袁明亚, 李玉娟, 胡诏刈, 等. 灵芝多糖不同提取工艺优化及其双向免疫调节活性评价 [J]. 食品工业科技, 2026, 47(18): 486−495. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025080147

YUAN Mingya, LI Yujuan, HU Zhaoyi, et al. Optimization of Different Extraction Processes for *Ganoderma lucidum* Polysaccharides and Evaluation of Their Bidirectional Immunomodulatory Activities[J]. Science and Technology of Food Industry, 2026, 47(18): 486−495. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2025080147

· 食品营养与健康功效 ·

灵芝多糖不同提取工艺优化及其双向免疫调节活性评价

袁明亚[1], 李玉娟[2], 胡诏刈[1], 张浦洁[1], 陈元标[3], 张得钧[1,*]

（1.青海大学生态环境工程学院, 青海西宁 810016;
2.青海大学临床医学院, 青海西宁 810001;
3.青海净草生物科技有限公司, 青海西宁 810003）

摘　要: 目的：优化超声辅助高压水提取法（UHPE）、超声辅助热水浸提法（UHWE）及超声辅助酶解法（UEH）提取灵芝多糖的工艺，并考察最佳工艺制备的多糖的双向免疫调节活性。方法：采用单因素实验与响应面试验对 UHPE、UHWE 及 UEH 提取灵芝多糖的工艺进行优化，考察料液比、超声时间、提取温度、提取时间、酶浓度及酶解温度对多糖得率的影响，并以最佳提取工艺分别制备 UHPE-GLP、UHWE-GLP 和 UEH-GLP。基于 RAW264.7 巨噬细胞，研究 UHPE-GLP、UHWE-GLP 和 UEH-GLP 的免疫调节活性和对脂多糖（LPS）诱导的炎症模型的抗炎活性。结果：UEH-GLP 优化的提取工艺为料液比 1:31 g/mL、超声时间 24 min、酶浓度 5%、酶解温度 53 ℃，在此条件下 GLP 得率达到三种工艺中最高，为 10.92%±0.05%。细胞实验结果表明，UHPE-GLP、UHWE-GLP 和 UEH-GLP 不仅通过促进 RAW264.7 巨噬细胞增殖、肿瘤坏死因子-α（Tumor necrosis factor-α, TNF-α）、白细胞介素-6（Interleukin-6, IL-6）和一氧化氮（Nitric oxide, NO）分泌来发挥增强免疫功能的作用，还通过减少 TNF-α 和 NO 的分泌量进而抑制巨噬细胞的过度激活来发挥抑制免疫功能的作用，进而表现出良好的双向免疫调节活性。其中，UEH-GLP 双向免疫调节活性最为显著。结论：UEH-GLP 在得率及双向免疫调节活性方面均具有显著优势。本研究为灵芝多糖的开发和利用提供了理论依据。

关键词: 灵芝多糖, 提取方法, 响应面优化, RAW264.7 巨噬细胞, 双向免疫调节活性
中图分类号: R284.2　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1002−0306(2026)18−0486−10
DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2025080147
本文网刊:

Optimization of Different Extraction Processes for *Ganoderma lucidum* Polysaccharides and Evaluation of Their Bidirectional Immunomodulatory Activities

YUAN Mingya[1], LI Yujuan[2], HU Zhaoyi[1], ZHANG Pujie[1], CHEN Yuanbiao[3], ZHANG Dejun[1,*]

（1.College of Ecology and Environmental Engineering, Qinghai University, Xining 810016, China;
2.Research Center for High Altitude Medicine, Qinghai University, Xining 810001, China;
3.Qinghai Jingcao Biotechnology Co., Ltd., Xining 810003, China）

Abstract: Objective: To optimize ultrasonic assisted high-pressure water extraction method (UHPE), ultrasonic assisted hot water extraction method (UHWE), and ultrasound assisted enzymatic hydrolysis method (UEH) for polysaccharide extraction from *Ganoderma lucidum* and examine the bidirectional immunomodulatory activities of polysaccharides extracted using these optimized methods. Methods: Optimization of UHPE, UHWE, and UEH were performed using single factor and

收稿日期: 2025−08−13
基金项目: 青海大学科研实力提升专项（2025KTSA06）。
作者简介: 袁明亚（2000−）, 女, 硕士研究生, 研究方向: 天然产物研究与开发, E-mail: 3231406448@qq.com。
*** 通信作者:** 张得钧（1975−）, 男, 博士, 教授, 研究方向: 天然产物研究与开发, E-mail: djzhang@qhu.edu.cn。

response surface experiments, examining the effects of material-liquid ratio, ultrasound time, extraction temperature, extraction time, enzyme concentration, and enzymatic hydrolysis temperature on the polysaccharide yield. UHPE-GLP, UHWE-GLP, and UEH-GLP were prepared separately under the optimal extraction conditions. Based on RAW264.7 macrophages, UHPE-GLP, UHWE-GLP, and UEH-GLP were subjected to investigate the immunomodulatory activities, and their anti-inflammatory activities against lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammatory models. Results: The experimental results of process optimization showed that the optimal extraction process of UEH-GLP was as follow: Material-liquid ratio of 1∶31 g/mL, ultrasound time of 24 min, enzyme concentration of 5% and enzymatic hydrolysis temperature of 53 ℃. Under these conditions, the GLP yield reached the highest among the three processes, at 10.92%±0.05%. The results of cell experiments showed that, UHPE-GLP, UHWE-GLP, and UEH-GLP could not only enhance immune function of RAW264.7 macrophages by promoting the proliferation, and secretion of tumor necrosis factor-α (TNF-α), interleukin-6 (IL-6), and nitric oxide (NO), but also inhibit immune function by reducing the secretion of TNF-α and NO to suppress the excessive activation of macrophages. These results indicated that UHPE-GLP, UHWE-GLP, and UEH-GLP exhibited excellent bidirectional immunomodulatory activities, among which UEH-GLP showed the most prominent bidirectional immunomodulatory activities. Conclusion: UEH-GLP has significant advantages in yield and bidirectional immunomodulatory activities. This study provides a theoretical basis for the development and utilization of *Ganoderma lucidum* polysaccharide.

Key words: *Ganoderma lucidum* polysaccharide; extraction method; response surface optimization; RAW264.7 macrophages; bidirectional immunomodulatory

灵芝（*Ganoderma lucidum*）又称仙草、瑞草，为灵芝科（Ganodermataceae）、灵芝属（*Ganoderma*）真菌。东汉著作《神农本草经》并将其列为可扶正固本、延年益寿、健身增智的上品[1]。《中国药典》2020 年版记载灵芝性味甘、平，归心、肺、肝、肾经，具有补气安神、止咳平喘的功能。作为一种药食两用的真菌，灵芝不仅在中医药中占据重要地位，更在功能性食品、保健品等产品开发市场中备受关注[2]。

研究表明，灵芝含有多糖、三萜、生物碱、氨基酸等生物活性成分[3]，其中，多糖是其主要的活性成分之一，具有免疫调节[4−5]，抗炎[6−7]，抗氧化[8−9] 和抗肿瘤[10] 等多种药理活性。研究表明，不同的提取方法会导致多糖提取率、化学成分组成及功能活性的多样性[11−13]。目前，灵芝多糖（*Ganoderma lucidum* polysaccharides, GLP）的提取方法主要有热水浸提、酶提取、超声波提取和高压热水提取等。热水提取法成本低、流程简单，但提取率低且反应时间长[14]。酶提法直接降解破坏细胞壁，具有条件温和、提取率高的优点[14]。高压热水提取法利用高温高压条件对细胞壁的作用加速多糖的溶出，具有经济、高效的优点，可推广于工业化生产[15]。超声波提取法通过空化效应和机械振动破坏细胞结构，促进多糖成分快速析出，提取效率高，且兼容性强可以与热水浸提、酶解等方法结合使用，进一步优化提取工艺[16]。胡斌杰等[17] 将热水法和超声波法提取 GLP 的工艺进行对比研究，最佳工艺下与热水提取法相比，超声波法将提取时间缩短了 3/4，多糖提取率提高了 30%。研究表明，在多糖提取过程中将不同提取方法联合使用可以有效提高多糖产量[1,18]。因此，将超声波处理与常用的 GLP 提取方法相结合，有利于提高 GLP 提取率，实现灵芝的高效利用。

本研究对超声辅助高压水提法（Ultrasonic assisted high-pressure water extraction method, UHPE）、超声辅助热水浸提法（Ultrasonic assisted hot water extraction method, UHWE）和超声辅助酶解法（Ultrasound assisted enzymatic hydrolysis method, UEH）三种不同方法提取 GLP 的工艺进行优化，提高 GLP 的得率，为提高灵芝利用率提供实验依据。基于 RAW264.7 巨噬细胞评价最佳工艺制备多糖的双向免疫调节活性，为 GLP 在功能性食品、保健品领域的进一步开发与利用提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　材料与仪器

灵芝　青海净草生物科技有限公司；小鼠单核巨噬细胞 RAW264.7　中国科学院细胞库；纤维素酶（30000 U/g）　山东隆科特酶制剂有限公司；无血清非程序冻存液、RAW264.7 细胞专用培养基、PBS 缓冲液（1×）、DMEM 高糖基础培养基　武汉普诺赛生命科技有限公司；CCK-8、TNF-α、IL-6 ELISA 试剂盒、一氧化氮检测试剂盒　武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司。

DFY-400A 高速万能粉碎机　无锡沃信仪器有限公司；DHG-9070A 电热恒温鼓风干燥机　上海齐欣科学仪器有限公司；KQ-500E 超声波清洗器　昆山市超声仪器有限公司；SQ810C 立式压力蒸汽灭菌器　重庆雅马拓科技有限公司；HWS-24 电热恒温水浴锅　上海一恒科学仪器有限公司；SHZ-DIII 循环水真空泵　郑州市亚荣仪器有限公司；N-1300S-W 旋转蒸发仪、FDL-2000 冷冻干燥机　上海爱朗仪器有限公司；AC2-4S8-CN 生物安全柜　新加坡艺思高科技有限公司（ESCO）；Happy-TL21 高速冷冻离心机　济南福的机械有限公司；Ti2-U 倒置荧光显微镜　株式会社尼康（Nikon）；Herocell 180 二氧化碳培养箱　上海润度生物科技有限公司；A51119500C 酶标仪　赛默飞世尔科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 GLP 提取工艺 将灵芝粉碎成粉末，按照一定的料液比加入超纯水，4 ℃ 冰箱内浸泡过夜，分别按照 UHPE、UHWE 和 UEH 的操作步骤提取 GLP，提取液真空抽滤得到 GLP 提取液，减压浓缩后冷冻干燥得到 GLP。参考相关文献 [19−21]，按照下式计算 GLP 得率。

$$R = \frac{m_1}{m_0} \times 100$$

式中：R 表示 GLP 得率，%；m_1 表示 GLP 的质量，g；m_0 表示称取的灵芝粉末的质量，g。

1.2.2 GLP 提取单因素实验 参考周岩飞等[22] 的提取方法并进行调整，使用立式压力蒸汽灭菌器，将料液比 1∶30 g/mL，超声时间 20 min，提取温度 120 ℃，提取时间 20 min 作为超声辅助高压水提灵芝多糖（UHPE-GLP）提取的基本工艺条件。设置料液比 1∶10、1∶20、1∶30、1∶40、1∶50 g/mL；超声时间 10、15、20、25、30 min；提取温度 110、115、120、125、130 ℃；提取时间 10、20、30、40、50 min，以 GLP 得率为指标进行单因素实验。

参考栾翠荣等[23] 的提取方法并进行调整，将料液比 1∶30 g/mL，超声时间 20 min，提取温度 90 ℃，提取时间 30 min 作为超声辅助热水浸提灵芝多糖（UHWE-GLP）提取的基本工艺条件。设置料液比 1∶10、1∶20、1∶30、1∶40、1∶50 g/mL；超声时间 10、15、20、25、30 min；提取温度 70、75、80、85、90 ℃；提取时间 10、20、30、40、50 min，以 GLP 得率为指标进行单因素实验。

参考崔笑傲等[24] 的提取方法并进行调整，将料液比 1∶30 g/mL，超声时间 20 min，酶浓度 4.5%，酶解温度 50 ℃，酶解时间 60 min 作为超声辅助酶解灵芝多糖（UEH-GLP）提取的基本工艺条件。设置料液比 1∶10、1∶20、1∶30、1∶40、1∶50 g/mL；超声时间 10、15、20、25、30 min；酶浓度 1.5%、3%、4.5%、6%、7.5%；酶解温度 40、45、50、55、60 ℃，以 GLP 得率为指标进行单因素实验。

1.2.3 响应面法优化 GLP 提取工艺 基于单因素实验，以 GLP 得率为响应值，利用响应面法对不同提取方法进行优化。三种提取方法的试验设计如表 1。

1.2.4 GLP 对 RAW264.7 巨噬细胞双向免疫调节活性的影响

1.2.4.1 细胞增殖活性检测 按照 1×10^4 个/孔的密度将处于对数生长期的 RAW264.7 巨噬细胞接种于 96 孔板中，于 37 ℃、5% CO_2 条件下连续培养 24 h。设置给药组、阴性对照组（Con）及空白组，每组 6 个复孔。给药组分别加入梯度浓度的 GLP（25~400 μg/mL），处理细胞后再培养 24 h。按照 10 μL/孔加入 CCK-8 溶液，继续孵育 1.5 h 后检测 A_{450}，按照下式计算细胞增殖率。

表 1 响应面试验设计因素与水平

Table 1 Experimental design factors and levels of response surface

提取方法	因素	水平		
		−1	0	1
UHPE	A_1：料液比（g/mL）	1∶20	1∶30	1∶40
	B_1：超声时间（min）	15	20	25
	C_1：提取温度（℃）	115	120	125
	D_1：提取时间（min）	10	20	30
UHWE	A_2：料液比（g/mL）	1∶20	1∶30	1∶40
	B_2：超声时间（min）	15	20	25
	C_2：提取温度（℃）	80	85	90
	D_2：提取时间（min）	20	30	40
UEH	A_3：料液比（g/mL）	1∶20	1∶30	1∶40
	B_3：超声时间（min）	15	20	25
	C_3：酶浓度（%）	3.0	4.5	6.0
	D_3：酶解温度（℃）	45	50	55

$$R = \frac{A_2 - A_0}{A_1 - A_0} \times 100$$

式中：R 表示细胞增殖率，%；A_0 表示空白组的吸光度；A_1 表示 Con 组的吸光度；A_2 表示给药组的吸光度。

1.2.4.2 细胞因子分泌量检测 按照 4×10^5 个/孔的密度将处于对数生长期的 RAW264.7 巨噬细胞接种于 12 孔板中，于 37 ℃、5% CO_2 条件下连续培养 24 h。

免疫调节组：设置 Con 组、阳性对照组及给药组，每组 3 个复孔。阳性对照组加入 1 μg/mL 脂多糖（Lipopolysaccharide，LPS）溶液[25−27]，给药组加入梯度浓度的 GLP（25~400 μg/mL）。处理细胞后再培养 24 h。按照试剂盒说明书方法检测上清液中 TNF-α、IL-6 和 NO 的含量。

炎症组：设置 Con 组、LPS 组及给药组，每组 3 个复孔。Con 组加入 DMEM 培养基，LPS 组及给药组加入 1 μg/mL LPS 溶液，诱导 8 h 后给药组弃上清加入梯度浓度的 GLP（25~400 μg/mL），继续培养 24 h。按照试剂盒说明书方法检测上清液中 TNF-α 和 NO 的含量。

1.3 数据处理

所有实验重复三次，实验数据以 Mean±SD 表示。响应面试验的回归模型和工艺参数优化分析使用 Design Expert 8.0 软件。数据统计分析及数据可视化使用 Graphpad Prism 8.0 软件。组间差异对比采用单因素方差分析，$P<0.05$ 表示差异显著，$P<0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 灵芝多糖提取单因素实验结果

2.1.1 UHPE 提取单因素实验结果 图 1 为不同单

因素对 UHPE-GLP 得率的影响。料液比在 1∶10~1∶30 g/mL 之间，随料液比增大，灵芝粉末与溶剂的接触面积显著增大，促进多糖的溶解和提取，UHPE-GLP 得率显著提高；1∶30~1∶50 g/mL 之间，随溶解量不断增大，料液比对得率的影响趋于平缓，得率不再提高。因此，选择料液比 1∶20、1∶30、1∶40 g/mL 进行后续 UHPE 响应面优化试验。超声时间在 10~20 min 之间，随着超声时间的增加，细胞壁受到的超声的作用力不断增大，细胞壁逐步被破坏促进多糖溶解到溶剂中，UHPE-GLP 得率不断提高；超声时间超过 20 min 后由于超声作用对部分多糖结构的破坏导致得率呈下降趋势[28]。因此，选择超声时间 15、20、25 min 进行后续 UHPE 响应面优化试验。提取温度在 110~120 ℃ 之间，随温度升高，压力蒸汽灭菌器内部压强不断增大，高压条件对细胞壁的破碎作用有利于多糖的溶出[22]，UHPE-GLP 得率显著提高；继续升高温度，在多糖溶出的同时也会造成多糖降解，所以在 120~130 ℃ 之间得率基本保持不变。因此，选择提取温度 115、120、125 ℃ 进行后续 UHPE 响应面优化试验。提取时间在 10~20 min 之间，高压条件破碎细胞壁使得多糖溶出，UHPE-GLP 得率显著提高；超过 20 min 后固液体中多糖达到平衡，继续延长提取时间，高温高压条件加速多糖的降解[29]，得率不断降低。因此，选择提取时间 10、20、30 min 进行后续 UHPE 响应面优化试验。

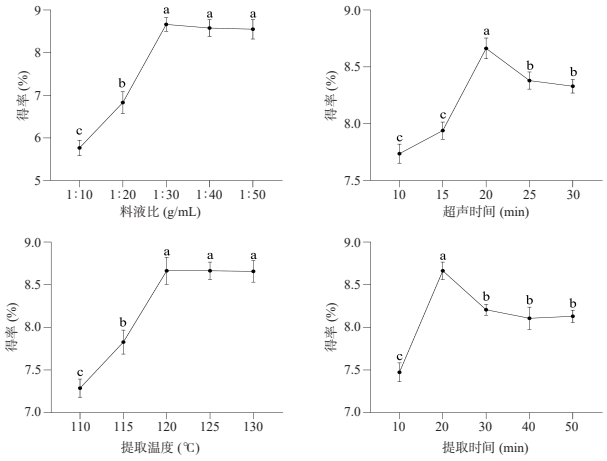


图 1　不同因素对 UHPE-GLP 得率的影响

Fig.1　Effects of different factors on UHPE-GLP yield

注：不同字母代表各组之间差异显著（P<0.05），图 2~图 3 同。

2.1.2　UHWE 提取单因素实验结果　图 2 为不同因素比对 UHWE-GLP 得率的影响。参考 2.1.1 中不同料液比和超声时间对 UHPE-GLP 得率影响的分析，选择料液比 1∶20、1∶30、1∶40 g/mL，超声时间 15、20、25 min 进行后续 UHWE 响应面优化试验。提取温度在 70~85 ℃ 之间，随着提取温度升高，分子热运动加快，加速了多糖分子从细胞中溶出，UHWE-GLP 得率显著提高[30]；随着温度继续增加，常压下温度对得率的影响幅度减小，得率基本保持不变。因此，选择提取温度 80、85、90 ℃ 进行后续 UHWE 响应面优化试验。提取时间在 10~30 min 之间，随浸提时间增加，多糖充分溶解到提取溶剂中，UHWE-GLP 得率显著提高；超过 30 min 后随着浸提时间继续延长，其他物质也竞争性的溶出，导致在 30 min 后得率略微降低[30]。因此，选择提取时间 20、30、40 min 进行后续 UHWE 响应面优化试验。

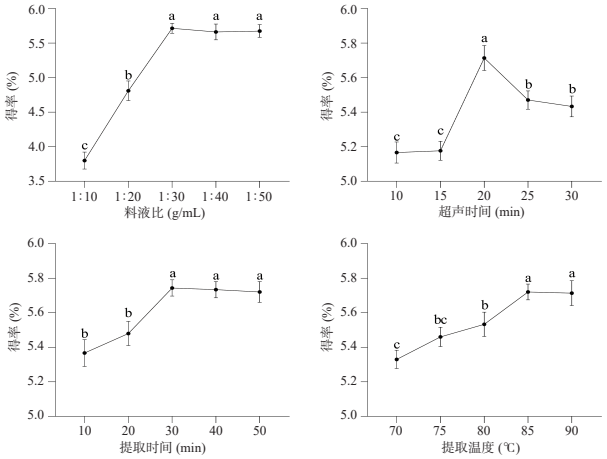


图 2　不同因素对 UHWE-GLP 得率的影响

Fig.2　Effects of different factors on UHWE-GLP yield

2.1.3　UEH 提取单因素实验结果　图 3 为不同因素比对 UEH-GLP 得率的影响。参考 2.1.1 中不同料液比和超声时间对 UHPE-GLP 得率影响的分析，选择料液比 1∶20、1∶30、1∶40 g/mL，超声时间 15、20、25 min 进行后续 UEH 响应面优化试验。酶浓度在 1.5%~4.5% 之间，酶解反应速率受到酶浓度的限制，随着酶浓度的增加，酶解反应速率不断增大，UEH-GLP 得率显著提高；当酶浓度超过 4.5% 时，反应体系中过量的酶会破坏多糖分子的完整性，得率呈下降趋势[31]。因此，选择酶浓度 3.0%、4.5%、6.0% 进行后续 UEH 响应面优化试验。酶解温度在 40~50 ℃ 之间，随着温度的升高，酶的催化活性增大且底物与酶的碰撞频率增加，UEH-GLP 得率显著提高；超过 50 ℃ 后，温度继续上升会导致酶变性失活，

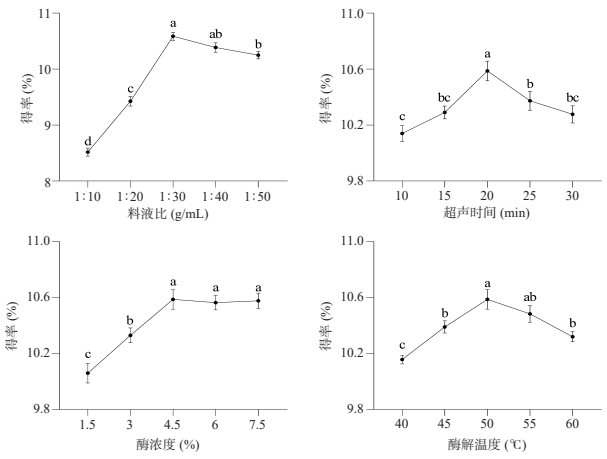


图 3　不同因素对 UEH-GLP 得率的影响

Fig.3　Effects of different factors on UEH-GLP yield

得率大幅降低[32]。因此，选择酶解温度 45、50、55 ℃进行后续 UEH 响应面优化试验。

2.2 响应面法优化提取工艺结果

2.2.1 UHPE 响应面试验优化结果

2.2.1.1 响应面模型分析 UHPE 响应面试验设计与结果见表 2。数据拟合回归方程为 $Y=8.84+0.39A_1+0.026B_1+0.23C_1+0.23D_1+0.28A_1B_1-0.18A_1C_1+0.14A_1D_1-0.14B_1C_1-0.13B_1D_1-0.32C_1D_1-0.47A^2_1-0.33B^2_1-0.26C^2_1-0.48D^2_1$。

表 2 UHPE 响应面试验设计与结果

Table 2 Experimental design and results of response surface for UHPE

试验号	A_1	B_1	C_1	D_1	得率(%)	试验号	A_1	B_1	C_1	D_1	得率(%)
1	−1	0	0	−1	7.49	16	0	0	0	0	8.96
2	0	0	−1	1	8.57	17	0	−1	−1	0	8.01
3	1	0	1	0	8.69	18	0	0	0	0	8.69
4	1	0	−1	0	8.26	19	−1	0	0	1	7.61
5	1	−1	0	0	8.23	20	0	0	1	1	8.42
6	0	0	0	0	8.98	21	−1	−1	0	0	7.9
7	1	0	0	1	8.63	22	0	0	0	0	8.55
8	1	0	0	−1	7.95	23	0	1	−1	0	8.47
9	0	1	0	1	8.01	24	1	1	0	0	8.69
10	−1	1	0	0	7.23	25	0	−1	1	0	8.37
11	0	−1	0	−1	7.79	26	0	0	1	−1	8.23
12	0	0	0	0	9.02	27	−1	0	1	0	8.32
13	0	0	−1	−1	7.09	28	0	1	0	−1	8.12
14	−1	0	−1	0	7.18	29	0	1	1	0	8.28
15	0	−1	0	1	8.19						

注：料液比(A_1)、超声时间(B_1)、提取温度(C_1)、提取时间(D_1)，表3同。

方差分析结果见表 3，该回归模型为极显著水平(P<0.0001)，说明试验值接近理论值，模型可以用于预测响应值；失拟项不显著(P=0.4294>0.05)，未知因素对结果影响较小。模型决定系数(R^2=0.9038)与调整决定系数(R^2_{adj}=0.8076)差值小于 0.2，表明此模型拟合程度良好[33]。Adeq Precision 通过衡量模型信噪比来反映模型的精密度，在响应面优化中通常认为 Adeq Precision>4 时[34]，模型具有足够的信号强度，能够用于预测和优化工艺参数。该模型的 Adeq Precision 为 9.233>4，表明该模型可信度高，可以用于优化 UHPE-GLP 提取工艺。模型的变异系数 C.V.% 数值越小，数据的相对稳定性越好[35]。该模型变异系数 C.V.% 为 2.80%<10%，说明数据稳定性好，实验结果可靠。在响应面试验中，不同考察因素对响应值影响的大小可以通过方差分析表中的 F 值来确定。F 值越大，该因素对响应值的影响效果越显著[36]。由表 3 中 F 值大小可以确定各因素对 UHPE-GLP 得率影响大小的顺序为：料液比>提取时间>提取温度>超声时间。由表 3 中 P 值大小可知，料液比与超声时间(A_1B_1)，提取温度和提取时间(C_1D_1)两组交互作用对 UHPE-GLP 得率的影响相较于其他组交互作用更显著。

表 3 UHPE 响应面试验方差分析结果

Table 3 Response surface experiment variance analysis results for UHPE

来源	平方和	自由度	均方	F值	P值	显著性
模型	6.93	14	0.49	9.40	<0.0001	**
A_1-料液比	1.86	1	1.86	35.26	<0.0001	**
B_1-超声时间	8.008E-003	1	8.008E-003	0.15	0.7024	
C_1-提取温度	0.62	1	0.62	11.80	0.0040	**
D_1-提取时间	0.63	1	0.63	12.06	0.0037	**
A_1B_1	0.32	1	0.32	6.06	0.0274	*
A_1C_1	0.13	1	0.13	2.39	0.1441	
A_1D_1	0.078	1	0.078	1.49	0.2425	
B_1C_1	0.076	1	0.076	1.44	0.2506	
B_1D_1	0.065	1	0.065	1.23	0.2852	
C_1D_1	0.42	1	0.42	7.90	0.0139	*
A^2_1	1.43	1	1.43	27.17	0.0001	**
B^2_1	0.71	1	0.71	13.48	0.0025	**
C^2_1	0.42	1	0.42	8.06	0.0131	*
D^2_1	1.49	1	1.49	28.33	0.0001	**
残差	0.74	14	0.053			
失拟项	0.56	10	0.056	1.30	0.4294	
纯误差	0.17	4	0.043			
总和	7.66	28				

注：*表示差异显著(P<0.05)，**表示差异极显著(P<0.01)；表5、表7同。

2.2.1.2 UHPE 提取工艺验证 Design Expert 8.0 软件给出的最优提取条件为料液比 1∶35.11 g/mL、超声时间 20.98 min、提取温度 120.21 ℃、提取时间 22.74 min，UHPE-GLP 得率预测值为 8.979%。根据实验的可操作性调整为料液比 1∶35 g/mL、超声时间 21 min、提取温度 120 ℃、提取时间 23 min。在该条件下做三次重复实验，UHPE-GLP 得率为 9.06%±0.02%，与预测值差异较小，说明此模型具有可信度。

2.2.2 UHWE 响应面优化结果

2.2.2.1 响应面模型分析 UHWE 响应面试验设计与结果见表 4。数据拟合回归方程为 $Y=5.93+0.24A_2+0.079B_2+0.077C_2+0.15D_2-2.500E\text{-}003A_2B_2-0.12A_2C_2-0.055A_2D_2-0.077B_2C_2-0.017B_2D_2+0.025C_2D_2-0.23A^2_2-0.35B^2_2-0.11C^2_2-0.21D^2_2$。

方差分析结果见表 5，该回归模型为极显著水平(P<0.0001)，试验值接近理论值，模型可以用于预测响应值；失拟项不显著(P=0.4198>0.05)，未知因素对结果影响较小。模型决定系数(R^2=0.9311)与调整决定系数(R^2_{adj}=0.8623)差值小于 0.2，表明此模型拟合程度良好[33]。该模型的 Adeq Precision 为 11.483>4，表明该模型可信度高，可以用于优化 UHWE-GLP 提取工艺。该模型变异系数 C.V.% 为 1.98%<10%，说明数据稳定性好，实验结果可靠。由表 5 中 F 值大小可以确定各因素对 UHWE-GLP 得率影响大小的顺序为：料液比>提取时间>超声时间>提取温度。由表 5 中 P 值大小可知，料液比与提取温度(A_2C_2)，超声时间和提取温度(B_2C_2)两组交互作用对 UHWE-GLP得率的影响相较于其他组交互作用更显著。

表 4　UHWE 响应面试验设计与结果

Table 4　Experimental design and results of response surface for UHWE

试验号	A_2	B_2	C_2	D_2	得率(%)	试验号	A_2	B_2	C_2	D_2	得率(%)
1	0	0	0	0	5.87	16	0	0	1	−1	5.52
2	0	0	−1	1	5.68	17	0	−1	−1	0	5.17
3	0	1	1	0	5.58	18	0	1	−1	0	5.52
4	−1	−1	0	0	4.95	19	−1	0	0	1	5.51
5	1	0	0	1	5.87	20	1	0	1	0	5.68
6	−1	1	0	0	5.08	21	0	−1	0	1	5.39
7	−1	0	−1	0	5.26	22	0	−1	0	−1	5.19
8	0	0	0	0	6.09	23	0	−1	1	0	5.54
9	1	1	0	0	5.77	24	0	1	0	−1	5.38
10	0	0	−1	−1	5.45	25	0	1	0	1	5.51
11	1	−1	0	0	5.65	26	1	0	0	−1	5.54
12	−1	0	0	−1	4.96	27	0	0	0	0	5.87
13	0	0	0	0	5.97	28	1	0	−1	0	5.79
14	−1	0	1	0	5.62	29	0	0	0	0	5.86
15	0	0	1	1	5.85						

注: 料液比(A_2)、超声时间(B_2)、提取温度(C_2)、提取时间(D_2), 表5同。

表 5　UHWE 响应面试验方差分析结果

Table 5　Response surface experiment variance analysis results for UHWE

来源	平方和	自由度	均方	*F*值	*P*值	显著性
模型	2.30	14	0.16	13.52	<0.0001	**
A_2-料液比	0.71	1	0.71	58.43	<0.0001	**
B_2-超声时间	0.075	1	0.075	6.18	0.0261	*
C_2-提取温度	0.071	1	0.071	5.80	0.0304	*
D_2-提取时间	0.26	1	0.26	21.47	0.0004	**
A_2B_2	2.500E-005	1	2.500E-005	2.056E-003	0.9645	
A_2C_2	0.055	1	0.055	4.54	0.0513	
A_2D_2	0.012	1	0.012	0.99	0.3355	
B_2C_2	0.024	1	0.024	1.98	0.1817	
B_2D_2	1.225E-003	1	1.225E-003	0.10	0.7556	
C_2D_2	2.500E-003	1	2.500E-003	0.21	0.6572	
A^2_2	0.35	1	0.35	29.08	<0.0001	**
B^2_2	0.80	1	0.80	66.18	<0.0001	**
C^2_2	0.080	1	0.080	6.57	0.0225	*
D^2_2	0.29	1	0.29	24.03	0.0002	**
残差	0.17	14	0.012			
失拟项	0.13	10	0.013	1.33	0.4198	
纯误差	0.039	4	9.820E-003			
总和	2.47	28				

2.2.2.2　UHWE 提取工艺验证　Design Expert 8.0 软件给出的最优提取条件为料液比 1∶40 g/mL、超声时间 20.63 min、提取温度 83.98 ℃、提取时间 32.01 min, UHWE-GLP 得率预测值为 5.96%。根据实验的可操作性调整为料液比 1∶40 g/mL、超声时间 21 min、提取温度 84 ℃、提取时间 32 min。在该条件下做三次重复实验, UHWE-GLP 得率为 5.99%±0.13%, 与预测值差异较小, 说明此模型具有可信度。

2.2.3　UEH 响应面优化结果

2.2.3.1　响应面模型分析　UEH 响应面试验设计与结果见表 6。数据拟合回归方程为 $Y=10.53+0.29A_3+0.59B_3+0.23C_3+0.36D_3-0.25A_3B_3+0.042A_3C_3-0.017A_3D_3+0.30B_3C_3-0.030B_3D_3+0.095C_3D_3-0.47A^2_3-0.49B^2_3-0.45C^2_3-0.37D^2_3$。

表 6　UEH 响应面试验设计与结果

Table 6　Experimental design and results of response surface for UEH

试验号	A_3	B_3	C_3	D_3	得率(%)	试验号	A_3	B_3	C_3	D_3	得率(%)
1	0	1	0	1	10.56	16	−1	−1	0	0	8.59
2	0	0	0	0	10.27	17	0	0	−1	1	9.44
3	1	1	0	0	9.98	18	0	−1	1	0	8.58
4	−1	1	0	0	9.84	19	1	0	0	1	10.55
5	−1	0	0	−1	8.82	20	0	1	0	−1	9.75
6	0	0	0	0	11.03	21	0	0	1	−1	9.72
7	1	−1	0	0	9.72	22	0	−1	−1	0	8.78
8	0	1	1	0	11.01	23	1	0	1	0	10.03
9	0	−1	0	1	9.69	24	−1	0	−1	0	9.32
10	−1	0	1	0	9.62	25	1	0	0	−1	9.66
11	0	0	1	1	10.25	26	0	0	0	0	10.24
12	−1	0	0	1	9.78	27	0	0	0	0	10.08
13	0	−1	0	−1	8.76	28	0	1	−1	0	10.02
14	0	0	0	0	11.02	29	1	0	−1	0	9.56
15	0	0	−1	−1	9.29						

注: 料液比(A_3)、超声时间(B_3)、酶浓度(C_3)、酶解温度(D_3), 表7同。

方差分析结果见表 7, 该回归模型为极显著水平(P=0.0010), 试验值接近理论值, 模型可以用于预测响应值; 失拟项不显著(P=0.8312>0.05), 未知因素对结果影响较小。模型决定系数(R^2=0.8568)与调整决定系数(R^2_{adj}=0.7137)差值小于 0.2, 表明此模型拟合程度良好[33]。该模型的 Adeq Precision 为 8.562>4, 表明该模型可信度高, 可以用于优化 UEH-GLP 提取

表 7　UEH 响应面试验方差分析结果

Table 7　Response surface experiment variance analysis results for UEH

来源	平方和	自由度	均方	*F*值	*P*值	显著性
模型	11.33	14	0.81	5.98	0.0010	**
A_3-料液比	1.04	1	1.04	7.68	0.0150	*
B_3-超声时间	4.13	1	4.13	30.53	<0.0001	**
C_3-酶浓度	0.65	1	0.65	4.83	0.0453	*
D_3-酶解温度	1.52	1	1.52	11.23	0.0047	**
A_3B_3	0.25	1	0.25	1.81	0.1997	
A_3C_3	7.225E-003	1	7.225E-003	0.053	0.8206	
A_3D_3	1.225E-003	1	1.225E-003	9.057E-003	0.9255	
B_3C_3	0.35	1	0.35	2.62	0.1280	
B_3D_3	3.600E-003	1	3.600E-003	0.027	0.8727	
C_3D_3	0.036	1	0.036	0.27	0.6135	
A^2_3	1.42	1	1.42	10.53	0.0059	**
B^2_3	1.57	1	1.57	11.62	0.0042	**
C^2_3	1.31	1	1.31	9.70	0.0076	**
D^2_3	0.88	1	0.88	6.51	0.0230	*
残差	1.89	14	0.14			
失拟项	1.05	10	0.10	0.50	0.8312	
纯误差	0.84	4	0.21			
总和	13.23	28				

工艺。该模型变异系数 C.V.% 为 3.76%<10%, 说明数据稳定性好, 实验结果可靠。由表 7 中 F 值大小可以确定各因素对 UEH-GLP 得率影响大小的顺序为: 超声时间>酶解温度>料液比>酶浓度。由表 7 中 P 值大小可知, 料液比与超声时间(A_3B_3)、超声时间和酶浓度(B_3C_3)两组交互作用对 UEH-GLP 得率的影响相较于其他组交互作用更显著。

2.2.3.2 UEH 提取工艺验证 Design Expert 8.0 软件给出的最优提取条件为料液比 1∶31.41 g/mL、超声时间 23.56 min、酶浓度 5.34%、酶解温度 52.62 ℃, UEH-GLP 得率预测值为 10.91%。根据实验的可操作性调整为料液比 1∶31 g/mL、超声时间 24 min、酶浓度 5%、酶解温度 53 ℃。在该条件下做三次重复实验, UEH-GLP 得率为 10.92%±0.05%, 与预测值差异较小, 说明此模型具有可信度。

2.3 GLP 对 RAW264.7 巨噬细胞双向免疫调节活性的影响

2.3.1 GLP 对 RAW264.7 巨噬细胞免疫调节活性的影响 免疫调节是生物体维持内环境稳定的重要过程, 主要通过不同系统、细胞及分子间互相协同而发生[37]。巨噬细胞是构成免疫系统的一类主要细胞群, 广泛分布于机体的各种组织且功能强大, 在先天性及适应性免疫调节反应中起着关键性作用[38]。巨噬细胞可以通过不同的受体与多糖结合, 进而激活免疫应答反应发挥作用[27,39]。

采用 CCK-8 法测定 GLP 对 RAW264.7 巨噬细胞存活率的影响。结果见图 4a, 与 Con 组相比, 三种多糖在 25~400 μg/mL 浓度范围内均极显著促进 RAW264.7 巨噬细胞增殖(P<0.01)。实验结果表明, 三种多糖在 25~400 μg/mL 浓度范围内对 RAW264.7 巨噬细胞没有毒性。因此, 选择 25~400 μg/mL 作为后续实验的给药浓度。

当巨噬细胞受到刺激时, 会分泌多种免疫或炎症调节因子, 引起免疫调节反应[40]。TNF-α 作为一种促炎细胞因子, 在多种生理过程中发挥重要作用, 可以促进树突状细胞成熟激活固有免疫, 也可以刺激 T 细胞的增殖分化调控适应性免疫[25]。IL-6 也是重要的促炎细胞因子之一, 可以诱导 B 细胞分化, 促进细胞吞噬并在巨噬细胞的免疫应答反应中发挥重要作用[26]。NO 在机体免疫调节反应中发挥着重要作用, 其分泌量与巨噬细胞的吞噬能力呈正相关。NO 的分泌水平是评价免疫调节能力的指标之一[41]。为研究 GLP 对 RAW264.7 巨噬细胞免疫调节活性的影响, 选择了 TNF-α 和 IL-6 两种经典的细胞因子及 NO 进行研究, 结果如图 4b~图 4d 所示。在 25~400 μg/mL 浓度范围内, 三种多糖均可促进 TNF-α、IL-6 和 NO 的分泌且分泌量均呈剂量依赖性增大。当浓度为 25 μg/mL 时, 与 Con 组相比, UHWE-GLP 对 TNF-α 分泌量有极显著影响(P<0.01), 对 IL-6 和 NO 分泌量没有显著影响; UHPE-GLP 和 UEH-GLP 对 TNF-α、IL-6 和 NO 分泌量有

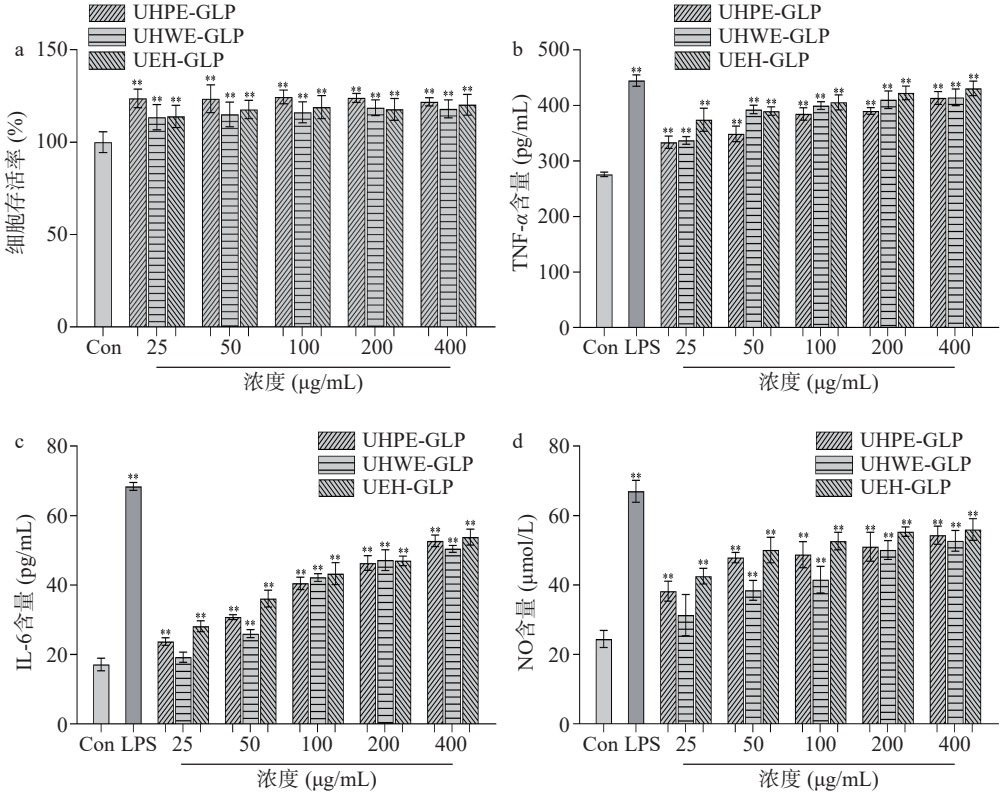


图 4 GLP 对 RAW264.7 巨噬细胞存活率及 TNF-α、IL-6 和 NO 分泌量的影响

Fig.4 Effects of GLP on the survival rate and secretion of TNF-α, IL-6 and NO in RAW264.7 macrophages

注: 与 Con 组相比, **P<0.01。

极显著影响（P<0.01）。当浓度在 50~400 μg/mL 范围内时，与 Con 组相比，三种多糖对 TNF-α、IL-6 和 NO 分泌量均具有极显著影响（P<0.01）。三种多糖相比，UEH-GLP 对 TNF-α、IL-6 和 NO 的分泌量影响最大；UHPE-GLP 对 TNF-α 的分泌量影响最小；UHWE-GLP 对 IL-6 和 NO 的分泌量影响最小。GAO 等[4] 研究发现 GLP-3 可呈剂量依赖性促进 RAW264.7 巨噬细胞中 NO、TNF-α、IL-6 等细胞因子的分泌，具有免疫调节作用，本研究结果与之相符合。结果表明，三种多糖均可以激活 RAW264.7 巨噬细胞，增加 TNF-α、IL-6 和 NO 的分泌量，发挥免疫调节作用；三种多糖的免疫调节活性稍有差别，其中，UEH-GLP 的免疫调节活性优于 UHPE-GLP 和 UHWE-GLP。

2.3.2　GLP 对 LPS 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞炎症的影响　作为炎症反应中的重要细胞因子，TNF-α 会促进 IL-6 和 IL-1β 等其他细胞因子的产生，导致出现细胞凋亡现象[42]。NO 与炎症反应也密切相关，在炎症过程中，过量的 NO 会引起氧化损伤，加速炎症渗出[43]。为研究 GLP 对 LPS 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞炎症的影响，选择了 TNF-α 和 NO 两个指标进行研究，结果如图 5。由图 5 可知，与 Con 组相比，经 LPS 诱导后 TNF-α 和 NO 分泌量均极显著性增大（P<0.01），与 LPS 组相比，在 25~400 μg/mL 浓度范围内，给药组均可减少 LPS 诱导后 TNF-α 和 NO 的分泌，且分泌量均呈剂量依赖性降低。当浓度为 25 μg/mL 时，与 LPS 组相比，三种多糖处理组对 LPS 诱导后 TNF-α 分泌量有显著影响（P<0.05）、NO 分泌量有极显著影响（P<0.01）；当浓度在 50~400 μg/mL 范围内时，与 LPS 组相比，三种多糖处理组对 LPS 诱导后 TNF-α 和 NO 分泌量均有极显著影响（P<0.01）。同一浓度下，三种多糖对 LPS 诱导后 TNF-α 分泌量的影响相差不大，UEH-GLP 对 TNF-α 分泌量的影响略大一些；UEH-GLP 对 LPS 诱导后 NO 的分泌量影响最大；UHWE-GLP 对 LPS 诱导后 NO 的分泌量影响最小。SHI 等[44] 基于 RAW264.7 巨噬细胞研究 GLP-1 的抗炎作用，发现 GLP-1 可显著抑制 NO、活性氧（reactive oxygen species，ROS）、促炎细胞因子 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 的产生，具有良好的抗炎功效，本研究结果与之相符合。结果表明，三种多糖均能够通过减少 TNF-α 和 NO 的分泌量来发挥抗炎活性；三种多糖的抗炎活性稍有差别，其中，UEH-GLP 的抗炎活性优于 UHPE-GLP 和 UHWE-GLP。

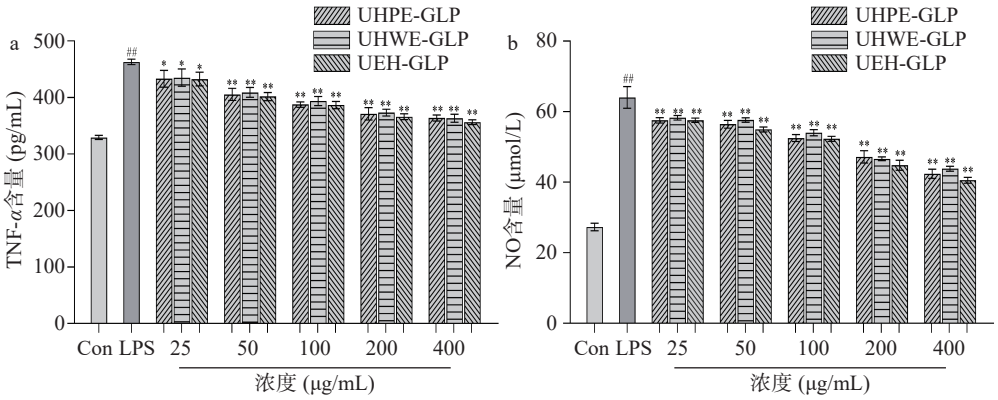


图 5　GLP 对 LPS 诱导的 RAW264.7 巨噬细胞 TNF-α 和 NO 分泌量的影响

Fig.5　Effects of GLP on the secretion of TNF-α and NO in RAW264.7 macrophages induced by LPS

注：与 Con 组相比，##P<0.01；与 LPS 组相比，*P<0.05、**P<0.01。

3　结论

本研究以灵芝为原料，采用响应面法以多糖得率为响应值优化 UHPE、UHWE 和 UEH 提取 GLP 的工艺，UEH 的多糖得率为 10.92%±0.05%，在三种方法中最高。UEH 最佳工艺参数为：料液比 1∶31 g/mL、超声时间 24 min、酶浓度 5%、酶解温度 53 ℃。三种多糖均能有效促进 RAW264.7 巨噬细胞增殖，都可以通过增强免疫应答和抑制过度免疫应答发挥双向免疫调节活性。UEH-GLP 表现出更高的活性，这可能是由于不同的提取工艺导致了多糖结构的不同。UEH 将超声法与酶法相结合，提取时间短、能耗少，利于工业化放大生产；UEH-GLP 得率高且活性好，在食品、保健品开发及医药领域具有良好的应用前景。本研究为灵芝高效的开发利用提供了理论依据，对灵芝相关产品的开发具有重要意义。但本研究也存在一定的局限性，在通过响应面试验优化提取工艺时以得率为单一响应值，有可能忽略了得率相对低但活性较好的工艺参数，在后续的工艺研究中需要综合考虑得率和药理活性，以期得到同步兼顾工艺效率与产物活性的最佳提取工艺。在后期研究中，将基于本论文优化的提取工艺，对三种多糖进行纯化，对纯化多糖的组成成分和纯度进行系统测定，分析结构特征及构效关系，进一步探究发挥双向免疫调节作用的分子机制。

© The Author(s) 2026. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

参考文献

[1] 游丽君, 冯梦莹, 刘钧发, 等. 不同提取方法对灵芝多糖性质的影响研究[J]. 现代食品科技, 2013, 29(6): 1207−1212. [YOU L J, FENG M Y, LIU J F, et al. Characteristics of *Ganoderma lucidum* polysaccharide prepared by different methods[J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(6): 1207−1212.]

[2] 张若冰, 杨玉赫, 李陈雪, 等. 灵芝多糖药理作用及机制的研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 2023, 35(5): 879−887. [ZHANG R B, YANG Y H, LI C X, et al. Research progress on pharmacological action and mechanism of *Ganoderma lucidum* polysaccharides[J]. Natural Product Research and Development, 2023, 35(5): 879−887.]

[3] REN L, ZHANG J, ZHANG T H. Immunomodulatory activities of polysaccharides from *Ganoderma* on immune effector cells[J]. Food Chemistry, 2021, 340: 127933.

[4] GAO X, QI J Y, HO C T, et al. Structural characterization and immunomodulatory activity of a water-soluble polysaccharide from *Ganoderma leucocontextum* fruiting bodies[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 249: 116874.

[5] SHENG Z L, WEN L R, YANG B. Structure identification of a polysaccharide in mushroom Lingzhi spore and its immunomodulatory activity[J]. Carbohydrate Polymers, 2022, 278: 118939.

[6] WEN L R, SHENG Z L, WANG J P, et al. Structure of water-soluble polysaccharides in spore of *Ganoderma lucidum* and their anti-inflammatory activity[J]. Food Chemistry, 2022, 373: 131374.

[7] ZHANG K, LIU Y F, ZHAO X L, et al. Anti-inflammatory properties of GLPss58, a sulfated polysaccharide from *Ganoderma lucidum*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 107: 486−493.

[8] GAO Y Y, ZHOU Y H, LIU X P, et al. *Ganoderma lucidum* polysaccharide promotes broiler health by regulating lipid metabolism, antioxidants, and intestinal microflora[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 280: 135918.

[9] GAO X, QI J Y, HO C T, et al. Purification, physicochemical properties, and antioxidant activities of two low-molecular-weight polysaccharides from *Ganoderma leucocontextum* fruiting bodies[J]. Antioxidants, 2021, 10(7): 1145.

[10] CAI W D, LUO Y C, XUE J Y, et al. Effect of ultrasound assisted H_2O_2/V_C treatment on the hyperbranched lignosus rhinocerotis polysaccharide: Structures, hydrophobic microdomains, and antitumor activity[J]. Food Chemistry, 2024, 450: 139338.

[11] 王国霞, 牛祎琳, 牛富婷, 等. 不同提取方法对密银花多糖理化性质及抗氧化活性的影响[J]. 食品工业科技, 2024, 45(24): 196−203. [WANG G X, NIU Y L, NIU F T, et al. Effects of different extraction methods on physicochemical properties and antioxidant activity of polysaccharides from *Lonicerae japonicae* Flos[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(24): 196−203.]

[12] 辛晓明, 岳庆明, 韩丽娟, 等. 不同提取方法对黄刺多糖理化性质及生物活性影响的研究[J]. 食品与发酵工业, 2026, 52(4): 28−39. [XIN X M, YUE Q M, HAN L J, et al. Effect of different extraction methods on physicochemical properties and biological activity of polysaccharides obtained from *Berberis dasystachya* Maxim[J]. Food and Fermentation Industries, 2026, 52(4): 28−39.]

[13] 杜小琴, 夏炎, 张万超, 等. 不同提取方法的灵芝多糖体外抗炎活性比较[J]. 中国食品学报, 2025, 25(2): 124−133. [DU X Q, XIA Y, ZHANG W C, et al. Comparison of *in vitro* anti-inflammatory activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharides extracted by different methods[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2025, 25(2): 124−133.]

[14] 任洪飞. 灵芝多糖提取纯化、结构解析及抗氧化活性研究[D]. 聊城: 聊城大学, 2024. [REN H F. Study on extraction, purification, structure elucidation and antioxidant activity of polysaccharides from *Ganoderma lucidum*[D]. Liaocheng: Liaocheng University, 2024.]

[15] MATSUNAGA Y, WAHYUDIONO, MACHMUDAH S, et al. Hot compressed water extraction of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* using a semibatch reactor[J]. Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering, 2014, 9(1): 125−133.

[16] 翟旭峰, 胡明华, 冯梦莹, 等. 超声提取灵芝多糖的工艺研究[J]. 现代食品科技, 2012, 28(12): 1704−1708,1773. [ZHAI X F, HU M H, FENG M Y, et al. Optimization of ultrasonic extraction of *Ganoderma lucidum* polysaccharides by response surface methodology[J]. Modern Food Science and Technology, 2012, 28(12): 1704−1708,1773.]

[17] 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(2): 190−192. [HU B J, CHEN J F, WANG G N. Comparative study on ultrasonic extraction and traditional hot water extraction of *Ganoderma lucidum* polysaccharides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2007(2): 190−192.]

[18] LI J X, MIAO Y Z, GUO C F, et al. Ultrasound combined mechanical wall-breaking extraction of new *Ganoderma leucocontextum* polysaccharides and their application as a structural and functional improver in set fat-free goat yogurt production[J]. Food Chemistry, 2025, 468: 142374.

[19] 李彩艳, 薛云浩, 唐培鑫. 超高压辅助低共熔溶剂提取地黄多糖工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 粮食与油脂, 2025, 38(9): 97−101,132. [LI C Y, XUE Y H, TANG P X. Study on optimization of ultra-high pressure assisted deep eutectic solvent extraction process of *Rehmannia glutinosa* polysaccharides and their antioxidant activity[J]. Cereals & Oils, 2025, 38(9): 97−101,132.]

[20] 蔡玉彬, 木尼萨·迪力夏提, 努尔买买提·阿布都克力木, 等. 灰枣多糖提取工艺优化及其免疫活性[J]. 食品研究与开发, 2025, 46(17): 99−106. [CAI Y B, MUNISA D L X T, NUERMAIMAITI A B D K L M, et al. Extraction process optimization and immune activity of polysaccharides from *Ziziphus jujuba* cv. Huizao[J]. Food Research and Development, 2025, 46(17): 99−106.]

[21] 王国霞, 程莹莹, 牛祎琳, 等. 密银花多糖提取工艺优化及其抗氧化活性研究[J]. 饲料工业, 2025, 46(16): 121−128. [WANG G X, CHENG Y Y, NIU Y L, et al. Study on optimization of extraction process and antioxidant activity of polysaccharide in *Lonicera japonica*[J]. Feed Industry, 2025, 46(16): 121−128.]

[22] 周岩飞, 吴长辉, 姚渭溪, 等. 高温高压水提取灵芝 β-葡聚糖工艺优化[J]. 食用菌, 2022, 44(1): 61−64,69. [ZHOU Y F, WU C H, YAO W X, et al. Optimization of high temperature and high pressure water extraction process for β-glucan content in *Ganoderma lucidum*[J]. Edible Fungi, 2022, 44(1): 61−64,69.]

[23] 栾翠荣, 温南华, 李致瑜, 等. 马尾藻多糖超声波辅助提取、结构表征及抗氧化活性研究[J]. 食品与发酵工业, 2025, 51(7): 259−267. [LUAN C R, WEN N H, LI Z Y, et al. Ultrasonic-assisted extraction, structural characterization, and antioxidant activity of *Sargassum* polysaccharide[J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(7): 259−267.]

[24] 崔笑傲, 秦雨齐, 兰伟, 等. 超声辅助酶法提取蓝莓多糖工艺

研究及其结构特性分析[J]. 中国食品添加剂, 2023, 34(8): 78−86. ［CUI X A, QIN Y Q, LAN W, et al. Optimization of ultrasound assisted enzymatic extraction of blueberry polysaccharides and its structural characteristics[J]. China Food Additives, 2023, 34(8): 78−86.］

［25］ 杜青, 陈林, 贺炜, 等. 黄精多糖对 RAW 264.7 细胞活性及炎症因子 TNF-α、IL-6、iNOS 表达的影响[J]. 中成药, 2022, 44(8): 2676−2679. ［DU Q, CHEN L, HE W, et al. The effect of *Polygonatum sibiricum* polysaccharides on RAW264.7 cell viability and the expression of inflammatory factors TNF-α, IL-6, and iNOS[J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 2022, 44(8): 2676−2679.］

［26］ 王子璇, 隋玉, 尚学钰, 等. 元蘑多糖的结构特征及其调节巨噬细胞免疫活性机制[J]. 生物技术通报, 2024, 40(1): 308−321. ［WANG Z X, SUI Y, SHANG X Y, et al. Structural characteristics of *Sarcomyxa edulis* polysaccharide and its mechanism of regulating macrophage immunomodulatory activity[J]. Biotechnology Bulletin, 2024, 40(1): 308−321.］

［27］ 林晟, 陈选, 杨傅佳, 等. 海鲈鱼免疫肽的制备及对 RAW264.7 细胞双向免疫调节作用研究[J]. 食品科学技术学报, 2023, 41(4): 94−106. ［LIN S, CHEN X, YANG F J, et al. Preparation of *Lateolabrax maculatus* immune peptides and its bidirectional immunomodulatory activity on RAW264.7 cells[J]. Journal of Food Science and Technology, 2023, 41(4): 94−106.］

［28］ 杨艳霞, 刘慧, 周铭懿, 等. 超声辅助提取酸枣仁多糖工艺和抗氧化活性研究[J]. 食品工业, 2025, 46(2): 10−15. ［YANG Y X, LIU H, ZHOU M Y, et al. Research on the ultrasonic assisted extraction process and antioxidant sctivity of polysaccharides from jujube seed[J]. The Food Industry, 2025, 46(2): 10−15.］

［29］ 操丽丽, 周俊, 郑峰, 等. 高压热水提取灵芝多糖及对其抗氧化活性的影响[J]. 食品科学技术学报, 2018, 36(2): 58−62,77. ［CAO L L, ZHOU J, ZHENG F, et al. Study on extraction of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* by hot compressed water and its antioxidant activities[J]. Journal of Food Science and Technology, 2018, 36(2): 58−62,77.］

［30］ 徐源, 赫丁轩, 赵丽平, 等. 紫苏叶多糖提取工艺的优化及抗氧化活性分析[J]. 中国农业科技导报, 2025, 27(10): 170−179. ［XU Y, HE D X, ZHAO L P, et al. Optimization of extraction process and analysis of antioxidant activity of polysaccharides from *Perilla* leaves[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2025, 27(10): 170−179.］

［31］ SONG Z Y, XIONG X, HUANG G L. Ultrasound-assisted extraction and characteristics of maize polysaccharides from different sites[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2023, 95: 106416.

［32］ 董晴, 宋继田, 史慧言, 等. 超声协同酶法提取铁皮石斛多糖工艺优化及其抗氧化活性分析[J]. 粮食与油脂, 2024, 37(10): 119−124. ［DONG Q, SONG J T, SHI H Y, et al. Optimization of ultrasound enzyme synergistie extraction process of *Dendrobium officinale* polysaccharides and analysis of its antioxidant activity[J]. Cereals & Oils, 2024, 37(10): 119−124.］

［33］ 张会佳, 侯相竹, 张涵, 等. 黄芪多糖复合酶提取工艺优化及其 α-葡萄糖苷酶抑制活性[J]. 食品工业科技, 2024, 45(17): 181−189. ［ZHANG H J, HOU X Z, ZHANG H, et al. Optimization of complex enzyme extraction process of *Astragalus* polysaccharides and its α-glucosidase inhibitory activities[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(17): 181−189.］

［34］ WANG X H, WANG J P. Ultrasonic-assisted extraction and enrichment of the flavonoids from *Salicornia europaea* leaves using macroporous resins and response surface methodology[J]. Chemical Papers, 2023, 77(5): 2769−2781.

［35］ CHEN F Z, WANG B, ZHAO G H, et al. Optimization extraction of flavonoids from peony pods by response surface methodology, antioxidant activity and bioaccessibility *in vitro*[J]. Journal of Food Measurement and Characterization, 2023, 17(1): 460−471.

［36］ 端木传宇, 孙洋, 张瑜, 等. 黑莓多糖酶法提取工艺优化及体外降血糖活性研究[J]. 食品工业科技, 2024, 45(22): 200−207. ［DUANMU C Y, SUN Y, ZHANG Y, et al. Optimization of enzymatic extraction process and *in viro* hypoglycemit activity of Blackbery polysaccharides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(22): 200−207.］

［37］ 周刘华, 姚涛, 郭爱灵, 等. 近十年中药免疫双向调节研究进展[J]. 中国中医基础医学杂志, 2020, 26(7): 1016−1020,1033. ［ZHOU L H, YAO T, GUO A L, et al. Progress in the study of two-way immune regulation of traditional Chinese medicine in recent ten years[J]. Journal of Basic Chinese Medicine, 2020, 26(7): 1016−1020,1033.］

［38］ LIU X, XIE J H, JIA S, et al. Immunomodulatory effects of an acetylated *Cyclocarya paliurus* polysaccharide on murine macrophages RAW264.7[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 98: 576−581.

［39］ 杨许花, 赵梦潇, 陈红, 等. 植物多糖免疫调节作用机制研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(13): 5349−5355. ［YANG X H, ZHAO M X, CHEN H, et al. Advances in research on the mechanism of immunomodulatory effects of plant polysaccharides[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(13): 5349−5355.］

［40］ WAN J Q, ZHU Y L, JIANG X, et al. Immunomodulation of RAW264.7 cells by CP80-1, a polysaccharide of *Cordyceps cicadae*, via Dectin-1/Syk/NF-κB signaling pathway[J]. Food and Agricultural Immunology, 2023, 34(1): 2231172.

［41］ LI N, YANG F F, SU J, et al. Structure characterization of an arabinogalactan from *Cyanchum atratum* and its immune stimulatory activity on RAW264.7 cells[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 194: 163−171.

［42］ PARK S B, PARK G H, KIM H N, et al. Anti-inflammatory effect of the extracts from the branch of *Taxillus yadoriki* being parasitic in *Neolitsea sericea* in LPS-stimulated RAW264.7 cells[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 104: 1−7.

［43］ 张满, 胡旭东, 黄恺, 等. 扶正化瘀方对脂多糖诱导的 RAW264.7 巨噬细胞 M1 型炎性极化 JNK 通路的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2020, 27(3): 43−47. ［ZHANG M, HU X D, HUANG K, et al. Effects of Fuzheng Huayu prescription on LPS-induced inflammatory M1 polarization of RAW264.7 macrophages through JNK pathway[J]. Chinese Journal of Information on Traditional Chinese Medicine, 2020, 27(3): 43−47.］

［44］ SHI D C, XU X H, WANG J, et al. Synergistic anti-inflammatory effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharide and ganoderic acid A on LPS-induced RAW264.7 cells by inhibition of TLR4/NF-κB activation[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2025, 309: 143074.