varied bio-activities such as immunomodulation, anti-cancer, prevention and treatment of cardiovascular diseases, antimicrobial and antiviral effects. Multiple steps of extraction, separation and purification are needed to get high yield and high purity of edible mushroom polysaccharides. The biological activities of edible mushroom polysaccharides are significantly affected by their sequences, structures, and quaternary configurations, and thus systematic characterization of the structures and configurations is indispensable for understanding the biological functions of the edible mushroom polysaccharides. This article reviews the main methods of isolation, purification and structural characterization of the edible mushroom polysaccharide, as well as some of the important biological activities.

## Keywords

Edible Mushroom, Polysaccharide, Biological Activity

---

# 食用菌多糖的生物学活性及提取纯化研究进展

汪治云

重庆市渝北中学校生物教研室, 重庆

Email: [604563268@qq.com](mailto:604563268@qq.com)

文章引用: 汪治云. 食用菌多糖的生物学活性及提取纯化研究进展[J]. 微生物前沿, 2015, 4(3): 45-54.

<http://dx.doi.org/10.12677/amb.2015.43007>

收稿日期：2015年8月31日；录用日期：2015年9月14日；发布日期：2015年9月21日

## 摘要

食用菌多糖具有增强人体免疫力、抗癌、预防和治疗心血管疾病、抗菌及抗病毒等功效。食用菌多糖的提取、分离和纯化需要多步骤的复杂工艺，以提高食用菌多糖的收率和纯度。食用菌多糖的序列，分子结构及其排列构象，显著影响食用菌多糖的生物学活性，因此，对食用菌多糖的结构和构象进行系统表征是十分必要的，从而可正确理解食用菌多糖的生物学功能。本文综述了食用菌多糖的生物学活性、分离纯化及结构鉴定的方法。

## 关键词

食用菌，多糖，生物学活性

## 1. 引言

食用菌是我国最重要的营养食品来源之一，而且，产销量也逐年上升。根据中国食用菌协会及中国食用菌商务网调查统计，2005~2013年我国食用菌产量年均增速达11%，仅2013年，我国食用菌产量达3148万吨，稳居世界第一。食用菌因含有丰富的挥发性物质[1]、氨基酸[2] [3]及饱和及脂肪酸等而具有独特的口感和香味，因而备受人们亲睐。同时，食用菌中纤维含量相当高，约4%~55%（干重），因此，人们也将食用菌作为纤维食品的重要来源。

除了作为食品原料而具有的丰富营养成分外，食用菌还具有特殊的保健和药用功效。人工栽培及野生食用菌都可用于提取多种生物活性物质[4]，包括多酚类化合物、固醇类化合物、萜烯及神经酰胺类化合物等。在食用菌的生物活性物质中，多糖被认为是一种最重要的功能活性物质。食用菌多糖可有效增强人体免疫力，从而预防癌症及病原的感染等，如 $\beta$ -葡聚糖，作为一种常见的生物活性多糖，由于具有重要的免疫调控功能，在生物医学中作为一种生物反应调节剂而广泛使用(biological response modifier, BRM [5])。

目前，可用于提取多糖的菌种较多，包括茶新菇、猴头菇、榆黄蘑、松茸、香菇及灵芝等。但就食用菌药用价值而言，香菇和灵芝是中国目前种植面积最大，用于提取多糖最常见的两菌种。食用菌多糖的大小、纯度、一级结构、在溶液中构象及电荷状态等理化特性都可能影响其生物学活性及同受体的结合。本文主对食用菌多糖的重要生物学活性、食用菌多糖的提取及分离纯化技术进行简要综述。

## 2. 食用菌多糖的生物学功能

目前，食用菌多糖已经成为生物活性多糖的重要原料来源，这些多糖具有重要的保健及医药用途。食用菌多糖可显著增强人体免疫能力，是常用的生物反应调节剂。从袋形地星(*Geastrum saccatum*)中分离的多糖，通过葡萄糖残基和蛋白结合，具有抗氧化及抗炎症反应的活性[6]。食用菌多糖常见的重要生物学功能包括以下几个方面。

### 2.1. 肿瘤治疗

因为食用菌多糖具有增强人体免疫力的功效，常用于肿瘤治疗。目前，有多种食用菌多糖具有抗肿瘤活性，包括松茸(*Agaricus*)、灵芝(*Ganoderma*)、猪苓(*Grifola*)、纤孔菌(*Inonotus*)、香菇(*Lentinus*)、层孔

菌(Phellinus)、鳞伞菌(Pholiota)及平菇(Pleurotus)等[7]-[9]。食用菌多糖的抗肿瘤机理主要包括抗肿瘤细胞增殖,诱导肿瘤细胞凋亡,抗肿瘤细胞转移活性及调节免疫系统[10]。对免疫系统的调节功能包括激活巨噬细胞、增强T淋巴细胞及自然杀伤细胞的功能,增强炎症介质及TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , 及IL-1 $\beta$ 等细胞因子的分泌能力。另外,食用菌多糖还能通过抑制E-选择素(E-selectin)的表达,从而抑制肿瘤细胞的粘附功能[7]。

食用菌多糖也常用来作为肿瘤治疗的辅助试剂,如采用香菇多糖作为晚期或复发胃癌和结肠癌的辅助治疗剂[11][12]。研究表明,通过香菇多糖辅助治疗,可大大增强胃癌病人对化学治疗的耐受性[12],降低结肠癌病人肿瘤的生长速度[13],从而延长癌症病人的生存期。

## 2.2. 心血管疾病的预防和治疗

食用菌多糖在心血管疾病的预防和治疗方面具有重要的应用价值。食用菌因为具有高纤维低脂肪含量的特点,可作为预防动脉粥样硬化的保健食品,其作用机理主要是增强血小板抗凝血及抗凝集活性,从而降低血中甘油三酯及脂肪水平[14]。同时,食用菌多糖所具有的抗氧化活性也具有显著的降血脂功能[14]。对于高胆固醇患者,多吃富含 $\beta$ -葡聚糖的食用菌可显著降低血中胆固醇及低密度脂蛋白水平[15][16]。另外,通过食用食用菌而摄入 $\beta$ -葡聚糖,可有效降低肠道对胆固醇和长链脂肪酸的吸收[17]。

## 2.3. 抗病毒(HIV)及抗菌活性

目前,采用食用菌多糖治疗艾滋病的报道并不多,但前景无限。研究表明,当用香菇多糖结合地达诺新(DDI)治疗艾滋病患者38周后,患者体内的CD<sub>4</sub>细胞水平可显著增加,而如果仅用DDI进行治疗,14周后,患者体内仅有5%的CD<sub>4</sub>细胞增加[18]。

食用菌多糖具有较强的抗细菌活性,可和卡介菌(BCG)结合治疗或作为卡介菌接种的辅助剂。如果通过鼻腔吸入食用菌多糖,然后接种卡介菌,可显著激活体内肺泡巨噬细胞活性[19]。

## 2.4. 抗氧化活性

抗氧化活性是食用菌多糖具有的典型生物学功能。机体氧化损伤往往是诸多疾病的诱因,通过摄入食用菌多糖,可以清除体内自由基及超氧自由基,抑制脂质过氧化及细胞增生,从而预防疾病的发生[20]。

除了在医学方面的生物学功能外,食用菌多糖作为膳食纤维越来越受到广泛关注。一方面,食用富含多糖的食用菌可显著改善胃肠蠕动,同时,食用菌多糖的摄入可使胃肠产生饱胀感,从而减少食品的摄入[21]。食用菌多糖还具有抗衰老[22]及保护肝脏的功能[23]。

## 3. 食用菌多糖的提取工艺

食用菌为高等的担子菌类,其生物活性多糖分布在子实体、培养的菌丝体及培养基中。食用菌多糖的提取产率不仅取决于食用菌种类,而且和提取温度、pH值、提取液的离子强度及研磨强度等条件密切相关。食用菌多糖的提取方法很多,常见的主要有以下几种。

### 3.1. 水溶液提取法

对于常规的水溶液提取法,通常是将食用菌样品冻干,研磨成粉末,边搅拌边溶入水溶液,并经过连续多步提取多糖[24]。首先,用水在室温提取多糖,离心,收集上清。将沉淀用沸水进行第二次提取,离心,收集上清。固体沉淀用碱溶液(2% NaOH 或 KOH)在100℃提取,离心,收集上清。对于水或者碱性水溶液不能提取出的水不溶性多糖,采用酸性水溶液进行再次萃取。用酸提取的葡聚糖类多糖可能为典型的直链或者轻度支链结构,如用冰醋酸、甲酸、稀盐酸及磷酸等提取酵母中的水不溶性 $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-糖苷键连接的葡聚糖[25]。酸提取时用何种种类的酸不会影响提取多糖的单糖组成和侧链,但所用酸溶液的

pKa 值会影响提取多糖的大小、分子量分布范围(polydispersity)、特性粘度等指标, 所用酸的酸性越弱, 提取多糖的分子量就越大, 分子量分布范围越大。

### 3.2. 加压液体提取法

对于传统的提取方法, 由于使用大量有毒性的有机试剂, 而且提取过程比较繁琐, 容易使多糖在提取过程中处于过热、光照及氧化等不利的破坏条件。同时, 传统提取方法对多糖提取的选择性和产率都较低, 因此, 有必要发展更为先进的加压液体萃取技术(pressurized liquid extraction, PLE)。

加压液体萃取技术是一种新兴的多糖提取技术, 较传统的方法有诸多明显的优点。首先, 在加压提取过程中, 加压提取容器中的溶剂在固液临界区域始终处于高温高压。高温可保证多糖的高溶解性和高扩散速率, 高压可使提取温度始终处于溶剂沸点以下, 从而保证提取溶液的稳定性。其次, 高温高压还可使溶剂快速穿透固体样品, 达到快速萃取的目的。因此, 加压液体萃取技术达到了以尽可能少的溶剂和最短的提取时间, 实现快速有效提取的工艺效果。加压液体萃取技术还可有效实现自动化, 避免样品暴露在氧化及光照等不利条件。利用该技术成功提取了香菇多糖[26], 并对提取的时间和压力进行了优化。当提取时间从 10 分钟增加到 70 分钟时, 多糖产率从 80.6% 增加到了 88.6%。然而, 当随着时间的进一步增加, 提取产率并没有显著增加。当提取压力增加时, 提取产率随之增加。然而当压力增加到一定值(15.2 MPa)时, 多糖的产率并没有显著增加。因此, 在 28℃ 时, 采用 10.1 MPa 的压力及 70 min 提取时间为香菇多糖的最佳提取条件, 可实现对香菇  $\alpha$ -(1→4)-连接葡聚糖及  $\beta$ -(1→4)-连接葡聚糖的最佳萃取和最大回收[26]。随着多糖结构及原料的不同, 提取的最佳条件也会有所改变, 如从海藻中提取  $\beta$ -(1→4)-连接葡聚糖, 在 150℃ 加压水提取 20 min, 即可达到 13.8% 的最佳提取产率[27]。

### 3.3. 超临界流体萃取法

超临界流体萃取法(supercritical fluid extraction, SFE)是一种采用高于溶剂临界点的温度和压力进行萃取的新技术。在 SFE 技术中, CO<sub>2</sub> 由于具有类似液体的高比重、低粘性、高扩散性能而被作为一种绿色超临界萃取剂而广泛使用。当进行超临界 CO<sub>2</sub> (SC-CO<sub>2</sub>) 萃取食用菌多糖时, 由于使用的温度较低, 且不使用有机溶剂, 从而有效避免了生物活性成分的降解和破坏。当用该方法进行灵芝多糖的提取时, 在一定的 CO<sub>2</sub> 流速范围内(如 4~10 kg/h), 多糖回收产率会随着 CO<sub>2</sub> 流速增加而提高[28]。当 CO<sub>2</sub> 流速超过一定阈值(如 10 kg/h), 多糖产率并不会随着流速的增加而显著提高。同样, 当操作压力从 27 MPa 逐渐增加到 35 MPa 时, 多糖产率也会逐渐提高。温度变化对多糖提取产率的影响会受到压力变化的影响。在低压时, 温度越高, 产率越高。在高压时, 温度变化(如 25-35℃)对产率的影响就没那么显著。通过优化, 灵芝多糖的最佳提取条件为压力 35 MPa, 温度 25℃, 提取时间 4 h, CO<sub>2</sub> 流速为 10 kg/h [28]。

### 3.4. 超声波辅助提取技术

超声波辅助提取技术(UAE)是一种对传统水溶液提取法及超临界流体萃取技术进行有效补充的方案。具体工艺参数包括超声功率、水和原料比、提取时间及提取温度。当用该方法提取黑木耳多糖时, 最佳的提取条件为超声功率 350 W, 水和原料比为 5 ml/g, 提取温度 90℃, 提取时间 35 min [14]。当所用的提取原料不同时, 所用的提取工艺也不同, 如提取巴西蘑菇(*Agaricus Bisporus*)多糖时, 提取的最佳条件为超声功率 230 W, 水和原料比为 30 mL/g, 在 70℃ 提取 62 min, 多糖回收产率可达 6.02% [29]。

### 3.5. 微波辅助提取技术

微波辅助提取(MAE)也是对传统提取技术的有效补充。利用该方法提取松茸(*Agaricus blazei*)多糖时,

最佳提取条件为: 功率 400 W, 温度 74.64℃, 水溶液和原料比为 32.7 ml/g, 多糖回收产率为 12.35% [30]。当提取蛹虫草(*Cordyceps militaris*)时, 最佳提取条件则有所不同, 具体功率为 744.8 W, 水和原料比为 31.1 mL/g, 提取 4.2 min 便获得了约 6% 的多糖产率[31]。

当微波提取和超声波提取结合使用时, 可有效缩短提取时间, 增加提取效率及节约能源。如将微波提取和超声波提取结合用于提取枸杞(*Lycium barbarum*)多糖时, 即可达到用传统热水提取法提取多糖时的产率。具体条件为: 微波功率 500 W, 处理 10 min, 超声功率 500 W, 处理 30 min, 提取液 pH 9.0, 温度 50℃ [32]。当用微波结合超声波的方法提取灵芝(*Ganoderma lucidum*)多糖时, 最佳条件则为: 超声功率 50 W, 微波功率 284 W, 提取时间 701 s, 水和固体原料比为 11.6 ml/g [33]。微波和超声波结合使用可显著提高多糖产率, 比仅用超声波提取时的多糖产率提高了 27.7% [33]。

目前, 提取食用菌多糖的方法还有很多, 每种方法都有自己的优缺点。方法的优劣不能一概而论, 应根据食用菌种类的不同, 成本控制及工艺的要求进行选择, 所以工业上一般不会采用单一的提取方法, 一般采用复合方法进行使用, 比如, 一般应先采取水提取法进行初提, 然后结合超声波或微波处理、也可同时结合蛋白酶, 纤维素酶及果胶酶等酶法提取, 从而保证多糖的最大产率。食用菌多糖的产率跟提取方法直接相关, 单一的提取方法, 多糖产率可达 5%~10%, 如果同时采用多种组合方法, 多糖产率可达 30%~40%。所以, 在工业上, 通常结合多种方法进行多糖提取。

#### 4. 食用菌多糖纯化

目前, 采用水溶的办法从食用菌中提取的多糖往往含有蛋白质等生物大分子类杂质, 必需采用分离纯化等步骤除去多糖以外的其他物质。首先, 可用甲醇抽提初步除去多糖提取物中的酚类化合物、单糖、氨基酸及其他杂质[34]。通过甲醇除去多糖样品中的杂质后可进一步提高多糖的纯度和回收产率[35]。其次, 通过加入 20% TFA (W/V) 沉淀蛋白, 或加入蛋白水解酶在 40℃ 处理 1 h (pH 7.5), 离心, 除去蛋白质。除去蛋白质以后, 向上清中加入 2 倍体积的乙醇进一步沉淀多糖, 可同时加入浓 NaCl 溶液增强沉淀效果。可用丙酮或乙醇洗涤固体沉淀, 洗去盐及其他杂质。当得到初步纯化的多糖混合物后, 还可用硫酸铵作进一步沉淀, 根据分子量大小对多糖作进一步分级[36] [37]。

经过初步纯化后的多糖, 可采用凝胶过滤色谱作进一步纯化以及分子量测定。另外, 也可采用含羟基的亲水聚合物柱子纯化多糖, 用 NaCl, NaNO<sub>3</sub> 或 NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 溶液在低流速进行洗脱。采用示差折光率检测器检测非衍生多糖或用荧光试剂标记多糖后用荧光检测器进行检测[38] [39]。

#### 5. 提取多糖的质量评估

经过提取的食用菌多糖, 往往只是多糖粗品, 仍含有一定量的蛋白质、酚类物质及还原糖类等杂质, 因此, 需要对制备的多糖粗品进行质量评估, 具体包括总糖含量测定、还原糖测定及多酚类物质测定等。如果提取多糖纯度越高, 说明质量越好, 即要求多糖产品的总糖含量要高, 而蛋白质、还原糖及多酚等杂质含量要低。

##### 5.1. 总糖含量测定

对于提取多糖总糖含量测定, 通常采用经过改进的苯酚硫酸法(phenol-sulfuric acid) [40]。将 50 μl 的粗糖样品和 150 μl 的浓硫酸混合, 立即加入 30 μl 的苯酚, 在 90℃ 反应 5 min。冷却至室温后, 在 490 nm 测定光吸收。以 D-葡萄糖作为标品作标准曲线, 通过标准曲线计算总糖含量。

##### 5.2. 还原糖测定

采用改进的 Miller 法[41]测定还原糖的含量。将 0.5 mL 1% 的 3,5-二硝基水杨酸和 20 μl 粗糖样品混

合,加入去离子水至总体积 5 mL。将反应混合物在沸水中煮 5 min,冷却至室温。加入 2.5 mL 去离子水,充分混合,在 540 nm 测定光吸收值。以 D-葡萄糖作为标品制作标准曲线,计算还原糖含量。用总糖含量减去还原糖含量,即得到提取食用菌多糖的含量。

### 5.3. 多酚类物质含量测定

目前,主要采用磷钼酸比色分析法测定酚类物质含量[42]。将 0.5 mL 的福林酚试剂(Folin-Ciocalteu)和 0.5 mL 的粗糖提取物混合,反应 3 min 后,加入 0.5 mL 的 35% (W/V)Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 溶液,用去离子水补足至 5 mL。避光保存 90 min 后,在 725 nm 测定光吸收值。以鞣酸(gallic acid)作为标准品制作标准曲线,计算多酚物质总含量(mg/g 粗糖)。

以上为食用菌多糖粗品中常见 3 种杂质的测定方法。如果粗糖中含有蛋白类杂质的含量测定,一般采用实验室常见的 Bradford 方法[43]。对于杂质蛋白的种类及分布情况,可采用实验室常用的垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)及考马斯亮蓝染色观察。由于具体的实验步骤在一般的实验室都常见,在此不再赘述。

## 6. 食用菌多糖鉴定

对食用菌多糖的鉴定包括分子量测定、糖链的组成及构象异构体测定、糖链的序列测定、支链的位置、修饰基团的鉴定及糖链之间的连接鉴定等。

### 6.1. 糖链的单糖组成测定

通常采用酸水解多糖的方法测定单糖组成。一般采用 TFA 在 120℃ 进行水解,也可采用 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 及 HCl 进行多糖水解[44]。用 HPLC 纯化水解后产生的单糖混合物测定多糖的组成,或者将单糖混合物衍生后用气质联用质谱测定多糖的组成,或者将单糖用硼氢化钠还原成糖醇并乙酰化,然后用极性柱进行分离,利用气质联用质谱鉴定多糖组成[45]。

### 6.2. 鉴定支链及其位置

多糖的甲基化标记是一种最常用的对复杂多糖结构分析时的衍生方法。其他的衍生方法包括三甲基硅烷化、乙酰化、三氟乙酰化、甲磺酰化、乙缩醛化以及多种标记方法的结合使用。在这些衍生方法中,甲基化修饰为优先采用的方法。通过衍生化修饰可以增强多糖碎片离子在质谱分析中的稳定性及检测灵敏度。通常用 GC-MS 检测衍生化的多糖,以获得糖苷键连接信息,支链信息以及单糖组成信息等。然而,质谱并不能提供有关糖链的异头体构象,单糖类型及构象异构体信息等[46]。然而,核磁共振技术(NMR)可以解决以上的问题。NMR 技术可以进行未衍生多糖的结构分析,提供丰富的支链信息。然而和质谱相比,NMR 的缺点是灵敏度较低,样品量大且纯度要求高。因此,我们通常将质谱和 NMR 技术结合起来使用,以获得多糖的结构、序列及构象等综合信息。

### 6.3. 糖苷键连接测定

多糖有  $\alpha$ -及  $\beta$ -两种键连接方式,这两种连接方式使多糖有着截然不同的生理活性,因此,阐明多糖的连接方式多糖结构鉴定的重点任务之一。NMR 技术是测定多糖组成及糖苷键连接常用的方法。在多糖 <sup>1</sup>H-NMR 谱中,异头体质子化学位移在 4.3-5.9 ppm 范围, $\alpha$ -连接构象的化学位移大于  $\beta$ -连接。红外光谱也可以提供异头体连接信息。如果红外光谱官能团吸收峰在 850 cm<sup>-1</sup>,表明为  $\alpha$ -构象[47],如果有更高频率的红外吸收峰(890 cm<sup>-1</sup>),则为  $\beta$ -连接[48]。钙荧光白染料(Calcofluor white)可和  $\beta$ -连接糖链结合并产生绿色荧光,而  $\alpha$ -构象不产生任何荧光,从而有效鉴定多糖的异头体构象[49]。

## 6.4. 空间构象测定

通常,人们采用<sup>13</sup>C-NMR核磁[50]、多角度激光光散射[51]及X-光晶体衍射[52]等技术来研究多糖的四级结构。然而,在测定溶液中多糖结构时,这些技术在分析成本及效率等方面有严重不足。采用二维核磁共振技术(2D NMR)可有效解析糖结合位点的结构信息[53],具体包括化学位移相关谱(COSY)、转动框架欧沃豪斯效应增强光谱学(ROESY)、NOE效应谱、异核多量子相干谱(HMQC)及异核多键相关技术(HMBC)等。

## 7. 前景和展望

食用菌被国际公认为最理想的组合营养物质来源之一。世界粮农组织也将食用菌纳入健康饮食必不可少的成分,因此,发展食用菌相关产业是事关我国国计民生的重大战略任务。在我国,多种食用菌多糖已被成功提取并形成了系列产品。然而,在关系到人民健康的保健品及生物医药领域,对食用菌多糖的研发还处于初级阶段。因此,为了充分挖掘食用菌多糖在我国保健品及生物医药等领域的应用价值,我们需要做好几件事情:1) 利用基因重组等现代化技术培育优质、高产、抗病、抗虫、耐贮的菌种;2) 加快建立并成熟利用系统生物学技术筛选高产且低成本的工程菌株;3) 加快建立食用菌多糖提取、分离纯化及结构鉴定等的质量技术标准;4) 加快产学研结合及产业化的力度,开发具有自主知识产权的食用菌多糖保健品及药品,为我国经济发展及人民健康服务。

## 参考文献 (References)

- [1] Gogavekar, S.S., Rokade, S.A., Ranveer, R.C., Ghosh, J.S., Kalyani, D.C. and Sahoo, A.K. (2014) Important nutritional constituents, flavour components, antioxidant and antibacterial properties of *Pleurotus sajor-caju*. *Journal of Food Science and Technology*, **51**, 1483-1491. <http://dx.doi.org/10.1007/s13197-012-0656-5>
- [2] Pons, M., Dauphin, B., La Guerche, S., Pons, A., Lavigne-Cruege, V., Shinkaruk, S., Bunner, D., Richard, T., Monti, J.P. and Darriet, P. (2011) Identification of impact odorants contributing to fresh mushroom off-flavor in wines: Incidence of their reactivity with nitrogen compounds on the decrease of the olfactory defect. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **59**, 3264-3272. <http://dx.doi.org/10.1021/jf104215a>
- [3] Tsai, S.Y., Tsai, H.L. and Mau, J.L. (2008) Non-volatile taste components of *Agaricus blazei*, *Agrocybe cylindracea* and *Boletus edulis*. *Food Chemistry*, **107**, 977-983. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.080>
- [4] Chang, S.T. and Wasser, S.P. (2012) The role of culinary-medicinal mushrooms on human welfare with a pyramid model for human health. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, **14**, 95-134. <http://dx.doi.org/10.1615/IntJMedMushr.v14.i2.10>
- [5] Bohn, J.A. and BeMiller, J.N. (1995) (1→3)-β-D-glucans as biological response modifiers: A review of structure-functional activity relationships. *Carbohydrate Polymers*, **28**, 3-14. [http://dx.doi.org/10.1016/0144-8617\(95\)00076-3](http://dx.doi.org/10.1016/0144-8617(95)00076-3)
- [6] Dore, C., Azevedo, T.C.G., de Souza, M.C.R., Rego, L.A., de Dantas, J.C.M., Silva, F.R.F., Rocha, H.A.O., Basela, I.G. and Leite, E.L. (2007) Antiinflammatory, antioxidant and cytotoxic actions of beta-glucan-rich extract from *Geastrum saecatatum* mushroom. *International Immunopharmacology*, **7**, 1160-1169. <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2007.04.010>
- [7] Yue, L., Cui, H., Li, C., Lin, Y., Sun, Y., Niu, Y., Wen, X. and Liu, J. (2012) A polysaccharide from *Agaricus blazei* attenuates tumor cell adhesion via inhibiting E-selectin expression. *Carbohydrate Polymers*, **88**, 1326-1333. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.02.015>
- [8] Lee, K.H., Cho, C.H. and Rhee, K.H. (2011) Synergic anti-tumor activity of gamma-irradiated exo-polysaccharide from submerged culture of *Grifola frondosa*. *Journal of Medical Plants Research*, **5**, 2378-2386.
- [9] Hu, Q., Wang, H. and Ng, T.B. (2012) Isolation and purification of polysaccharides with anti-tumor activity from *Pholiota adiposa* (Batsch) P. Kumm. (higher basidiomycetes). *International Journal of Medicinal Mushrooms*, **14**, 271-284. <http://dx.doi.org/10.1615/IntJMedMushr.v14.i3.40>
- [10] Wang, G.B., Dong, L.L., Zhang, Y.Y., Ji, Y.Y., Xiang, W.H. and Zhao, M. (2012) Polysaccharides from *Phellinus linteus* inhibit cell growth and invasion and induce apoptosis in HepG2 human hepatocellular carcinoma cells. *Biologia*, **67**, 247-254. <http://dx.doi.org/10.2478/s11756-011-0160-9>
- [11] Chihara, G., Hamuro, J., Maeda, Y.Y., Shiio, T., Suga, T., Takasuka, N. and Sasaki, T. (1987) Antitumor and metasta-

- sis-inhibitory activities of lentinan as an immunomodulator: An overview. *Cancer Detection and Prevention*, **1**, 423-443.
- [12] Higashi, D., Seki, K., Ishibashi, Y., Egawa, Y., Koga, M., Sasaki, T., Hirano, K., Mikami, K., Futami, K., Maekawa, T., Sudo, M. (2012) The effect of lentinan combination therapy for unresectable advanced gastric cancer. *Anticancer Research*, **32**, 2365-2368.
- [13] Ng, M.L. and Yap, A.T. (2002) Inhibition of human colon carcinoma development by lentinan from shiitake mushrooms (*Lentinus edodes*). *The Journal of Alternative Complementary Medicine*, **8**, 581-589. <http://dx.doi.org/10.1089/107555302320825093>
- [14] Ma, J.W., Qiao, Z.Y. and Xiang, X. (2011) Optimisation of extraction procedure for black fungus polysaccharides and effect of the polysaccharides on blood lipid and myocardium antioxidant enzymes activities. *Carbohydrate Polymers*, **84**, 1061-1068. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.12.068>
- [15] Shimizu, C., Kihara, M., Aoe, S., Araki, S., Ito, K., Hayashi, K., Watari, J., Sakata, Y. and Ikegami, S. (2008) Effect of high beta-glucan barley on serum cholesterol concentrations and visceral fat area in japanese men—A randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *Plant Foods for Human Nutrition*, **63**, 21-25. <http://dx.doi.org/10.1007/s11130-007-0064-6>
- [16] Naumann, E., van Rees, A.B., Onning, G., Oste, R., Wydra, M. and Mensink, R.P. (2006) Beta-glucan incorporated into a fruit drink effectively lowers serum LDL-cholesterol concentrations. *The American Journal of Clinical Nutrition*, **83**, 601-605.
- [17] Drozdowski, L.A., Reimer, R.A., Temelli, F., Bell, R.C., Vasanthan, T. and Thomson, A.B.R. (2010)  $\beta$ -glucan extracts inhibit the *in vitro* intestinal uptake of long-chain fatty acids and cholesterol and down-regulate genes involved in lipogenesis and lipid transport in rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **21**, 695-701. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2009.04.003>
- [18] Gordon, M., Guralnik, M., Kaneko, Y., Mimura, T., Goodgame, J., DeMarzo, C., Pierce, D., Baker, M. and Lang, W. (1995) A phase II controlled study of a combination of the immune modulator, lentinan, with didanosine (ddi) in HIV patients with CD4 cells of 200 - 500/mm<sup>3</sup>. *Journal of Medicine*, **26**, 193-207.
- [19] Drandarska, I., Kussovski, V., Nikolaeva, S. and Markova, N. (2005) Combined immunomodulating effects of BCG and lentinan after intranasal application in guinea pigs. *International Immunopharmacology*, **5**, 795-803. <http://dx.doi.org/10.1016/j.intimp.2004.12.008>
- [20] 周萍, 安东, 王朝川, 刘雪梅, 李新胜 (2011) 食用菌复合多糖的抗氧化活性研究. *中国食用菌*, **30**, 42-44.
- [21] Barone Lumaga, R., Azzali, D., Fogliano, V., Scalfi, L. and Vitaglione, P. (2012) Sugar and dietary fibre composition influence, by different hormonal response, the satiating capacity of a fruit-based and a  $\beta$ -glucan-enriched beverage. *Food & Function*, **3**, 67-75. <http://dx.doi.org/10.1039/C1FO10065C>
- [22] Ye, M., Chen, W.X., Qiu, T., Yuan, R.Y., Ye, Y.-W. and Cai, J.M. (2012) Structural characterisation and anti-ageing activity of extracellular polysaccharide from a strain of *Lachnum* sp. *Food Chemistry*, **132**, 338-343. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.087>
- [23] Velebny, S., Hreckova, G. and Kogan, G. (2008) Impact of treatment with praziquantel, silymarin and/or  $\beta$ -glucan on pathophysiological markers of liver damage and fibrosis in mice infected with *Mesocostoides vogae* (Cestoda) tetrathyridia. *Journal of Helminthology*, **82**, 211-219. <http://dx.doi.org/10.1017/S0022149X08960776>
- [24] Da Silva, M.D.C., Fukuda, E.K., Vasconcelos, A.F.D., Dekker, R.F.H., Matias, A.C., Monteiro, N.K., Cardoso, M.S., Barbosa, A.M., Silveira, J.L.M. and Sasaki, G.L. (2008) Structural characterization of the cell wall D-glucans isolated from the mycelium of *Botryosphaeria rhodina* MAMB-05. *Carbohydrate Research*, **343**, 793-798. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carres.2007.12.021>
- [25] Muller, A., Ensley, H., Pretus, H., McNamee, R., Jones, E., McLaughlin, E., Chandley, W., Browder, W., Lowman, D. and Williams, D. (1997) The application of various protic acids in the extraction of (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-glucan from *Saccharomyces cerevisiae*. *Carbohydrate Research*, **299**, 203-208. [http://dx.doi.org/10.1016/S0008-6215\(97\)00004-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0008-6215(97)00004-9)
- [26] Lo, T.C.T., Tsao, H.H., Wang, A.Y. and Chang, C.A. (2007) Pressurized water extraction of polysaccharides as secondary metabolites from *Lentinula edodes*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 4196-4201. <http://dx.doi.org/10.1021/jf070035j>
- [27] Santoyo, S., Plaza, M., Jaime, L., Ibanez, E., Reglero, G. and Senorans, F.J. (2010) Pressurized liquid extraction as an alternative process to obtain antiviral agents from the edible microalga *Chlorella vulgaris*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **58**, 8522-8527. <http://dx.doi.org/10.1021/jf100369h>
- [28] Fu, Y.J., Liu, W., Zu, Y.G., Shi, X.G., Liu, Z.G., Schwarz, G. and Efferth, T. (2009) Breaking the spores of the fungus *Ganoderma lucidum* by supercritical CO<sub>2</sub>. *Food Chemistry*, **112**, 71-76. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.05.044>
- [29] Tian, Y.T., Zeng, H.L., Xu, Z.B., Zheng, B.D., Lin, Y.X., Gan, C.J. and Lo, Y.M. (2012) Ultrasonic-assisted extraction



- and antioxidant activity of polysaccharides recovered from white button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Carbohydrate Polymers*, **88**, 522-529. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.12.042>
- [30] Zhang, Z., Lv, G., Pan, H., Shi, L. and Fan, L. (2011) Optimization of the microwave-assisted extraction process for polysaccharides in himematsutake (*Agaricus blazei* Murrill) and evaluation of their antioxidant activities. *Food Science and Technology Research*, **17**, 461-470.
- [31] Song, J.F., Li, D.J. and Liu, C.Q. (2009) Response surface analysis of microwave-assisted extraction of polysaccharides from cultured *Cordyceps militaris*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, **84**, 1669-1673. <http://dx.doi.org/10.1002/jctb.2227>
- [32] Dong, J.Z., Wang, Z.C. and Wang, Y. (2011) Rapid extraction of polysaccharides from fruits of *Lycium barbarum* L. *Journal of Food Biochemistry*, **35**, 1047-1057. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-4514.2010.00433.x>
- [33] Huang, S.Q. and Ning, Z.X. (2010) Extraction of polysaccharide from *Ganoderma lucidum* and its immune enhancement activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, **47**, 336-341. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2010.03.019>
- [34] Palacios, I., Lozano, M., Moro, C., D'Arrigo, M., Rostagno, M.A., Martínez, J.A., García-Lafuente, A., Guillamón, E. and Villares, A. (2011) Antioxidant properties of phenolic compounds occurring in edible mushrooms. *Food Chemistry*, **128**, 674-678. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.085>
- [35] Park, H.G., Shim, Y.Y., Choi, S.O. and Park, W.M. (2009) New method development for nanoparticle extraction of water-soluble  $\beta$ -(1 $\rightarrow$ 3)-D-glucan from edible mushrooms, *Sparassis crispa* and *Phellinus linteus*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **57**, 2147-2154. <http://dx.doi.org/10.1021/jf802940x>
- [36] Ragaei, S.M., Wood, P.J., Wang, Q., Tosh, S.M., Brummer, Y. and Huang, X. (2008) Isolation, fractionation, and structural characteristics of alkali-extractable beta-glucan from rye whole meal. *Cereal Chemistry*, **85**, 289-294. <http://dx.doi.org/10.1094/CCHEM-85-3-0289>
- [37] Li, W., Cui, S.W. and Kakuda, Y. (2006) Extraction, fractionation, structural and physical characterization of wheat  $\beta$ -D-glucans. *Carbohydrate Polymers*, **63**, 408-416. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.09.025>
- [38] Bao, X.F., Fang, J.N. and Li, X.Y. (2001) Structural characterization and immunomodulating activity of a complex glucan from spores of *Ganoderma lucidum*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, **65**, 2384-2391. <http://dx.doi.org/10.1271/bbb.65.2384>
- [39] Ye, L.B., Zhang, J.S., Yang, Y., Zhou, S.A., Liu, Y.F., Tang, Q.L., Du, X.J., Chen, H. and Pan, Y.J. (2009) Structural characterisation of a heteropolysaccharide by NMR spectra. *Food Chemistry*, **112**, 962-966. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.017>
- [40] Masuko, T., Minami, A., Iwasaki, N., Majima, T., Nishimura, S. and Lee, Y.C. (2005) Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format. *Analytical Biochemistry*, **339**, 69-72. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ab.2004.12.001>
- [41] Miller, G.L. (1959) Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, **31**, 426-428. <http://dx.doi.org/10.1021/ac60147a030>
- [42] Singleton, V.L. and Rossi Jr., J.A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, **16**, 144-158.
- [43] Bradford, M.M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **72**, 248-254. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- [44] Johansson, L., Virkki, L., Anttila, H., Esselstrom, H., Tuomainen, P. and Sontag-Strohm, T. (2006) Hydrolysis of beta-glucan. *Food Chemistry*, **97**, 71-79. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.03.031>
- [45] Blakeney, A.B., Harris, P.J., Henry, R.J. and Stone, B.A. (1983) A simple and rapid preparation of alditol acetates for monosaccharide analysis. *Carbohydrate Research*, **113**, 291-299. [http://dx.doi.org/10.1016/0008-6215\(83\)88244-5](http://dx.doi.org/10.1016/0008-6215(83)88244-5)
- [46] Ciucanu, I. (2006) Per-O-methylation reaction for structural analysis of carbohydrates by mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, **576**, 147-155. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2006.06.009>
- [47] Wang, L., Zhang, H.B., Zhang, X.Y. and Chen, Z.X. (2008) Purification and identification of a novel heteropolysaccharide RBPS2a with anti-complementary activity from defatted rice bran. *Food Chemistry*, **110**, 150-155. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.01.041>
- [48] Calonje, M., García Mendoza, C., Perez Cabo, A. and Novaes-Ledieu, M. (1996) New contributions to the wall polysaccharide structure of the vegetative mycelium and fruit body cell walls of *Agaricus bisporus*. *Microbiología*, **12**, 599-606.
- [49] Lee, J.S., Kwon, J.S., Won, D.P., Lee, K.E., Shin, W.C. and Hong, E.K. (2010) Study on macrophage activation and structural characteristics of purified polysaccharide from the liquid culture broth of *Cordyceps militaris*. *Carbohydrate Polymers*, **82**, 982-988. <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.06.025>

- [50] Yoshioka, Y., Uehara, N. and Saito, H. (1992) Conformation-dependent change in antitumor-activity of linear and branched (1→3)-beta-D-glucans on the basis of conformational elucidation by C-13 Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, **40**, 1221-1226. <http://dx.doi.org/10.1248/cpb.40.1221>
- [51] Kulicke, W.M., Lettau, A.I. and Thielking, H. (1997) Correlation between immunological activity, molar mass, and molecular structure of different (1→3)-beta-D-glucans. *Carbohydrate Research*, **297**, 135-143. [http://dx.doi.org/10.1016/S0008-6215\(96\)00273-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0008-6215(96)00273-X)
- [52] Jelsma, J. and Kreger, D.R. (1975) Ultrastructural observations on (1→3)-beta-D-glucan from fungal cell-walls. *Carbohydrate Research*, **43**, 200-203. [http://dx.doi.org/10.1016/S0008-6215\(00\)83988-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0008-6215(00)83988-9)
- [53] 叶立斌, 张劲松, 潘迎捷 (2007) 食用菌多糖结构解析中的核磁共振技术. *食用菌学报*, **24**, 68-75.