

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2023.03.020

痂状炭角菌发酵豆渣产多糖的结构、 抗氧化和流变特性

吴建鑫, 孙苗苗, 韦章其, 刘国庆, 杨少华

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

摘要:文章通过痂状炭角菌固体发酵豆渣制备多糖,利用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)测定多糖的单糖组成及其比例,利用紫外可见近红外分光光度计、傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared, FTIR)和扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)表征多糖结构,并对发酵底物多糖的抗氧化和流变特性进行研究。结果表明,发酵底物多糖主要是由葡萄糖醛酸(63.63%)、半乳糖醛酸(1.65%)、葡萄糖(11.88%)、阿拉伯糖(1.45%)、岩藻糖(18.85%)构成的杂多糖;紫外光谱分析表明该多糖不含蛋白质和核酸;FTIR分析表明该多糖是具有糖醛酸的酸性多糖;SEM结果表明,该发酵底物多糖表面呈表面光滑的多网孔状结构;流变结果显示该多糖溶液是典型的非牛顿流体;在质量浓度为0~8 mg/mL时,抗氧化活性结果表明,该多糖具有清除ABTS、DPPH和羟基自由基的能力。

关键词:痂状炭角菌;多糖;结构鉴定;流变;抗氧化

中图分类号:Q815

文献标志码:A

文章编号:1003-5060(2023)03-0408-07

Structure and antioxidant and rheological properties of polysaccharide produced from okara fermented by *Xylaria escharoidea*

WU Jianxin, SUN Miaomiao, WEI Zhangqi, LIU Guoqing, YANG Shaohua

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

Abstract: The polysaccharide was prepared and purified from okara by solid fermentation of *Xylaria escharoidea*. The monosaccharide composition and proportion of the polysaccharide were determined by high performance liquid chromatography(HPLC). The structure of the polysaccharide was characterized by ultraviolet-visible-near infrared spectrophotometry, Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy and scanning electron microscope(SEM). The antioxidant and rheological properties of the polysaccharide of the fermentation substrate were studied. The results showed that the polysaccharide of the fermentation substrate was heteropolysaccharide composed mainly of glucuronic acid (63.63%), galacturonic acid(1.65%), glucose(11.88%), arabinose(1.45%) and fucose(18.85%). The UV spectrum showed that the polysaccharide did not contain protein and nucleic acid. The FTIR spectrum indicated that the polysaccharide was an acid polysaccharide with uronic acid. The SEM results showed that the polysaccharide surface of the fermentation substrate had a smooth multi-mesh structure. The rheological results showed that the polysaccharide solution was a typical non-Newtonian fluid. In the concentration range of 0-8 mg/mL, the results of antioxidant activity indicated that the polysaccharide had the ability to scavenge ABTS, DPPH and hydroxyl radicals.

Key words: *Xylaria escharoidea*; polysaccharide; structural identification; rheology; antioxidation

收稿日期:2021-03-17;修回日期:2021-04-28

基金项目:国家自然科学基金重点研发资助项目(2018YFD0502105)

作者简介:吴建鑫(1995—),男,安徽六安人,合肥工业大学硕士生;

刘国庆(1973—),男,安徽芜湖人,博士,合肥工业大学教授,硕士生导师,通信作者,E-mail:13675512000@163.com.

痂状炭角菌(*Xylaria escharoidea*)属于子囊菌亚纲、炭角目、炭角菌科、炭角菌属,是野外一种大型的真菌。其中炭角菌属真菌,较多报道的有黑柄炭角菌(*Xylaria nigripes*)、多形炭角菌(*Xylaria polymorpha*)、纵条纹炭角菌(*Xylaria striata*)等,但对于痂状炭角菌的研究在国内外报道较少^[1-2]。豆渣是大豆加工后的废弃物,富含膳食纤维、蛋白质等营养物质,也常作为微生物生长特性研究常用的有机物基质^[3-4]。

真菌在有机物基质中的生长过程中,有效利用基质中的物质产生胞外多糖等具有生物活性的次级代谢产物。真菌发酵底物中的成分比较复杂,所含有的多糖是由底物的多糖和真菌产生的胞外多糖分离纯化得到。这部分的发酵多糖也具有不低于真菌胞内多糖的良好生物活性^[5]。真菌发酵产生的多糖具有复杂结构的大分子杂多糖,杂多糖是由多种单糖构成,是由10个及以上糖醛酸、葡萄糖等单糖通过糖苷键组成的聚合物^[6-7]。真菌 *Fusarium solani* DO7 固体发酵米糠、豆渣等混合底物后,产生了由阿拉伯糖、葡萄糖、甘露糖和半乳糖等多种单糖构成的丰富杂多糖^[8]。由乳酸菌和粗糙脉胞霉混合发酵大豆而制备的可溶性多糖,能够改善底物多糖的性质,促进肠道益生菌生长,多糖表面微观结构发生显著改变^[9]。真菌发酵多糖具有独特的流变性质和抗氧化活性,并能够保护细胞免受氧化损伤^[10]。灵芝的发酵胞内和胞外多糖均呈现表观黏度较高和剪切变稀的特征^[11]。通过体外抗氧化实验表明,利用羊肚菌半固体处理豆渣产生的多糖具有一定的抗菌性和较高的抗氧化性^[12]。同样经乙醇沉淀后得到黑柄炭角菌的胞外多糖具有较好的抗氧化活性,且与官能团有较大的关系^[13]。

关于炭角菌发酵底物后水溶性多糖的结构、抗氧化以及动态流变性质的研究很少。本研究利用痂状炭角菌固体发酵处理豆渣,对底物中提取纯化的多糖性质进行测定,研究其单糖组成、多糖结构、凝胶特性以及抗氧化活性。为真菌发酵产多糖的开发和应用提供理论依据,也进一步对豆渣等废物利用提供思路。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

痂状炭角菌由本实验室从废弃白蚁窝中分离纯化获得。豆渣和麦麸购于安徽合肥当地农贸市场,将豆渣和麦麸 80 °C 烘干至恒重后,经粉碎

36 目孔过筛密封备用。单糖标准品(甘露糖、核糖、葡萄糖醛酸、鼠李糖、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖、木糖、阿拉伯糖、岩藻糖);1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)、无水乙醇、氯仿、正丁醇、HCl 溶液、NaOH 溶液、H₂O₂、K₂S₂O₈、PBS 缓冲液、FeSO₄、水杨酸、邻苯三酚均购于中国医药集团有限公司,均为分析纯。

DHR-3 旋转流变仪、LC-16 高效液相色谱仪(high performance liquid chromatography, HPLC)、RE-52AA 旋转蒸发器、Gemini 500 冷场扫描电子显微镜(scanning electron microscope, SEM)、SHP-250 生化培养箱、DHG-9146A 电热恒温鼓风干燥箱、Nicolet 傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared, FTIR)仪、NAI-T1-50 冷冻干燥机、H/T16MM 台式高速离心机、HH-S4 型数显恒温水浴锅、CARY 5000 紫外可见近红外分光光度计。

1.2 培养基的配制

活化培养基:新鲜马铃薯煮汁 20%,葡萄糖 20 g,琼脂 15 g, KH₂PO₄ 3 g, MgSO₄ 1.5 g, 维生素 B1 微量,用蒸馏水配置, pH 值自然。

种子培养基:新鲜马铃薯煮汁 20%,葡萄糖 20 g, KH₂PO₄ 3 g, MgSO₄ 1.5 g, 维生素 B1 微量,用蒸馏水配置 100 mL, pH 值自然。

发酵培养基:豆渣 30 g, 麦麸 7.5 g, MnSO₄ 0.05 g, MgSO₄ · 7H₂O 0.45 g, KH₂PO₄ 0.45 g, 水分控制在 75%, 装入 1 000 mL 三角瓶中搅拌均匀。

以上培养基均于 121 °C 高温条件下灭菌 20 min。

将保藏的痂状炭角菌接种于活化培养基培养 4 d 后,使用接种铲将表面直径 1 cm² 大小菌丝接种到种子培养基中, 28 °C、110 r/min 振荡培养 4 d 后,接种 3% 种子液到发酵培养基,整个实验操作在无菌操作台中进行。将发酵培养基置于 28 °C 培养箱中发酵 8 d。

1.3 实验方法

1.3.1 发酵粗多糖的提取与单糖组成测定

发酵结束后,收集发酵底物和发酵液,除去可见菌丝和子实体,加入少量蒸馏水混匀后通过重复抽滤得到发酵底液,向发酵液中加入 2 倍体积的 95% 乙醇溶液,震动混匀,4 °C 低温沉淀过夜,7 000 r/min 离心 10 min 后收集粗多糖沉淀,并将粗多糖冷冻干燥。取 10 mg 均重的粗多糖样品,置于 20 mL 安瓿瓶中,加入 5 mL 三氯乙酸

(2 mol/L)溶液,氮气封管后在 100 °C 水浴水解 2 h。水解液冷却后,加入 1 mL 甲醇,50 °C 旋转蒸发至干,重复 3 次。

衍生化过程如下:加入 300 μ L 蒸馏水复溶,向酸水解样品中加入 0.2 mL 0.3 mol/L NaOH,加入 200 μ L 0.5 mol/L PMP-甲醇溶液,70 °C 衍生 1 h,冷却后加 200 μ L 0.3 mol/L 盐酸中和,用三氯甲烷萃取多余衍生剂至澄清,水相用水定容至 2 mL,过 0.22 μ m 滤膜后上机。

标准品的制备:配置 5 mg/mL 的混合标准溶液以及不同质量浓度梯度的各个单糖标准液进行衍生化操作,步骤同上。

HPLC 色谱条件如下:Diamonsil-plus C18-A 色谱柱(4.6 \times 250 mm,5 μ m);柱温为 40 °C;检测波长为 245 nm;流速为 1 mL/min;进样体积为 50 μ L;流动相为 0.05 mmol/L 磷酸盐缓冲液(pH 值为 6.8)、乙腈,两者体积比为 84:16。

1.3.2 粗多糖纯化

向发酵提取液里加 2 倍体积的 95% 乙醇溶液,震动混匀,4 °C 低温沉淀过夜,7 000 r/min 离心 10 min 后收集沉淀。粗多糖干燥后复溶于纯水配制成 1% 溶液,用 Sevage 法去除蛋白,加入 Sevage 试剂(V(氯仿):V(正丁醇)=4:1)和多糖溶液以 1:2 比例混匀,剧烈震荡 10 min 后,8 000 r/min,离心 8 min,取上清液,反复 10 次左右至两相界面无白色沉淀,结束后使用酶标仪在 280 nm 下检测去蛋白效果。将多糖溶液在去离子水中透析 24 h,然后加入 2 倍体积的 95% 乙醇,混匀后 7 000 r/min 离心 10 min 收集沉淀,沉淀经过冷冻干燥后收集多糖保存。

1.3.3 FTIR 分析

采用 KBr 压片法对多糖进行 FTIR 分析,称取 1 mg 冷冻干燥后的多糖粉末,放于玛瑙研钵里,加 100 mg 已经干燥过的 KBr 晶体,混合研磨后用压片机压片至透明玻璃薄片状,操作在红外灯照下进行。FTIR 光谱仪去除空气噪音和空白背景扫描后,放置样品薄片扫描,设置扫描波数范围为 4 000~400 cm^{-1} 。

1.3.4 紫外光谱分析

称取多糖溶于蒸馏水配成 1 mg/mL 的溶液,使用紫外可见分光光度计进行紫外光谱扫描,扫描波长范围为 190~900 nm。

1.3.5 SEM 分析

取少量冻干多糖,放于导电胶固定后,粘在样品台上,使用橡胶吸球吹去多余样品,样品喷金处

理后,在 SEM 下观察多糖的表面形态。

1.3.6 多糖的流变特性

1.3.6.1 不同质量浓度多糖的表观黏度

按照文献[8]方法稍作修改,称取多糖完全溶解配置质量浓度为 3、6、9、12 mg/mL 的多糖溶液,取 1 mL 多糖溶液在流变仪平板上,测定不同质量浓度多糖的表观黏度和剪切力随剪切速率的变化。采用直径 40 mm 的平行板夹具,测试温度为 25 °C,剪切速率为 $10^{-2}\sim 10^3 \text{ s}^{-1}$ 。

1.3.6.2 不同温度条件下多糖的表观黏度

称取一定量的多糖配置成 5 mg/mL 的多糖溶液,静置 12 h 后,分别于 15、25、35、45 °C 条件下测定多糖溶液表观黏度随着剪切速率的变化^[14]。剪切速率为 $10^{-2}\sim 10^3 \text{ s}^{-1}$ 。

1.3.7 多糖的抗氧化活性

1.3.7.1 DPPH 自由基清除能力的测定

根据文献[15]报道的方法测定发酵液多糖的 DPPH 自由基的清除能力。称取 0.040 2 g 的 DPPH,用 95% 乙醇溶解并定容至 500 mL,配置不同质量浓度的多糖溶液,将 DPPH 溶液和多糖溶液各取 2 mL 分别混合,剧烈震荡放于暗处静置 30 min 稳定后,使用分光光度计在 517 nm 波长下测定其吸光度值。以蒸馏水代替样品溶液、95% 乙醇代替 DPPH 溶液,作为调零用。DPPH 自由基清除率计算公式为:

$$\text{DPPH 自由基清除率} = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\%,$$

其中: A_0 为蒸馏水代替样品的吸光度; A_1 为多糖样品溶液的吸光度; A_2 为 95% 乙醇溶液代替 DPPH 溶液(去除样品溶液本身的干扰)的吸光度。

1.3.7.2 ABTS 自由基清除能力的测定

将 10 mL 的 7 mmol/L ABTS 与 20 mL 的 2.45 mmol/L $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ 混合后,室温下暗反应 16 h,形成 ABTS 自由基储备液,使用前用 0.01 mol/L PBS 缓冲液稀释至 734 nm 波长处吸光度值为 0.70 ± 0.05 时,作为 ABTS 工作液。将 1 mL 不同质量浓度的多糖样品溶液与 4 mL ABTS 工作液混合,室温下静置反应 6 min,迅速反应测定在 734 nm 处的吸光度值, V_c 作为阳性对照。ABTS 自由基清除率计算公式如下:

$$\text{ABTS 自由基清除率} = \left(1 - \frac{A_1}{A_0}\right) \times 100\%,$$

其中: A_0 为蒸馏水代替样品的吸光度; A_1 为多糖样品溶液的吸光度。

1.3.7.3 羟基自由基清除能力的测定

向 2 mL 不同质量浓度的多糖溶液中,按顺

序加入 2 mL 的 9 mmol/L 的 FeSO_4 溶液, 2 mL 的 9 mmol/L 的水杨酸乙醇溶液、2 mL 的 8.8 mmol/L 的 H_2O_2 溶液, 混合后 37 °C 水浴反应 1 h 后, 于 510 nm 下测定吸光度值, 不含羟基的反应混合物作为对照, Vc 作为阳性对照。羟基自由基清除率计算公式如下:

$$\text{羟基自由基清除率} = \left(1 - \frac{A_1 - A_3}{A_0}\right) \times 100\%,$$

其中: A_0 为蒸馏水代替样品的吸光度; A_1 为多糖样品溶液的吸光度; A_3 为蒸馏水代替 H_2O_2 溶液(去除样品溶液本身的干扰)的吸光度。

1.4 数据统计分析

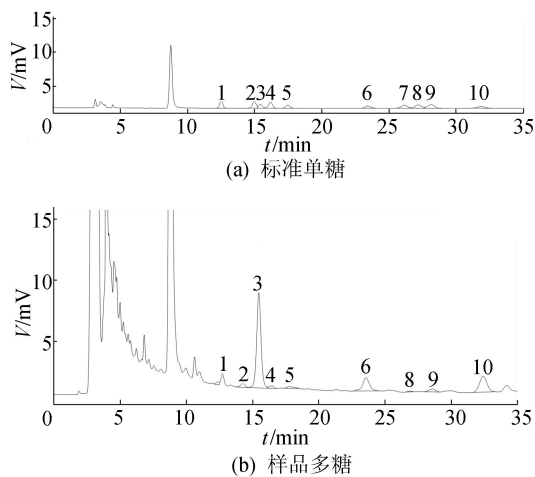
所有实验均重复 3 次取平均值, 采用 Origin 9 对数据绘图并进行分析。

2 结果与分析

2.1 单糖组成分析

单糖的标准品与底物多糖的单糖组成如图 1 所示。

由图 1 可知, 发酵后底物的粗多糖是由多种不同单糖组成的杂多糖, 其中葡萄糖醛酸的峰面积最大, 表明其质量分数最高。



1. 甘露糖 2. 核糖 3. 葡萄糖醛酸 4. 鼠李糖 5. 半乳糖醛酸
6. 葡萄糖 7. 木糖 8. 阿拉伯糖 9. 岩藻糖 10. 半乳糖

图 1 多糖的 HPLC 分析

根据不同梯度质量浓度混合单糖在图谱中峰面积进行 HPLC 分析, 得到各个单糖不同质量浓度对应所在峰位置的峰面积, 进行线性回归分析, 得到各单糖的回归方程, 见表 1 所列。根据回归方程计算多糖样品的各峰面积, 进一步得到疣状炭角菌底物发酵多糖中各单糖的质量分数以及相对摩尔比, 结果见表 2 所列。大豆可溶性多糖主要由半

乳糖醛酸、鼠李糖、阿拉伯糖以及半乳糖组成^[16], 从表 2 可以看出, 发酵底物得到的多糖主要由葡萄糖醛酸(63.63%)、半乳糖醛酸(1.65%)、葡萄糖(11.88%)、阿拉伯糖(1.45%)、岩藻糖(18.85%)构成, 其中葡萄糖醛酸质量分数最高, 相对摩尔比为 112.06; 其次是岩藻糖, 相对摩尔比为 39.22。可见经发酵后, 底物的多糖单糖组成结构有所改变。

表 1 单糖的回归方程

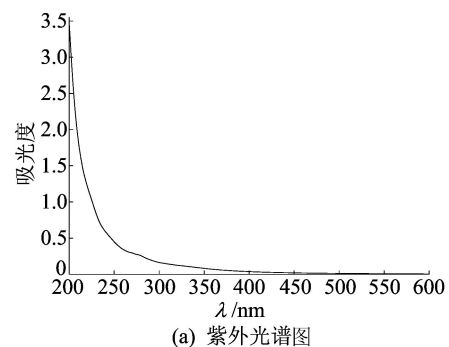
单糖	回归方程	相关系数
甘露糖	$y=259.158x$	$R^2=0.999\ 867\ 4$
鼠李糖	$y=194.170x$	$R^2=0.999\ 608\ 6$
葡萄糖	$y=118.690x$	$R^2=0.999\ 359\ 2$
半乳糖	$y=151.565x$	$R^2=0.999\ 691\ 8$
阿拉伯糖	$y=207.186x$	$R^2=0.999\ 479\ 8$
核糖	$y=305.207x$	$R^2=0.999\ 863\ 5$
岩藻糖	$y=99.911x$	$R^2=0.998\ 076\ 6$
木糖	$y=246.650x$	$R^2=0.999\ 875\ 8$
葡萄糖醛酸	$y=102.841x$	$R^2=0.997\ 354\ 5$
半乳糖醛酸	$y=130.145x$	$R^2=0.999\ 706\ 0$

表 2 单糖的质量分数与相对摩尔比

单糖	$w/\%$	相对摩尔比
甘露糖	0.52	0.99
鼠李糖	0.92	1.91
葡萄糖	11.88	22.54
半乳糖	—	—
阿拉伯糖	1.45	3.32
核糖	0.92	2.09
岩藻糖	18.83	39.22
木糖	0.18	0.41
葡萄糖醛酸	63.63	112.06
半乳糖醛酸	1.65	2.91

2.2 多糖的 FTIR 和紫外光谱分析

发酵底物多糖的紫外光谱和 FTIR 分析结果, 如图 2 所示。



(a) 紫外光谱图

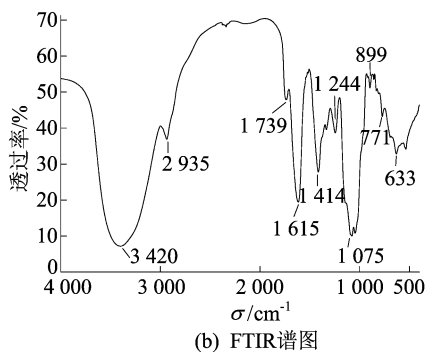


图 2 多糖的紫外光谱图和 FTIR 谱图

由图 2a 可知,在 260 nm 附近处无明显吸收峰,表明实验制得底物发酵多糖中不存在蛋白质和核酸^[17]。由图 2b 可知,在波数为 3 420 cm^{-1} 处有个强烈而宽的吸收峰,同样在 2 935 cm^{-1} 处也有一个吸收峰,分别代表 O—H 和 C—H 的伸缩振动,此为糖类物质的特征吸收峰^[18]; 1 739、

1 615 cm^{-1} 附近的吸收峰是由 C=O 和 COO—的伸缩振动引起的,表明有糖醛酸的存在^[19-20]; 1 414 cm^{-1} 处的吸收峰可能是由于—COOH 中 C—O 伸缩振动引起;1 244 cm^{-1} 处出现的吸收峰是乙酰基 (C—O) 伸缩振动的结果^[21]; 1 075 cm^{-1} 处吸收峰与糖环上 C—O—H 变形振动有关,771 cm^{-1} 是吡喃环对称环伸缩振动峰^[22],899 cm^{-1} 附近的吸收峰说明该多糖可能含 α -或 β -糖苷键^[23]; 633 cm^{-1} 处的吸收峰是 C—H 引起的,可判断为多糖类物质的特征峰^[24]。

2.3 多糖的 SEM 分析结果

底物多糖的 SEM 图如图 3 所示。从图 3a 可以看出,多糖总体表面具有许多大小不一的空洞,呈现多孔网状结构,且互相连接紧密,从图 3b 和图 3c 可以看出多糖的表面比较平滑,具有层次感。

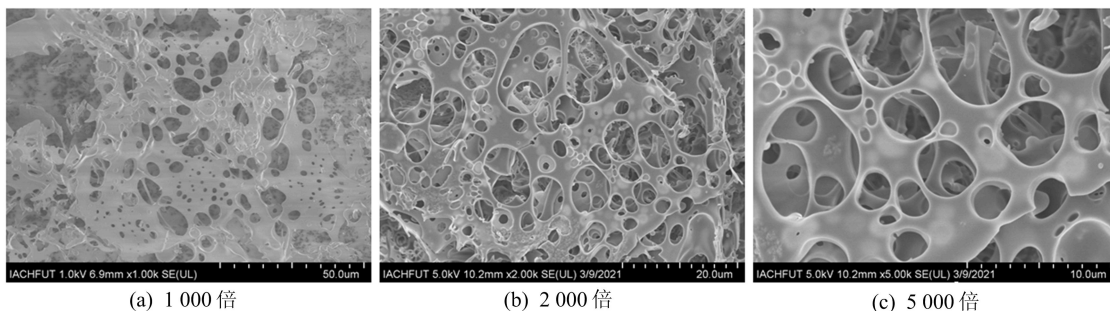


图 3 多糖的 SEM 图

2.4 多糖的流变性质分析

2.4.1 多糖质量浓度对表观黏度的影响

测定多糖流变是研究多糖复杂结构和凝胶特性的有效手段,以不同条件下多糖的表观黏度常用来描述其流变学特性^[25]。在 25 $^{\circ}\text{C}$ 条件下,测试多糖质量浓度的表观黏度对范围为 $10^{-2} \sim 10^3 \text{ s}^{-1}$ 剪切速率的依赖性,结果如图 4 所示,从图 4 可以看出,在同一剪切速率下,随着多糖质量浓度的增大,发酵底物多糖的表观黏度不断增大,这是由于质量浓度增大,多糖链间距离更小,分子重叠并相互作用交联,导致黏度较大。在剪切速率高于 10 s^{-1} 时,随着剪切速率的增大,不同质量浓度多糖的表观黏度都普遍呈现逐渐下降的趋势,表现出剪切稀化现象。剪切速率的增加会破坏多糖的网状结构,分子链间的纠缠被破坏,导致分子链的方向变得随机,相互链之间的作用力减小,表观黏度降低,当剪切速率达到一定程度时,表观黏度不再变化。

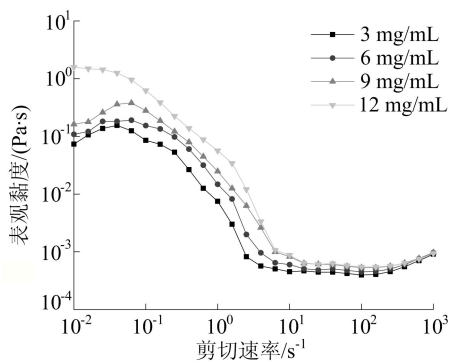


图 4 多糖溶液质量浓度对表观黏度的影响

2.4.2 温度对多糖表观黏度的影响

多糖质量浓度设置为 5 mg/mL 情况下,研究不同剪切速率情况下温度对多糖表观黏度的影响如图 5 所示,从图 5 可以看出,随着温度升高,发酵底物多糖的表观黏度降低,这是由于温度升高加速了分子链的热运动,打破原本的有序结构,同样热膨胀增大了分子间距,削弱了分子间的相互作用力,使得黏度降低^[26]。

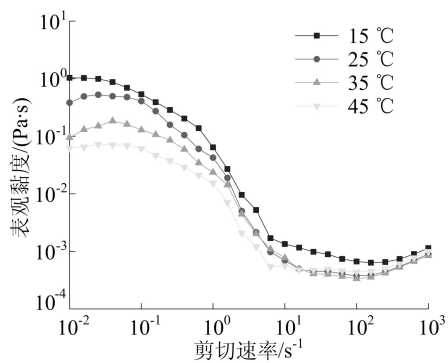
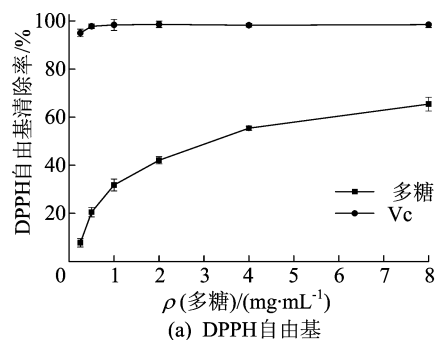


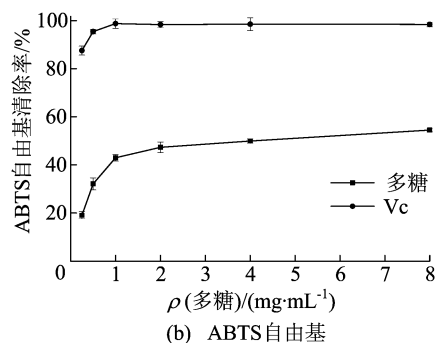
图5 温度对多糖表观黏度的影响

2.5 多糖的抗氧化活性分析

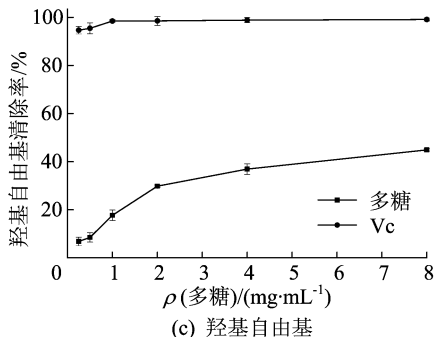
经痂状炭角菌发酵后底物中多糖对 DPPH、ABTS 和羟基自由基的清除结果如图 6 所示。



(a) DPPH 自由基



(b) ABTS 自由基



(c) 羟基自由基

图6 多糖的抗氧化活性结果

由图 6 可知,发酵底物多糖对 3 种自由基均表现出较好的清除效果,且随多糖质量浓度的增加消除效果增强,存在明显的剂量效益关系。当

多糖质量浓度为 8 mg/mL 时,多糖对 DPPH、ABTS 和羟基自由基的清除率分别为 65.42%、54.50%、44.90%,其中对 DPPH 自由基清除效果最好,但与 Vc 相比,还是有较大的差距。

3 结 论

炭角菌具有降解豆类物质的效果,改善底物营养成分以及生物活性的同时,痂状炭角菌本身也能够产生具有抗氧化活性的胞外多糖^[27-28]。本实验结合痂状炭角菌发酵豆渣,固体发酵产生多糖,包含了真菌的胞外多糖以及底物转性产生多糖的复杂组合。本文研究发现发酵底物多糖主要成分为葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、葡萄糖、阿拉伯糖、岩藻糖。FTIR 分析结果表明,与已经报道的未处理的大豆可溶性多糖相比,多糖在 1 739 cm^{-1} 处有明显的吸收峰,可能是与多糖中醛酸中 C=O 伸缩振动有关,符合单糖测定结果^[9]。本研究测定了发酵多糖质量浓度和温度对多糖表观黏度的影响,研究结果表明,痂状炭角菌发酵多糖表观黏度随质量浓度的增加而增加,随温度的升高而降低,且表现出剪切稀化的现象,具有假塑性流体性质,可以为新的食品增稠剂或稳定剂开发利用提供思路。本文研究的发酵多糖抗氧化活性的结果表明,纯化的多糖具有一定清除 ABTS、DPPH 和羟基自由基的能力。

[参 考 文 献]

- [1] CHEN C H, SU C H, LAI M N, et al. Differences in water soluble non-digestible polysaccharides and anti-inflammatory activities of fruiting bodies from two cultivated *Xylaria nigripes* strains[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2018, 116: 728-734.
- [2] CHRISTIANE L, RENE U, MAREK P, et al. Production, purification and partial enzymatic and molecular characterization of a laccase from the wood-rotting ascomycete *Xylaria polymorpha* [J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2007, 41: 785-793.
- [3] LI B, QIAO M, LU F. Composition, nutrition, and utilization of okara (Soybean Residue)[J]. *Food Reviews International*, 2012, 28: 231-252.
- [4] SHI H, ZHANG M, WANG W Q, et al. Solid-state fermentation with probiotics and mixed yeast on properties of okara[J]. *Food Bioscience*, 2020, 36: 1-8.
- [5] 刘城移,袁源,郝心怡,等. 蝉虫草菌丝体胞内和胞外多糖抗肝细胞氧化损伤比较研究[J]. *菌物学报*, 2020, 39(2): 421-433.
- [6] XIE J H, JIN M L, MORRIS G A, et al. Advances on bioac-

- tive polysaccharides from medicinal plants[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2016, 56:60-84.
- [7] 何坤明, 王国锭, 白新鹏, 等. 山茱萸籽多糖分离纯化、结构表征及抗氧化活性[J]. *食品科学*, 2021, 42(19):81-88.
- [8] ZENG Y J, YANG H R, WU X L, et al. Structure and immunomodulatory activity of polysaccharides from *Fusarium solani* DO7 by solid-state fermentation[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 137:568-575.
- [9] LIN D, LONG X M, XIAO L J, et al. Study on the functional properties and structural characteristics of soybean soluble polysaccharides by mixed bacteria fermentation and microwave treatment[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 157:561-568.
- [10] LIU X, HOU R L, XU K Q, et al. Extraction, characterization and antioxidant activity analysis of the polysaccharide from the solid-state fermentation substrate of *Inonotus hispidus*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 123:468-476.
- [11] 高坤, 冯杰, 颜梦秋, 等. 灵芝液态发酵高产胞外多糖菌株筛选及多糖特性分析[J]. *菌物学报*, 2019, 38(6):886-894.
- [12] 姚珩, 朱慧, 陈野, 等. 羊肚菌发酵豆渣生产多糖及其功能性的研究[J]. *食品研究与开发*, 2017, 38(9):149-153.
- [13] CHANG C K, HO W J, CHANG S L, et al. Fractionation, characterization and antioxidant activity of exopolysaccharide from fermentation broth of a *Xylaria nigripes*[J]. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 2018, 16:37-42.
- [14] LI Y, WANG X, LV X, et al. Extractions and rheological properties of polysaccharide from okra pulp under mild conditions[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 148:510-517.
- [15] 乔杨波, 蔡庭秀, 刘哲, 等. 狭果茶藨子果实多糖提取及其抗氧化和流变特性[J]. *天然产物研究与开发*, 2021, 33(2):198-207.
- [16] 傅晶依, 王思琪, 丁修庆, 等. 大豆多糖的提取、分离纯化与功能的研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2020, 41(13):213-218.
- [17] YU G, ZHANG Q, WANG Y, et al. Sulfated polysaccharides from red seaweed *Gelidium amansii*; structural characteristics, anti-oxidant and anti-glycation properties, and development of bioactive films[J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 119:1-13.
- [18] 顾欣, 高涛, 刘梦雅, 等. 梁平柚柚皮多糖的提取工艺优化、结构解析及抗氧化能力研究[J]. *食品与发酵工业*, 2021, 47(7):137-145.
- [19] ZHANG H, CHEN Y, WANG S, et al. Extraction and comparison of cellulose nanocrystals from lemon (*Citrus limon*) seeds using sulfuric acid hydrolysis and oxidation methods[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2020(238):1-10.
- [20] XU Y Q, CAI F, YU Z Y, et al. Optimisation of pressurised water extraction of polysaccharides from blackcurrant and its antioxidant activity [J]. *Food Chemistry*, 2016, 194:650-658.
- [21] 岳雨曦, 王小燕, 柏丁丁, 等. 野阳合多糖及其纯化组分对胆汁酸的结合能力[J]. *食品科学*, 2018, 39(12):154-160.
- [22] 伍燕, 徐峰, 李小双, 等. 皱盖疣柄牛肝菌多糖 LRP-I 和 LRP-II 结构表征及抗氧化活性分析[J]. *食品工业科技*, 2020, 41(21):8-14.
- [23] WEN L R, GAO Q, MA C W, et al. Effect of polysaccharides from *Tremella fuciformis* on UV-induced photoaging [J]. *Journal of Functional Foods*, 2016, 20:400-410.
- [24] 林诺怡, 刘祎帆, 王琴, 等. 金柚幼果多糖的结构鉴定与免疫调节作用[J]. *现代食品科技*, 2020, 36(9):1-8.
- [25] ZHANG L N, ZHANG H Y, ZHAO Y F, et al. Chemical structure, chain conformation and rheological properties of pectic polysaccharides from soy hulls [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 149:41-48.
- [26] WANG B, ZHANG W M, BAI X P, et al. Rheological and physicochemical properties of polysaccharides extracted from stems of *Dendrobium officinale*[J]. *Food Hydrocolloids*, 2020, 103:1-12.
- [27] DIVATE R D, WANG C C, CHOU S T, et al. Using wheat bran and soybean meal as solid state fermentation substances for the production of *Xylaria nigripes* with bioactivities[J]. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2017, 70:127-133.
- [28] 邵雪莲. 痂状炭角菌的液体优化培养及其生物活性的研究[D]. 福州:福建农林大学, 2012.

(责任编辑 闫杏丽)