

# 红缘拟层孔菌多糖分离纯化、结构表征及其免疫活性分析

彭慧群<sup>1</sup>, 徐小刚<sup>2</sup>, 陈昭月<sup>2</sup>, 王力<sup>3</sup>, 戴军<sup>\*1</sup>

(1. 食品与技术国家重点实验室, 江南大学, 江苏 无锡 214122; 2. 东台市济民生物科技有限公司, 江苏 东台 224221; 3. 大连王力野生灵芝生物科技有限公司, 辽宁 大连 116003)

**摘要:** 红缘拟层孔菌是一种药用蘑菇以及有待开发利用的食品新资源。从红缘拟层孔菌中提取出水提多糖(FPS)和碱提多糖(FPJ),用 DEAE Sepharose Fast Flow 和 Sepharose CL-6B 对 FPS 进行分离纯化,首次得到 4 个多糖级分 FPS1-1、FPS1-2、FPS2-1、FPS2-2。MTT 实验表明,4 个多糖级分均具有一定的免疫活性,其中 FPS1-2 和 FPS2-1 具有一定的量效关系,FPS2-1 的免疫活性高于其他 3 个级分。HPSEC 法测得 FPS1-2、FPS2-1 两种级分均呈单一峰,重均相对分子质量分别为  $9.10 \times 10^3$  和  $3.02 \times 10^5$ 。经单糖组成、红外色谱和核磁共振分析,FPS1-2 为含有  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6)糖苷键连接方式的杂多糖,FPS2-1 为含有  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)糖苷键连接方式的杂多糖。

**关键词:** 红缘拟层孔菌;多糖;分离纯化;免疫活性;结构表征

中图分类号:O 6-332 文章编号:1673-1689(2019)03-0152-08 DOI:10.3969/j.issn. 1673-1689.2019.03.022

## Isolation, Purification, Structural Characterization and Immunological Activity of *Fomitopsis pinicola* Polysaccharides

PENG Huiqun<sup>1</sup>, XU Xiaogang<sup>2</sup>, CHEN Zhaoyue<sup>2</sup>, WANG Li<sup>3</sup>, DAI Jun<sup>\*1</sup>

(1. State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214022, China; 2. Dongtai Jimin Biological Technology Co., LTD, Dongtai 224221, China; 3. Dalian Wangli Wild Ganoderma Biotechnology Technology Co., LTD, Dalian 116003, China)

**Abstract:** *Fomitopsis pinicola* is a medicinal mushroom and a kind of new resource of food to explore. Two water-soluble crude polysaccharides were extracted using hot water and 5% of NaOH solution, and then purified FPS by DEAE-Sepharose FF and Sepharose Cl-6B chromatography. Four polysaccharide fractions named as FPS1-1, FPS1-2, FPS2-1 and FPS2-2 were isolated and purified from FPS. The result of the MTT test about normal mice spleen lymphocyte proliferation promotion activity indicated that the four polysaccharide fractions both have a immunological activity. The effect of FPS1-2 and FPS2-1 are in a dose-dependent manner, and the effect of FPS2-1 was better than others. The HPSEC analysis indicated that the two fractions were all homogeneous polysaccharides

收稿日期: 2016-03-18

基金项目: 苏北科技专项(SZ-YC2018003)。

\* 通信作者: 戴 军(1958—),男,博士,研究员,硕士研究生导师,主要从事食品功能因子的分析鉴定及食品资源开发利用方面的研究。  
E-mail: daihplc@163.com

引用本文: 彭慧群,徐小刚,陈昭月,等. 红缘拟层孔菌多糖分离纯化、结构表征及其免疫活性分析[J]. 食品与生物技术学报,2019,38(03):152-159.

and their relative molecular mass were respectively  $9.10 \times 10^3$  and  $3.02 \times 10^5$ . The analysis of monosaccharide composition, infrared spectrum and NMR spectroscopy indicated that FPS1-2 was a heteropolysaccharide, it have  $\alpha$ - (1 $\rightarrow$ 6)glucosidic bond; and FPS2-1 was a heteropolysaccharide, it have  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4)glucosidic bond.

**Keywords:** *Fomitopsis pinicola*, polysaccharides, isolation and purification, immunological activity, structure characterization

红缘拟层孔菌(*Fomitopsis pinicola*)是一种药用蘑菇,有待开发利用为食品新资源<sup>[1]</sup>。红缘拟层孔菌能祛风、除湿,民间用于治疗矿工“寒腿”病;其子实体的水提物具有抑制肿瘤等功效<sup>[2]</sup>。孙雪<sup>[3]</sup>等从红缘拟层孔菌发酵产物中提取分离得到了一种单体化合物,并对其进行了抗肿瘤和免疫增强实验的研究,在此基础上研制出了一种抑制肿瘤的保健食品。现代药理学研究证明,该菌水提取物具有抗菌、抗肿瘤、调节中枢神经系统、降血糖、调节人体免疫功能以及抗氧化和清除自由基等作用<sup>[4-6]</sup>。另外,红缘拟层孔菌具有补益作用、抗炎作用<sup>[7]</sup>、抑制水肿<sup>[8]</sup>以及治疗肥胖作用<sup>[9]</sup>,可以运用到新型保健食品中。

目前,文献已报道的关于红缘拟层孔菌多糖的研究主要集中于红缘拟层孔菌子实体提取物的生物活性。而关于从红缘拟层孔菌多糖中分离出多种多糖级分,对其进行免疫活性分析并进行结构表征的报道较少。作者分别以纯水和碱液从中提取得到两类多糖,对纯水提取的多糖进行分离纯化,得到4个多糖级分,并均进行了体外免疫活性的检测和比较,优选出两个级分对其进行结构表征,为后续构效关系研究和开发利用提供了依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

**1.1.1 材料与试剂** 红缘拟层孔菌子实体:大连王力生物科技有限公司提供;三氟乙酸(TFA):>99%,化学纯,国药集团化学试剂有限公司;乙腈:色谱纯,美国 Tedia 公司;1-苯基-3-甲基-5-吡啶琳酮(PMP):99%,美国 Acros Organics 公司;四甲基偶氮唑蓝(MTT):>98%,美国 Biosharp;DMEM 培养液:美国 Gibco 生命技术公司;曲利本兰(台盼蓝):上海化学试剂采购供应站;氯化铵和乙二胺四乙酸二钠(EDTA-Na<sub>2</sub>):天津市大茂化学试剂厂;C57 雄性小鼠:体重为(20~25 g),苏州艾尔麦科技有限公司;其他试剂均为分析纯,国药集团化学试剂有限公司。

**1.1.2 主要仪器设备** 高效液相色谱仪:Waters

1525 型:安捷伦科技有限公司;冷冻干燥机:SCIENTZ-10N 型,宁波新芝生物股份有限公司;多用途水浴恒温振荡器:DSHZ-300 型:江苏太仓市实验设备厂;旋转蒸发器:RE-52A 型:上海亚荣生化仪器厂;可见光分光光度计 722N 型:上海精密科学仪器有限公司;循环水多用真空泵 SHK-IIIS 型:郑州科泰实验设备有限公司;定时数显恒流泵 HL-2D 型:上海沪西分析仪器厂。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 红缘拟层孔菌子实体多糖的提取** 分别采用水提醇沉和碱提醇沉的方法从红缘拟层孔菌子实体中提取得到两种多糖 FPS、FPJ。

将粉碎的红缘拟层孔菌子实体用 95% 的乙醇浸泡过夜,脱脂;在鼓风干燥箱中干燥后,加入料液比为 1:20 的蒸馏水中,在 100 °C 水浴中循环提取 4~6 h。提取后真空抽滤,滤渣重复提取 2~3 次。合并提取液,55 °C 真空旋转蒸发浓缩至小体积,加 3 倍体积乙醇沉淀过夜,4 °C 10 000 r/min 离心 15 min,收集沉淀,经 95% 乙醇、无水乙醇依次洗涤,真空干燥得 FPS<sup>[10]</sup>。将滤渣置于鼓风干燥箱中干燥 8 h,将上述滤渣也真空干燥后加入料液比为 1:20 的 5% 的 NaOH 溶液中,在 60 °C 水浴中提取 2 h,真空抽滤,往提取液中加入 2 mol/L HCl 中和,4 500 r/min 离心 15 min,取上清液,后续操作同纯水提取粗多糖,真空干燥得 FPJ<sup>[11]</sup>。

### 1.2.2 脱色脱蛋白

1) 采用大孔吸附树脂进行脱色:5 g D101 加入 250 mL 的三角瓶中,再加入 50 mL 的 5 mg/mL 粗多糖溶液,放入恒温摇床中,40 °C、140 r/min 振荡 8 h,过滤备用。

2) 采用 Sevag 法脱蛋白质<sup>[12]</sup>:往脱色后的多糖溶液中加入 Sevag 试剂(氯仿:正丁醇=5:1)(多糖:Sevag 试剂=5:1 或者 4:1)混合,振荡 30 min,静置分层,弃去下层含有白色沉淀有机相,如此重复 6 次,减压旋蒸浓缩后真空干燥备用。

### 1.2.3 FPS 分离纯化

1) DEAE Sepharose Fast Flow 柱分离分级: 称 0.3 g 经过脱色脱蛋白质的 FPS 溶于 5 mL 0.02 mol/L Tris[三(羟甲基)胺基甲烷]-HCl 缓冲液 (pH 7.8) 中, 通过 DEAE Sepharose Fast Flow 柱 (3.5 cm × 25 cm) 进行分离, 前 100 管用 0.02 mol/L Tris-HCl 缓冲液等强度洗脱, 101~200 管用 0.01~1 mol/L NaCl 和 0.02 mol/L Tris-HCl 溶液梯度洗脱。流速: 0.8 mL/min。以苯酚硫酸法跟踪检测各管中多糖质量, 绘制多糖洗脱曲线并分别收集各多糖级分, 用透析袋 (相对分子质量 3 500) 流水透析 48 h 去除盐离子等小分子物质, 真空旋蒸浓缩后冷冻干燥。

2) Sepharose CL-6B 柱分离分级: 称 300 mg 经 DEAE Sepharose Fast Flow 层析柱分离后多糖溶于 10 mL 0.9% NaCl 中, 通过 Sepharose CL-6B (2.6 cm × 95 cm) 进行分离, 洗脱液: 0.9% NaCl, 流速: 0.4 mL/min。以苯酚硫酸法跟踪检测各管中多糖质量, 绘制多糖洗脱曲线并分别收集各多糖级分, 用透析袋 (相对分子质量 3 500) 流水透析 48 h 去除盐离子等小分子物质, 真空旋蒸浓缩后冷冻干燥。

**1.2.4** 4 个多糖级分体外促进正常小鼠脾淋巴细胞增殖实验 参照文献[13]进行。

**1.2.5** 高效体积排阻色谱 (HPSEC) 分析 将不同相对分子质量的葡聚糖标准品及各级分多糖样品配制成约为 5 mg/mL 的溶液, 参考文献[14]中的色谱条件, 进样分析。

**1.2.6** 红缘拟层孔菌各级分多糖的单糖组成分析

1) 多糖样品完全酸水解: 将级分多糖样品配成 5 mg/mL 水溶液, 参考文献[14]中的实验方法, 对级分多糖样品进行酸水解。

2) 标样及级分多糖样品的 PMP 衍生化: 取 100 μL 混合单糖标准水溶液 (各单糖质量浓度为 3 mg/mL) 和多糖样品酸水解产物, 参考文献[14]中的实验方法, 对混合单糖标样及级分多糖样品酸水解产物进行 PMP 衍生化, 进样分析。

**1.2.7** 红外光谱分析 取各级分多糖约 1 mg 放入研钵中, 加入大约以 1:100 的比例的溴化钾充分研磨后压片, 4 000~400 cm<sup>-1</sup> 区间扫描, 扫描 32 次, 分辨率为 4 cm<sup>-1</sup>。

**1.2.8** 核磁共振分析 称取 30 mg 样品溶于 0.5 mL D<sub>2</sub>O 中, 样品质量浓度为 60 mg/mL, 内标物为 DDS, 通过核磁共振仪进行 <sup>13</sup>C 和 <sup>1</sup>H 分析<sup>[15]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 红缘拟层孔菌粗多糖的提取率及多糖质量

初步实验表明, 经水提醇沉法所得的粗多糖 FPS 为棕褐色固体, 而经碱提中和醇沉所得的粗多糖 FPJ 为黑色固体, 两者均颜色较深, 不易溶于水, 需加热搅拌才能溶解, 且含有少量不溶物质。不同批次红缘拟层孔菌粗多糖的提取率及其多糖质量见表 1。由表 1 数据可知, FPJ 的得率明显高于 FPS, 但是 FPS 的糖质量分数高于 FPJ, FPJ 中所含杂质较多。

表 1 不同批次的 FPS 和 FPJ 的提取率及多糖质量

Table 1 Yield and polysaccharide content of FPS and FPJ

批次	FP 干质量/g	FPS 质量/g	FPS 糖质量分数/%	FPJ 质量/g	FPJ 糖质量分数/%
1	100	2.02	52.97	7.34	40.62
2	100	1.91	54.25	6.88	42.22
3	100	1.92	55.34	7.52	36.55
均值	100	1.95	54.19	7.25	39.80

### 2.2 FPS 和 FPJ 脱色脱蛋白质得率及多糖质量

经大孔吸附树脂脱色和 Sevag 法脱蛋白质后, FPS 呈淡灰色, FPJ 为深灰色。由于 FPJ 颜色较深, 故对其进行两次脱色。不同批次的 FPS 和 FPJ 脱色脱蛋白后得率及多糖质量见表 2。由表 2 可知, 经脱色脱蛋白处理, FPJ 的损失率远远大于 FPS, 经处理后 FPS 的纯度高于 FPJ, FPJ 还是含有一定量的色素, 其脱色后仍为深灰色。

表 2 不同批次的 FPS 和 FPJ 脱色脱蛋白得率及多糖质量

Table 2 Recovery of decolorizing and deproteinizing of different batches FPS and FPJ and their polysaccharide content

批次	FPS			FPS 多糖质量/g	FPJ			FPJ 多糖质量/g
	脱色脱蛋白质前质量/g	脱色脱蛋白质后质量/g	得率/%		脱色脱蛋白质前质量/g	脱色脱蛋白质后质量/g	得率/%	
1	2.00	1.18	59.0	71.58	2.00	0.55	27.50	55.69
2	2.00	1.23	61.5	68.22	2.00	0.44	22.00	61.03
3	2.00	1.11	55.5	73.37	2.00	0.64	32.00	53.28
均值	2.00	1.17	58.7	71.06	均值	0.54	27.17	56.67

### 2.3 FPS 分离分级

**2.3.1 DEAE-Sephrose Fast Flow 柱分离分级** 通过 DEAE-Sephrose Fast Flow 柱的洗脱液以管数为横坐标,吸光值为纵坐标绘制洗脱曲线,见图 1。由洗脱曲线图可知,在 1.2.3 的分离条件下,FPS 的两级分能够很好的分离,按照出峰顺序先后收集得到两个多糖级分分别命名为 FPS1、FPS2,两级分透析除盐后冻干供后续实验。

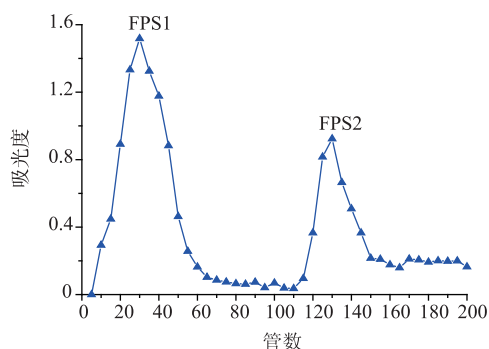


图 1 FPS 经 DEAE Sepharose Fast Flow 柱分离的洗脱曲线  
Fig. 1 Elution profile of FPS on DEAE Sepharose Fast Flow column

**2.3.2 FPS1、FPS2 经 Sepharose CL-6B 柱分离分级** FPS1、FPS2 分别通过 Sepharose CL-6B 柱分离,共得到 4 个级分,即 FPS1-1、FPS1-2、FPS2-1、FPS2-2,洗脱曲线见图 2-3。

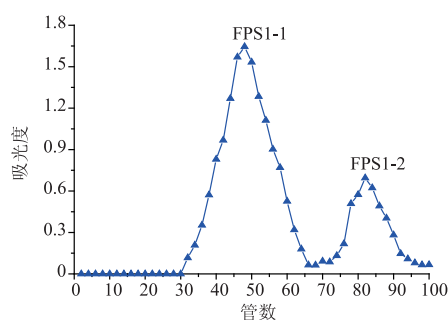


图 2 FPS1 经 Sepharose CL-6B 柱分离的洗脱曲线  
Fig. 2 Elution profile of FPS1 on Sepharose CL-6B column

### 2.4 各多糖级分体外对正常小鼠脾淋巴细胞增殖作用的影响

为进一步考察比较多糖级分 FPS1-1、FPS1-2、FPS2-1、FPS2-2 的活性,将 FPS1-1、FPS1-2、FPS2-1、FPS2-2 同时进行体外单独促进正常小鼠脾淋巴细胞增殖试验。结果表明:4 个级分在质量浓度为

20、80、320  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时均有促脾淋巴细胞增殖活性,且 FPS1-2 及 FPS2-1 具有一定量效关系,4 个多糖级分中 FPS2-1 的促脾淋巴细胞增殖活性最强,结果见图 4。

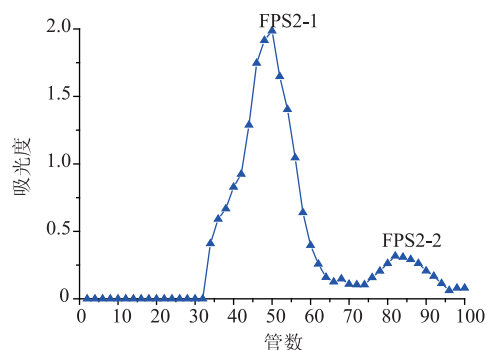


图 3 FPS2 经 Sepharose CL-6B 柱分离的洗脱曲线  
Fig. 3 Elution profile of FPS2 on Sepharose CL-6B column

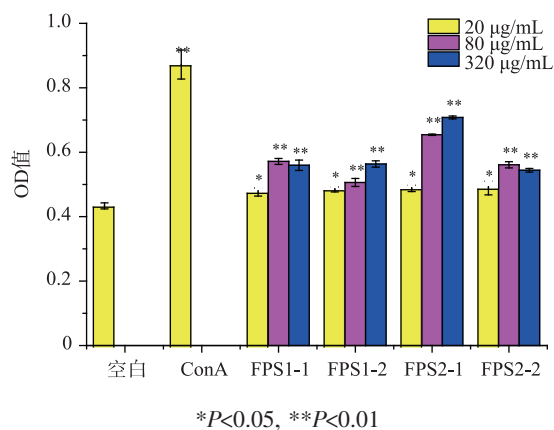


图 4 FPS1-1、FPS1-2、FPS2-1 和 FPS2-2 体外对正常小鼠脾淋巴细胞增殖作用的影响

Fig. 4 Effect of FPS1-1, FPS1-2, FPS2-1 and FPS2-2 on the proliferation of splenocytes of normal mice in vitro

### 2.5 多糖级分的纯度测定及相对分子质量分布

多糖的生物活性和其相对分子质量大小密切相关。高效体积排阻色谱法 (HPSEC) 是目前应用较广泛且重复性较好、操作较简便快速的主要分析方法之一<sup>[16]</sup>。在 1.2.5 所述分析条件下,HPSEC 测得 FPS1-2 和 FPS2-1 的相对分子质量分布色谱图见图 5。由图 5 可知,两级分均为单一对称峰,说明 FPS1-2 和 FPS2-1 皆为均一多糖组分。重均相对分子质量分别为  $9.10 \times 10^3$  和  $3.02 \times 10^5$ 。

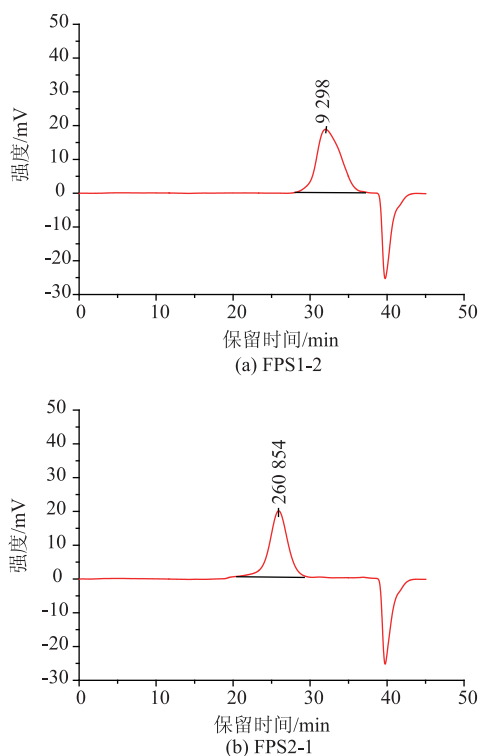


图5 FPS1-2和FPS2-1的HPSEC分析图谱  
Fig. 5 HPSEC profile of FPS1-2 and FPS2-1

## 2.6 多糖级分的单糖组成

12种单糖标样的PMP衍生化RP-HPLC图谱见图6。由图6可知,在该色谱条件下12个单糖峰的分​​离效果较好。FPS1-2和FPS2-1完全水解后的PMP衍生化RP-HPLC图谱见图7。对照单糖标准品的保留时间可知,FPS1-2含有5种单糖,分别为甘露糖(Man)、葡萄糖(Glc)、半乳糖(Gal)、木糖(Xyl)、岩藻糖(Fuc);其摩尔百分比(mol%)为14.88:12.50:60.80:3.18:8.65;FPS2-1含有4种单糖,分别为甘露糖(Man)、葡萄糖(Glc)、半乳糖(Gal)、岩藻糖(Fuc),其摩尔百分比(mol%)为14.48:37.71:36.91:10.90。

## 2.7 多糖级分红外光谱分析

使用傅立叶变换红外光谱仪检测了FPS1-2和FPS2-1在4000~400  $\text{cm}^{-1}$ 之间的红外光谱,结果见图8。两个级分的红外光谱带都具有多糖特征峰,(3400±15)  $\text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰宽且强,是由于多糖的O-H的伸缩振动;(2920±15)  $\text{cm}^{-1}$ 附近的中等强度的峰是由于饱和C-H的伸缩振动;(1640±10)  $\text{cm}^{-1}$ 为酰胺碳基的特征吸收峰;1411  $\text{cm}^{-1}$ 处出现的弱峰是由于C-H的变角振动;这些特征峰均为典

型的多糖特征峰。FPS1-2的红外光谱图在917  $\text{cm}^{-1}$ 附近的吸收峰,是D-葡萄糖吡喃糖 $\beta$ 端基差向异构的C-H变角振动,说明FPS1-2的的异头碳构型可能有 $\beta$ 型。FPS2-1在840~853  $\text{cm}^{-1}$ 附近处有一吸收峰,是D-吡喃环 $\alpha$ 端基差向异构的C-H振动。930  $\text{cm}^{-1}$ 和761  $\text{cm}^{-1}$ 附近吸收峰是D-葡萄糖吡喃糖的C-O-C骨架非对称和对称伸缩振动,说明FPS2-1的异头碳构型可能有 $\alpha$ 型<sup>[17-20]</sup>。

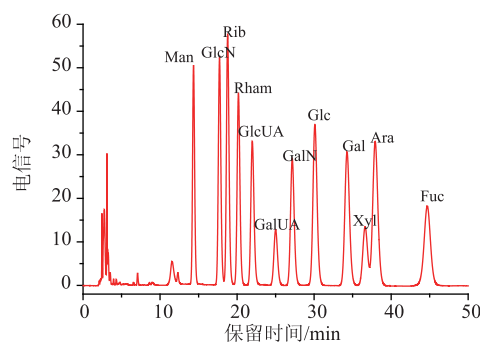


图6 12种单糖PMP衍生物的HPLC图谱  
Fig. 6 Chromatograms of PMP derivatives of twelve

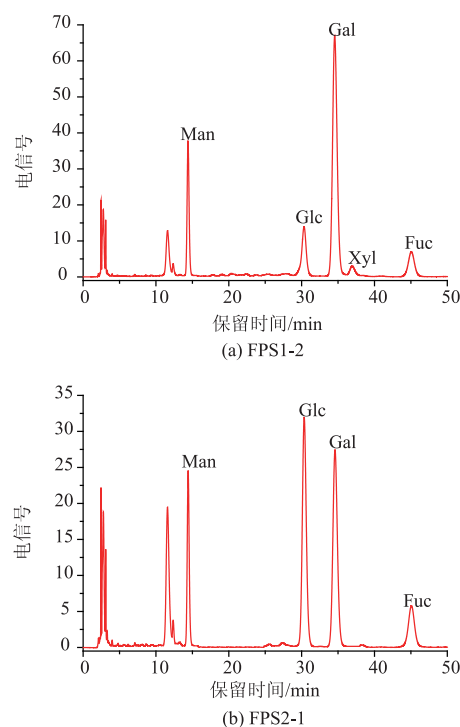


图7 FPS1-2和FPS2-1的PMP衍生物的HPLC图谱  
Fig. 7 Chromatograms of PMP derivatives of FPS1-2 and FPS2-1

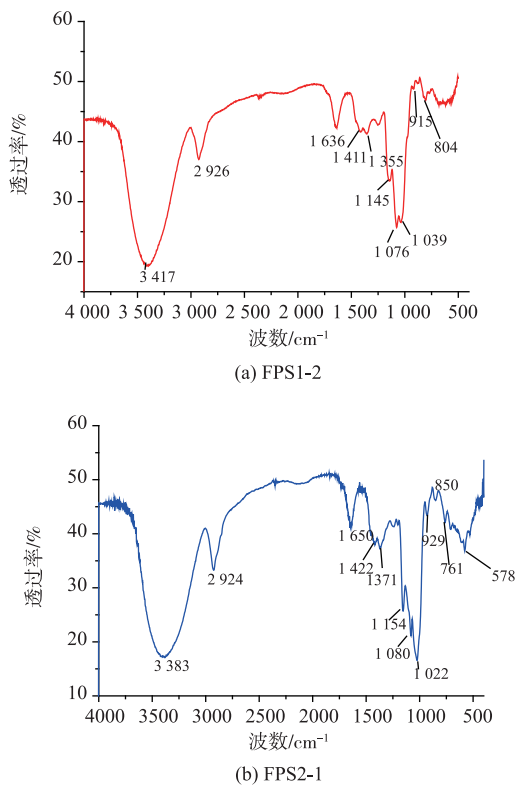


图8 FPS1-2、FPS2-1的红外光谱图

Fig. 8 Fourier transform IR spectrum of FPS1-2 and FPS2-1

2.8 多糖级分核磁共振分析

FPS1-2的<sup>1</sup>H-NMR谱和<sup>13</sup>C-NMR谱见图9-12。在<sup>1</sup>H-NMR图中,内标物的信号在0.33 δ处,故图中放大区域的主要峰信号为δ 4.98,5.03,5.07,5.12;δ 4.98为β构型异头氢信号,δ 5.03、5.07、5.12为α构型异头氢信号。<sup>13</sup>C-NMR图中异头碳区域的主要峰信号为δ 100.64、103.90、104.89、105.53;δ 100.64为α构型异头碳信号,较强;δ 103.90、104.89、105.53为β构型异头碳信号,较弱。以上数据说明此多糖的结构重复单元可能主要由4种糖残基组成<sup>[21-23]</sup>。δ 82~84区域中无信号,说明为吡喃糖;δ 69.30是发生氧取代的C6的信号<sup>[24]</sup>,δ 63.82处为游离C6的信号。所以FPS1-2可能有α-(1→6)糖苷键链接方式。

FPS2-<sup>1</sup>H-NMR谱和<sup>13</sup>C-NMR谱的异头区域都只有一个信号峰,说明只有一种α构型的糖残基组成;在<sup>1</sup>H谱图中异头碳的信号为δ 5.50,是α型吡喃糖的质子信号。<sup>13</sup>C-NMR谱图中,δ 102.43是α型异头C1的信号;δ 79.77是发生氧取代的C4的信

号<sup>[25]</sup>;δ 75.84、74.11、72.83是C5、C4、C3的信号<sup>[26]</sup>;δ 63.30是游离的C6信号。所以FPS2-1可能有α-(1→4)糖苷键链接方式。

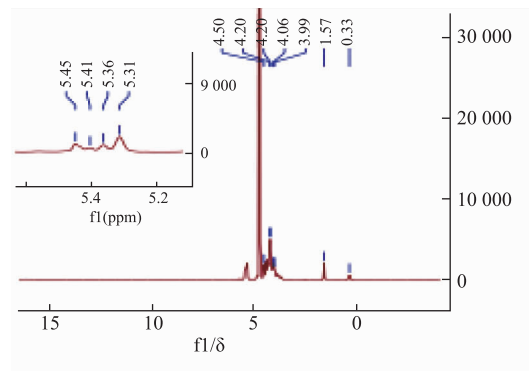


图9 FPS1-2的<sup>13</sup>H-NMR谱图  
Fig. 9 <sup>13</sup>H-NMR spectrum of FPS1-2

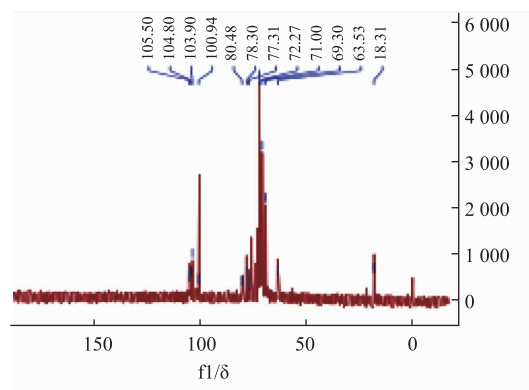


图10 FPS1-2的<sup>13</sup>C-NMR谱图  
Fig. 10 <sup>13</sup>C-NMR spectrum of FPS1-2

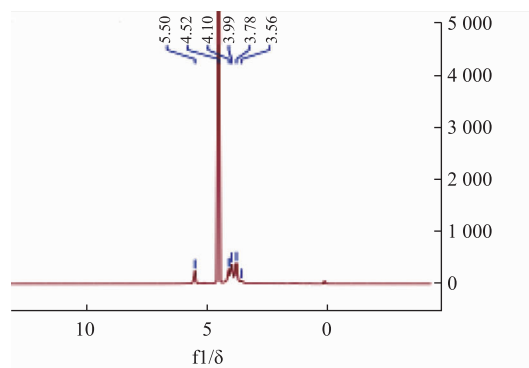
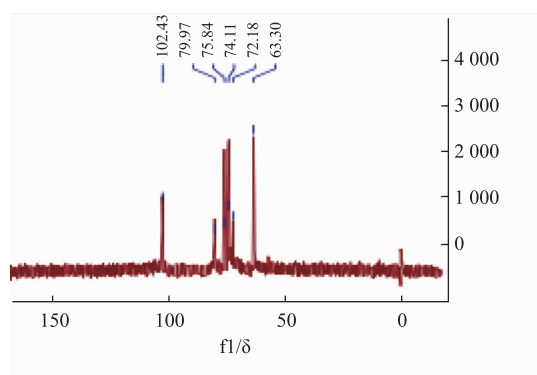


图11 FPS2-1的<sup>13</sup>H-NMR谱图  
Fig. 11 <sup>13</sup>H-NMR spectrum of FPS2-1

图 12 FPS2-1 的  $^{13}\text{C}$ -NMR 谱图Fig.12  $^{13}\text{C}$ -NMR spectrum of FPS2-1

### 3 结 语

从红缘拟层孔菌中提取出水提多糖 (FPS), 碱提多糖 (FPJ)。FPS 经进一步分离纯化得到 4 个多糖

级分, 对 4 个多糖级分进行促进正常小鼠脾淋巴细胞的增殖试验。结果表明, 四个级分在质量浓度为 20、80、320  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时均有促脾淋巴细胞增殖活性, 且 FPS1-2 及 FPS2-1 具有一定量效关系, 4 个多糖级分中 FP2-1 的促脾淋巴细胞增殖活性最强。对 FPS1-2 和 FPS2-1 进行 HPSEC 分析, 结果表明两个级分均为单一对称峰, 说明 FPS1-2 和 FPS2-1 皆为均一多糖组分, 其重均相对分子质量分别为  $9.1 \times 10^3$  和  $3.02 \times 10^5$ 。FPS1-2 含有 5 种单糖, 分别为甘露糖 (Man)、葡萄糖 (Glc)、半乳糖 (Gal)、木糖 (Xyl) 和岩藻糖 (Fuc); FPS2-1 含有 4 种单糖, 分别为甘露糖 (Man)、葡萄糖 (Glc)、半乳糖 (Gal) 和岩藻糖 (Fuc)。红外、核磁共振的分析结果表明, FPS1-2 可能有  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 6) 糖苷键链接方式, FPS2-1 可能有  $\alpha$ -(1 $\rightarrow$ 4) 糖苷键链接方式。

### 参考文献:

- [1] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 532.
- [2] 戴玉成, 图力古尔. 中国药用真菌图志[M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2013: 188-189.
- [3] 孙雪. 红缘拟层孔菌(*Fomitopsis pinicola*)抑制肿瘤保健品的研制[D]. 长春: 吉林农业大学, 2012.
- [4] OH S H, KIM S D, LEE S I, et al. *Fomitopsis pinicola* extract and a process for manufacturing the same[P]. ICR 专利: 2007078157, 2007-07-12.
- [5] OH S H, KIM S D, LEE S I, et al. *Fomitopsis pinicola* extract having suppressive activity against pancreatic cell damage and the use thereof[P]. KR 专利: 2007078161, 2007-07-12.
- [6] OH S H, KIM S D, LEE S I, et al. Extract from submerged culture of *Fomitopsis pinicola* mycelia and hypoglycemic composition comprising the same[P]. KR 专利: 2007091827, 2007-08-16.
- [7] LEEM K H, CHUNG J H, KIM H K, et al. Composition for inhibiting adipocyte differentiation and fat accumulation or preventing and treating obesity without side effects comprising extract of *Fomitopsis pinicola* and pharmaceutical preparation or functional food product containing the same[P]. KR 专利: 2006114725, 2006-11-08.
- [8] TSUJIYAMA S, OKADA A. Biodegradation of polyvinyl alcohol by a brown-rot fungus *Fomitopsis pinicola* [J]. *Biotechnol Lett*, 2013, 35: 1907-1911.
- [9] UJIE, MASAO. Hemicellulose of *Picea jezoensis* decayed by *Fomitopsis pinicola*[J]. *Enshurin Kenkyu Hokoku (Hokkaido Daigaku Nogakubu)*, 1965, 24(1): 275-289.
- [10] 孙小梅. 灵芝子实体多糖色谱指纹分析方法的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2014.
- [11] 黄生权. 赤灵芝多糖的提取分离、结构分析与生物活性研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2010.
- [12] PAN Y, LI N, WAN J B, et al. Structural characterization and antioxidant activity of a heteropolysaccharide from *Ganoderma capense*[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2015, 134: 183-189.
- [13] 王浩豪. 灵芝孢子粉多糖色谱指纹图谱及其免疫活性谱效关系的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2012.
- [14] DAI J, WU Y, CHEN S W, et al. Sugar compositional determination of polysaccharides from *Duneliella salina* by modified RP-HPLC method of precolumn derivatization with 1-phenyl-3-methyl-5-pyraz-olone [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2010, 82(3): 629-635.
- [15] MARCHETTI R, BERRIN J G, COUTURIER M, et al. NMR analysis of the binding mode of two fungal endo- $\beta$ -1, 4-mannanases from GH5 and GH26 families.[J]. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 2015, 14(1): 314-322.
- [16] NIE Linghong, NING Zhengxiang. Structure-activity relationship of active polysaccharides[J]. *Chemistry and Industry of Forest*

- Products**,2003.23(4):89-94.
- [17] LIANG G,XIE J H,RUAN Y Y, et al. Characterization and immunostimulatory activity of a polysaccharide from the spores of *Ganoderma lucidum*[J]. **International Immunopharmacology**,2009,9:1175-1182.
- [18] ZHAO C,LIAO Z S,WU X Q, et al. Isolation, purification, and structural features of a polysaccharide from *phellinus linteus* and its hypoglycemic effect in alloxan-induced diabetic mice[J]. **Journal of Food Science**,2014,79(5):H1002-H1010.
- [19] XU Y,LIU G,YU Z, et al. Purification, characterization and antiglycation activity of a novel polysaccharide from black currant [J]. **Food Chemistry**,2015,199:694-701.
- [20] ZHOU C,QIAO Y,TANG Q, et al. Purification and characterization of a novel small-molecule polysaccharide from the Maitake medicinal mushroom *Grifola frondosa* (higher Basidiomycetes)[J]. **International Journal of Medicinal Mushrooms**,2013,15(2):145-152.
- [21] LIANG Tao,ZHANG Jing. Preliminary structure analysis and structure morphology observation of alkali-extractable polysaccharide PEAP-1 from *pleurotus eryngii*[J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**,2013,32(9):951-956. (in Chinese)
- [22] 王林强. 核磁共振在多糖结构解析中的应用[D].上海:华东师范大学,2013.
- [23] 王俊. 香菇多糖的结构与抗肿瘤活性的关系的研究[D]. 武汉:华中科技大学,2012.
- [24] DU Xiuju,ZHANG Jingsong,PAN Yingjie. Application of the NMR techniques in structural analysis of polysaccharide from edible fungi[J]. **Edible Fungi of China**,2010,29(1):3-6.(in Chinese)
- [25] YE Libin,ZHANG Jingsong,PAN Yingjie. The NMR techniques in structural analysis of polysaccharide from edible and medical fungi[J]. **Journal of Edible Fungi**,2007,14(4):68-75.(in Chinese)
- [26] 李盛. 香菇三螺旋葡聚糖氢键键合作用及其功能化研究[D]. 武汉:武汉大学,2013.

## 科技信息

### 欧盟发布对食品添加剂山梨酸和山梨酸钾重新评估的后续意见

2018年3月1日,据欧盟食品安全局(EFSA)消息,应欧盟委员会的要求,欧盟食品添加剂和调味剂小组(FAF)对一项扩展一代生殖毒性研究(EOGRTS)进行评估以确定山梨酸(sorbic acid)(E200)和山梨酸钾(potassium sorbate)(E202)的每日允许摄入量。

根据EOGTRS,FAF小组确定了基准剂量下限(BMDL),即每天1110mg山梨酸/kg体重(bw)。通过应用默认不确定因子100,小组建立了一个ADI组,山梨酸(E200)及其钾盐(E202)为每天11mg山梨酸/Kg体重。

[信息来源]食品伙伴网. 欧盟发布对食品添加剂山梨酸和山梨酸钾重新评估的后续意见 [EB/OL]. (2019-3-5). <http://news.foodmate.net/2019/03/508624.html>