微波超声波组合提取猴头菇多糖工艺优化及其抗氧化活性

和法涛， 刘光鹏， 朱风涛， 赵 岩， 初 乐， 崔春红
（中华全国供销总社 济南果品研究院，山东 济南 250014）

摘要：通过单因素试验分别考察粉碎粒度、料液体积质量比、提取温度、提取时间、微波功率和超声波功率对猴头菇多糖提取得率的影响，确定各因素的适宜水平。在单因素试验基础上，应用Box-Behnken试验设计和响应面分析法，探讨料液体积质量比、提取温度、提取时间和超声波功率对提取猴头菇多糖得率的影响。响应面优化结果表明，微波超声波组合提取猴头菇多糖的最优工艺为：粉碎粒度20目、液料体积质量比20 mL/g、提取温度74 ℃、提取时间16 min、微波功率200 W、超声波功率1 052 W。在最优工艺条件下，多糖得率为6.44%，非常接近预测值，说明所以优化的提取工艺参数可靠。体外抗氧化活性结果表明，微波超声波组合提取的猴头菇多糖抗氧化活性较高，对羟基自由基、DPPH自由基和超氧阴离子自由基清除作用显著，可以作为一种良好的天然抗氧化剂。

关键词：微波超声波；猴头菇多糖；提取工艺；抗氧化性
中图分类号：TS 207.3　　**文献标志码**：A　　DOI：10.3969/j.issn. 1673-1689.2019.01.012

Optimization of Microwave-Ultrasonic Assisted Extraction of Polysaccharides from *Hericium erinaceus* Antioxidant Activity in vitro

HE Fatao， *LIU Guangpeng*， *ZHU Fengtao*， *ZHAO Yan*， *CHU Le*， *CUI Chunhong*
（Jinan Fruit Research Institute，All China Federation of Supply and Marketing Cooperatives，Ji'nan 250014，China）

Abstract：A series of single-factor experiments were made to investigate the effects of particle size，liquid-to-solid ratio，extraction temperature，extraction time，microwave power，ultrasonic power. On the basis of single factor investigation，response surface methodology（RSM）based on Box-Behnken experimental design was used to explore the effect of liquid-to-solid ratio，extraction temperature，extraction time and ultrasonic power on extraction efficiency.The optimum process parameters for an integrated microwave and ultrasonic reaction system extraction process were obtained as：particle size 20，the ratio of water to material 20 mL/g，extraction temperature 74 ℃，extraction time 16 min，microwave power 200 W，ultrasonic power 1 052 W，6.44% of the yield of polysaccharide was achieved. The predicted values for optimization process conditions were in good agreement with

收稿日期：2016-08-24
基金项目：国家“十二五”科技支撑计划项目（2014BAL07B05）。
作者简介：和法涛（1979—），男，副研究员，主要从事果蔬采后加工技术研究。E-mail：fataohe@163.com
引用本文：和法涛，刘光鹏，朱风涛，等. 微波超声波组合提取猴头菇多糖工艺优化及其抗氧化活性[J]. 食品与生物技术学报，2019，38（01）：74-82.

experimental data,indicating that the optimum process parameters by RMS were reliable. The Hericium erinaceus polysaccharides showed potential scavenging activity against hydroxyl hydroxyl, superoxide anionradical and DPPH. This study indicates that Hericium erinaceus polysaccharides are a good source of natural antioxidants.

Keywords: microwave -ultrasonic extraction,*Hericium erinaceus* of polysaccharides,extraction process,antioxidant activity

猴头菇是一种药食两用菌,其主要活性物质是多糖。研究表明,猴头菇多糖具有提高免疫力、抗衰老和抗肿瘤等功效[1-5],在医药和保健食品领域有广泛应用,猴头菇多糖的提取方法具有重要意义。

传统的多糖提取采用热水提取法,该法耗时长且效率不高[6-7]。将超声波的空化效应和机械效应以及微波的热效应在多糖、黄酮提取中的应用已有相关研究报道[8],但有关微波超声波组合提取猴头菇多糖的研究报道还较少。作者通过单因素试验和响应面法(RSM)优化提取工艺,研究了猴头菇多糖体外抗氧化活性,为猴头菇多糖生产提供一定的依据。

1 材料与方法

1.1 材料

猴头菇:购于金唐食品有限公司。

1.2 实验仪器

电子分析天平:德国 Sartrius 公司产品;万能粉碎机:天津市泰斯特仪器有限公司产品;微波超声波组合萃取仪(微波功率:0~1 000 W;超声波功率:0~1 500 W 连续可调(微波频率:2 450 MHz;超声波频率:25 kHz):北京祥鹄科技发展有限公司产品;紫外可见分光光度计:北京普析通用仪器有限公司产品。

1.3 检测方法

1.3.1 多糖检测 苯酚-硫酸法[9]。

1.3.2 还原糖检测 菲林试剂法[10]。

1.3.3 羟基自由基清除实验 Fenton 模型法[11]。

1.3.4 DPPH 自由基清除活性实验 参考文献[12]进行。

1.3.5 超氧阴离子自由基清除实验 邻苯三酚自氧化法[13]。

1.4 微波超声波组合实验设计

1.4.1 单因素优化实验 称取一定量的猴头菇粉置于异型三孔烧瓶中,按一定水料比加入蒸馏水,选择猴头菇粉碎粒度、提取温度,水料体积质量比、提取时间、超声波功率、微波功率为实验因素,以多糖得率为衡量指标,每次改变一个因素进行不同单因素实验。为响应面法优化猴头菇多糖提取工艺提供基础。

1.4.2 响应面法优化提取工艺 在单因素条件下初步确定适合猴头菇多糖微波超声波组合提取的工艺参数,再运用响应面软件进行优化分析,优化微波超声波组合法提取猴头菇多糖的工艺条件,并进行验证实验,证实响应面优化方法的可靠性。

1.5 统计分析

运用 Microsoft Excel、Design Expert 8.0 软件对实验数据进行统计学分析和显著性分析,$p<0.05$ 表示具有显著性差异,$p<0.000\,1$ 表示具有极显著性差异。

2 结果与分析

2.1 单因素试验

2.1.1 猴头菇粉粒度对多糖得率的影响 当水料体积质量比为 20 mL/g、提取温度 70 ℃、提取时间 15 min、微波功率 200 W、超声波功率 1 000 W 的条件下,选取过筛孔为 1 980、900、550、380、250、180 μm 的猴头菇粉进行提取猴头菇多糖实验,考察猴头菇粉粒度对多糖得率的影响,结果见图 1。

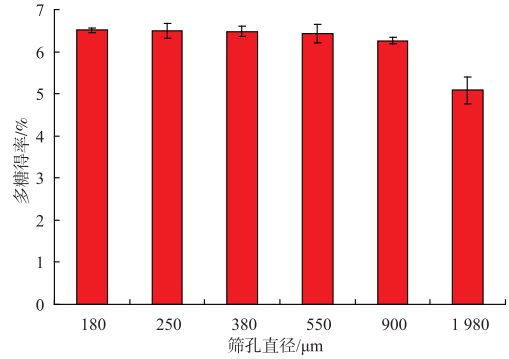


图 1 猴头菇粉粒度大小对多糖得率的影响

Fig. 1 Effect of particle size on the yield of Hericium erinaceus polysaccharides

由图 1 可知,在其它提取条件一定时,猴头菇粉粒度大于 550 μm 对多糖得率有较大影响，多糖得率随着猴头菇粉过筛筛孔的减小增加较明显;当猴头菇粉粒度小于 550 μm 时,多糖得率增加缓慢。原因可能是微波和超声波对细胞壁的破坏作用,加大了细胞内部有效成分的释放[14-15],使得猴头菇粉碎粒度较小的情况下也能够得到较高的多糖得率。结合实验数据和实际生产,选择猴头菇粉过筛筛孔的大小为 550 μm。

2.1.2 水料比对多糖得率的影响　在猴头菇粉过 550 μm 筛孔、70 ℃提取、提取 15 min、微波功率 200 W、超声波功率 1 000 W 的条件下,选取水料体积质量比分别为 10、15、20、25、30 mL/g 调浆，考察水料体积质量比对猴头菇多糖得率的影响,结果见图 2。

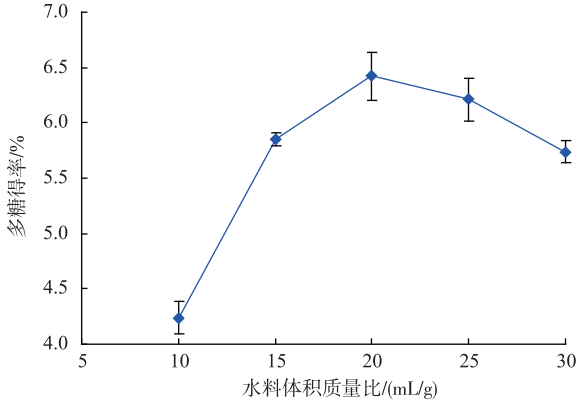


图 2　水料体积质量比对多糖得率的影响

Fig. 2　Effects of the ratio of water to material on the yield of *Hericium erinaceus* polysaccharides

如图 2 所示,在其他条件一定时,猴头菇多糖得率随着水料体积质量比的增加先增大后减小,在水料体积质量比为 20 mL/g 时，猴头菇多糖的得率取得最大值。这是因为在水料体积质量比较小的情况下,较少的溶液使得多糖的浸出率较低;当水料比较大时,较多的溶液就容易造成超声波的空化效应,使其大部分作用在溶剂上而不是作用在物料上进而造成多糖得率的降低[16]。根据实验结果,猴头菇多糖提取的水料体积质量比为 20 mL/g 左右。

2.1.3 提取温度对多糖得率的影响　在猴头菇粉过 550 μm 筛孔、水料体积质量比 20 mL/g、提取 15 min、微波功率 200 W、超声波功率 1 000 W 的条件下,设定提取温度分别为 50~90 ℃时,考察提取温度对猴头菇多糖得率的影响,结果见图 3。

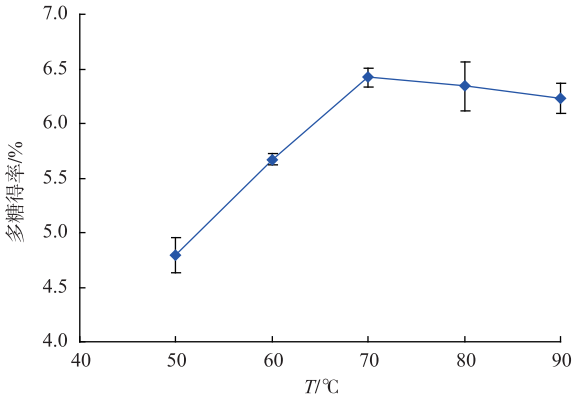


图 3　提取温度对多糖得率的影响

Fig. 3　Effects of extraction temperature on the yield of *Hericium erinaceus* polysaccharides

由图 3 可得,在其他条件一定时,提取温度为 50~70 ℃对多糖浸出率有较大影响，随着提取温度的升高多糖得率明显增加;当提取温度 70 ℃时,多糖得率取得实验最大值;提取温度 70~90 ℃的多糖得率随提取时间增加呈缓慢下降趋势。分析原因可能是超声波在较高温度下对猴头菇多糖的结构有一定的破坏作用,从而使得猴头菇多糖的浸出率随温度的升高呈下降趋势[15]。由实验结果,猴头菇多糖的提取温度应为 70 ℃左右。

2.1.4 提取时间对多糖得率的影响　在猴头菇粉过筛孔大小为 550 μm、水料体积质量比 20 mL/g、提取温度 70 ℃、微波功率 200 W、超声波功率 1 000 W 的条件下，设定提取时间分别为 5~25 min 时，进行微波超声波组合提取猴头菇多糖实验,考察提取时间对多糖得率的影响,所得结果见图 **4**。

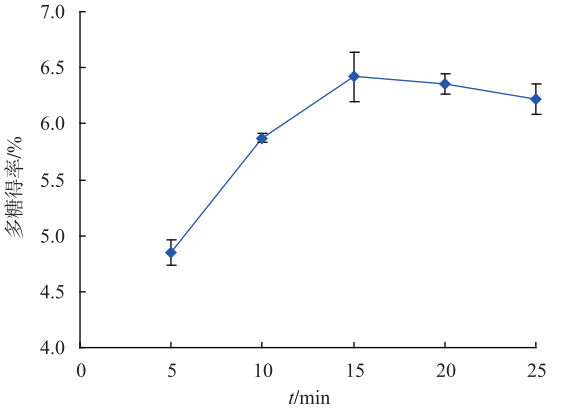


图 4　提取时间对多糖得率的影响

Fig. 4　Effects of extraction time on the yield of *Hericium erinaceus* polysaccharides

图 4 可知,在其他条件一定时,提取 5~15 min

对多糖得率影响显著,随提取时间延长,多糖得率增加明显;提取 15 min 时,多糖得率得到实验最大值;提取 15~25 min 的多糖得率随提取时间增加呈下降趋势。这是因为超声波产生的强烈空化效应、高的加速度、强烈的振动等,加速了多糖成分进入溶剂,从而利于多糖的浸出,但超声波作用时间过长会使部分多糖结构被破坏,进而影响了多糖得率。结合实验结果,选择猴头菇多糖的提取时间为 15 min 左右。

2.1.5 *微波功率对多糖得率的影响* 在猴头菇粉过 550 μm 筛孔、水料体积质量比 20 mL/g、提取温度 70 ℃、提取 15 min、超声波功率 1 000 W 的条件下,选取微波功率分别为 100~500 W 时,进行微波超声波组合提取猴头菇多糖实验,考察微波功率对多糖得率的影响,所得结果见图 5。

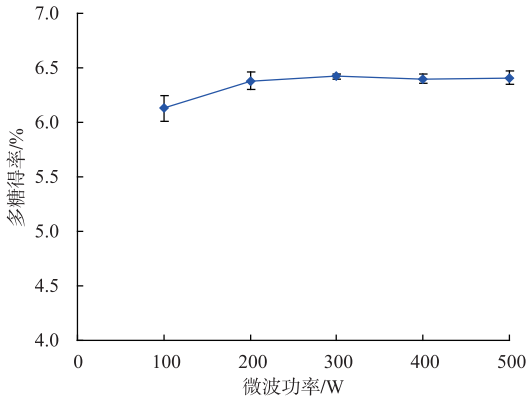


图 5 微波功率对多糖得率的影响

Fig. 5 Effects of microwave power on the yield of *Hericium erinaceus* polysaccharides

如图 5 所示,在其他条件一定时,微波功率 100~200 W 对多糖得率有较大影响,随微波功率的增大多糖得率呈增加趋势;微波功率大于 200 W 时,多糖得率缓慢减小。这是因为微波辐射可导致细胞内的水分子吸收微波能形成汽化水,其具有较大的冲击力,可致使细胞的细胞膜和细胞壁产生微小的空洞和裂纹,促进了胞内多糖的释放,从而提高了多糖的浸出率。而微波功率大于 200 W 条件下,多糖得率稍微下降的原因可能是由于较大的微波功率使提取液温度较高,多糖的结构被破坏[17]。

2.1.6 *超声波功率对多糖得率的影响* 在猴头菇粉过 550 μm 筛孔、水料体积质量比 20 mL/g、提取温度 70 ℃、提取 15 min、微波功率 200 W 的条件下,设定超声波功率分别为 600~1 400 W 时,进行微波超声波组合提取猴头菇多糖实验,考察超声波功率对多糖得率的影响,所得结果见图 6。

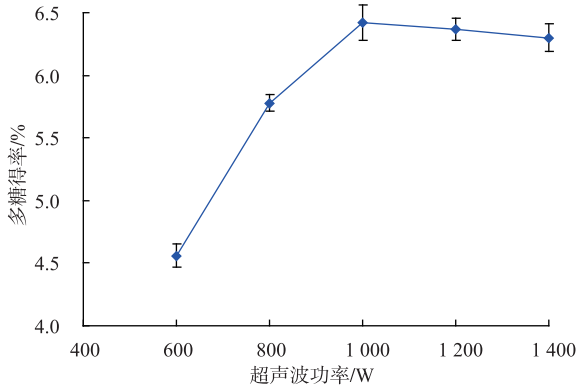


图 6 超声波功率对多糖得率的影响

Fig. 6 Effects of ultrasonic power on the yield of *Hericium erinaceus* polysaccharides

图 6 可见,在其他条件一定时,超声波功率 600~1 000 W 对多糖得率影响很大,随着超声波功率的增大多糖得率明显增加;超声波功率为 1 000 W 时,多糖得率为实验最大值;超声波功率大于 1 000 W 的多糖得率随超声波功率增加呈缓慢下降趋势。其原因可能是超声波产生的强烈空化效应、高的加速度、强烈的振动等,加速了多糖成分进入溶剂,从而利于多糖的浸出,但超声波作用功率过大会破坏部分多糖结构,进而影响多糖得率。根据实验结果,选择猴头菇多糖的超声波提取功率为1 000 W 左右。

2.2 响应面实验

2.2.1 *响应面分析方案、实验结果及方差分析* 根据 Design Expert 8.0 软件的 Box-Behnken 实验设计原理,结合单因素实验的结果,确定猴头菇粉过筛孔大小为 550 μm,微波功率 200 W,选取对多糖得率影响显著的水料体积质量比(A)、提取温度(B)、提取时间(C)、超声波功率(D)为考察因素,用 1、0、−1 来表示高、中、低 3 水平,把多糖得率(Y)作为响应值,进行 4 因素 3 水平响应面优化实验,响应面实验设计因素与水平取值见表 1,实验设计及实验结果见表 2。

利用响应面软件对表 2 中的实验数据进行回归分析,对各因素回归拟合后得到多糖得率对各因素的回归方程:

$$Y=6.41+0.21A+0.29B+0.19C+0.12D-0.26AB-0.17AC-0.22AD-0.14BC+0.04BD-0.07CD-0.20A^2-$$

$0.34B^2-0.23C^2-0.22D^2$

表 1　响应面实验设计因素与水平

Table 1　Code and level of variables chosen for the trials

水平	水料体积质量比 A/(mL/g)	提取温度 B/℃	提取时间 C/min	超声波功率 D/W
−1	15	60	10	800
0	20	70	15	1 000
1	25	80	20	1 200

表 2　Box–Behnken 实验设计与响应值

Table 2　Box–Behnken experimental design arrangement and responses

试验号	A	B	C	D	多糖得率 Y/%	
					实际值	预测值
1	−1	−1	0	0	5.11	5.10
2	1	−1	0	0	6.10	6.04
3	−1	1	0	0	6.24	6.21
4	1	1	0	0	6.17	6.09
5	0	0	−1	−1	5.68	5.58
6	0	0	1	−1	6.14	6.09
7	0	0	−1	1	6.00	5.96
8	0	0	1	1	6.18	6.19
9	−1	0	0	−1	5.40	5.44
10	1	0	0	−1	6.33	6.29
11	−1	0	0	1	6.10	6.12
12	1	0	0	1	6.14	6.09
13	0	−1	−1	0	5.21	5.22
14	0	1	−1	0	6.04	6.07
15	0	−1	1	0	5.91	5.86
16	0	1	1	0	6.2	6.17
17	−1	0	−1	0	5.42	5.41
18	1	0	−1	0	6.05	6.16
19	−1	0	1	0	6.12	6.12
20	1	0	1	0	6.08	6.20
21	0	−1	0	−1	5.40	5.47
22	0	1	0	−1	5.90	5.97
23	0	−1	0	1	5.6	5.63
24	0	1	0	1	6.26	6.29
25	0	0	0	0	6.40	6.41
26	0	0	0	0	6.38	6.41
27	0	0	0	0	6.44	6.41
28	0	0	0	0	6.36	6.41
29	0	0	0	0	6.45	6.41

由表 3 得出回归方程系数的显著性，水料体积质量比(A)及其二次项 A^2、提取温度(B)及其二次项 B^2、提取时间(C)及其二次项 C^2、超声波功率(D)及其二次项 D^2、水料体积质量比(A)和提取温度(B)的交互项 AB、水料体积质量比(A)和超声波功率(D)的交互项 $A\ D$，对多糖得率具有高度显著影响；水料体积质量比(A)和提取时间(C)的交互项 AC、提取温度(B)和提取时间(C)的交互项 BC 对多糖得率具有显著影响。

2.2.2　响应面和等高线分析　对表 2 的实验数据进行回归拟合分析，得曲面图和等高线(图 7~12)，图组能够直观地反映对响应值的影响结果及各因素间的交互作用。等高线圆形表示两因素间交互作用较弱，椭圆形表示较强[18–19]。等高线和响应面的最高点能够得出所选范围内存在极值与否，响应面最高点也是等高线最小圆的中心点。

从图 7 和图 9 的等高线图可以直观的看出，在两个因素位于中心水平时，等高线呈椭圆形，说明两个图中的其它两因素交互作用极显著；等高线较密集和响应曲面的坡度较陡体现出水料比、超声波功率和提取温度的变化对多糖得率变化的影响均较大；由图 7 和图 9 的三维曲面图可知，多糖得率均随着水料比、提取温度和超声波功率的增大先快速增大后缓慢减小。从图 8 和图 10 的等高线图可以看出，在两个因素位于中心水平时，两个图中的其它两因素有显著交互作用；因提取温度和水料比对多糖得率响应曲面的等高线较密集和坡度较陡，得知两因素对多糖得率均有较大影响；从响应曲面的等高线较稀疏和坡度较缓，得出提取时间对多糖得率的影响相对较小；图 8 和图 10 的响应面图表明，多糖得率随着水料体积质量比、提取温度和提取时间的增大先快速增大后缓慢减小，但其在增大后减小的幅度大于图 8 和图 9 三维图的变化幅度。由图 11 和图 12 的等高线图可以直观的看出，在两个因素水平固定的情况下，等高线呈圆形，说明两个图中的其它两因素交互作用不显著；由图 11 和图 12 的三维曲面图可得，多糖得率随着超声波功率、提取温度和提取时间的增大先增大后减小，超声波影响多糖得率的拐点为 1 040 W，这可能是因为过大的微波功率导致多糖降解。

2.2.3　最优工艺条件预测、验证及提取方法的比较　运用响应面软件对实验数据进行优化预测，得到多糖提取最优工艺条件为：水料体积质量比 20.07 mL/g、提取温度 73.84 ℃、提取时间 16.23 min、超声波

表 3　回归模型方差分析

Table 3　Analysis of variance(ANOVA) for regression equation for liquefaction process

方差来源	平方和	自由度	均方	F	P
模型	3.92	14	0.28	49.34	<0.000 1**
A	0.51	1	0.51	90.26	<0.000 1**
B	1.01	1	1.01	177.73	<0.000 1**
C	0.41	1	0.41	72.98	<0.000 1**
D	0.17	1	0.17	30.01	<0.000 1**
AB	0.28	1	0.28	49.47	<0.000 1**
AC	0.11	1	0.11	19.76	0.000 6*
AD	0.20	1	0.20	34.87	<0.000 1**
BC	0.073	1	0.073	12.84	0.003 0*
BD	6.400×10^{-3}	1	6.400×10^{-3}	1.13	0.306 4
CD	0.020	1	0.020	3.45	0.084 3
A^2	0.27	1	0.27	47.07	<0.000 1**
B^2	0.76	1	0.76	134.40	<0.000 1**
C^2	0.35	1	0.35	61.35	<0.000 1**
D^2	0.31	1	0.31	54.91	<0.000 1**
残差	0.079	14	5.678×10^{-3}		
失拟项	0.074	10	7.357×10^{-3}	4.97	0.068 0
纯误差	5.92×10^{-3}	44	1.480×10^{-3}		
总和	4.00	28			

注:**$Pr>F$ 值小于 0.000 1 为高度显著;*$Pr>F$ 值小于 0.05 为显著;R=0.99,R^2=0.980 1,(R^2_{Adj}=0.960 3)

功率 1 052.04 W，在此条件下预测多糖得率为 6.50%。该提取方法与传统热水提取法、超声波提取法和微波提取法进行比较，实验结果如表 4 所示。

微波超声组合法提取猴头菇多糖，具有节省时间，高多糖浸出率的优点。

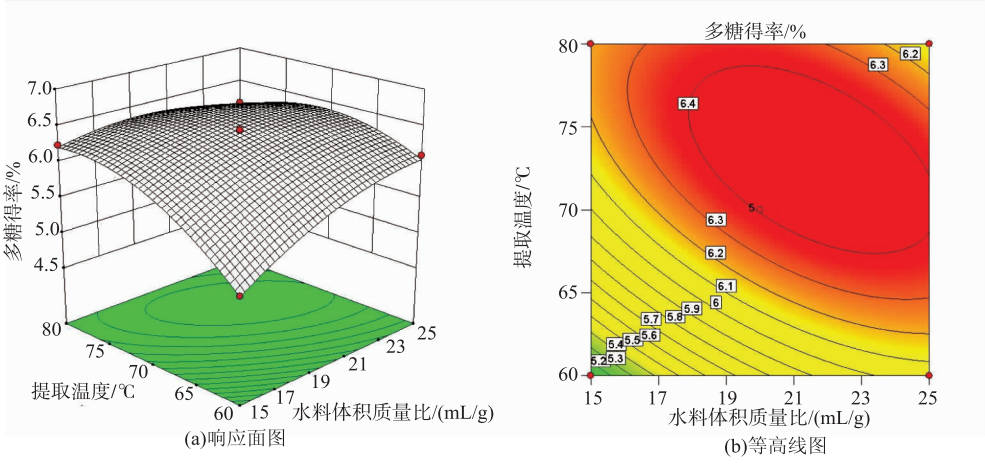


图 7　水料体积质量比与提取温度交互作用影响多糖得率的响应面图与等高线图

Fig. 7　Response surface plot and its contour plot showing the effects of the ratio of water to material and extraction temperature and their mutual interactions on the yield of *Hericium erinaceus* polysaccharides

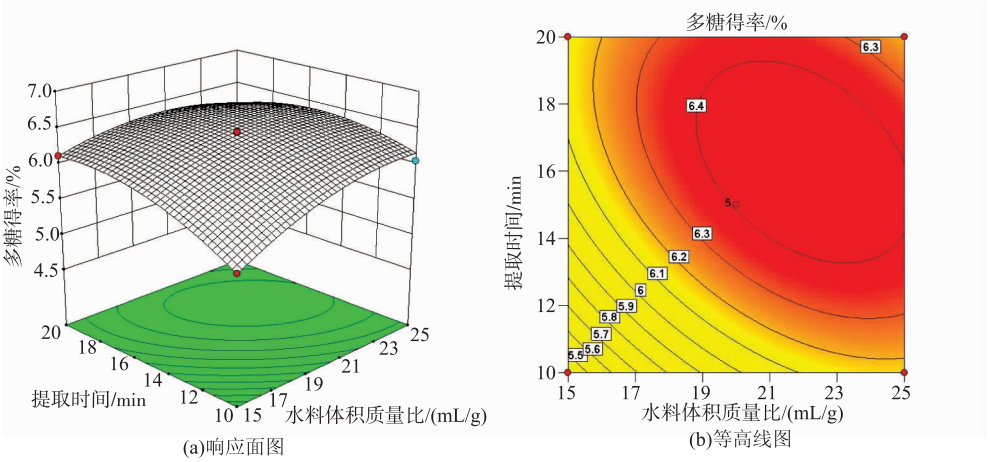


图 8　水料体积质量比与提取时间交互作用影响多糖得率的响应面图与等高线图

Fig. 8　Response surface plot and its contour plot showing the effects of the ratio of water to material and extraction time and their mutual interactions on the yield of *Hericium erinaceus* polysaccharides

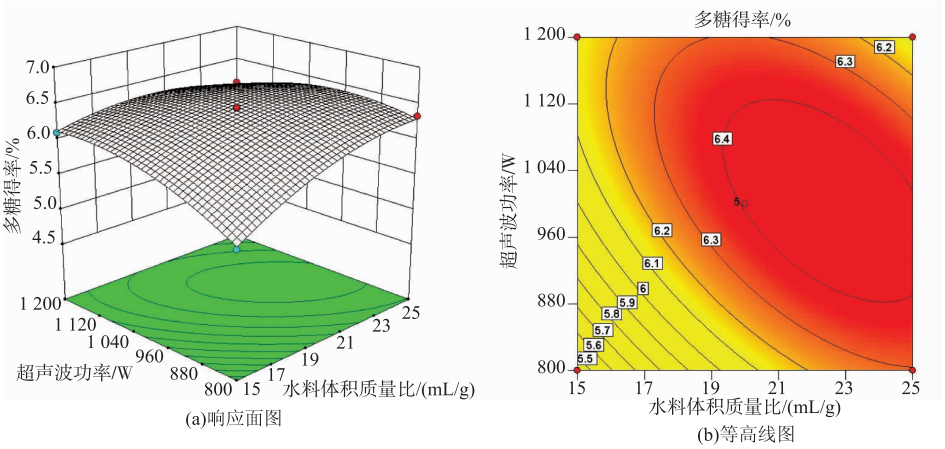


图 9　水料体积质量比与超声波功率交互作用影响多糖得率的响应面图与等高线图

Fig. 9　Response surface plot and its contour plot showing the effects of the ratio of water to material and ultrasonic Power and their mutual interactions on the yield of *Hericium erinaceus* polysaccharides

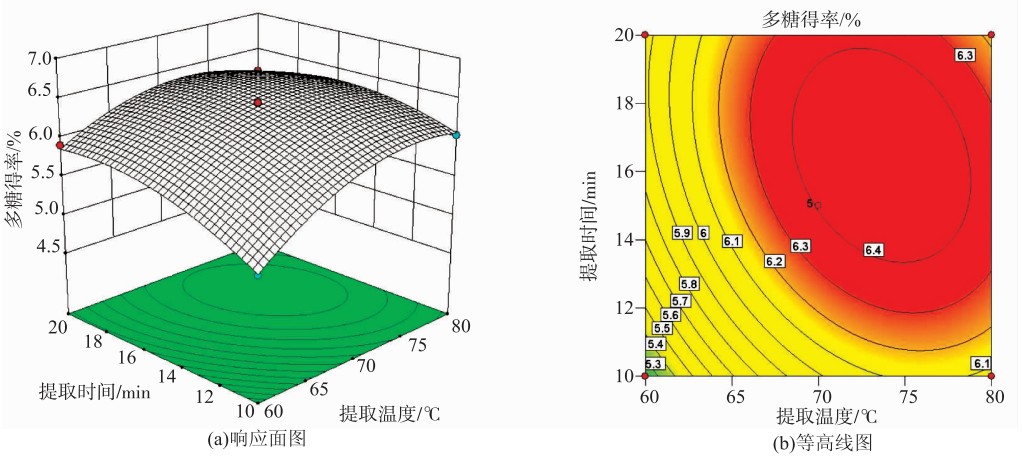


图 10　提取温度与提取时间交互作用影响多糖得率的响应面图与等高线图

Fig. 10　Response surface plot and its contour plot showing the effects of extraction temperature and extraction time and their mutual interactions on the yield of *Hericium erinaceus* polysaccharides

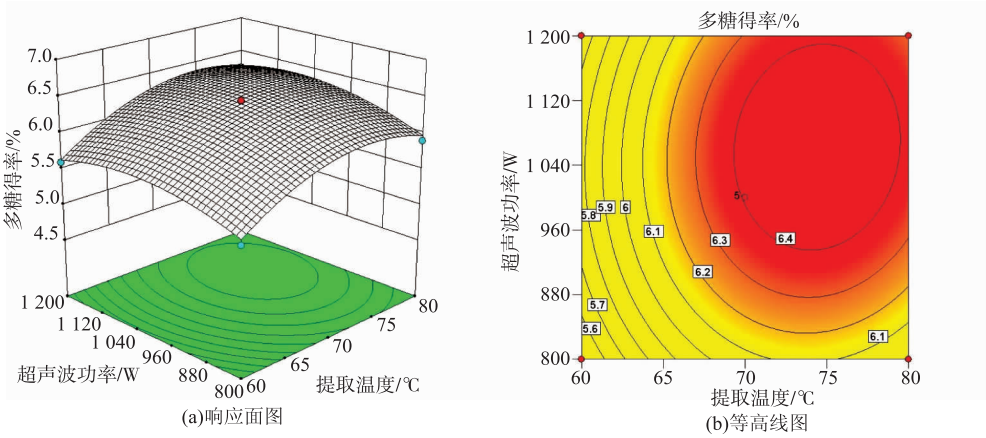


图 11　提取温度与超声波功率交互作用影响多糖得率的响应面图与等高线图

Fig. 11　Response surface plot and its contour plot showing the effects of extraction temperature and ultrasonic Power and their mutual interactions on the yield of *Hericium erinaceus* polysaccharides

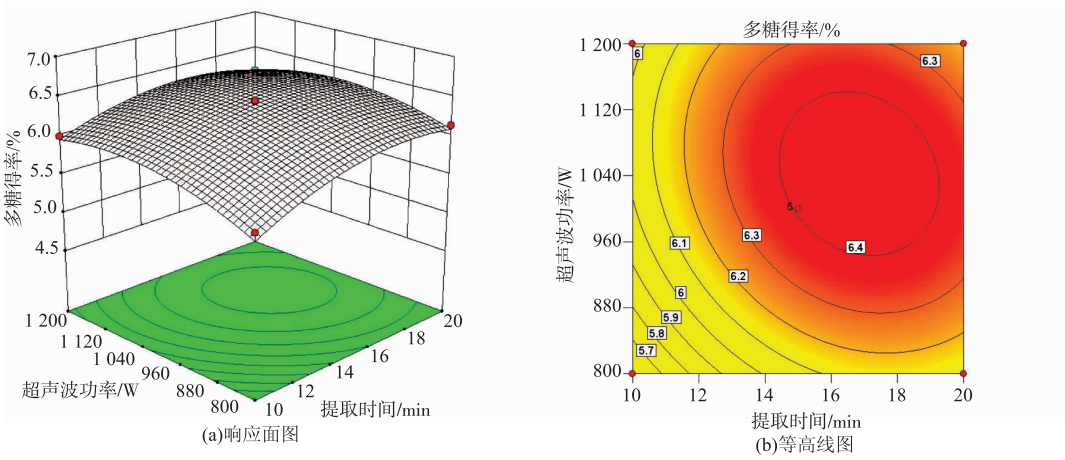


图 12　提取时间与超声波功率交互作用影响多糖得率的响应面图与等高线图

Fig. 12　Response surface plot and its contour plot showing the effects of extraction time and ultrasonic Power and their mutual interactions on the yield of *Hericium erinaceus* polysaccharides

表 4　实验结果

Table 4　Verified results of the model equation

提取方式	提取时间/min	多糖得率/%
热水提取	134	4.95
微波提取	45	5.23
超声波提取	25	565
微波超声波组合提取	16	6.44

2.3　猴头菇多糖体外抗氧化活性测定

2.3.1　*羟基自由基清除活性*　猴头菇多糖清除羟基自由基的能力较强,对羟基自由基的清除率随着样品质量浓度的增大而逐渐增大,但 VC 对羟基自由基的清除率均高于同质量浓度下猴头菇多糖对羟基自由基的清除率。

2.3.2　*DPPH 自由基清除活性*　从图 14 可知,猴头菇多糖的质量浓度与对 DPPH 自由基的清除率呈正相关,样品的质量浓度越高,DPPH 自由基的清除率越大。与同质量浓度的 VC 相比,猴头菇多糖对 DPPH 自由基的清除率明显较强。

2.3.3　*超氧阴离子自由基清除活性*　VC 和猴头菇多糖对超氧阴离子均具有一定的清除作用,对超氧阴离子的清除能力均随着质量浓度的增加而增加,但猴头菇多糖对超氧阴离子的清除能力明显低于 VC 的清除能力。

3　结　语

在单因素实验基础上,微波超声波组合法提取猴头菇多糖工艺使用响应面法进行优化,建立以多糖得率为目标值,以水料体积质量比、提取温度、提

取时间和超声波功率为因子的回归方程模型。验证证实，模型能够用于猴头菇多糖提取得率的预测。最终确定微波超声波组合法提取猴头菇多糖提取工艺参数为：猴头菇粉过筛孔大小为 550 μm、水料体积质量比 20 mL/g、提取温度 74 ℃、提取时间 16 min、微波功率 200 W、超声波功率 1 052 W，在此最优条件下，多糖得率 6.44%，与预测值非常接近。微波超声波提取是利用微波的热效应和对猴头菇细胞膜、细胞壁的破坏力以及超声波的空化效应和机械效应，增加猴头菇细胞内多糖物质的溶出率和增大介质的穿透力及分子的运动速度，来提取猴头菇多糖的方法。该方法与传统热水提取法、超声波提取法和微波提取法相比，具有节省时间，高多糖浸出率的优点，对于工厂的实际生产具有指导意义。另外，通过对猴头菇多糖的体外抗氧化研究，得出猴头菇多糖抗氧化活性较好，表现为对 DPPH 自由基、羟基自由基和超氧阴离子自由基具有较强的清除作用。猴头菇多糖的体内生物功效有待于进一步深入研究。

参考文献：

[1] 黄年来. 中国食用菌百科[M]. 北京：中国农业出版社，1997.

[2] LU Yaohuan，XIN Changli，ZHOU Yufen. Observations about biological effect of hedgehog *Hydnum preparation* [J]. **Shanxi Agric Univ**，1996，16(2)：153-155.(in Chinese)

[3] CHEN Guoliang，YAN Huifang，et al. A study on the medicinal effects of *Hericium erinaceus* [J]. **Acta Edulis Fungi**，1996，3(4)：45-51.(in Chinese)

[4] BYUNG K Y，JUN B P，CHI H S. Hypolipidemic effect of an ex-o- biopolymer produced from a submerged mycelial culture of Heri-cium erinaceum[J]. **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**，2003，67(6)：1292-1298.

[5] KIM D M，PYUN C W，KO H G. Isolation of antimicrobial sub-stances from Hericiumerinaceum [J]. **Mycobiology**，2000，28：33-38.

[6] LIU Rixin. Research and utilization of edible[J]. **Edible Fungi of China**，1998(4)：5-7.(in Chinese)

[7] MIAO Xiaoyan，CHEN Ping，CUI Jue，et al. Microwave-assisted enzymatic extraction of polysaccharides from cultured mycelia of *Hericium erinaceus*[J]. **Food Science**，2012(2)：94-97.(in Chinese)

[8] TENG Jingtong，ZHAN Xiaolong，GONG Kun et al. Optimization of ultrasonic-microwave synergistic extraction of total flavonoids from leaves of *Punica grnatum* L. by response surface methodology [J]. **Journal of Food Science and Biotechnology**，2015(7)：744-750.(in Chinese)

[9] XU Guangyu，YAN Jun，GUO Xiaoqiang，et al. The betterment and apply of phenol-sulphate acid method [J]. **Food Science**，2005(8)：342-346.(in Chinese)

[10] 王福荣. 酿酒分析与检测[M]. 北京：化学工业出版社，2005.

[11] LUO A X，HE X J，ZHOU S D，et al. Purification，composition analysis and antioxidant activity of the polysaccharides from *Dendrobium nobile* Lindl[J]. **Carbohydrate Polymers**，2010，79(4)：1014-1019.

[12] QIAO D L，KE C L，HU B，et al. Antioxidant activities of polysaccharides from *Hyriopsis cumingii*[J]. **Carbohydrate Polymers**，2009，78：199-204.

[13] XU Yajuan，ZHAO Yanjing，HU Hong. Research on the measurement of the SOD activity via pyrogallol auto-oxidation [J]. **Journal of Southwest University for Nationalities：Natural Science Edition**，2006，32(6)：1207-1209.(in Chinese)

[14] ZHANG Changjun，YUAN Fangyuan，SHAO Hongbing. Application of extracting polysaccharide compound by ultrasonic method[J]. **Chemical Industry Times**，2007，21(2)：54-56.(in Chinese)

[15] ZHANG Daijia，LIU Chuanbin，XIU Zhilong，et al. Application of microwave technique in extraction of effective components from plant[J]. **Chinese Traditional and Herbal Drugs**，2000，31(9)：5-6.(in Chinese)

[16] ZHU Fangming，MA Xin，ZHANG Anqiang，et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of Radix Glehniae polysaccharides using response surface methology[J]. **Food Science Aand Technology**，2011，36(7)：153-156.(in Chinese)

[17] 刘四光. 自养小球藻(Chlorella autotrophica) 多糖提取，纯化，化学结构及抗菌活性研究[D]. 厦门：厦门大学，2007.

[18] XU H，SUN L，SHI Y，et al. Optimization of cultivation conditions for extracellular polysaccharide and mycelium biomass by< i> *Morchella esculenta* As51620[J]. **Biochemical Engineering Journal**，2008，39(1)：66-73.

[19] WAN Jun，JIANG Aimin，QU Zhi，et al. Optimization of processing conditions for camembert cheese by response surface method [J]. **Modern Food Science and Technology**，2012，28(7)：840-844.(in Chinese)