

网络出版时间:2015-10-13 08:46 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2015.11.030
网络出版地址:<http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20151013.0846.060.html>

微波辅助提取香菇多糖工艺的响应面优化

苏晨曦¹,陈文强^{1,2},彭 浩^{1,2},邓百万^{1,2},解修超^{1,2},钱雪婷¹,兰阿峰^{1,2}

(1 陕西理工学院 生物科学与工程学院,陕西 汉中 723000;2 陕西省食药用菌工程技术研究中心,陕西 汉中 723000)

[摘要] 【目的】优化香菇多糖的微波提取工艺,为香菇多糖的工业化生产和综合利用提供理论依据。【方法】以香菇多糖提取率为响应值,以液(mL)料(g)比(15:1,20:1,25:1,30:1,35:1)、微波功率(500,600,700,800,900 W)及微波时间(2,4,6,8,10 min)为因素进行单因素试验。在单因素试验基础上,采用Box-Behnken响应面设计法,建立数学模型,筛选最佳提取工艺条件。【结果】通过二次回归模型响应面分析,获得香菇多糖的最佳提取工艺条件为,液料比 35:1、微波功率 900 W、微波时间 8.5 min;在此条件下,多糖提取率达 6.49%,与最大理论预测值(6.63%)相对误差小于 5%。【结论】利用 Box-Behnken 响应面设计法得到了香菇多糖微波提取优化工艺,该工艺方便可行。

[关键词] 香菇;微波辅助提取;香菇多糖;Box-Behnken 设计;响应面法

[中图分类号] Q53

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2015)11-0200-07

Response surface optimization of microwave-assisted extraction of polysaccharides from *Lentinus edodes*

SU Chen-xi¹, CHEN Wen-qiang^{1,2}, PENG Hao^{1,2}, DENG Bai-wan^{1,2},
XIE Xiu-chao^{1,2}, QIAN Xue-ting¹, LAN A-feng^{1,2}

(1 School of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong, Shaanxi 723000, China;

2 Shaanxi Engineering Research Center of Edible and Medicated Fungi, Hanzhong, Shaanxi 723000, China)

Abstract: 【Objective】The microwave-assisted extraction technique for polysaccharide from *Lentinus edodes* was optimized to provide theoretical basis for the industrial production and comprehensive utilization of polysaccharide from *Lentinus edodes*. 【Method】The Box-Behnken response surface method (RSM) based on mathematical model was established using polysaccharides extraction rate as response value and using the ratio of liquid (mL) to solid (g) (15:1, 20:1, 25:1, 30:1, and 35:1), microwave power (500, 600, 700, 800, and 900 W) and microwave time (2, 4, 6, 8, and 10 min) as factors to screen optimum extraction conditions for polysaccharide from *Lentinus edodes*. 【Result】The optimal conditions obtained by RSM were: ratio of liquid to solid 35:1, microwave power 900 W, and microwave time 8.5 min. Under these conditions, the extraction yield of polysaccharide was 6.49%, <5% less than the maximum theoretical extraction rate of 6.63%. 【Conclusion】The microwave-assisted polysaccharide extraction from *Lentinus edodes* was optimized by Box-Behnken RSM and the process was convenient and feasible.

Key words: *Lentinus edodes*; microwave-assisted extraction; lentinan; Box-Behnken design; response surface methodology

[收稿日期] 2015-04-24

[基金项目] 陕西省“13115”科技创新工程计划项目(2008ZDGC-04)

[作者简介] 苏晨曦(1990—),女,陕西洋县人,在读硕士,主要从事微生物资源利用研究。E-mail:suxiaoxi26@sina.com

[通信作者] 陈文强(1956—),男,陕西洋县人,教授,硕士生导师,主要从事微生物资源保护与利用研究。

E-mail:wenqiangc@126.com

香菇(*Lentinus edodes*), 是世界第二大食用菌, 也是我国的特产之一^[1]。早在 1 000 多年前就开始采集利用,《本草纲目》中有记载: 香菇“甘、平、无毒”;《医林纂要》记载: 香菇“甘、寒”, “可脱痘毒”;《本经逢原》认为香菇“为补偿维生素 D 的要剂, 预防佝偻病, 并治贫血”。香菇含有多种有效药用成分, 所含麦角甾醇(维生素 D 原, 其含量比一般食物高)被人体吸收后, 在光照下能转变为维生素 D, 可增强人体的抵抗力, 并能促进儿童骨骼和牙齿的生长, 预防佝偻病^[2]。香菇多糖(Lentinan)是从香菇中提取的一种重要的生物活性成分, 现代研究表明, 其具有提高免疫功能、抑制肿瘤、抗病毒和抗氧化等多方面的药理活性, 且无任何毒副作用^[3-6], 是一种很好的免疫反应调节剂^[7]。

近年来, 真菌多糖的提取技术已由传统的溶剂提取法逐渐转向运用超声波^[8-9] 和微波辅助提取^[10-11]新技术。与传统方法相比, 微波辅助提取真菌多糖具有速度快、选择性高、提取率高、溶剂消耗少、操作简便等特点^[12-14], 同时还可以防止提取物在长时间、高温条件下发生降解和褪色。响应面法(Response Surface Methodology, RSM)可通过回归方程的分析来寻求最优工艺参数, 能解决多变量问题, 具有周期短、精度高、实用价值高等特点, 已广泛应用于化学工业、生物学、食品学、工程学等领域, 在真菌多糖微波辅助提取条件优化研究中也取得了良好效果^[15]。2009 年, 朱磊等^[16]采用响应面法优化微波辅助提取黑木耳多糖, 提取率可达 28.94%; 谢建华等^[17]采用响应面法优化微波辅助提取发酵虫草菌丝体多糖, 提取率达到 6.41%。2013 年, 杨开等^[18]用响应面法优化了微波辅助提取松木层孔菌多糖, 提取率为 3.88%。2014 年, 岳春等^[19]用响应面法优化了微波辅助提取虫草多糖, 提取率达到 12.1%。

目前, 将响应面法用于优化微波辅助提取香菇多糖工艺尚未见报道。本研究采用微波辅助提取香菇多糖, 以液料比、微波功率和微波时间为考察因素进行单因素试验, 并在此基础上通过响应面分析法优化提取工艺, 借助 Design Expert 8.06 软件, 分析各因素之间的单一及交互作用, 旨在为香菇多糖的产业化生产以及多糖化合物的综合利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验材料 香菇子实体由陕西天美绿色产

业有限公司提供。

1.1.2 主要试剂 无水乙醇、葡萄糖、苯酚、硫酸、氯仿等均为分析纯, 试验用水为纯化水。

1.1.3 主要仪器 723N 型可见分光光度计, 上海精密科学仪器有限公司; FW177 高速万能粉碎机, 北京市永光明医疗仪器厂; 101A-1 鼓风干燥箱, 上海试验仪器总厂; RV10 基本 V 型旋转蒸发仪, 广州仪科试验室技术有限公司; WD700 微波炉, 乐金电子电器有限公司; WF-2000 微波快速反应系统, 上海屹尧分析仪器有限公司; BSA8201 电子天平, 赛多利斯科学仪器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 材料预处理 将新鲜香菇子实体除杂后于 60 ℃烘干至恒质量, 24 000 r/min 粉碎 1 min 后过孔径 0.425 mm(40 目)筛, 备用。

1.2.2 微波提取方法 精确称取香菇粉末 3.0 g, 按照一定的液料比加入纯化水, 自然 pH, 在一定的微波功率下提取一定时间后抽滤, 按照此法提取若干次, 合并滤液真空浓缩, 室温下定容至 200 mL。

1.2.3 多糖的测定方法 1) 标准曲线的制作。精确称取标准葡萄糖 20.0 mg 于 500 mL 容量瓶中, 用纯化水定容。分别取 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6, 1.8 mL, 各加蒸馏水补至 2.0 mL, 然后加入质量分数 5% 苯酚 1.0 mL 及浓硫酸 5.0 mL 摆匀冷却, 以 2.0 mL 水按同样显色操作为空白对照, 室温放置 20 min 后于 490 nm 测光密度值, 以葡萄糖浓度为横坐标, 光密度值为纵坐标进行回归分析, 得标准曲线方程^[20]。

2) 供试品中香菇多糖的测定。精密吸取抽滤液 1 mL, 加水补至 2.0 mL, 加入质量分数 5% 苯酚 1.0 mL, 进行冰水浴, 同时加入浓硫酸 5.0 mL, 室温放置 20 min, 于 490 nm 测光密度值。将其代入标准曲线方程, 计算香菇多糖的质量浓度, 并按下式计算抽滤液中香菇多糖的提取率(Y, %):

$$Y = \frac{c \times a \times V \times 1000}{m} \times 100\%.$$

式中: c 为抽滤液中香菇多糖的质量浓度, mg/mL, 由回归方程计算; a 为测定时抽滤液的稀释倍数, V 为抽滤液的总体积, mL; m 为香菇粉末质量, g。

1.2.4 香菇多糖提取的单因素试验 按照 1.2.2 节的提取步骤, 研究纯化水/香菇粉末(即液(mL)/料(g)比)、微波功率、微波时间 3 个因素对香菇多糖提取率的影响。

1) 液料比的影响。精确称取香菇粉末 3.0 g, 固

定微波功率 700 W、微波时间 6 min, 考察不同液料比(15 : 1, 20 : 1, 25 : 1, 30 : 1, 35 : 1)对香菇多糖提取率的影响。

2) 微波功率的影响。精确称取香菇粉末 3.0 g, 固定液料比 30 : 1、微波时间 6 min, 考察不同微波功率(500, 600, 700, 800, 900 W)对香菇多糖提取率的影响。

3) 微波时间的影响。精确称取香菇粉末 3.0 g,

固定液料比 30 : 1、微波功率 800 W, 考察不同微波时间(2, 4, 6, 8, 10 min)对香菇多糖提取率的影响。

1.2.5 香菇多糖提取最佳工艺的响应面优化 在单因素试验基础上, 根据 Box-Behnken 的中心组合试验设计原理, 选取液料比(X_1)、微波功率(X_2)、微波时间(X_3)为考察对象, 以香菇多糖提取率(Y)为响应值, 采取 3 因素 3 水平试验, 确定最佳提取工艺条件。试验因素水平编码见表 1。

表 1 香菇多糖提取的中心组合试验设计方案

Table 1 Central composite design for the extraction of lentinan

水平 Level	液料比 Ratio of liquid to solid X_1	因素 Factors	
		微波功率/W Microwave power X_2	微波时间/min Microwave time X_3
-1	15 : 1	500	2
0	25 : 1	700	6
1	35 : 1	900	10

2 结果与分析

2.1 微波辅助提取香菇多糖的单因素试验结果

2.1.1 液料比对香菇多糖提取率的影响 图 1 结果表明, 香菇多糖提取率随着液料比的增大呈现先增大后减小的趋势, 在液料比为 30 : 1 时达到最大, 提取率为 5.62%。因此, 选择微波辅助提取香菇多糖的液料比为 30 : 1。

2.1.2 微波功率对香菇多糖提取率的影响 图 2 结果表明, 香菇多糖提取率随着微波功率的增大呈现先增大后减小的趋势, 在微波功率为 800 W 时达到最大, 提取率为 6.41%。因此, 选择微波辅助提取香菇多糖的微波功率为 800 W。

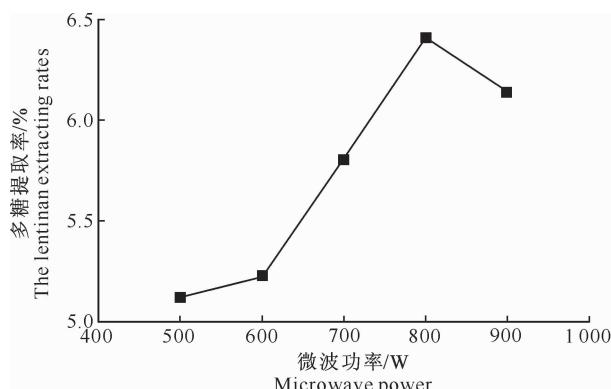


图 2 微波功率对香菇多糖提取率的影响

Fig. 2 Effect of microwave power on lentinan extracting rate

图 3 结果表明, 香菇多糖提取率随着微波时间的延长呈现先增大后减小的趋势, 在提取时间为 6 min 时达到最大, 提取率为 5.25%。因此, 选择微波

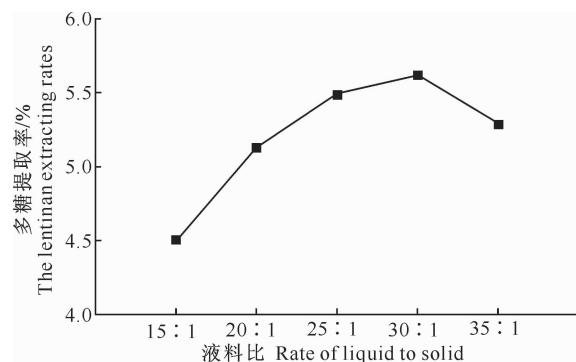


图 1 液(mL)料(g)比对香菇多糖提取率的影响

Fig. 1 Effect of the ratio of liquid to solid on lentinan extracting rate

2.1.3 微波时间对香菇多糖提取率的影响 微波时间对香菇多糖提取率的影响见图 3。

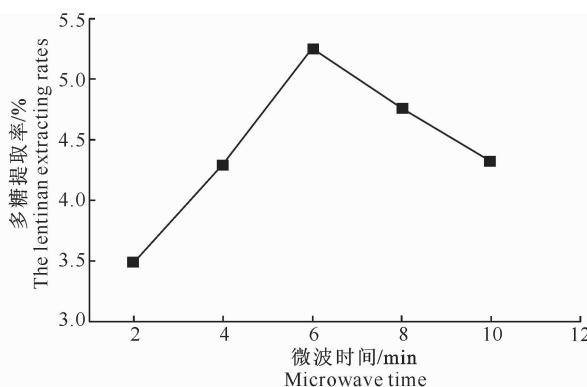


图 3 微波时间对香菇多糖提取率的影响

Fig. 3 Effect of microwave time on lentinan extracting rate

辅助提取香菇多糖的微波时间为 6 min。

2.2 香菇多糖提取工艺的优化

采用 3 因素 3 水平响应面分析法进行研究, 考

虑各因素间的交互作用以及各因素对香菇多糖提取率的影响。试验结果见表 2。

表 2 香菇多糖提取的中心组合试验结果

Table 2 Results of central composite design for the extraction of lentinan

试验编号 Number	因素水平 Level of factor			香菇多糖提取率/% Extraction rate Y
	液料比 Ratio of liquid to solid X_1	微波功率 Microwave power X_2	微波时间 Microwave time X_3	
1	0	0	0	5.52
2	0	-1	-1	4.26
3	0	0	0	6.12
4	0	1	-1	3.52
5	-1	0	-1	3.50
6	1	0	1	5.93
7	0	0	0	6.12
8	-1	-1	0	5.06
9	-1	0	1	4.83
10	0	-1	1	4.63
11	1	1	0	6.18
12	-1	1	0	5.26
13	0	0	0	6.12
14	0	0	0	6.12
15	0	1	1	5.62
16	1	-1	0	5.73
17	1	0	-1	3.52

经 Design Expert 8.06 软件对表 2 中 17 个试验点的香菇多糖提取率进行回归统计分析, 得到回归方程如下:

$$Y = 0.35997 + 9.32959 \times 10^{-3} X_1 + 7.65209 \times 10^{-3} X_2 + 0.057597 X_3 + 1.99983 \times$$

$$10^{-6} X_1 X_2 + 5.41456 \times 10^{-4} X_1 X_3 + 5.21945 \times 10^{-5} X_2 X_3 - 2.25667 \times 10^{-3} X_1^2 - 2.91311 \times 10^{-7} X_2^2 - 7.39495 \times 10^{-3} X_3^2.$$

对回归方程的分析结果见表 3。

表 3 香菇多糖提取回归方程的分析结果

Table 3 Results of regression analysis on the extraction of lentinan

方差来源 Source	平方和 Sum of squares	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	F 值 F value	P 值 P value	显著性 Significance
模型 Model	0.12	9	0.014	24.01	0.000 2	* *
X_1	5.810×10^{-3}	1	5.810×10^{-3}	10.05	0.015 7	*
X_2	3.246×10^{-4}	1	3.246×10^{-4}	0.56	0.478 1	
X_3	0.046	1	0.046	79.33	<0.000 1	* *
$X_1 X_2$	6.399×10^{-5}	1	6.399×10^{-5}	0.11	0.749 1	
$X_1 X_3$	1.876×10^{-3}	1	1.876×10^{-3}	3.25	0.114 6	
$X_2 X_3$	6.974×10^{-3}	1	6.974×10^{-3}	12.06	0.010 4	*
X_1^2	2.144×10^{-3}	1	2.144×10^{-3}	3.71	0.095 5	
X_2^2	5.717×10^{-4}	1	5.717×10^{-4}	0.99	0.353 2	
X_3^2	0.059	1	0.059	101.94	<0.000 1	* *
残差 Residual	4.047×10^{-3}	7	5.782×10^{-4}			
失拟项 Lack of fit	2.441×10^{-3}	3	8.137×10^{-4}	2.03	0.252 8	
纯误差 Pure error	1.607×10^{-3}	4	4.016×10^{-4}			
总离差 Total error	0.13	16				
相关系数(R^2) Correlation coefficient	0.968 6					

注(Note): * * ($P < 0.001$), * ($P < 0.05$).

二次模型回归统计分析结果(表 3)表明, X_1 、 $X_2 X_3$ 项差异显著, X_3 、 X_3^2 项差异极显著, X_2 、 $X_1 X_2$ 、 $X_1 X_3$ 、 X_1^2 、 X_2^2 项差异均不显著。模型 P 值

小于 0.001, 可信度水平大于 99.99%, 说明该模型有意义。回归模型的 $R^2 = 0.968 6$, 说明此模型与实际试验具有良好的拟合度; 该模型失拟项 P 值为

$0.252 > 0.05$, 失拟项差异不显著, 说明试验操作可信, 试验理论可使供用。另外从 F 值可看出单因素对香菇多糖提取率的影响顺序为: $X_3 > X_1 > X_2$, 即微波时间>液料比>微波功率。

2.3 香菇多糖提取工艺的响应面优化

依据各因素对其响应值所构成的三维立体曲面

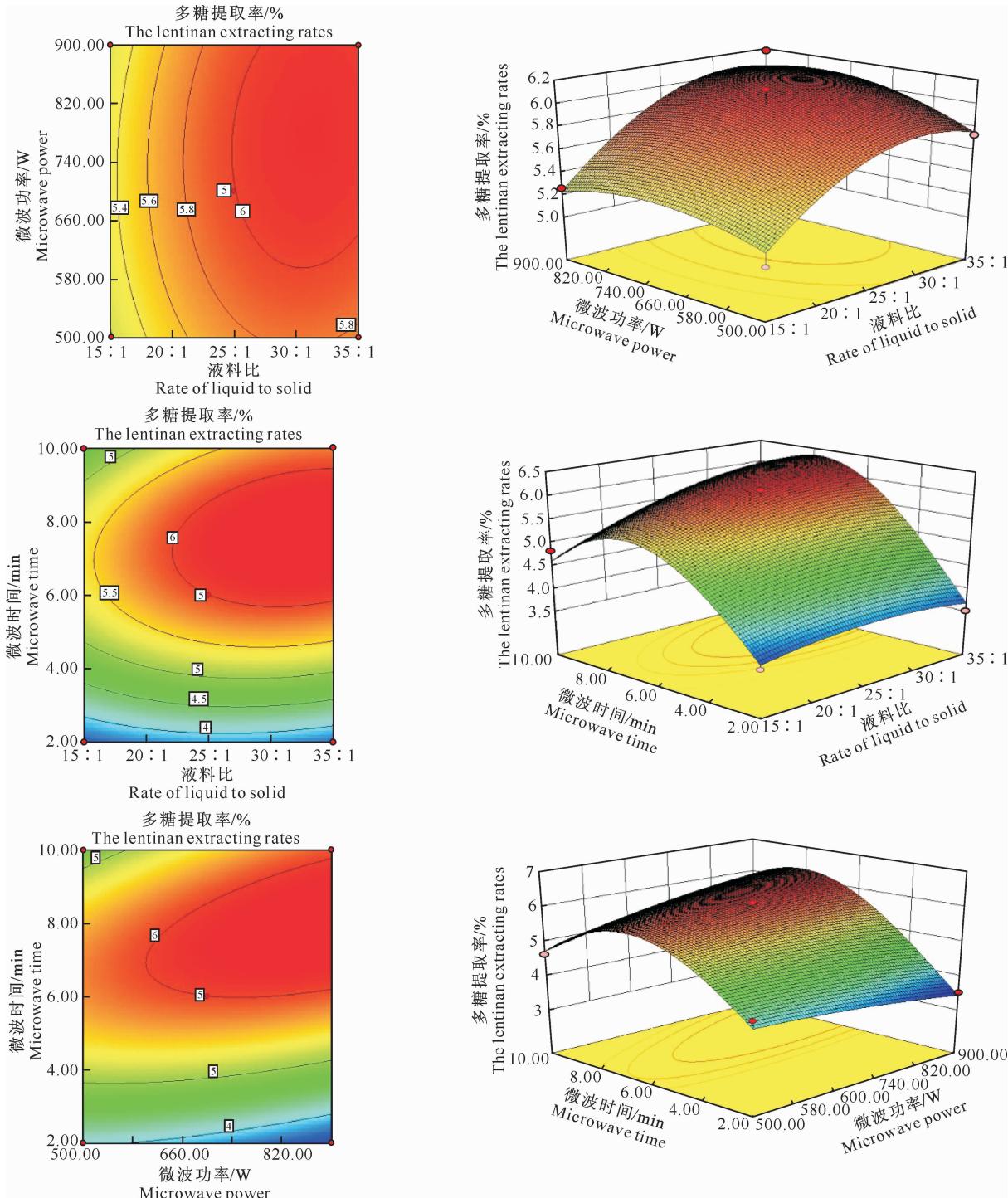


图 4 两两因素交互作用对香菇多糖提取率影响的等高线图(左)和响应面图(右)

Fig. 4 Contour plot (left) and response surface (right) of interactions between two factors on the lentinan extracting rates

图, 可反映各因素对其响应值的影响。本试验固定一个因素为中间值, 研究另 2 个因素间的交互作用, 根据所做的三维空间曲面图, 分析液料比、微波功率和微波时间 3 个因素对香菇多糖提取率的影响, 结果见图 4。

由图 4 可知,液料比与微波功率之间的交互作用不显著;在一定的微波功率条件下,随着液料比的增大,香菇多糖提取率基本稳定在 5%~6%;在液料比为 15:1 时,微波功率几乎对香菇多糖提取率无影响;在液料比为 35:1 时,香菇多糖提取率随着微波功率增大略有增加,到达 740 W 基本趋于稳定。

由图 4 还可知,液料比与微波时间的交互作用不显著;在微波时间为 2~6 min 时,液料比对香菇多糖提取率影响不显著;在一定液料比条件下,随着微波时间的延长,香菇多糖提取率均呈现先升高后下降的趋势。

由图 4 可见,微波时间与微波功率的交互作用显著;在低微波功率下,多糖提取率会随着微波时间的延长先升高后下降;在高微波功率下,多糖提取率随着时间的延长,起初升高较快,然后略有下降。说明提取时间过长,溶液温度过高,会导致香菇多糖降解,提取率反而下降。

综上所述,由回归模型得到影响香菇多糖提取率的各因素最优值为:液料比 35:1、微波功率 900 W、微波时间 8.36 min,最大预测值为 6.63%。考虑操作方便性,将提取工艺参数修正为液料比 35:1、微波功率 900 W、微波时间 8.5 min。为了检验该最佳提取工艺的可靠性,采用上述最优条件进行验证试验,得到多糖提取率的验证值为 6.49%,与理论最大预测值(6.63%)相对误差仅为 2.11%,小于 5%,因此,采用 Box-Behnken 响应面法优化微波辅助提取香菇多糖工艺是有效可行的。

3 讨 论

香菇多糖是水溶性多糖,利用微波从香菇子实体粉末中提取多糖时,只有选择合适的液料比才能促进多糖从香菇细胞内溶出,并达到饱和状态。另外,微波功率和微波时间对香菇多糖提取率的影响较大,功率过大或时间过长均会导致多糖的结构破坏。合理地选择微波功率和微波时间可以适当减少电量消耗,降低企业生产成本。利用微波辅助提取香菇多糖的研究报道较少。2012 年,聂小宝等^[21]用微波法辅助提取香菇多糖,提取率仅为 5.47%。

本研究在单因素试验基础上,通过 Box-Behnken 响应面试验,得到微波辅助提取香菇多糖的最佳工艺条件为:液料比 35:1、微波功率 900 W、微波时间 8.5 min。在此工艺条件下,香菇多糖的提取率为 6.49%,显著高于文献[21]报道的结果,

且与预测值(6.63%)相对误差仅为 2.11%。这是由于采用苯酚-硫酸法检测多糖具有较好的稳定性和准确性^[20],且响应面法可在更广泛的范围内考虑因素的组合、预测响应值,比其他分析方法更为高效^[15]。因此,本研究得到的微波辅助提取香菇多糖工艺可为香菇多糖的产业化生产以及多糖化合物的综合利用提供理论依据。

〔参考文献〕

- 李月梅. 香菇的研究现状及发展前景 [J]. 微生物学报, 2005, 32(4):149-152.
Li Y M. Research status and prospect of *Lentinula edodes* [J]. Journal of Microbiology, 2005, 32(4):149-152. (in Chinese)
- 徐锦堂. 中国药用真菌学 [M]. 北京:北京医科大学·中国协和医科大学联合出版社,1997:625-644.
Xu J T. Chinese mycology medical [M]. Beijing: Beijing Medical University. China Xiehe Medical University Joint Publishing House, 1997:625-644. (in Chinese)
- Jong S C, Smith J M. Birmingham, medicinal and therapeutic value of the mushroom [J]. Advances in Applied Microbiology, 1993, 39:152.
- Funebo T, Ohlesson T. Microwave-assisted air dehydration of apple and mushroom [J]. Journal of Food Engineering, 1998, 38(3):353-367.
- 王 粛,任 清,李 奇,等. 香菇多糖的提取及其抗氧化性和保湿性评价 [J]. 食用菌, 2008, 30(5):58-60.
Wang F, Ren Q, Li Q, et al. Extraction of lentinan and evaluation of its oxidation resistance and moisturizing [J]. Edible Mushroom, 2008, 30(5):58-60. (in Chinese)
- Ma C Q, Xia R, Peng Y, et al. Studies of extraction method of lentinan and inacids [J]. Medical Herald, 2003, 22 (6): 372-374.
- 丁 丁. 香菇多糖及衍生物抑制 AFB_1 合成及其抑制机理研究 [D]. 陕西杨凌:西北农林科技大学,2013.
Ding D. Inhibitory effects and mechanisms of lentinan and its derivatives against aflatoxin production by *aspergillus flavus* [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2013. (in Chinese)
- 陈文强,邓百万,刘开辉,等. 猪苓多糖超声提取工艺条件优化 [J]. 食品与生物技术学报, 2008, 27(4):53-57.
Chen W Q, Deng B W, Liu K H, et al. Study on the optimization of ultrasonic extraction technique of polysaccharide from *Polyporus umbellatus* [J]. Journal of Food and Biotechnology, 2008, 27(4):53-57. (in Chinese)
- 杨润亚,李维焕,吕芳芳. 秀珍菇子实体多糖的提取工艺优化及体外抗氧化性 [J]. 食品与生物技术学报, 2012, 31(10):1093-1099.
Yang R Y, Li W H, Lü F F. Optimization of extraction technique and the antioxidant activity of polysaccharides from *Pleurotus geesteranus* [J]. Journal of Food and Biotechnology, 2012, 31(10):1093-1099. (in Chinese)

- [10] Hang S Q, Ning Z X. Extraction of polysaccharide from *Ganoderma lucidum* and its immune enhancement activity [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2010, 47: 336-341.
- [11] 赖谱富, 沈恒胜, 陈君琛, 等. 大杯蕈菇柄多糖微波提取工艺优化 [J]. 福建农业学报, 2014, 29(3): 271-275.
- Lai P F, Shen H S, Chen J C, et al. Optimization of microwave extraction of polysaccharides from *Clitocybe maxima* stem [J]. Fujian Journal of Agricultural Science, 2014, 29(3): 271-275. (in Chinese)
- [12] 史碧波. 微波辅助提取鸡油菌多糖的工艺研究 [J]. 安徽农业科学, 2011, 39(30): 18533-18535.
- Shi B B. Study on microwave assisted extraction of polysaccharides from *Cantharellus cibarius* [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2011, 39(30): 18533-18535. (in Chinese)
- [13] 郭永月, 陶明煊, 赵云霞, 等. 白玉菇多糖提取方法的比较和优化 [J]. 南京大学学报, 2013, 36(3): 87-92.
- Guo Y Y, Tao M X, Zhao Y X, et al. Comparison and optimization among extraction technologies of polysaccharide from *Pleurotus nebrodensis* [J]. Journal of Nanjing Normal University, 2013, 36(3): 87-92. (in Chinese)
- [14] 张颖. 对茯苓多糖提取方法的比较研究 [J]. 中国实用医药, 2012, 7(4): 249-250.
- Zhang Y. Comparison among extraction technologies of polysaccharide from *Poria cocos* [J]. China Practical Medical, 2012, 7(4): 249-250. (in Chinese)
- [15] 慕运动. 响应面方法及其在食品工业中的应用 [J]. 郑州工程学院学报, 2001, 22(3): 91-94.
- Mu Y D. Response surface methodology and its application in food industry [J]. Journal of Zhengzhou Institute of Technology, 2001, 22(3): 91-94. (in Chinese)
- [16] 朱磊, 王振宇, 周芳. 响应面法优化微波辅助提取黑木耳多糖工艺研究 [J]. 中国食品学报, 2009, 9(2): 53-60.
- Zhu L, Wang Z Y, Zhou F. Study on optimization of micro-wave-assistant extraction of polyaccharides from *Auricularia auricular* by response surface method [J]. Journal of Chinese Food, 2009, 9(2): 53-60. (in Chinese)
- [17] 谢建华, 单斌, 张卫国. 响应面法优化微波辅助提取发酵虫草菌丝体多糖工艺研究 [J]. 生物加工过程, 2009, 7(3): 34-38.
- Xie J H, Shan B, Zhang W G. Mirowave-assisted extraction of polyaccharides from fermented *Cordyceps sinensis* mycelium optimized by response surface analysis [J]. Chinese Journal of Bioprocess Engineering, 2009, 7(3): 34-38. (in Chinese)
- [18] 杨开, 薛介丰, 金月忠, 等. 松木层孔菌多糖的微波提取和体外活性研究 [J]. 食药用菌, 2013(2): 45-49.
- Yang K, Xue J F, Jin Y Z, et al. Study on microwave extraction and evaluation *in vitro* of *Phellinus pini* polysaccharides [J]. Edible and Medicinal Mushrooms, 2013(2): 45-49. (in Chinese)
- [19] 岳春, 李靖婧, 方永远. 虫草多糖微波辅助提取工艺的优化 [J]. 食品与机械, 2014, 30(1): 192-195.
- Yue C, Li J J, Fang Y Y. Optimization of microwave-assisted extraction on polysaccharides from *Cordyceps militaris* [J]. Food & Machinery, 2014, 30(1): 192-195. (in Chinese)
- [20] 姜琼, 谢好. 苯酚-硫酸法测定多糖的改进 [J]. 江苏农业科学, 2013, 41(12): 316-318.
- Jiang Q, Xie Y. Improvement of phenol-sulfuric acid method for determination of polysaccharides [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2013, 41(12): 316-318. (in Chinese)
- [21] 聂小宝, 张长峰, 侯成杰. 微波辅助法提取香菇多糖工艺的研究 [J]. 食品工艺, 2012, 33(9): 37-39.
- Nie X B, Zhang C F, Hou C J. Study on the extraction technical of lentinan with microwave [J]. Food Technology, 2012, 33(9): 37-39. (in Chinese)