

橘黄裸伞多糖的理化特性及体外抗氧化活性

胡亚平¹, 张金秀², 赵立强², 林玲辉¹, 王立安^{2*}

¹邢台医学高等专科学校基础医学部, 邢台 054000; ²河北师范大学生命科学学院, 石家庄 050024

摘要: 采用水提醇沉、Sevage 法去蛋白制备橘黄裸伞粗多糖, 通过 DEAE-52 层析柱对粗多糖进行分离纯化, 得到三种组分(GSPS-I、GSPS-II、GSPS-III), 主要对 GSPS-II、GSPS-III 进行研究。GSPS-II、GSPS-III 的多糖含量分别为 84.12% 和 80.35%, 通过扫描电镜(SEM)观察发现 GSPS-II 呈现六面体状结构, GSPS-III 呈现不规则的砖块状结构; 通过红外光谱(IR)和氢核磁共振谱(¹H NMR)对其检测, 结果表明 GSPS-II、GSPS-III 均具有糖类物质的吸收峰且二者均含有 α -和 β -糖苷构型异头氢; 采用清除 DPPH、超氧阴离子、ABTS 自由基实验评价其抗氧化活性, 结果表明这两种多糖对本实验所测自由基均表现出一定的清除效果。综上所述, 从橘黄裸伞分离纯化的多糖组分 GSPS-II、GSPS-III 具有良好的抗氧化活性。

关键词: 橘黄裸伞多糖; 理化特性; 自由基; 抗氧化活性

中图分类号: Q939.95

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.2.017

Physicochemical Property and Antioxidant Activity of Polysaccharide from *Gymnopilus spectabilis*

HU Ya-ping¹, ZHANG Jin-xiu², ZHAO Li-qiang², LIN Ling-hui¹, WANG Li-an^{2*}

¹Department of Basic Medicine, Xingtai Medical College, Xingtai 054000, China;

²College of life sciences, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050024, China

Abstract: Using water extraction and alcohol precipitation, deproteinization with Sevage method to obtain *Gymnopilus spectabilis* crude polysaccharide. The crude polysaccharides were separated with DEAE-52 cellulose ion exchange chromatography. Three components (GSPS-I, GSPS-II and GSPS-III) were obtained, GSPS-II and GSPS-III were mainly studied. The polysaccharide contents of GSPS-II and GSPS-III were 84.12% and 80.35%, respectively. By scanning electron microscopy (SEM), it was found that GSPS-II presented hexahedral structure, GSPS-III showed a brick shaped irregular structure; The infrared spectroscopy (IR) and proton magnetic resonance spectroscopy (¹H NMR) analysis showed that GSPS-II and GSPS-III had carbohydrate absorption peak and had anomeric hydrogen with α - and β -glycosidic configuration; The antioxidant activity of GSPS-II and GSPS-III was evaluated by scavenging DPPH, superoxide anion radical and ABTS radical. The results showed that the two kinds of polysaccharides showed a certain scavenging effect on the free radicals tested in this experiment. In summary, the separation and purification of the group from *G. spectabilis* GSPS-II, GSPS-III had good antioxidant activity.

Key words: *Gymnopilus spectabilis* polysaccharide; physicochemical property; free radicals; antioxidant activity

橘黄裸伞 (*Gymnopilus spectabilis*) 别名“红环锈伞”、“大笑菌”, 隶属于伞菌目, 丝膜菌科, 裸伞属, 广泛分布于世界各地, 夏季、秋季单生或丛生于阔叶树和针叶树腐木上^[1]。橘黄裸伞是神经致幻型毒菌的一种, 味苦, 误食后可引起神经性中毒症状, 如醉酒者行动不稳, 轻者狂笑或产生幻觉, 重者昏迷或

死亡^[2]。在人工驯化方面, 包海鹰等首次实现对该菌株的驯化栽培, 从接种到现原基时间为6个月^[3]。从上个世纪70年代, 人们就开始对橘黄裸伞子实体化学成分进行研究, 并发现了许多结构新颖并具有一定生理功能的化合物^[2,4,5]。有研究报道, 橘黄裸伞子实体提取物对人乳腺癌细胞(MCF-7)、小鼠肉瘤 S₁₈₀、艾氏腹水癌均具有一定的抑制作用^[6], 有望开发成为新的抗肿瘤药物。此外, 橘黄裸伞中的苦味成分还具有神经兴奋和抗肿瘤作用^[7]。

真菌多糖具有抗菌、抗病毒、抗氧化、提高免疫

收稿日期: 2017-07-27 接受日期: 2017-09-01

基金项目: 河北省科技计划重点项目(16237301D); 河北省现代农业产业技术体系创新团队项目(HBCT2013060201); 河北省高等学校科学技术研究项目(ZC2016059); 邢台市科技计划(2015ZC167)

* 通信作者 E-mail: wlian1965@126.com

力等诸多特点,对其相关的研究具有很大的应用价值^[8]。相对来说,我国对真菌多糖的研究起步较晚,但是发展速度快,并且已在香菇多糖、银耳多糖等真菌类多糖的研究中取得了进展,而关于橘黄裸伞多糖的相关研究国内外鲜见有相关报道。

本实验室前期已完成了橘黄裸伞野生菌的驯化。本文以本实验室自己培育的橘黄裸伞子实体为材料,对去蛋白后的粗多糖采用 DEAE-52 层析柱进行分离纯化,采用扫描电镜、红外光谱和氢核磁共振谱等方法对纯化后的多糖进行初步的理化特性和体外抗氧化活性的研究。以期了解橘黄裸伞多糖组分的部分理化性质和抗氧化活性大小,为橘黄裸伞多糖的进一步研究和开发提供科学依据。

1 材料与仪器

1.1 材料与试剂

橘黄裸伞子实体,由河北师范大学真菌生化与分子生物学实验室保存。DEAE-纤维素、2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(BHT)、三(羟甲基)氨基甲烷(Tris-HCl)、邻苯三酚、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、2,2-连氨基-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)、过硫酸钾、过氧化氢、磷酸二氢钠、磷酸氢二钠,北京索莱宝科技有限公司;实验室用水均为超纯水,其余所用试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器设备

AV III-500 BRUKER 核磁共振波谱仪、VERTEX 70 傅立叶变换红外-拉曼-红外显微镜联用光谱仪,德国布鲁克;S-4800 冷场发射扫描电子显微镜,日本日立;BioLogicLP 层析系统, Bio-RAD 公司;RE-5203 旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;MULTISKAN GO 酶标仪, Thermo 美国。

2 实验方法

2.1 橘黄裸伞多糖的制备及分离纯化

2.1.1 粗多糖的制备

新鲜橘黄裸伞子实体,烘干机干燥,粉碎,热水浸提三次(液料比 20 mL/g, 80 °C, 4 h),真空抽滤,合并滤液,浓缩,对浓缩液采用 Sevage 法除蛋白^[9],醇析(4 倍体积无水乙醇)过夜,离心沉淀,真空冷冻干燥,得到硫磺菌粗多糖制品。

2.1.2 DEAE-52 柱层析

将粗多糖配成 10 mg/mL 的多糖水溶液,进行 DEAE-52 离子交换柱层析,所用层析柱规格为 23

cm × 1.5 cm。以 0、0.1、0.3、0.5、0.7 mol/L 的 NaCl 进行梯度洗脱,流速为 2.5 mL/min,以 4 mL/管收集洗脱液,苯酚-硫酸法于 490 nm 波长下检测,直到无多糖组分流,共收集 60 管。以洗脱管数为横坐标,吸光度为纵坐标绘制洗脱曲线图,合并洗脱峰部分,旋转蒸发器浓缩后,冷冻干燥。

2.2 多糖的理化特性

2.2.1 扫描电镜观察

取适量冻干的多糖样品粉末,通过双面胶粘在样品台上,清除多余的不能被粘附在样品台上的粉末,使得样品台上只保留一层薄薄的待测样品,喷镀金原子,用扫描电子显微镜观察样品表面并拍照。

2.2.2 多糖含量的测定

采用苯酚-硫酸法^[10]测定总糖含量。

2.2.3 红外光谱扫描

取 2 mg 左右干燥的多糖样品,与 300 mg 左右 KBr 粉末,红外灯下在玛瑙研钵中轻轻研匀压片,进行红外光谱扫描,扫描范围 4000 ~ 400 cm⁻¹。

2.2.4 氢谱分析

取多糖 10 mg 左右,溶于 0.5 mL 重水(D₂O)中,用 600 MHz 核磁共振仪测定。

2.3 多糖抗氧化活性的测定

2.3.1 DPPH 自由基(DPPH·)清除能力的测定

参考文献方法^[11]稍做改动。将待测多糖配成不同浓度的样品液,以同一浓度 BHT 为阳性对照,依次向 96 孔板中加入 100 μL 不同浓度的样品液,100 μL 0.2 mol/L DPPH 溶液(用无水乙醇溶液溶解),室温下暗反应震荡 30 min,酶标仪测定 517 nm 处的吸光度值(OD₅₁₇)。

DPPH·清除率的计算公式为:清除率 = $[A_0 - (A_i - A_j)] / A_0 \times 100\%$ 。

式中, A_i 为 100 μL DPPH 工作液 + 100 μL 样品液的 OD₅₁₇; A_j 为 100 μL 无水乙醇 + 100 μL 样品液的 OD₅₁₇; A₀ 为 100 μL DPPH 工作液 + 100 μL 蒸馏水的 OD₅₁₇。

2.3.2 ABTS 自由基(ABTS⁺·)清除能力的测定

参照文献方法^[12]稍作改动。配制 ABTS 工作液,调整 ABTS 工作液使其在 734 nm 处的吸光度为 0.7 ± 0.02,将待测多糖配成不同浓度的样品液,以同一浓度 BHT 为阳性对照,依次向 96 孔板中加入 50 μL 不同浓度的多糖样品液,150 μL ABTS 工作液,室温下暗反应震荡 6 min,用酶标仪测定 734 nm

处的吸光度(OD_{734})。

ABTS⁺·清除率的计算公式为:清除率 = $[A_0 - (A_i - A_j)] / A_0 \times 100\%$

式中, A_i 为 150 μL ABTS 工作液 + 50 μL 样品液的 OD_{734} ; A_j 为 150 μL 甲醇 + 50 μL 样品液的 OD_{734} ; A_0 为 150 μL ABTS 工作液 + 50 μL 蒸馏水的 OD_{734} 。

2.3.3 超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)清除能力的测定

采用邻苯三酚自氧化法,参照文献方法^[13]稍作改动。将待测多糖配成不同浓度的样品液,以同一浓度 BHT 为阳性对照,依次向 96 孔板中加入 100 μL 50 mmol/L pH 8.2 的 Tris-HCl 缓冲液,100 μL 样品液,混匀后 25 $^{\circ}\text{C}$ 温浴 10 min,再向其中加入 7 μL 邻苯三酚,25 $^{\circ}\text{C}$ 温浴 6 min,加入 7 μL 10 mol/L 浓盐酸终止反应,酶标仪测定 325 nm 处的吸光度值(OD_{325})。

$O_2^{\cdot-}$ 清除率的计算公式为:清除率 = $[A_0 - (A_i - A_j)] / A_0 \times 100\%$

式中, A_i 为邻苯三酚 + 100 μL 样品液的 OD_{325} ; A_j 为 10 mmol/L HCl + 100 μL 样品液的 OD_{325} ; A_0 为邻苯三酚 + 100 μL 蒸馏水的 OD_{325} 。

2.4 数据处理

本文实验进行三次平行实验,测定结果以平均值 \pm 标准差(SD)表示,数据分析采用 originpro7.5、MestReNova 软件和 IC50 软件。

3 结果与分析

3.1 多糖的制备及分离纯化

收集本实验室自己驯化栽培的橘黄裸伞子实体,将其烘干后磨粉,取 40 g 橘黄裸伞子实体干粉,去蛋白后从中得到的粗多糖为 2.7 g,计算得率为 6.75%。

采用 DEAE-52 离子交换柱对橘黄裸伞粗多糖进行分离纯化,梯度洗脱曲线如图 1 所示。用水和不同浓度的 NaCl 溶液洗脱,共得到三个洗脱峰,其中用水洗脱得到一个峰,用 0.1 mol/L NaCl 和 0.3 mol/L NaCl 洗脱得到两个峰,合并各洗脱峰组分(分别命名为 GSPS-I、GSPS-II、GSPS-III),减压浓缩,冷冻干燥,备用。因为 GSPS-I 含量太少后续未对其做进一步研究,仅对 GSPS-II、GSPS-III 进行研究。

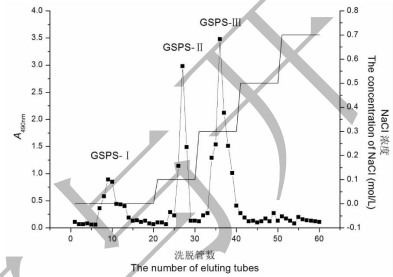


图 1 橘黄裸伞粗多糖经 DEAE-52 离子交换柱的梯度洗脱曲线

Fig. 1 Stepwise elution curve of crude polysaccharide from *G. spectabilis* on DEAE-52

3.2 GSPS-II、GSPS-III 的理化特性

3.2.1 物理性状和扫描电镜观察

图 2 是 GSPS-II、GSPS-III 的电子显微镜扫描结果,给出了样品的表面结构特征。冷冻干燥后的多糖组分 GSPS-II 为乳白色干粉,经苯酚硫酸法检测其中多糖的含量为 84.12%,1 千倍放大后在扫描电镜下形态如图 2 A 所示,呈六面体状并呈链状排列;冻干后的多糖组分 GSPS-III 为淡黄色干粉,经苯酚硫酸法检测其中多糖的含量为 80.35%,1 千倍放大后在扫描电镜下形态如图 2 B 所示,呈不规则的砖块状。可见 GSPS-II 和 GSPS-III 为两种不同的多糖。

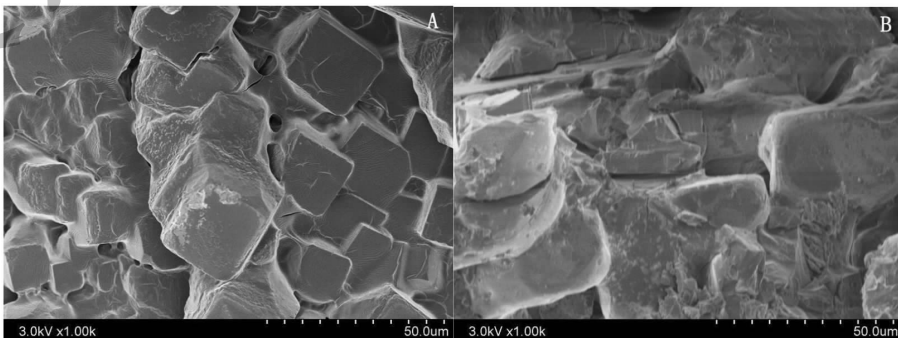


图 2 GSPS-II 和 GSPS-III 的扫描电镜图

Fig. 2 Scanning electron micrograph of GSPS-II and GSPS-III

3.2.2 IR 分析

GSPS-Ⅱ、GSPS-Ⅲ的红外光谱仪扫描结果见图3。由图3可知,在 3413.93 cm^{-1} (GSPS-Ⅱ)和 3433.22 cm^{-1} (GSPS-Ⅲ)处有一明显吸收峰,此为多糖特征的O-H的伸缩振动峰,形宽且钝,说明羟基不是游离的,而是在分子间发生了缔合^[14]; 2927.88 cm^{-1} (GSPS-Ⅱ)和 2924.02 cm^{-1} (GSPS-Ⅲ)处的吸收峰为次甲基(-CH₂)中-C-H的伸缩振动的吸收峰;在 $1700\sim 1750\text{ cm}^{-1}$ 内GSPS-Ⅱ和GSPS-Ⅲ均没有吸收峰,表示2种多糖均不含糖醛酸成分^[15]。GSPS-

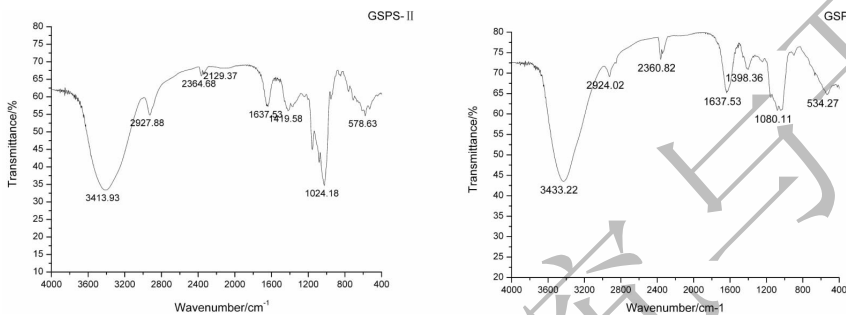


图3 GSPS-Ⅱ和GSPS-Ⅲ的红外光谱图

Fig. 3 IR spectroscopy of GSPS-Ⅱ and GSPS-Ⅲ

3.2.3 ¹H NMR 分析

GSPS-Ⅱ、GSPS-Ⅲ的¹H NMR分析见图4。¹H NMR主要解决多糖结构中糖苷键构型及结构中氢个数比的问题,但是由于非异头质子化学位移 δ 相近,且有部分重叠现象,使多数质子信号较难解析,一般 β 型异头质子区域化学位移位于 $\delta 4.4\sim 5.0\text{ ppm}$, α 型异头质子区域化学位移位于 $\delta 5.0\sim 5.5\text{ ppm}$ ^[19]。

GSPS-Ⅱ¹H NMR信号中有 $\delta 5.12$ 、 4.99 和

4.75 ppm ,可见同时存在 α -和 β -糖苷构型异头氢,并且后者为主。GSPS-Ⅲ¹H NMR信号中有 $\delta 5.36$ 、 5.18 、 5.09 、 4.92 、 4.76 、 4.71 、 4.66 和 4.59 ppm ,可见同时存在 α -和 β -糖苷构型异头氢,并且同样以后者为主。图4中化学位移在 $\delta 3.4\sim 4.2\text{ ppm}$ 之间的信号主要是糖残基上C₂-H到C₆-H的信号位移峰^[20]。综上所述结果表明,GSPS-Ⅱ和GSPS-Ⅲ均为主要以 β 构型链接的并存在少量 α 构型的杂多糖。

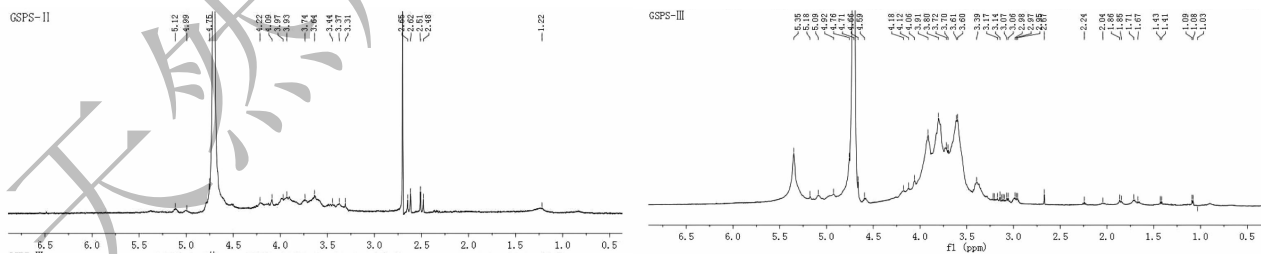


图4 GSPS-Ⅱ和GSPS-Ⅲ的核磁共振氢谱图

Fig. 4 ¹H NMR spectra of GSPS-Ⅱ and GSPS-Ⅲ

3.3 GSPS-Ⅱ、GSPS-Ⅲ的抗氧化分析

3.3.1 对DPPH·的清除活性

由图5可知,GSPS-Ⅱ、GSPS-Ⅲ与标准抗氧化剂BHT比较,对DPPH·均有一定的清除活性,两种多糖活性在设定浓度范围内,随着样品浓度增大,清除

率相应提高,当样品浓度为 6 mg/mL 时,GSPS-Ⅱ和GSPS-Ⅲ的DPPH·清除率分别为 $(15.69 \pm 0.37)\%$ 和 $(17.49 \pm 1.09)\%$,但阳性对照BHT在浓度 1 mg/mL 时,DPPH·清除率已经达到 79.12% ,综上所述可知,GSPS-Ⅱ、GSPS-Ⅲ具有相对较低的DPPH·清

除活性。

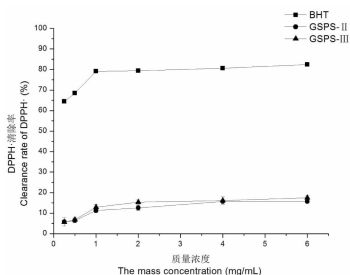


图5 GSPS-II和GSPS-III对DPPH·的清除作用

Fig. 5 DPPH· scavenging activities of GSPS-II and GSPS-III

3.3.2 对ABTS⁺·清除活性

由图6可知,在本实验浓度范围内,GSPS-II、GSPS-III对ABTS⁺·的清除能力随浓度增大明显增强。当样品浓度为6 mg/mL时,GSPS-II和GSPS-III的清除活性分别为(39.33 ± 0.77)%和(36.33 ± 1.09)%。计算得,GSPS-II对ABTS⁺·清除率的EC₅₀值为12.76 mg/mL,GSPS-III对ABTS⁺·清除率的EC₅₀值为17.17 mg/mL,GSPS-III与GSPS-II相比对ABTS⁺·清除活性稍高。

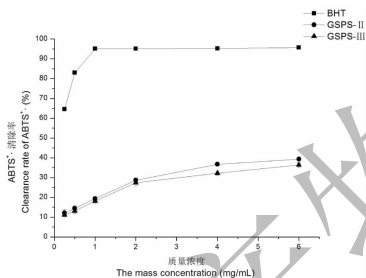


图6 GSPS-II和GSPS-III对ABTS⁺·(的清除作用

Fig. 6 ABTS⁺· scavenging activities of GSPS-II and GSPS-III

3.3.3 对O₂⁻清除活性

由图7可知,在本实验浓度范围内,GSPS-II、GSPS-III对O₂⁻的清除能力随浓度增大明显增强。当样品浓度为6 mg/mL时,GSPS-II和GSPS-III的清除活性分别为(54.13 ± 1.13)%和(51.53 ± 1.01)%。计算得,GSPS-II对O₂⁻清除率的EC₅₀值为5.03 mg/mL,GSPS-III对O₂⁻清除率的EC₅₀值为7.69 mg/mL。这两种多糖成分对O₂⁻均具有较强的清除活性。

4 讨论与结论

本实验室已完成对橘黄裸伞的驯化并高产栽培,关于橘黄裸伞多糖方面的研究还鲜见报道,本文

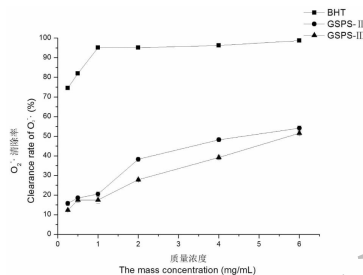


图7 GSPS-II和GSPS-III对O₂⁻的清除作用

Fig. 7 O₂⁻ scavenging effect of GSPS-II and GSPS-III

提取了橘黄裸伞子实体粗多糖,首次分离纯化得到了两个多糖组分GSPS-II和GSPS-III,并对其开展理化特性和抗氧化活性方面的研究。

由于多糖的分子结构等与其生物学活性具有密切的关系,从多糖的结构入手可以更深入的揭示其在生命过程中的作用^[21]。多糖的结构的检测手段有很多,本文主要采用SEM观察了GSPS-II和GSPS-III的物理结构,采用苯酚硫酸法检测了它们的多糖纯度,对于多糖纯度的检测,由于目前尚未找到比较合适的标准品,因此通过各种方法得到的多糖纯度仍是比较粗略的结果^[22]。采用IR和¹H NMR分析了它们的糖键结构,表明GSPS-II和GSPS-III均具有糖类物质的吸收峰且均为以α构型为主的杂多糖。

活性氧自由基诱导的氧化损伤被认为是引起细胞损伤、衰老、死亡、癌变和组织损坏的主要原因之一,本文采用清除DPPH·、ABTS⁺·和O₂⁻这三种自由基实验评价GSPS-II和GSPS-III的体外抗氧化活性,尽管多糖GSPS-II和GSPS-III与阳性对照BHT相比,抗氧化活性较低,但考虑一般多糖为大分子化合物,相同质量浓度时,多糖的物质的量要低于BHT,所以这两种多糖仍具有相对良好的抗氧化活性。总之,分离自硫磺菌的多糖成分GSPS-II和GSPS-III可以作为抗氧化剂进一步研究并应用于食品药品等领域。

参考文献

- Shen JW(申进文). Encyclopedia of Production Techniques of Edible Fungi(食用菌生产技术大全)[M]. Zhengzhou: Henan Science and Technology Press, 2014.
- Bao HY(包海鹰), Chen JB(陈建波), Zan LF(詹立峰), et al. Chemical composition in cultural fruit bodies of *Gymnopilus spectabilis*[J]. *Mycosystema* (菌物学报), 2010, 29: 616-618.

- 3 Bao HY(包海鹰), Tolgor(图力古尔), Li Y(李玉). Domestication of *Gymnopilus spectabilis* [J]. *J Jilin Agric Univ* (吉林农业大学学报), 2002, 24(6): 27-29.
- 4 Lee IK, Cho SM, Seok SJ, et al. Chemical constituents of *Gymnopilus spectabilis* and their antioxidant activity [J]. *Mycobiology*, 2008, 36: 55-59.
- 5 Alborés S, Mora P, Bustamante MJ, et al. Purification and applications of a lectin from the mushroom *Gymnopilus spectabilis* [J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2014, 172: 2081-2090.
- 6 Bao HY(包海鹰), Li Y(李玉). Studies on inhibition of the extract from *Gymnopilus spectabilis* to MCF-7 [J]. *J Jilin Agric Univ* (吉林农业大学学报), 2002, 2: 56-58.
- 7 Chen JB(陈建波). Study on biological characteristics, chemical compositions and anti-tumor effect of *Gymnopilus spectabilis* [D]. Changchun: Jilin Agricultural University (吉林农业大学), 2008.
- 8 Liu B(刘博), Xu DC(徐德昌). Research progress of fungal polysaccharides [J]. *China Beet Suga* (中国甜菜糖业), 2007, 3: 26-29.
- 9 Hu RP(扈瑞平), Zhang XF(张兴夫), Du L(杜玲), et al. Removing proteins from allium Mongolicum Regel polysaccharide by Sevage method [J]. *J Inner Mongolia Univ* (内蒙古大学学报, 自科版), 2009, 40: 658-662.
- 10 Zhong JP(钟建平), Zhong CY(钟春燕), Zhao DH(赵道辉). Study on the determination of polysaccharides in health food by phenol sulfuric acid [J]. *Chin J Health Labor* (中国卫生检验杂志), 2001, 11: 675.
- 11 Omp S, Tejk B. DPPH antioxidant assay revisited [J]. *Food Chem*, 2009, 113: 1202-1205.
- 12 Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, et al. A novel method for measuring antioxidant capacities application to monitoring the antioxidant status in premature neonates [J]. *Clin Sci*, 1993, 84: 407-412.
- 13 Han SH(韩少华), Zhu JB(朱靖博), Wang YY(王妍妍). Measurement of the antioxidant activity by pyrogallol autoxidation [J]. *China Brew* (中国酿造), 2009, 28(6): 155-157.
- 14 Chen S(陈帅), Xu CJ(许程剑), Li YB(李应彪), et al. Structural analysis of polysaccharides from *Pleurotus ferulae* lenzi [J]. *Mod Food Sci Technol* (现代食品科技), 2015, 31(3): 29-37.
- 15 Zheng YF, Zhang Q, Liu XM, et al. Extraction of polysaccharides and its antitumor activity on *Magnolia kwangsiensis* Figlar & Noot [J]. *Carbohydr Polym*, 2016, 142: 98-104.
- 16 Ge Y, Duan YF, Fang GZ, et al. Polysaccharides from fruit calyx of *Physalis alkekengi* var. francheti: isolation, purification, structural features and antioxidant activities [J]. *Carbohydr Polym*, 2009, 77: 188-193.
- 17 Zhou HJ(周慧吉), Ma HL(马海乐), Guo DZ(郭丹钊), et al. Physicochemical properties and antioxidant activity of intracellular polysaccharides from *Phellinus igniarius* precipitated by different ethanol concentrations [J]. *Food Sci* (食品科学), 2015, 36(19): 34-38.
- 18 He JZ(何晋浙), Shao P(邵平), Ni HD(倪慧东), et al. Study on the structure and constituents of polysaccharide from *Ganoderma lucidum* [J]. *Spectrosc Spect Anal* (光谱学与光谱分析), 2010, 30: 123-127.
- 19 Pan F(潘峰), Yao YX(姚芸欣), Tang X(唐鑫), et al. Physicochemical property and antioxidant activity of exopolysaccharide produced by endophytic fungal *Fusarium redolens* 6WBY3 isolated from *Fritillaria unibracteata* var. *wabuensis* [J]. *Acta Microbiol Sin* (微生物学报), 2017, 57: 240-253.
- 20 Chen Y, Mao WJ, Yang YP, et al. Structure and antioxidant activity of an extracellular polysaccharide from coral-associated fungus, *Aspergillus versicolor* LCJ-5-4 [J]. *Carbohydr Polym*, 2012, 87: 218-226.
- 21 Li S(李盛), Xu SQ(许淑琴), Zhang LN(张俐娜). Advances in conformations and characterizations of fungi polysaccharides [J]. *Acta Polym Sin* (高分子学报), 2010, 12: 1359-1375.
- 22 Gao H(高航), Gao YF(高延芬), Xu H(徐虹). Separation, purification and structural characteristics of polysaccharides from red skin of lotus seeds [J]. *Food Sci* (食品科学), 2016, 37(15): 94-99.