



# 蒙古口蘑多糖的研究进展

徐伟良<sup>1,2</sup>, 钱俊平<sup>1,2,3</sup>, 雅梅<sup>1,2,3</sup>, 郭元晟<sup>1,2,3</sup>, 郭梁<sup>1,2,3</sup>

(1. 锡林郭勒职业学院, 内蒙古 锡林浩特 026000; 2. 锡林郭勒生物工程研究院, 内蒙古 锡林浩特 026000; 3. 锡林郭勒食品检验检测和风险评估中心, 内蒙古 锡林浩特 026000)

**摘要:**蒙古口蘑是草原上的珍贵野生食用菌,是极具开发前景的农产品、保健食品及药品资源。蒙古口蘑多糖是从口蘑中提取出的多糖物质,具有抗氧化、抗衰老、抗肿瘤等多种活性作用。为进一步促进锡林郭勒盟地区蒙古口蘑的开发利用,文章综述了蒙古口蘑子实体多糖、菌丝体多糖以及多糖组成结构和生物活性的研究现状,以期对蒙古口蘑多糖的资源创新开发提供参考。

**关键词:**蒙古口蘑;多糖;子实体;菌丝体;提取

蒙古口蘑(*Tricholoma mongolicum* Imai)属伞菌目伞菌科真菌,是生长在内蒙古草原上的珍稀食用菌<sup>[1]</sup>。由于自然环境不断恶化及过度采摘,致使目前蒙古口蘑主要分布在内蒙古锡林郭勒盟、呼伦贝尔盟等草原地带。蒙古口蘑菌肉肥厚、香浓鲜美、口感极佳,是享誉世界的著名野生食用菌品种,被誉为“草八珍”之首<sup>[2]</sup>。蒙古口蘑富含多糖、多肽、多不饱和脂肪酸等丰富的生物活性物质,能够调控人体的新陈代谢,增强机体的免疫力,具有抗氧化、抗衰老、抗肿瘤、降血压、血脂、血糖等医疗保健作用<sup>[3-7]</sup>。

多糖(polysaccharide)又称多聚糖,是由醛糖或酮糖通过糖苷键线性或分枝连接而成的链状聚合物,是自然界中含量最丰富的一种生物聚合物<sup>[8-9]</sup>。真菌多糖作为多糖的重要来源之一,广泛存在于高等大型真菌的细胞壁中。真菌多糖是由真菌子实体、菌丝体以及菌丝体发酵液中提取分离出来的活性物质,具有抗氧化、抗衰老、抗肿瘤、降血糖及治疗糖尿病等多种医疗保健功能<sup>[10-15]</sup>。目前,已经形成商品化的真菌多糖有香菇多糖、猪苓多糖、灵芝多糖、云芝多糖、树舌多糖等<sup>[16]</sup>。近年来,国内外对真菌多糖相关研究热点集中在其作为免疫激活剂来发挥提高免疫力和抗肿瘤的分子机制和应用研究方面,而关于蒙古口蘑多糖的研究却少有报道。

## 1 蒙古口蘑子实体多糖的研究进展

### 1.1 子实体多糖的提取及纯化

多糖的传统提取方法多采用水提法、化学溶剂提取法(酸、碱浸提)以及酶解法。随着科技的进步,又逐渐出现了超声波法、微波法和CO<sub>2</sub>超临界流体提取法<sup>[17]</sup>。在多糖众多提取方法中水提取较温和,适用于透明质酸等不含硫酸基多糖的提取,而多糖在碱性溶液中较稳定,酸对多糖结构中的糖苷键有破坏作用,因此,食用菌多糖通常选择水和稀碱作为浸提剂,并通过超声波、微波等物理强化法进行辅助提取。渠志臻等<sup>[18]</sup>采用热水浸提法,提取蒙古口蘑野生子实体中的多糖,并通过正交试验对影响多糖提取得率的因素进行分析优化。试验结果表明,口蘑子实体多糖的最佳提取工艺为原料与溶剂比1:10,提取温度70℃,浸提时间4h,重复提取4次,所得口蘑多糖得率为5.78%。王金等<sup>[19]</sup>以蒙古口蘑为研究对象,采用超声波辅助酸提取法,通过正交设计优化最佳提取工艺为0.2 mol·L<sup>-1</sup>盐酸,料液比1:40,50℃超声波提取20min,在此提取条件下口蘑多糖的得率为(16.65±0.29)%。侯卓等<sup>[20]</sup>分别采用热水浸提法和微波辅助水提法,对通过超临界CO<sub>2</sub>萃取技术进行了脱脂处理后的蒙古口蘑粉(原料粒度0.147mm)进行多糖的提取。最终通过单因素和多因素混合试验,确立了蒙古口蘑多糖热水浸提的最佳工艺为提取温度90℃,提取时间3h,料液比1:40,此条件下多糖的提取得率达到34.65%;微波辅助水提取法的最佳工艺为料液比1:30,微波功率300W,处理时间4min,此条件下多糖的提取得率达31.05%。

经过初步提取得到的粗多糖中往往含有蛋白

收稿日期:2017-12-13

基金项目:内蒙古自治区自然科学基金资助项目(2016BS0317);内蒙古自治区高等学校科学研究资助项目(NJZY18371)。

第一作者简介:徐伟良(1988-),男,硕士,助理研究员,从事微生物资源开发研究。E-mail: xwlgla@126.com。

质、多肽、低聚糖、色素等杂质,而多糖作为一种生物活性大分子物质,必须经过进一步分离纯化得到相对较纯的多糖组分才能在生物机体内发挥其特定的生理功能。尤其是在对多糖的药用功能进行开发时,粗多糖的分离纯化更是一个不可缺少的关键步骤。目前,对于去除粗多糖中游离蛋白的最常采用的方法是Sevage法;低聚糖、多肽等小分子物质可通过透析法、超滤法等方法去除;一般去除色素可利用活性炭和 $H_2O_2$ 等除色剂,对色素去除能够取得较好的效果。粗多糖中蛋白质等杂质被去除后,常用到分级沉淀法、超滤法、薄层层析、凝胶层析、离子交换树脂法、HPLC等进一步提纯<sup>[21]</sup>。葛淑敏等<sup>[22]</sup>采用薄层层析法对蒙古口蘑子实体多糖水解产物MOP进行了单组分纯化分析,试验结果表明,粗多糖提取物MOP是由葡萄糖和木糖两种单糖组成。侯卓等<sup>[23]</sup>利用葡聚糖凝胶层析法,使用Sephadex G-100和Sephadex G-75两种不同孔径的层析填料对提取的粗多糖进一步层析纯化研究,最终确定了蒙古口蘑多糖中大分子组分与小分子组分的比约4:1,小分子组分中又由3种组分组成。

### 1.2 子实体多糖的生物活性

蒙古口蘑是一种药食同源的珍稀野生食用菌,不仅菌肉肥厚、口感极佳,还能够调控人体的新陈代谢,增强机体的免疫力,具有抗氧化、抗衰老、抗肿瘤、降血压等医疗保健功能。据报道,蒙古口蘑子实体多糖能有效地提高试验小鼠腹腔中巨噬细胞的吞噬率及吞噬指数,显著增强了小鼠巨噬细胞的吞噬功能,因此,间接证明了蒙古口蘑多糖对抗炎、抗肿瘤等方面具有一定的免疫功能作用<sup>[24-25]</sup>。Zhao等<sup>[26]</sup>利用纤维素酶辅助提取的方法提取得到了蒙古口蘑子实体中的水溶性多糖,并对其抗氧化活性进行研究,证明了该多糖具有一定剂量依赖性的抗氧化活性。张智毓等<sup>[27]</sup>测定了蒙古口蘑提取物中多糖、多肽、三萜等多种活性物质的抗氧化活性,综合评价了蒙古口蘑多糖的体外抗氧化能力。葛淑敏等<sup>[28]</sup>采用MTT比色法及免疫荧光技术对蒙古口蘑子实体多糖体外抗肿瘤活性进行研究,试验结果表明,多糖提取物MOP浓度在 $62.5 \sim 2\,000.0\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围时,对Hela和HepG2两种细胞均有一定的生长抑制作用,且随着多糖浓度的不断增加,对两种细胞的生长抑制率也不断升高,并呈一定的量效依赖关系。Meng等<sup>[29]</sup>通过研究发现蒙古口蘑子实体

多糖在调节免疫系统和抗肿瘤方面具有一定的作用。

## 2 蒙古口蘑菌丝体多糖的研究进展

### 2.1 菌丝体多糖的提取及纯化

由于蒙古口蘑至今尚不能实现商业化栽培,而随着自然生态环境的不断恶化和过度采摘,野生蒙古口蘑资源锐减,致使蒙古口蘑的产量逐年减少,现如今仅在内蒙古锡林郭勒盟和呼伦贝尔盟两地存在野生蒙古口蘑,难以满足商品产业化的需求。而目前利用液体深层发酵技术,对蒙古口蘑菌丝体及口蘑多糖进行大规模工业化生产,从而开发利用蒙古口蘑这一珍贵资源的潜力巨大。蒙古口蘑菌丝体多糖的常规提取途径为直接采用水提醇沉法。采用深层发酵技术生产的真菌菌丝体,可通过酶解法从菌丝体中提取多糖,能够有效解决蒙古口蘑子实体资源不足和多糖提取率低的问题。段盼盼等<sup>[30]</sup>利用正交试验优化了酶解法提取蒙古口蘑菌丝体多糖的最佳条件为液料比1:20,提取温度 $50\ ^\circ\text{C}$ ,加酶量1.0%,提取时间1.5 h。范庆锋等<sup>[31]</sup>采用热水浸提法对两种口蘑菌丝体进行提取,并通过单因素确定了最佳提取条件为料液比1:50,提取温度 $50\ ^\circ\text{C}$ ,提取时间2 h,重复提取2次,所得到两种蒙古口蘑的多糖得率分别为6.63%和6.40%。薛菁<sup>[32]</sup>以蒙古口蘑菌丝体为原料,采用超声波技术辅助提取方法,通过正交试验筛选出口蘑菌丝体多糖提取的最佳条件为料液比1:40,提取温度 $75\ ^\circ\text{C}$ ,超声功率900 W,超声时间20 min,口蘑菌丝体多糖提取得率为13.96%。渠志臻等<sup>[18]</sup>以人工液体培养的蒙古口蘑菌丝体为研究对象进行热水浸提,确定了菌丝体多糖的最优提取工艺为料液比1:10,提取温度 $90\ ^\circ\text{C}$ ,提取时间3 h,重复提取3次,最终菌丝体多糖的得率为5.93%。任启伟<sup>[33]</sup>利用正交试验对影响发酵菌丝体胞内和胞外多糖产量的主要因素即发酵温度、起始pH、接种体积、培养转速等因素进行条件优化。试验结果显示,蒙古口蘑菌丝体最佳发酵工艺条件为初始pH6.5、培养温度 $25\ ^\circ\text{C}$ 、接种量12%、转速为 $180\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ ,此时摇瓶发酵培养所得的胞外多糖和胞内多糖含量分别为 $1.187\ 9$ 和 $1.073\ 9\ \text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。邢仁昌等<sup>[34]</sup>通过陶瓷滤膜与纳滤膜浓缩,Sevage法脱蛋白,对摇瓶发酵培养的蒙古口蘑菌丝体进行提取,并应用高效凝胶渗透色谱法(HPGPC)对蒙古口蘑多糖的分子量进行测定及组分分析,最终试验结果

证明蒙古口蘑多糖至少含有 5 种多糖组分,其分子量以小于 10 000 为主。

## 2.2 菌丝体多糖的生物活性研究

目前,从文献资料所报道的试验结果分析,通过液体发酵培养生产出的真菌菌丝体的多糖、蛋白质、氨基酸等含量均类似或者超过子实体,菌丝体营养价值高,活性成分含量丰富,应用开发潜力大<sup>[35-37]</sup>。因此,利用菌丝体液体深层培养方法,通过调控发酵过程获得多糖等代谢目的产物对于菌丝体多糖生物活性的开发具有重要意义。姚庆智等<sup>[25]</sup>研究了蒙古口蘑菌丝体多糖对小鼠免疫功能的影响,结果表明,蒙古口蘑菌丝体多糖在低剂量条件下能显著增加小鼠脾脏指数,菌丝体多糖能有效提高 SRBC 免疫小鼠血清中的平均溶血素含量,同时也能提高小鼠单核-巨噬细胞的吞噬系数( $\alpha$ )和正常小鼠血清中溶菌酶的含量,从而证明蒙古口蘑菌丝体多糖对机体具有一定的免疫调节功能。段盼盼等<sup>[30]</sup>通过试验探讨了蒙古口蘑菌丝体多糖对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草杆菌的抑菌能力。试验结果表明蒙古口蘑多糖对大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、枯草杆菌的 MIC 值分别为:12.5 mg·mL<sup>-1</sup>、6.25 mg·mL<sup>-1</sup>和 25 mg·mL<sup>-1</sup>。王贺祥等<sup>[38]</sup>通过实验研究发现从蒙古口蘑菌丝分离得到的多糖肽复合物具有增强实验小鼠免疫力和抗肿瘤活性。

## 3 蒙古口蘑多糖组分与结构的研究进展

多糖的化学结构与其在生物学功能方面紧密相关,若要充分了解蒙古口蘑多糖的生物功能及作用机理,必须对多糖化学结构组成进行深入研究。然而,由于多糖本身化学结构的复杂性,难以得出完全正确的化学结构式,这也是多糖结构研究的难点。目前,现有研究文献中对蒙古口蘑多糖的结构与组成报道较少。只有邢仁昌等<sup>[34]</sup>利用高效凝胶渗透色谱法(HPGPC)分析证明了蒙古口蘑多糖中至少含有 5 种多糖组分,而具体 5 种多糖组分的结构与单糖组成未见报道。葛淑敏等<sup>[22]</sup>通过红外光谱法和核磁共振分析技术对通过薄层层析法分离纯化得到的纯化后的蒙古口蘑多糖 MOP 进行组分分析鉴定,试验结果表明蒙古口蘑多糖含有  $\beta$ -D 阿拉伯吡喃糖(或  $\beta$ -L 阿拉伯吡喃糖)和  $\alpha$ -D 木吡喃糖两种单糖组分,其连接方式主要是以 1-4 连接为主链,1-6 连接为支链。

## 4 结语

目前,国内外对蒙古口蘑多糖的研究虽然已经取得了一定成果,但主要集中在口蘑多糖的提取、纯化、液体发酵培养以及简单组分和结构的分析方面,对蒙古口蘑多糖的组成与结构分析的深入研究报道较少。对蒙古口蘑多糖的抗氧化、抗肿瘤、免疫调节等保健和药理研究还停留在初级阶段,缺少对蒙古口蘑多糖生物活性分子机理的研究。然而,随着自然生态环境治理改善和野生蒙古口蘑资源的政策保护,蒙古口蘑药食同源的价值会被越来越多的研究者重视,必定会推动人们对蒙古口蘑多糖研究不断深入,同时,进一步的研究也是未来蒙古口蘑资源商业开发的重要基础。

### 参考文献:

- [1] 卯晓岚. 中国经济真菌[M]. 北京:科学出版社,1998: 69-72.
- [2] 王大为. 蒙古口蘑功能因子提取技术及应用的研究[D]. 长春:吉林农业大学,2008.
- [3] 包良,白海鹏,萨朝夫. 蒙古口蘑多糖抗氧化活性及其对血管的保护作用[J]. 内蒙古大学学报(自然科学版),2014, 45(5): 498-502.
- [4] 葛淑敏,于源华,张艳飞. 蒙古口蘑多糖的提取及体外抗肿瘤活性研究[J]. 现代预防医学,2009,36(19): 3708-3711.
- [5] 张青,于航,陈潇滢,等. 双菌多糖的抗肿瘤活性研究[J]. 长春理工大学学报,2008,31(2): 77-80.
- [6] Wang H X, Ng T B, Liu W K, et al. Isolation and characterization of two distinct lectins with antiproliferative activity from the mycelium of the edible mushroom *Tricholoma mongolicum*[J]. International Journal of Peptide and Protein Research, 1996, 46: 508-513.
- [7] Wang H X, Ooi V E C, Ng T B, et al. Hypotensive and vasorelaxing activities of a lectin from the edible mushroom *Tricholoma mongolicum*[J]. Pharmacology & Toxicology, 1996, 79: 318-323.
- [8] 田华,张义明. 多糖的结构测定及应用[J]. 中国食品添加剂,2012(2): 177-181.
- [9] Wang S B, Cheng Y N, Wang F S, et al. Inhibition activity of sulfated polysaccharide of *Sepiella maindroni* ink on matrix metalloproteinase (MMP)-2[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2008, 62: 297-302.
- [10] Zhu Z Y, Zhang J Y, Chen L J, et al. Comparative evaluation of polysaccharides isolated from *Astragalus*, oyster mushroom, and yacon as inhibitors of  $\alpha$ -glucosidase[J]. Chinese Journal of Natural Medicines, 2014, 12(4): 290-293.
- [11] Kim D H, Yang B K, Jeong S C, et al. Production of a hypoglycemic, extracellular polysaccharide from the submerged culture of the mushroom, *Phellinus linteus*[J]. Biotechnology Letters, 2001, 23(7): 513-517.

- [12] He P X, Li F L, Huang L N, et al. Chemical characterization and antioxidant activity of polysaccharide extract from spent mushroom substrate of *Pleurotus eryngii* [J]. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers, 2016, 69: 48-53.
- [13] Chen H X, Lu X M, Qu Z S, et al. Glycosidase inhibitory activity and antioxidant properties of a polysaccharide from the mushroom *Inonotus obliquus* [J]. Journal of Food Biochemistry, 2010, 34: 178-191.
- [14] 李六文, 赵刚. 药用真菌多糖抗肿瘤免疫生物活性研究进展[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2016, 22(14): 1156-1160.
- [15] Ahmed M, Abdullah N, Shuib A S, et al. Influence of raw polysaccharide extract from mushroom stalk waste on growth and pH perturbation induced-stress in *Nile tilapia*, *Oreochromis niloticus* [J]. Aquaculture, 2017, 468: 60-70.
- [16] 刘静, 程显好. 抗肿瘤活性的蘑菇多糖研究进展[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(31): 17471-17473.
- [17] 王雪冰, 赵天瑞, 樊建. 食用菌多糖提取技术研究概况[J]. 中国食用菌, 2010, 29(2): 3-6.
- [18] 渠志臻, 姚庆智, 闫伟. 蒙古口蘑多糖提取工艺的研究[J]. 中国农业科学导报, 2009, 11(4): 129-132.
- [19] 王金, 丁革生, 田柳, 等. 蒙古口蘑多糖超声波辅助提取技术及含量测定 [J]. 湖北农业科学, 2015, 54 (12): 2978-2980.
- [20] 侯卓, 张娜, 王大为. 蒙古口蘑多糖微波提取技术的研究[J]. 食品科学, 2008, 29(3): 252-255.
- [21] 任启伟, 吴晓彤, 白晶, 等. 蒙古口蘑多糖研究现状[J]. 农产品加工, 2011(5): 28-31.
- [22] 葛淑敏, 于源华, 张艳飞. 蒙古口蘑多糖组分分析及结构初步鉴定[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(1): 192-193.
- [23] 侯卓. 蒙古口蘑多糖提取、分离及纯化技术的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2008.
- [24] 王玉俊, 刘开阳, 孙黎. 蒙古口蘑多糖对小白鼠免疫功能的影响[J]. 石家庄学报, 1996, 13(1): 17-18.
- [25] 姚庆智, 何秀玲, 张智毓, 等. 蒙古口蘑及其多糖提取物对小鼠免疫功能的影响[J]. 动物医学进展, 2011, 32(2): 47-51.
- [26] Zhao Y M, Song J H, Wang J, et al. Optimization of cellulose-assisted extraction process and antioxidant activities of polysaccharides from *Tricholoma mongolicum* Imai [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2016, 96(13): 4484-4491.
- [27] 张智毓. 蒙古口蘑活性成分提取工艺优化和体外抗氧化性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2011.
- [28] 葛淑敏, 于源华, 张艳飞. 蒙古口蘑多糖的提取及体外抗肿瘤活性研究[J]. 现代预防医学, 2009, 36(19): 3708-3711.
- [29] Meng X, Liang H X, Luo L X. Antitumor polysaccharides from mushrooms: A review on the structural characteristics, antitumor mechanisms and immunomodulating activities [J]. Carbohydrate Research, 2016, 424: 30-41.
- [30] 段盼盼, 于加平, 刘苍龙, 等. 内蒙古口蘑菌丝体多糖的提取及其抑菌性研究[J]. 吉林农业, 2011(4): 84.
- [31] 范庆峰, 孟建宇, 姚庆智. 蒙古口蘑菌丝体多糖的测定[J]. 畜牧与饲料科学, 2008, 29(4): 21-23.
- [32] 薛菁, 吴晓彤, 王颖超, 等. 超声波辅助提取口蘑菌丝体多糖工艺优化[J]. 食品与机械, 2016, 32(1): 172-174.
- [33] 任启伟. 蒙古口蘑液态发酵及菌丝体多糖提取的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2011.
- [34] 邢仁昌. 蒙古口蘑菌丝体高密度发酵及其多糖的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2009.
- [35] 汤亚杰, 钟建江. 高等真菌深层发酵生产有用生物活性物质[J]. 华东理工大学学报, 2001, 27(6): 704-711.
- [36] Song C H, Jeon Y J, Yang B K, et al. Anti-complementary activity of endopolymers produced from submerged mycelial culture of higher fungi with particular reference to *Lentinus edodes* [J]. Biotechnology Letters, 1998, 20: 741-744.
- [37] Smith J E, Rowan N J, Sullivan R. Medicinal mushrooms: a rapidly developing area of biotechnology for cancer therapy and other bioactivities [J]. Biotechnology Letters, 2002, 24: 1839-1845.
- [38] Wang H X, Ng T B, Ooi V E, et al. Lectins from mushrooms [J]. Mycological Research, 1998, 102(8): 897-906.

## Research Progress on *Tricholoma mongolicum* Polysaccharide

XU Wei-liang<sup>1,2</sup>, QIAN Jun-ping<sup>1,2,3</sup>, YA Mei<sup>1,2,3</sup>, GUO Yuan-sheng<sup>1,2,3</sup>, GUO Liang<sup>1,2,3</sup>

(1. Xilin Gol Vocational College, Xilinhot 026000, China; 2. Xilin Gol Institute of Bioengineering, Xilinhot 026000, China; 3. Xilin Gol Food Testing and Risk Assessment Center, Xilinhot 026000, China)

**Abstract:** *Tricholoma mongolicum* is a precious wild edible fungus on the grassland, and it has a great prospects in the development of agricultural products, health food and drug resources. *Tricholoma mongolicum* polysaccharide is a kind of polysaccharides extracted from mushroom, and has antioxidant, anti-aging, anti-tumor and other activities. In order to further promote the development and utilization of *Tricholoma mongolicum* in Xilin Gol area, *Tricholoma sporophore* polysaccharide, mycelium polysaccharide, composition of polysaccharide and research status of biological activity were reviewed in this paper, it provided a reference for the innovation and development of *Tricholoma mongolicum* polysaccharide resources.

**Keywords:** *Tricholoma mongolicum*; polysaccharide; sporocarp; mycelium; extraction