

灵芝孢子粉多糖研究进展

周亚杰¹, 王梓懿², 冯 鹏^{1*}

1. 南京中科药业有限公司, 江苏 南京 210008

2. 广西中医药大学药学院, 广西 南宁 530020

摘要: 灵芝 *Ganoderma lucidum* 为多孔菌科灵芝属药食两用真菌, 是我国具较高药用价值的传统珍贵药材。灵芝孢子粉多糖是灵芝中的主要活性成分, 现已证实其具有多种生物活性, 在医药领域中有广阔的应用前景。对近 15 年来国内外灵芝孢子粉多糖结构、提取工艺和生物活性方面的研究进展进行综述, 为其保健功能与药用价值的开发提供重要参考。

关键词: 灵芝; 灵芝孢子粉多糖; 结构; 提取工艺; 生物活性

中图分类号: R284; R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2018)21-5205-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.21.036

Research progress on polysaccharide from *Ganoderma lucidum* spore powder

ZHOU Ya-jie¹, WANG Zi-yi², FENG Peng¹

1. Nanjing Zhongke Pharmaceutical Co., Ltd., Nanjing 210008, China

2. College of Pharmacy, Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530020, China

Abstract: *Ganoderma lucidum* is a kind of medicine and food fungi of genus *Ganoderma*, Polyporaceae. It's regarded as traditional and precious medicinal material with high medicinal value in China. *G. lucidum* spore polysaccharide is the main active ingredient from *G. lucidum*. Now it is proved that it has wide medicinal value and wide application prospects in medicine. This article gives an overview of the research progress in the polysaccharide structure, extraction technology, and bioactivity of *G. lucidum* spore polysaccharides, which provides an important reference for the research and the medicinal value of natural products.

Key words: *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst.; *Ganoderma lucidum* spore polysaccharide; structures; extraction process; biological activity

灵芝 *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. 为多孔菌科灵芝属药食两用真菌, 也是我国具较高药用价值的传统珍贵药材。灵芝自古有“仙草”美誉, 在《神农本草经》中列为上品, 又称“不死药”, 同时也是《本草纲目》中收录的唯一进入五经的药物, 对心、肝、脾、肺、肾等五脏具有补益作用。灵芝在世界各地均有分布, 并已经实现人工培育, 其孢子粉、子实体均可入药。

灵芝孢子粉从成熟灵芝的菌褶中弹射出来, 是灵芝的生殖细胞, 亦是灵芝的种子, 具有灵芝的全部遗传信息, 自然条件下极难收集。其呈卵形双壁结构, 最外层是能够阻碍人体消化吸收的坚硬的几丁质纤维素, 正常情况下需要进行破壁处理。近年

来, 随着孢子收集和破壁技术的发展, 灵芝孢子这一活性部位开始得到人们的重视。

灵芝孢子粉多糖 (*Ganoderma lucidum* spore polysaccharide, GLSP) 主要是由鼠李糖、阿拉伯糖、甘露糖、葡萄糖和半乳糖组成的杂多糖, 破壁与不破壁的多糖组成完全相同^[1], 是灵芝中的主要活性成分, 现已证实其具有广泛的生物活性。已经有多种以 GLSP 为主要原料的保健食品批准上市。本文通过查阅、整理国内外的研究报道, 对 GLSP 的结构、提取工艺和生物活性等研究进展进行综述, 为其深入研究提供科学依据。

1 GLSP 的结构

多糖共有四级结构: 一级结构包含单糖的种类、

收稿日期: 2018-05-12

作者简介: 周亚杰 (1984—), 男, 江苏南通人, 中国科学院高级工程师, 研究方向为天然活性产物的分离和分析。

Tel: 13813996366 E-mail: 13813996366@139.com

*通信作者 冯 鹏, 硕士生导师, 董事长, 教授, 主要从事灵芝孢子的有效部位研究。

E-mail: fengpeng@zhongke.com

排序、糖苷键构型、链长、分支情况等；二级结构是氢键决定的主链构象；三、四级结构是受非共价键影响的与多糖生物活性关联紧密的空间内有序构象。GLSP种类繁多，结构复杂，多数研究结果仅对多糖的一级结构加以描述。目前已发现7种GLSP的结构：①SGL-IL-2，相对分子质量为 5.37×10^4 ，主链以1→3、1→6糖苷键链接，平均每10个己糖有3-O及4-O 2个分支点，以Glc为分支末端残基，侧链中含有1→4 Gal^[2]。②SGL-III，相对分子质量为 1.41×10^4 ，由葡萄糖和半乳糖组成，物质的量比为4.46：1，其主链由Glc(1→3)和Gal(1→6)构成，分支点分别在6-O、2-O及4-O处^[3]。③碱提粗多糖LB-NB， β -D-(1→3)葡聚糖，每4.4个糖残基的6位接有单一的端基葡萄糖，呈单螺旋构象^[4]。④GLP1，水溶性多糖经酶法与Sevage法联合脱蛋白，经Sephacrose CL-6B柱色谱截取纯化得到的主要成分，并有少量GLP2、GLP5，经分析其为以 β 型糖苷键为主的多分支结构，平均每10个己糖残基有3个分支^[5]。⑤GLP2，Glc和Gal构成的 β 型少分支结构，以(1→3)Glc和(1→6)Glc为主，平均每10个己糖残基在4-O、3-O处分支。⑥GLP3，Glc和Gal构成的 β 型少分支结构，主要糖苷键为在6-O处分支的(1→3)Glc和在2-O、4-O分支的(1→6)Gal为主，平均每10个己糖残基有2处分支。⑦Lzps-1，利用色谱柱DEAE-cellulose以及Sephadex G-50分离得到总多糖Lzps，主要成分为平均相对分子质量8 000的葡聚糖Lzps-1^[6]。

2 GLSP的提取工艺

2.1 水提醇沉法

水提醇沉法是GLSP的常见提取方法，将原料按照一定条件（料液比、浸提温度、浸提时间、原料细度等）提取后，收集提取液，再用乙醇沉淀获得多糖。胡斌杰等^[7]通过回归分析确定料液比1：20，温度90℃，提取时间2 h，80目为最佳提取条件，灵芝多糖提取率为1.51%。

2.2 超声提取法

超声波利用热学效应、空化效应等破坏细胞外壁，通过粉碎、搅拌加快多糖溶解，具有高效、快速、不破坏结构等特点。

张梅^[8]通过单因素实验利用二元回归方程得到各提取因素对GLSP提取率的影响大小顺序：料液比<提取时间<温度，得到最佳提取条件：料液比1：30，400 W超声处理，温度40℃，提取时间2 h，

提取率为2.19%。

2.3 微波提取法

微波会使以水为主的极性分子吸收大量能量，导致细胞内部液态水汽化，使细胞的膜结构被破坏，出现孔洞，促进了细胞内外的物质交换，加速溶解释放胞内产物。微波提取法中各因素对灵芝多糖提取效率的影响程度顺序：微波时间>微波功率>浸润时间^[9]。李国香等^[10]结合高效凝胶过滤色谱(HPGFC)手段，得到破壁GLSP的最佳提取条件为料液比1：15，温度125℃，微波功率300 W，提取时间15 min，提取率大于1%，且以相对分子质量大于 1×10^4 的多糖为主。

2.4 酶提取法

酶能够有效破坏细胞的膜结构，促进细胞内部多糖的释放。董玉玮等^[11]利用纤维素酶与水提醇沉法结合提取灵芝多糖，得到在以下条件提取效果最好：料液比1：5，酶浓度0.5%，pH值5.0，55℃恒温酶解80 min，提取率为1.2%。

2.5 超声波协同纤维素酶提取法

超声波的空化效应能够破坏纤维素大分子有序排列形成的束状结晶区域、去除酶触纤维妨碍物，提高酶水解效率^[12]。采用超声波协同纤维素酶提取法，以料液比1：50，pH 5，纤维素酶浓度2%，超声功率225 W，50℃恒温1 h的条件提取灵芝多糖，提取率比同条件下水提法提高1.7倍（从7.8 g/L提高至11.5 g/L）^[11]。

2.6 超微粉碎技术

灵芝孢子是成熟的灵芝菌褶释放的卵形生殖细胞，其坚硬的外壁阻碍人体利用细胞内的有效成分，应当通过物理、化学、生物、机械等方法破坏外壁，多糖的提取率与外壁的粉碎度呈正相关。利用HSCS超细粉碎机对灵芝孢子粉粉碎60 min，转速1 600 r/min，用扫描电镜和红外色谱检测，孢壁完全打碎，有效物质团状溶出且未被破坏，稳定性提高，提取率提高40.8%^[13]。黄璞^[14]将灵芝孢子粉水浸12 h后适用高压均质抽滤，冷冻干燥12 h，超微粉碎（2 100 r/min、20 min），破壁率达95%，GLSP提取率提高30%。

2.7 挤压技术

挤压加工技术通过混合、搅拌、破碎、加热、蒸煮、杀菌、膨化等方式，利用机械摩擦作用，对原料产生强大压力，使水分快速汽化，物料膨化，使原料变得疏松多孔、酥脆，利于多糖溶解^[15]。焦

艳丽等^[16]以料液比 1:30, 温度 80 °C, 3 000 r/min 离心 10 min, 得到灵芝孢子破壁率达 78.6%, GLSP 得率为 2.22%。进行二次挤压后, 灵芝孢子破壁率提高至 83.48%, GLSP 得率为 2.37%。

2.8 低温熔融处理

灵芝孢子外壁的导热速度很慢, 冷冻-解冻处理会使得外壁的内表面温度明显异于外表面, 温度差形成热应力冲击孢子粉外壁并促使其破裂, 提高收率。实验证明, 在-76 °C 冷冻 6 min 后微波处理解冻 2 min, 如此循环 5 次, 并用超声波破碎, GLSP 收率提高 0.6%^[17-18]。

3 GLSP 的药理活性

研究证明相对分子质量大于 1×10^4 的 β 型 GLSP 具有生物活性^[19], 活性与溶解度、黏度等因素呈正相关^[20-21]。

3.1 免疫调节作用

细胞免疫是由效应 T 细胞介导的直接杀死靶细胞的免疫过程。张坤等^[22]ig 给予荷瘤小鼠不同浓度的 GLSP, 每天 1 次, 给药 10 d 后取血测得给药组小鼠比空白组廓清指数和吞噬系数明显提高, 此外 GLSP 对 CD3、CD4、CD8 及杀伤性 T 淋巴细胞和辅助性 T 淋巴细胞具有增强作用, 荷瘤小鼠的细胞免疫能力显著上升^[23]。

体液免疫中外来物质作为抗原进入体内刺激 T 细胞产生淋巴因子, 并进一步增殖分化为抗体, 产生抗原-抗体反应, 实现免疫过程, 可以根据产生抗体的量判断免疫剧烈程度。向成年雌性小鼠体内注射绵羊红细胞, 并 ip 生理盐水和 GLSP 50 mg/kg, 连续 5 d, 观察血清内 IgG 和补体 C3 质量分数, 发现二者分别提高了 2.4 g/L 和 0.24 g/L^[4], 由此说明, GLSP 可以促进小鼠淋巴细胞产生抗体, 发挥免疫调节作用。

巨噬细胞是组织器官中具有非特异性吞噬作用和免疫调节等作用的一种吞噬细胞, 机体免疫活性和巨噬细胞的吞噬能力呈正相关。利用碱提取 GLSP, 作用于小鼠骨髓巨噬细胞 24 h, 细胞出现体积显著变大、颜色加深等形态学变化。GLSP 能够促使细胞分泌白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和一氧化氮 (NO), 显著提高巨噬细胞对乳胶颗粒的吞噬能力, 且呈剂量依赖性^[24]。

自然杀伤 (NK) 细胞是一种不经过抗原刺激就可以直接识别的靶细胞。王鹏云等^[25]将小鼠脾细胞与靶细胞 (淋巴瘤 YAC-1 细胞)、GLSP 混合培养 20 h, 以 MTT 法检验 YAC-1 细胞杀伤率, 发现 GLSP

组比对照组提高 10%以上, 具有更为明显的免疫活性。

此外, GLSP 能够预防过敏反应、阻碍小鼠的迟发型过敏反应、削弱绵羊红细胞的初次抗体应答^[26], 这一特性是其治疗自身免疫疾病和防止过敏反应的基础。

3.2 抗肿瘤作用

Zhang 等^[27]用灵芝孢子葡聚糖 (GLIS) 作用于小鼠脾源性肉瘤细胞 S₁₈₀, 培养 15 d 后 GLIS 能激活大量免疫球蛋白, 并促使其分泌大量免疫活性物质 IL-1 β 和活性氮中间体, 明显提高了巨噬细胞介导的肿瘤细胞毒作用, 对肿瘤生长的抑制率达到 60%。

GLSP 对肺癌有抑制作用并提高 NK 细胞活性^[5]。将 GLSP 作为唯一的抗癌剂对 30 名肿瘤患者进行了为期 12 周的治疗, 肿瘤来源包括肺、乳腺、肝、结肠、前列腺、膀胱和脑。结果表明, 与对照组比较, 实验组受试者体内 IL-1、TNF- α 含量明显降低, IL-2、IL-6、 γ 干扰素 (IFN- γ) 含量增加, T 淋巴细胞、辅助性 T 细胞、抑制性 T 细胞含量略有上升, NK 细胞活性显著提高, 表明 GLSP 能够抑制癌细胞的增殖与扩散^[28]。

3.3 抗氧化作用

灵芝孢子粉具有抗氧化能力, 且抗氧化活性与 GLSP 浓度呈正相关^[29]。以水杨酸作为 Fenton 反应产生的羟基自由基的捕捉剂, 以维生素 C 作为羟基自由基的清除剂, 在 530 nm 下测量吸光度值, 测得 4 g/L 的未破壁 GLSP 的抗氧化率为 60%~75%。

You 等^[30]考察灵芝多糖肽 (GLPP) 对叔丁基氢过氧化物 (tBOOH) 损伤的小鼠腹腔巨噬细胞中活性氧 (ROS) 的影响, 用 MTT 法测定细胞存活率, 在电子显微镜下观察细胞形态变化, 发现在 200 mg/L GLPP 作用下, 细胞存活率为 90%, 说明 GLPP 具有良好的 ROS 抑制作用。

3.4 抗神经性疾病作用

GLSP 能够阻止小胶质细胞的活化, 抑制脂多糖诱导的原代多巴胺能神经元变性^[31]。

阿尔茨海默病、帕金森病等神经退行性疾病均与细胞内蛋白异常降解有关。将 GLPS 作用于蛋白酶抑制剂 Lactacystin 诱导的肾上腺嗜铬细胞瘤 PC12 细胞模型, 用 CCK-8 检测细胞活性, Annexin V-FITC/PI 检测细胞凋亡情况, 结果表明, GLSP 使细胞凋亡率降低 19%, 细胞内 α -synuclein 蛋白表达水平明显降低^[32]。

3.5 抗衰老作用

β -半乳糖苷酶 (β -gal) 活性提高是公认的衰老细胞生物学标志^[33]。邹美圣等^[34]用血管紧张素 II (Ang II) 诱导的人脐静脉内皮细胞 (HUVECs) 建立衰老模型, 用 CCK-8 法测定细胞存活率, 发现 100 mg/L GLSP 会使细胞存活率提高 10%, 且 SA β -gal 的活性明显降低。

3.6 保肝作用

CCl_4 导致的肝损伤与自由基产生和脂质过氧化相关, 何学斌等^[35]对 48 只肝损伤小鼠分别 ig 给予生理盐水和灵芝多糖, 给药 9 d 后测定小鼠血清丙氨酸氨基转移酶 (SGPT) 值、肝匀浆过氧化物 (LPO) 含量、血浆丙二醛 (MDA) 含量, 发现 GLP 对 SGPT 升高具有拮抗作用, 并减少 LPO、MDA 含量, 具有护肝作用。

D-氨基半乳糖 (GalN) 诱发的动物肝损伤与人类急性重度肝炎相似, 丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST) 是评价肝炎的敏感指标。GLSP 能使 GalN 诱导的肝炎小鼠肝脏中 ALT、AST 含量降低 40~60 U/L, LPO、MDA 含量降低, 防止脂质过氧化, 维持膜的正常结构, 保护肝脏^[36]。

3.7 其他作用

通过小鼠骨髓嗜多染红细胞 (PCE) 微核实验发现, 环磷酸胺会诱导正常细胞染色体突变, GLSP 高剂量组细胞中环磷酸胺含量明显降低, 具有对抗染色体突变的效果^[37]。灵芝酸性蛋白多糖 (APBP) 对感染单纯疱疹病毒-1 (HSV-1)、HSV-2 的非洲绿猴肾细胞 Vero 抗病毒的半数最大效应浓度 (EC_{50}) 值分别为 300、440 mg/mL, APBP 与 α 干扰素协同具有更强的抗病毒能力^[38]。超氧化物歧化酶 (SOD) 活性是评价辐照后机体恢复水平的重要指标。用灵芝多糖合剂对经 4 Gy ^{60}Co 射线辐照的小鼠连续 ig 给药 40 d。采用 NBT 光化还原法检测发现, 给药组小鼠的 SOD 活性比对照组高 13.68%, 具有明显的抗辐射能力^[39]。GLSP 能激发小鼠腹腔酸性磷酸酶及 β -葡萄糖醛酸酶活性, 阻止免疫性肌炎大鼠肌肉组织中磷酸肌酸激酶 (CPK) 的下降及血清中 CPK 的升高, 并使肌肉炎症变性减轻, 具有抗炎症能力^[40]。

4 GLSP 的应用

由于 GLSP 具有多种药理活性, 已经在药品、食品等领域得到了广泛地应用。GLSP 用于肺癌的临床治疗并初获成效^[28]。中科院上海有机化学研究所开发了剂量为 20~50 mg/kg、剂型为冻干粉针剂

的 GLSP 注射剂。并利用 GLSP 抗癌症的功能, 将之与鱼腥草、半枝莲、蒲公英等组合, 研发得到能清热解毒、促使癌症早期患者康复的保健品^[41]。

在食品领域中, 已有多家公司生产了以 GLSP 为标志成分提高免疫力的国产保健食品, 如中科灵芝孢子胶囊、芳莲牌灵茶胶囊、金日牌蜂灵胶囊等。并将异麦芽糖醇和 GLSP 与辅料相结合, 研制出能增强免疫的 GLSP 含片^[42]。将 GLSP 和不同年份的普洱茶膏为主要原料, 研制出了具有清除自由基、抗衰老、提高 SOD 活性、降血糖等功效的保健茶品^[43]。

5 研究前景展望

目前已有的 GLSP 提取方法中依旧存在耗时长、工序繁琐等缺点, 传统的微波等提取方法使 GLSP 化学键遭到破坏而结构改变, 收率降低。高电压脉冲电场浸提技术 (PEF) 具有低温高效、速效经济等显著优点, 可以降低多糖提取过程中的不利改变, 利用高电位特性瞬间杀菌, 在功能食品领域具有广泛的应用前景, 已被证实能够应用于植物的多糖提取^[44]。高速剪切技术是广泛用于植物有效成分提取的一种高效易行节能的均质化技术, 已被应用于枸杞、浒苔等多糖的提取分离, 能够大幅提高收率^[45-46]。因此, 未来可将新技术与 GLSP 的提取相结合, 以在高效提取的同时, 实现环保节能循环利用。

现有的对多糖的一级结构的分析技术手段主要有化学分析、仪器分析和生物分析 3 类, 化学分析法作为经典方法存在消耗样品多、过程繁琐等缺点, 目前正被仪器、生物分析等方法所取代。原子力显微镜 (AFM) 可以利用原子探针直接观察三维空间内的分子链构型及尺寸, 观察与酶结合前后的支链的形态学差异判断分支点。免疫学方法利用抗原-抗体反应比较样品和已知结构糖的抑制常数, 判断未知结构的糖链的连接方式。对于 GLSP 高级结构的研究目前常用 X 射线衍射和圆二色谱, 上述多种方法均已应用于灵芝多糖的结构鉴定^[47-48]。

灵芝孢子粉作为灵芝的生殖细胞, 具有灵芝的全部遗传信息, GLSP 也因而具有比灵芝多糖更为优异的理化性质, 应用前景也更为广阔, 值得进行更加深入的研究。实验证明相同提取工艺下 GLSP 的收率比灵芝子实体多糖和菌丝多糖的收率高 1% 以上^[49-51], 此外, GLSP 在养肝护肝、抗辐射、抗基因突变、抗炎症等方面具有重要作用, 而此类作用并未在灵芝菌丝体多糖相关研究中得到证实^[52-53]。

现阶段关于灵芝的功能食品多以灵芝多糖作为

标志性成分, 已有多种以预防肝损伤、预防辐射, 提高免疫力等为目的的保健食品投入市场, 以灵芝为原料的具有美白、补水、防冻伤等功能的化妆品也已经问世, GLSP 作为灵芝多糖中活性强、收率高的成分, 可试用于上述各种产品^[54]。

6 结语

灵芝孢子中的主要化学成分与灵芝子实体部位相似, 包括蛋白质氨基酸类、多糖类和三萜类等。其中多糖和三萜是灵芝及其孢子的主要活性物质, 同时这两类物质的含量亦是评价灵芝质量的重要标准。目前常采用醇浸碱提酸沉法提取灵芝孢子粉中的三萜类化合物, 接着将醇提后的滤渣采用热水浸提醇析法分离多糖, 再将醇回收循环利用, 实现材料的充分巧用。

GLSP 主要有 5 种提取工艺, 以水提醇沉法最为经典, 也是工业生产提取最常用方法。包裹在孢子粉外层的几丁质纤维素严重阻碍了 GLSP 的提取, 粉碎程度的高低决定了多糖的提取率, 因此灵芝孢子粉的破壁技术也是影响 GLSP 提取利用的重要环节之一, 目前常用的破壁技术主要有物理法、机械法等, 但各破壁技术都有其自身不足, 未来应考虑将多种破壁方法结合应用, 各取所长、互补短板, 以提高破壁率, 增加多糖利用效率。

GLSP 具有调节免疫、抗肿瘤、抗辐射、抗基因突变、保肝等多种生物活性, 其中以抗肿瘤、抗氧化、调节免疫为研究热点, 其抗肿瘤作用已经得到了临床应用。未来的研究应将灵芝的抗肿瘤活性与调节免疫作用相结合, 在抗肿瘤的同时提高自身免疫力, 使其抗肿瘤功效显著提高, 也可辅助用于放疗后的免疫力恢复。

GLSP 作为灵芝的主要功效成分, 已经得到了市场的充分认可, 已有多种灵芝孢子粉保健食品上市, 但对 GLSP 结构的研究还不够深入, 仅解析了 SGL-IL-2、SGL-III、LB-NB、Lzps-1、GLP1 等少数几种多糖的初级结构, 未来还需要对 GLSP 展开更为广泛的深入研究, 在保证其安全性的前提下, 使其在抗肿瘤、调节免疫力、抗辐射等领域充分发挥作用, 为其综合开发利用提供系统、全面的依据。

参考文献

[1] 黄晓兰, 吴惠勤, 黄芳, 等. 破壁与不破壁灵芝孢子粉多糖的分析 [J]. 中草药, 2016, 37(6): 813-816.
[2] 赵桂梅, 张丽霞, 于挺敏, 等. 灵芝孢子粉水溶性多糖的分离、纯化及结构研究 [J]. 天然产物研究与开发,

2005, 17(2): 182-185.

- [3] 赵桂梅, 张丽霞, 于挺敏, 等. 灵芝孢子粉水溶性多糖 SGL-III 的结构研究 [J]. 中国药学杂志, 2006, 41(12): 902-904.
[4] 苗春瑞. 强电场技术萃取黑木耳多糖工艺优化 [J]. 安徽农业科学, 2014, 42(32): 11488-11491.
[5] 张丽霞. 灵芝孢子粉多糖的分离纯化及结构研究 [D]. 长春: 东北师范大学, 2005.
[6] 江艳, 王浩, 吕龙, 等. 灵芝孢子粉多糖 Lzps-1 的化学研究及其总多糖的抗肿瘤活性 [J]. 药学学报, 2005, 40(4): 347-350.
[7] 胡斌杰, 陈金锋, 王宫南. 超声波法与传统热水法提取灵芝多糖的比较研究 [J]. 食品工业科技, 2007, 28(2): 190-192.
[8] 张梅. 二次回归正交旋转组合设计优选灵芝孢子粉多糖的提取工艺 [J]. 闽江学院学报, 2017, 38(2): 79-84.
[9] 徐格非, 庞秀炳, 高向东. 微波辅助法提取灵芝多糖 [J]. 药学与临床研究, 2007, 15(4): 297-299.
[10] 李国香, 戴军, 朱松, 等. 微波辅助法提取赤灵芝孢子多糖及其相对分子质量分布分析 [J]. 食品与发酵工业, 2009, 35(12): 168-172.
[11] 董玉玮, 苗敬芝, 曹泽虹, 等. 酶法提取灵芝多糖的工艺研究 [J]. 食品科技, 2009, 34(6): 217-220.
[12] 于淑娟, 高大维, 李国基. 超声波酶法提取灵芝多糖的机理研究 [J]. 华南理工大学学报, 1998, 26(2): 123-127.
[13] 马晶晶. 高速离心剪切粉碎对灵芝孢子粉破壁及特性的影响 [D]. 武汉: 武汉理工大学, 2006.
[14] 黄璞. 黑灵芝孢子粉的化学组成及其破壁新工艺研究 [D]. 南昌: 南昌大学, 2007.
[15] 刘兴信. 挤压技术在谷物加工中的应用 [J]. 粮油食品科技, 2011, 19(2): 1-5.
[16] 焦艳丽, 温升南, 杜冰, 等. 挤压处理灵芝孢子粉提取灵芝多糖 [J]. 食品科学, 2011, 32(16): 67-70.
[17] 李绮, 李莹, 张鹏, 等. 超声-氮冻融处理对灵芝孢子粉多糖提取的影响 [J]. 辽宁大学学报: 自然科学版, 2004, 31(1): 81-82.
[18] 吴映明, 陈爱葵, 彭锦红, 等. 超声波-超低温冻融处理对灵芝孢子粉多糖提取的影响 [J]. 中国食用菌, 2008, 27(3): 34-35.
[19] Xing R, Liu S, Yu H H, *et al.* Preparation of high-molecular weight and high-sulfate content chitosans and their potential antioxidant activity *in vitro* [J]. *Carbohydr Polym*, 2005, doi: 10.1016/j.carbpol.2005.04.007.
[20] Tabata K, Ito W, Kojima T. Ultrasound degradation of schizophyllan, antitumor polysaccharide produced by schizophyllan commune fries [J]. *Carbohydr Res*, 1981, 89(1): 121-135.
[21] 张汇. 黑灵芝多糖的结构鉴定与溶液构象 [D]. 南昌: 南昌大学, 2015.

- [22] 张 坤, 钱一帆. 灵芝孢子多糖对荷瘤小鼠免疫功能的影响及其抗肿瘤活性的研究 [J]. 中华实用中西医杂志, 2006, 19(18): 2233-2236.
- [23] 冯 鹏. 灵芝孢子多糖对荷瘤小鼠的免疫调节作用 [J]. 中国药科大学学报, 2007, 28(2): 162-166.
- [24] 唐庆九, 张劲松, 潘迎捷, 等. 灵芝孢子粉碱提多糖对小鼠巨噬细胞的免疫调节作用 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2004, 20(2): 142-144.
- [25] 王鹏云, 王赛贞, 林树钱, 等. 灵芝孢子和破壁孢子多糖对体外培养的小鼠脾淋巴细胞及腹腔巨噬细胞免疫调节活性的比较 [J]. 北京大学学报, 2005, 27(6): 569-574.
- [26] 章灵华, 王会贤, 王立为, 等. 灵芝孢子粉提取物在体内外的免疫效应 [J]. 中国免疫学杂志, 1994, 10(3): 169-172.
- [27] Zhang J S, Tang Q J, Zhou C Y, *et al.* GLIS, a bioactive proteoglycan fraction from *Ganoderma lucidum*, displays anti-tumour activity by increasing both humoral and cellular immune response [J]. *Life Sci*, 2010, doi: 10.1016/j.lfs.2010.09.026.
- [28] Gao Y H, Zhou S F, Jiang W Q, *et al.* Effects of ganopoly (a *ganoderma lucidum* polysaccharide extract) on the immune functions in advanced-stage cancer patients [J]. *Immunol Invest*, 2005, 32(3): 201-215.
- [29] 冯翠萍, 王晓闻, 程旭东, 等. 灵芝孢子粉多糖的提取及其生物活性研究 [J]. 中国食品学报, 2009, 9(3): 58-61.
- [30] You Y H, Lin Z B. Protective effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides peptide on injury of macrophages induced by reactive oxygen species [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2002, 23(9): 787-791.
- [31] 徐评议, 杨海华, 刘悼霖. 灵芝孢子粉对脂多糖诱导多巴胺能神经元变性的影响 [J]. 中国神经疾病杂志, 2006, 32(3): 56-57.
- [32] 张 红, 刘 湧, 王建东. 灵芝孢子多糖 LactAcystin 诱导 PC12 细胞损伤的影响 [J]. 华西药学杂志, 2012, 27(4): 406-409.
- [33] Dimri G P. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin *in vivo* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92(20): 9363-9367.
- [34] 邹美圣, 刘 凌, 刘 泽, 等. 灵芝多糖对血管紧张素 II 诱导的血管内皮细胞衰老的干预研究 [J]. 现代中西医结合杂志, 2012, 21(13): 1386-1390.
- [35] 何学斌, 薛存宽, 沈 凯, 等. 灵芝多糖保护肝脏的实验研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2004, 24(6): 102-104.
- [36] 周 婕, 周宏星, 陈玉胜. 灵芝多糖对 D-氨基半乳糖所致小鼠急性肝损伤的保护作用 [J]. 中药药理与临床, 2014, 30(5): 84-86.
- [37] 杨星昊. 灵芝孢子粉对小鼠实验性突变和移植性肿瘤的影响 [J]. 第一军医大学学报, 2000, 20(3): 245-246.
- [38] Oh K W, Lee C K, Kim Y S. Antiherpetic activities of acidic protein bound polysaccharide isolated from *Ganoderma lucidum* alone and in combinations with acyclovir and vidarabine [J]. *J Ethnopharmacol*, 2000, 72(1): 221-227.
- [39] 吴京燕, 程光宇, 江海涛, 等. 灵芝多糖合剂抗辐射保健功能的研究 [J]. 南京师范大学学报, 2003, 26(3): 79-81.
- [40] 刘耕陶. 赤灵芝孢子粉水溶性提取物 (肌生注射液) 对小鼠的催眠镇静作用 [J]. 中药药理与临床, 2000, 16(6): 12-14.
- [41] 李润慈. 一种利于早期癌症自愈的保健品: 中国, CN201510671203.8 [P]. 2015-12-23.
- [42] 刘勇业. 一种破壁灵芝孢子粉多糖含片的制备工艺: 中国, CN201610954474.9 [P]. 2017-03-22.
- [43] 史有亮. 一种灵芝孢子粉保健普洱茶膏的制备工艺: 中国, CN20140100424.5 [P]. 2014-03-04.
- [44] 丁庆宇. 高电压脉冲电场浸提技术的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2012.
- [45] 杜津昊. 高速剪切技术辅助提取枸杞多糖工艺 [J]. 食品工业, 2017, 38(3): 128-132.
- [46] 魏鉴腾. 高速剪切辅助提取浒苔多糖的工艺研究 [J]. 食品工业科技, 2014, 35(19): 267-269.
- [47] 邵宝妹, 李中军, 林志彬, 等. 灵芝多糖免疫调节作用的分子机制研究 [A] // 中国免疫学会第四届学术大会会议议程及论文摘要集 [C]. 石家庄: 中国免疫学会, 2002.
- [48] 张 汇. 黑灵芝多糖的结构鉴定与溶液构象 [D]. 南昌: 南昌大学, 2015.
- [49] 邢宇双, 吴宜艳, 赵容杰, 等. 地产灵芝子实体与灵芝孢子粉中多糖含量对比 [J]. 牡丹江医学院学报, 2016, 37(5): 77-78.
- [50] 范 蕾, 余华丽, 陈张金, 等. 丽水地产灵芝子实体与灵芝孢子粉中灵芝烯酸 D、多糖及重金属元素的测定 [J]. 中国药师, 2016, 19(1): 36-39.
- [51] 于华崢, 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.
- [52] 刘莉莹. 茶病灵芝、树灵芝和无柄紫灵芝化学成分及生物活性研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2017.
- [53] 季修庆, 吴士良, 周迎会, 等. 灵芝多糖对 γ 射线照射后 NIH3T3 成纤维细胞细胞周期及细胞增殖的影响 [J]. 苏州医学院学报, 2001, 21(4): 379-382.
- [54] 熊 智. 灵芝在化妆品中的应用 [J]. 日用化学品科学, 2016, 39(3): 30-34.