

引用本文格式 聂健, 杨水莲, 陈嘉博, 等. 灵芝子实体多糖提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 农业工程, 2024, 14(7): 104-110. DOI: 10.19998/j.cnki.2095-1795.2024.07.017. NIE Jian, YANG Shuilian, CHEN Jiabo, et al. Extraction process optimization of *Ganoderma lucidum* fruiting bodies polysaccharide and its antioxidant activity[J]. Agricultural Engineering, 2024, 14(7): 104-110.

灵芝子实体多糖提取工艺优化及其抗氧化活性研究

聂健, 杨水莲, 陈嘉博, 孙炳清, 叶福音, 黄诗婷, 蔡嘉奖, 陈煜垠

(广东岭南职业技术学院, 广东 广州 510663)

摘要: 为确定灵芝子实体多糖最佳提取工艺, 通过单因素试验研究料液比、提取时间、浸提温度和溶剂提取次数对灵芝子实体多糖提取率的影响。在单因素试验的基础上, 采用响应面法对灵芝子实体多糖提取工艺进行了优化, 结果表明, 灵芝子实体多糖最佳提取条件为料液比(水:灵芝) 50 mL/g、提取时间 60 min 和提取温度 100 °C, 在此条件下, 灵芝子实体多糖提取率 2.96%。体外抗氧化测定结果显示, 灵芝子实体多糖对 DPPH、·OH 自由基的 IC_{50} 分别为 0.67 和 0.46 mg/mL, 数据表明灵芝子实体多糖具有较强的抗氧化能力。

关键词: 灵芝; 多糖; 响应面法; 工艺优化; 抗氧化活性

中图分类号: S567.3 文献标识码: A 文章编号: 2095-1795(2024)07-0104-07

DOI: 10.19998/j.cnki.2095-1795.2024.07.017

Extraction process optimization of *Ganoderma lucidum* fruiting bodies polysaccharide and its antioxidant activity

NIE Jian, YANG Shuilian, CHEN Jiabo, SUN Bingqing, YE Fuyin, HUANG Shiting, CAI Jiajiang, CHEN Yuyin

(Guangdong Lingnan Institute of Technology, Guangzhou Guangdong 510663, China)

Abstract: To determine optimal extraction process for polysaccharides from *Ganoderma lucidum* fruiting bodies, effects of solid-liquid ratio, extraction time, extraction temperature, and solvent extraction frequency on extraction rate of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* fruiting bodies were studied through single factor experiments. On the basis of single factor experiments, response surface methodology was used to optimize extraction process of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* fruiting bodies. Experimental results showed that the optimal extraction conditions for polysaccharides from *Ganoderma lucidum* fruiting bodies were material liquid ratio (water: *Ganoderma lucidum*) 50 mL/g, extraction time 60 minutes, and extraction temperature 100 °C. Under these conditions, extraction rate of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* fruiting bodies was 2.96%. Results of in vitro antioxidant assays showed that the IC_{50} of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* fruiting bodies to DPPH and OH free radicals were 0.67 and 0.46 mg/mL, respectively. The data showed that polysaccharides from *Ganoderma lucidum* fruiting bodies have extremely strong antioxidant capacity.

Keywords: *Ganoderma lucidum*, polysaccharide, response surface methodology, process optimization, antioxidant activity

0 引言

灵芝 (*Ganoderma lucidum*) 是著名的高等药用真菌之一, 古称“瑞草”, 俗称“仙草”, 我国首部中草药文集《神农本草经》将灵芝列为上品^[1]。近 30 年来研究人员对灵芝进行了大量的研究, 结果证明, 灵芝具有多种药理作用, 如增强免疫力、抑制肿瘤、改善睡眠、神经保护、抗氧化、防治心血管疾病、抗炎症及保护肝脏等功效^[2-12]。灵芝子实体多糖是灵芝的主

要活性成分, 也是研究最深入的一类化合物。灵芝子实体多糖的种类很多, 从赤芝中分离灵芝子实体多糖 GL-1 以来, 已经分离出的灵芝子实体多糖达 220 多种^[13]。已知灵芝子实体多糖的药理活性有调节免疫力、抑制肿瘤、抑制细菌生长、保护肝脏作用、降低血糖、神经保护和抗氧化等^[14-19]。由于灵芝子实体多糖的提取和纯化工艺较为复杂, 因此研究最优的提取工艺对于高效、高产地区提取灵芝子实体多糖具有至关重要的意义。同时, 这也将为灵芝子实体多糖的深入研究和

收稿日期: 2023-08-04 修回日期: 2024-03-26

基金项目: 广东省科技创新战略专项资金项目 (pdjh2022a1099)

作者简介: 聂健, 硕士, 讲师, 主要从事食品营养与检测研究 E-mail: 514224096@qq.com

杨水莲, 通信作者, 硕士, 讲师, 主要从事食品营养与检测研究 E-mail: 1061565326@qq.com

在线投稿
www.d1ae.com

有效利用提供科学的借鉴。

1 材料与amp;方法

1.1 材料、试剂与amp;仪器

灵芝子实体，浙江寿仙谷医药股份有限公司；无水乙醇、苯酚、浓硫酸等，均为国产分析纯；葡萄糖标准品，广州化学试剂厂。

METTLER AE 100 型电子分析天平，梅特勒托利多公司；DFT-100 型手提式高速中药粉碎机，大德药机有限公司；新一佳 HH-2 型恒温水浴锅，青岛聚创环保集团有限公司；H-1 微型涡旋混合器，上海嘉鹏科技有限公司；UV-7500 型紫外可见分光光度计，上海天美科学仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 灵芝子实体多糖含量测定

1.2.1.1 供试样品溶液制备

准确称取 500 mg (精确至 ± 0.001 g) 样品，加 40 倍水，在 100 °C 下浸提 3 次，每次浸提 1.0 h，合并 3 次提取液。提取液转移至 100 mL 容量瓶中，加水至刻度，摇匀；精密量取 2 mL，加入乙醇 30 mL，摇匀；4 °C 放置 12 h，取出，离心 (4000 r/min 5 min)。倒去上清液，加水溶解沉淀，沉淀溶解后转移至 10 mL 容量瓶中，定容摇匀，即得灵芝子实体多糖待测液。

1.2.1.2 标准曲线制定

100 mg/L 标准葡萄糖溶液制备：准确称取 0.100 0 g 葡萄糖标准品于 100 mL 烧杯中，加水溶解，定容至 1 000 mL 容量瓶，储存于 4 °C 冰箱中备用。

分别精密吸取 0、0.2、0.4、0.6、0.8 和 1.0 mL 的葡萄糖标准溶液于 20 mL 具塞玻璃试管中，用蒸馏水补至 1.0 mL。向试管中加入 1.0 mL 5% 苯酚溶液和 5.0 mL 硫酸，静置 10 min，充分混合，将试管放置于 30 °C 水浴中，并保持 20 min，于 490 nm 测吸光度，以蒸馏水作为空白对照，以葡聚糖或葡萄糖质量 (x) 为横坐标，以吸光度 (y) 为纵坐标，绘制标准曲线。

1.2.1.3 硫酸苯酚法测定灵芝子实体多糖含量

精密吸取 1 mL 待测液于 20 mL 具塞玻璃试管中，按 1.2.1.2 的方法测定其吸光值，代入标准曲线回归方程求出待测液中葡萄糖含量 C (mg)，总多糖含量 E 计算公式如下

$$E = \frac{CD}{M} \times 100\% \quad (1)$$

式中 M ——样品质量，mg

D ——稀释倍数

1.2.2 热水浸提法单因素试验设计

1.2.2.1 浸提料液比对灵芝子实体多糖提取率的影响

精密称取 500 mg 灵芝子实体粉末，分别按料液比

(水：灵芝) 10、20、30、40 和 50 mL/g 加入水进行单因素试验，在 80 °C 条件下热水浸提 3 次，3 次提取时间均为 1.0 h，过滤、合并 3 次滤液，将滤液定容到适宜容量瓶中，测定吸光度，计算提取率，每个试验 3 个重复。

1.2.2.2 浸提时间对灵芝子实体多糖提取率的影响

精密称取 500 mg 灵芝子实体粉末，按料液比 (水：灵芝) 40 mL/g 加水，在 80 °C 条件下热水浸提 3 次，分别提取 20、30、40、50 和 60 min，过滤、合并 3 次滤液，将滤液定容到适宜容量瓶中，测定吸光度，计算提取率，每个试验 3 个重复。

1.2.2.3 浸提温度对灵芝子实体多糖提取率的影响

精密称取 500 mg 灵芝子实体粉末，按料液比 (水：灵芝) 40 mL/g，分别在 60、70、80、90 和 100 °C 条件下进行单因素试验，热水浸提 3 次，每次 1.0 h，过滤、合并 3 次滤液，将滤液定容到适宜容量瓶中，测定吸光度，计算提取率，每个试验 3 个重复。

1.2.2.4 溶剂提取次数对灵芝子实体多糖提取率的影响

精密称取 500 mg 灵芝子实体粉末，按料液比 (水：灵芝) 40 mL/g，在 80 °C 条件下分别浸提 1、2、3 和 4 次条件下进行单因素试验，每次提取时间为 1.0 h，过滤、合并 3 次滤液，将滤液定容到适宜容量瓶中，测定吸光度，计算提取率，每个试验 3 个重复。

1.2.3 响应面法优化灵芝子实体多糖提取工艺

根据单因素试验结果和响应面试验设计原理，对料液比 (X_1)、提取温度 (X_2)、提取时间 (X_3) 进行 3 因素 3 水平编码，因素水平及编码如表 1 所示。采用响应面优化法对灵芝子实体多糖提取条件进行优化试验。最后以灵芝子实体多糖提取率为响应值，利用软件 Design-expert V 12 对所有数据进行分析，确定最佳提取工艺。

表 1 响应面法因素水平编码

Tab. 1 Factor level coding of response surface methodology

水平	因素		
	料液比 X_1 / (mL · g ⁻¹)	温度 X_2 / °C	时间 X_3 / min
-1	30	80	40
0	40	90	50
+1	50	100	60

1.2.4 灵芝子实体多糖抗氧化活性试验

1.2.4.1 总还原力

参考 ZOU C 等^[20] 的测定方法并做部分修改，取 2 mL 待测样品加入 2 mL pH 值 6.6 的磷酸缓冲溶液 ($c=0.20$ mol/L) 然后加入 1% 铁氰化钾 2 mL 充分混匀，再在 50 °C 的恒温情况下加热 20 min。之后将混合物快

速冷却至室温并加入 10% 三氯乙酸 2 mL, 进行充分混匀。然后在 4 °C 下以 3 000 r/min 的速度离心 10 min, 并取 2 mL 上层清液加入 2 mL 蒸馏水。接着加入 0.1% FeCl₃ 0.4 mL, 混合均匀并静置 10 min。最后在 700 nm 波长下测定吸光度 A_{700} , 每个处理进行 3 个重复试验。使用蒸馏水进行调零, 维生素 C 作为阳性对照。

1.2.4.2 对 DPPH 自由基清除作用

参考 BRAND-WILLIAMS W 等^[21] 的测定方法并做部分修改, 配制浓度为 0.2 mmol/L 的 DPPH 溶液于棕色瓶中, 4 °C 保存。然后在 10 mL 的试管中加入 2 mL 样品待测液后加入 2 mL DPPH 溶液均匀混合。置于暗处反应 30 min 后在 517 nm 处测定其吸光度 (A_i), 同时测定空白吸光度 (A_c) 及 DPPH 溶液本底吸光度 (A_j)。

DPPH 自由基清除率计算公式为

$$\text{清除率} = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_c}\right) \times 100\% \quad (2)$$

式中 A_c ——空白吸光度

A_i ——样品吸光度

A_j ——95% 乙醇代替 DPPH 时吸光度

1.2.4.3 对羟基自由基 ($\cdot\text{OH}$) 的清除作用

参考 SMIRNOFF N 等^[22] 的测定方法并做部分修改, 取 1 mL 样品溶液, 依次加入 6 mmol/L 的 FeSO₄ 溶液 1 mL, 混合均匀后再加入 6 mmol/L 的 H₂O₂ 溶液 1 mL, 再次混匀, 静置 10 min, 再加入 6 mmol/L 的水杨酸溶液 1 mL, 摇匀, 静置 30 min 后, 于 510 nm 处测其吸光值。清除率计算公式为

$$\text{清除率} = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\% \quad (3)$$

式中 A_0 ——空白吸光度

A_1 ——样品吸光度

A_2 ——水代替水杨酸时本底吸光度

2 结果与分析

2.1 标准曲线

葡萄糖标准曲线如图 1 所示, 葡萄糖含量在 0~100 μg 范围内线性关系良好, 结果较准确。

2.2 单因素试验结果

2.2.1 最佳料液比确定

分别采用不同的料液比, 考察灵芝子实体多糖提取率, 研究料液比对灵芝子实体多糖提取率的影响, 结果如图 2 所示。

由图 2 可知, 料液比 10~50 mL/g, 当其他条件相同时, 随着料液比的增大, 灵芝子实体多糖提取率也增大。当料液比 < 20 mL/g 时, 由于溶剂水无法完全浸

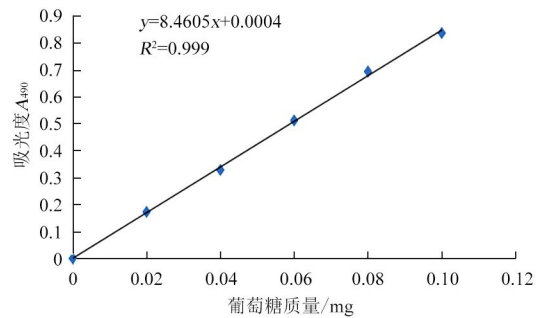


图 1 葡萄糖标准曲线

Fig. 1 Standard curve of glucose

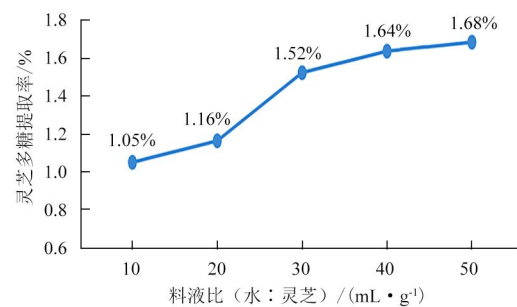


图 2 料液比对多糖提取率的影响

Fig. 2 Effects of solid-liquid ratio on polysaccharide extraction rate

没灵芝样品, 导致多糖提取率低; 当料液比 > 20 mL/g 时, 灵芝子实体多糖提取率呈现先显著升高然后趋于平衡趋势。当料液比 > 40 mL/g 时, 多糖提取率增加不明显, 考虑到能耗, 确定最佳料液比 40 mL/g。

2.2.2 浸提最佳时间确定

分别采用不同的浸提时间, 考察灵芝子实体多糖提取率, 研究浸提时间对灵芝子实体多糖提取率的影响, 结果如图 3 所示。

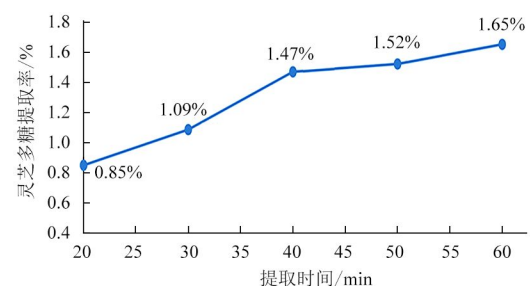


图 3 浸提时间对多糖提取率的影响

Fig. 3 Effects of extraction time on polysaccharide extraction rate

由图 3 可知, 提取时间 20~60 min, 当其他条件一定时, 随着时间的延长多糖提取率也呈上升趋势, 在提取时间 60 min 时, 提取率最大。因此确定浸提最佳时间 60 min。

2.2.3 浸提最佳温度确定

分别采用不同的浸提温度, 考察灵芝子实体多糖提取率, 研究浸提温度对灵芝子实体多糖提取率的影响, 结果如图 4 所示。

由图 4 可知, 提取温度 60~100 °C, 其他条件不

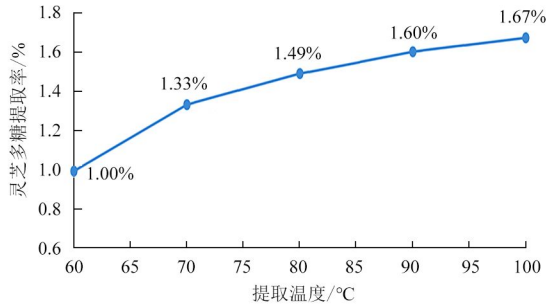


图 4 浸提温度对多糖提取率的影响

Fig. 4 Effects of extraction temperature on polysaccharide extraction rate

变时，随着灵芝子实体提取温度的升高，灵芝子实体多糖提取率也升高，其中多糖提取率在 100 °C 条件下比 90 °C 有较大升高，因此确定最佳浸提温度 100 °C。

2.2.4 浸提最佳提取次数确定

分别浸提不同的次数，考察灵芝子实体多糖提取率，研究浸提次数对灵芝子实体多糖提取率的影响，结果如图 5 所示。

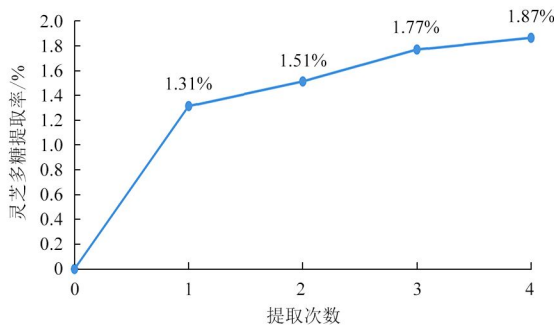


图 5 浸提次数对多糖提取率的影响

Fig. 5 Effects of extraction times on polysaccharide extraction rate

由图 5 可知，随着提取次数的增多，灵芝子实体多糖含量提取率呈上升的趋势，其中到达 3 次时，提取已经非常的充分。当提取超过 3 次以后，多糖提取率变化不大，考虑到能耗，取浸提最佳提取次数 3 次。

2.3 响应面法试验设计结果

按照响应面试验方案进行试验，灵芝子实体多糖提取结果如表 2 所示。

2.3.1 模型建立与显著性分析

根据试验数据，用 Design-expert V 12 软件对自变量编码的 X_1 、 X_2 、 X_3 进行回归分析并建立模型，得到回归方程

$$Y = 2.02 + 0.2938X_1 + 0.2925X_2 + 0.1288X_3 + 0.2325X_1X_2 - 0.0300X_1X_3 + 0.1425X_2X_3 + 0.0890X_1^2 - 0.1585X_2^2 + 0.2040X_3^2 \quad (4)$$

通过 Design-Expert V12 软件进行方差分析，分析结果如表 3 所示。

表 2 响应面法试验结果

Tab. 2 Experimental results of response surface methodology

序号	料液比 X_1 / (mL · g ⁻¹)	温度 X_2 / °C	时间 X_3 / min	多糖提取率 Y / %
1	40	90	50	2.08
2	40	100	60	2.62
3	40	80	60	1.80
4	50	80	50	1.72
5	40	100	40	2.05
6	40	80	40	1.80
7	30	90	60	2.19
8	30	90	40	1.90
9	50	90	40	2.50
10	40	90	50	1.98
11	40	90	50	2.04
12	40	90	50	1.96
13	30	80	50	1.55
14	50	90	60	2.67
15	50	100	50	2.82
16	30	100	50	1.72
17	40	90	50	2.05

表 3 回归方程方差分析

Tab. 3 Variance analysis of regression equation

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
模型	2.110 0	9	0.234 6	77.81	< 0.000 1
X_1	0.690 3	1	0.690 3	228.96	< 0.000 1
X_2	0.684 5	1	0.684 5	227.01	< 0.000 1
X_3	0.132 6	1	0.132 6	43.98	0.000 3
X_1X_2	0.216 2	1	0.216 2	71.72	< 0.000 1
X_1X_3	0.003 6	1	0.003 6	1.19	0.310 7
X_2X_3	0.081 2	1	0.081 2	26.94	0.001 3
X_1^2	0.033 4	1	0.033 4	11.06	0.012 7
X_2^2	0.105 8	1	0.105 8	35.08	0.000 6
X_3^2	0.175 2	1	0.175 2	58.12	0.000 1
残差	0.021 1	7	0.003 0		
失拟项	0.011 0	3	0.003 7	1.46	0.351 9
净误差	0.010 1	4	0.002 5		
总离差	2.13	16			
模型 $R^2=0.990 1$					

注：P<0.01，说明自变量对响应值的影响极显著；P<0.05，说明自变量对响应值的影响显著。

由表 3 可知，模型 P<0.01，说明该模型的回归方程是极显著的。失拟项为 0.011 0<0.05，模型 R^2 为 0.99>0.90，说明模型的拟合程度较好，试验误差较小，可用该回归方程代替试验真实点对试验结果进行分析和预测。3 个因素对多糖提取率的影响从大到小依次为液料比、提取温度和提取时间。此外， X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_1X_2 、 X_2X_3 、 X_2^2 、 X_3^2 的 P 值均 <0.01，说明它们对灵芝子实体多糖提取率的影响极显著； X_1^2 的 0.01<P<0.05，表明它们对多糖提取率的影响显著。

2.3.2 因素间交互作用的响应面分析

液料比 X_1 、温度 X_2 、提取时间 X_3 的交互效应分析结果如图 6、图 7 和图 8 所示。

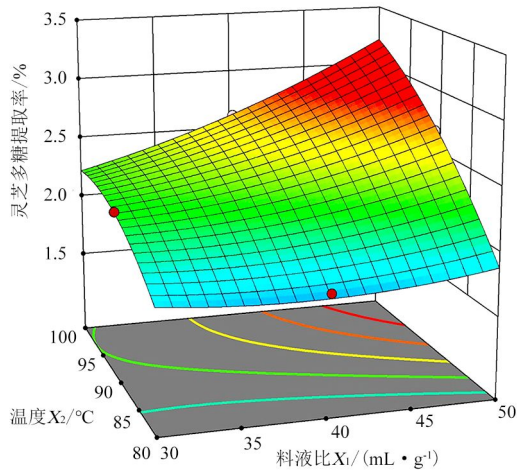


图6 液料比和提取温度交互作用对多糖提取率的影响
Fig. 6 Effects of liquid-solid ratio and extraction temperature interaction on polysaccharide extraction yield

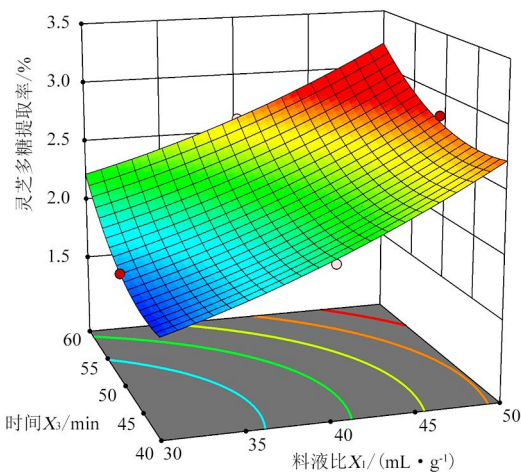


图7 液料比和提取时间交互作用对多糖提取率的影响
Fig. 7 Effects of liquid-solid ratio and extraction time interaction on polysaccharide extraction yield

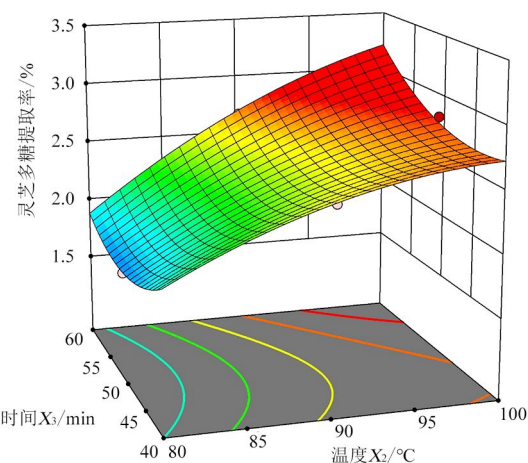


图8 提取温度和提取时间交互作用对多糖提取率的影响
Fig. 8 Effects of extraction temperature and extraction time interaction on polysaccharide extraction yield

由图6、图7和图8可知, X_1X_2 、 X_1X_3 和 X_2X_3 对多糖提取率交互效应的交互所成图像均是抛物线,说明提取液料比、提取温度和提取时间对灵芝子实体多

糖提取率的影响均比较大,在具体试验操作中,适当增加液料比、提取温度和提取时间,多糖提取率都会随之增加。

2.3.3 优化工艺验证试验结果

利用 Design-Expert 的 Numerical 对数据进行分析可知,最适提取液料比 50 mL/g、提取时间 60 min、提取温度 100 °C,在此条件下多糖提取率 3.22%。在此理论最佳条件下进行试验,灵芝子实体多糖提取率 2.96%,与模型预测值仅相差 0.26 个百分点,表明此方法可行。

2.4 灵芝粗多糖抗氧化活性测定

2.4.1 总还原力

由图9可知,样品质量浓度 0.04~0.20 mg/mL 时,灵芝子实体多糖和维生素 C 总还原能力随着浓度增加呈现上升趋势,在此质量浓度范围内灵芝子实体多糖总还原能力相对于维生素 C 总还原能力低,在 0.04 mg/mL 浓度时为 0.46, 0.2 mg/mL 时为 0.82。

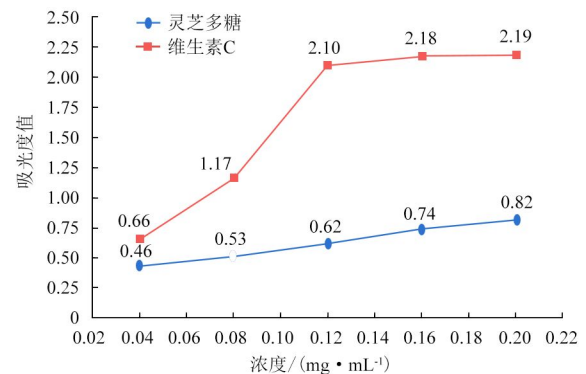


图9 灵芝子实体多糖总还原力
Fig. 9 Total reducing power of *Ganoderma lucidum* fruiting bodies polysaccharide

2.4.2 对 DPPH 自由基清除作用

由图10可知,浓度 0~1 mg/mL 时, DPPH 自由基清除率随着灵芝子实体多糖含量的升高而呈上升趋势,维生素 C 对 DPPH 自由基清除率能力显著高于灵芝子实体多糖,在浓度 0.2 mg/mL 时维生素 C 对 DPPH 自

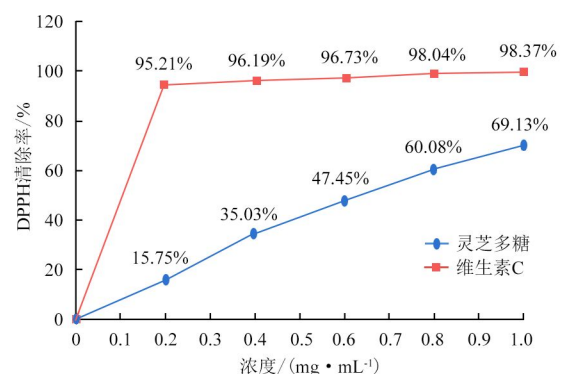


图10 灵芝子实体多糖 DPPH 自由基清除率
Fig. 10 DPPH free radical scavenging rate of *Ganoderma lucidum* fruiting bodies polysaccharide

由基清除率高达 95.21%，而同浓度下灵芝子实体多糖对 DPPH 自由基清除率 15.75%。当质量浓度 1 mg/mL 时，灵芝子实体多糖对 DPPH 自由基清除率 69.13%，维生素 C 对 DPPH 自由基清除率高达 98.37%。经计算灵芝子实体多糖对 DPPH 自由基清除率 50% 时， $IC_{50}=0.67$ mg/mL，显示灵芝子实体多糖对 DPPH 自由基具有一定清除作用。

2.4.3 对羟基自由基 (·OH) 清除作用

由图 11 可知，浓度 0~0.24 mg/mL 时，羟基自由基 (·OH) 清除率随着灵芝子实体多糖含量的升高也呈上升趋势；浓度 0.04 mg/mL 时，灵芝子实体多糖对羟基自由基 (·OH) 清除率 24.9%，维生素 C 对羟基自由基 (·OH) 清除率 46.2%；浓度 0.2 mg/mL 时，灵芝子实体多糖对羟基自由基清除率 33.8%，维生素 C 对羟基自由基 (·OH) 清除率 54.5%。经计算灵芝子实体多糖对羟基自由基 (·OH) 清除率 50% 时， $IC_{50}=0.46$ mg/mL，显示灵芝子实体多糖对羟基自由基 (·OH) 比对 DPPH 自由基具有更好清除作用。

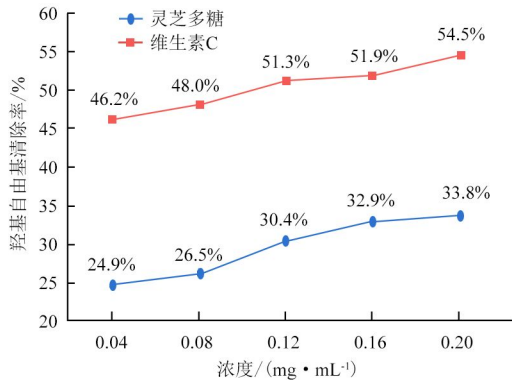


图 11 灵芝子实体多糖羟基自由基清除率

Fig. 11 Scavenging rate of hydroxyl radical of *Ganoderma lucidum* fruiting bodies polysaccharide

3 结束语

数据分析结果表明，最适提取料液比（水：灵芝）50 mL/g、提取时间 60 min、提取温度 100 °C，在此条件下多糖提取率 2.96%。本研究采用响应面法对灵芝子实体提取工艺进行优化，工艺优化结果具有提取率高、稳定可行、设备简单和成本相对可控等优点。灵芝子实体多糖对 DPPH 自由基、羟基自由基 (·OH) 的 IC_{50} 分别为 0.67 和 0.46 mg/mL，表明灵芝粗多糖具有较强抗氧化能力，为灵芝子实体多糖在功能性食品及多元化开发利用中打下坚实基础。

参考文献

[1] 戴玉成, 曹云, 周丽伟, 等. 中国灵芝学名之管见[J]. 菌物学报, 2013, 32(6): 947-952.

DAI Yucheng, CAO Yun, ZHOU Liwei, et al. Notes on the nomenclature of the most widely cultivated *Ganoderma* species in China [J]. *Mycosystema*, 2013, 32(6): 947-952.

[2] DE MENDONÇA D E A, DE GODOY M A F, LUCREDI N C, et al. Toxicogenic effects of the mushroom *Ganoderma lucidum* on human liver and kidney tumor cells and peripheral blood lymphocytes [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2023, 307: 116226.

[3] 刘春芳, 林永禄, 陈亮, 等. 灵芝多糖 γ -氨基丁酸片剂研究及其改善睡眠功能验证[J]. 食品与发酵工业, 2023, 49(16): 119-124, 138.

LIU Chunfang, LIN Yonglu, CHEN Liang, et al. Preparation of tablet composed of *Canoderma lucidum* polysaccharide and γ -aminobutyric acid and its assessment of sleep improvement function[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2023, 49(16): 119-124, 138.

[4] 黄茜, 任志丽. 灵芝提取物对帕金森病模型细胞凋亡的保护作用[J]. 中成药, 2022, 44(6): 1973-1976.

[5] SKNEPNEK A, PANTIĆ M, MATIJAŠEVIĆ D, et al. Novel kombucha beverage from lingzhi or reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum*, with antibacterial and antioxidant effects[J]. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 2018, 20(3): 243-258.

[6] 伍强. 灵芝菌丝 ACE 抑制肽的鉴定、抑制机理及其降血压分子机制研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2020.

WU Qiang. Identification, inhibition mechanism and anti-hypertension molecular mechanism of the angiotensin-i converting enzyme inhibitory peptide derived from *Ganoderma lingzhi* mycelia[D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology, 2020.

[7] 朱柏雨, 朱永清, 陈航, 等. 康定灵芝功效成分分析及体外抗氧化、降血糖活性评价[J]. 食品工业科技, 2023, 44(13): 292-298.

ZHU Boyu, ZHU Yongqing, CHEN Hang, et al. Analysis of functional components of Kangding *Ganoderma leucocontextum* and its antioxidant and hypoglycemic activity in *Vitro*[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(13): 292-298.

[8] TONG A, WU W, CHEN Z, et al. Modulation of gut microbiota and lipid metabolism in rats fed high-fat diets by *Ganoderma lucidum* triterpenoids[J]. *Current Research in Food Science*, 2023, 6: 100427.

[9] 田星, 路丛丛. 基于 Keap1/Nrf2/HO-1 信号通路和氧化应激效应研究白肉灵芝子实体多糖对小鼠运动性疲劳的保护作用[J]. 中国食品添加剂, 2023, 34(1): 127-136.

TIAN Xing, LU Congcong. Protective effect of *Ganoderma leucocontextum* polysaccharide on exercise-induced fatigue in mice based on Keap1/Nrf2/HO-1 signal pathway and oxidative stress effect[J]. *China Food Additives*, 2023, 34(1): 127-136.

[10] PENG H, ZHONG L, CHENG L, et al. *Ganoderma lucidum*: current advancements of characteristic components and experimental progress in anti-liver fibrosis[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2023, 13: 1094405.

[11] CHEN Z, QIN W, LIN H, et al. Inhibitory effect of polysaccharides extracted from Changbai Mountain *Ganoderma lucidum* on periodontal inflammation[J]. *Heliyon*, 2023, 9(2): e13205.

[12] 聂健, 杨水莲, 彭真福, 等. 均匀设计法优化灵芝三萜提取工艺[J]. 食品安全导刊, 2022(6): 135-139.

NIE Jian, YANG Shuilian, PENG Zhenfu, et al. Optimization of extraction process of triterpene from *Ganoderma lucidum* by uniform

- design[J]. *China Food Safety Magazine*, 2022(6): 135-139.
- [13] 王会宾, 陈丽芳, 叶克难. 响应面法优化热水浸提灵芝孢子多糖工艺[J]. *食品工业*, 2019, 40(3): 41-45.
WANG Huibin, CHEN Lifang, YE Kenan. Optimization of hot water extraction conditions of *Ganoderma lucidum* spores polysaccharides by response surface methodology[J]. *The Food Industry*, 2019, 40(3): 41-45.
- [14] REN L, ZHANG J, ZHANG T. Immunomodulatory activities of polysaccharides from *Ganoderma* on immune effector cells[J]. *Food Chemistry*, 2021, 340: 127933.
- [15] 钱晶晶, 魏娟, 孟桂霞, 等. 灵芝子实体多糖微乳诱导结肠癌肿瘤相关巨噬细胞 M1 极化及其联合 PD-1 抑制剂协同抗肿瘤研究[J]. *中国医院药学杂志*, 2023, 43(3): 278-284.
QIAN Jingjing, WEI Juan, MENG Guixia, et al. *Ganoderma lucidum* polysaccharide microemulsion induces M1 repolarization of colorectal cancer-associated macrophages and combined synergistic anti-tumor therapy with PD-1 inhibitor[J]. *Chinese Journal of Hospital Pharmacy*, 2023, 43(3): 278-284.
- [16] 赵婷婷, 戴映笛, 舒昉, 等. 灵芝菌丝体多糖提取工艺优化及其对慢性酒精肝损伤的保护作用[J]. *食品工业科技*, 2023, 44(5): 388-396.
ZHAO Tingting, DAI Yingdi, SHU Fang, et al. Optimization of extraction technology of polysaccharides from *Ganoderma lingzhi* mycelium and its protective effect on alcoholic liver injury[J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2023, 44(5): 388-396.
- [17] LIU X, YANG L, LI G, et al. A novel promising neuroprotective agent: *Ganoderma lucidum* polysaccharide[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 229: 168-180.
- [18] 张若冰, 杨玉赫, 李陈雪, 等. 灵芝多糖药理作用及机制的研究进展[J]. *天然产物研究与开发*, 2023, 35(5): 879-887.
ZHANG Ruobing, YANG Yuhe, LI Chenxue, et al. Research progress on pharmacological action and mechanism of *Ganoderma lucidum* polysaccharides[J]. *Natural Product Research and Development*, 2023, 35(5): 879-887.
- [19] 王芷宁, 朱奕囡, 谢文琦, 等. 灵芝子实体提取物对 C57BL/6 小鼠黑色素瘤肺转移的抑制作用[J/OL]. *菌物研究*, 1-10. <https://doi.org/10.13341/j.jfr.2022.1527>.
WANG Zhining, ZHU Yinan, XIE Wengi, et al. Inhibitory effect of *Ganoderma lucidum* fruiting body extract on lung metastasis of melanoma in C57BL/6 Mice[J/OL]. *Journal of Fungal Research*, 1-10. <https://doi.org/10.13341/j.jfr.2022.1527>.
- [20] ZOU C, DU Y, LI Y, et al. Preparation of lacquer polysaccharide sulfates and their antioxidant activity in vitro[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2008, 73(2): 322-331.
- [21] BRAND-WILLIAMS W, CUVELIER M E, BERSET C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 1995, 28(1): 25-30.
- [22] SMIRNOFF N, CUMBES Q J. Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes[J]. *Phytochemistry*, 1989, 28(4): 1057-1060.