

干燥方式对羊肚菌多糖结构和免疫调节活性的影响

张莉佳¹, 刘 婧¹, 韩 乐¹, 黄 文^{1,2}, 刘 莹^{1,2*}

(¹华中农业大学食品科学技术学院 武汉 430070)

²果蔬加工与品质调控湖北省重点实验室 武汉 430070)

摘要 为研究干燥方式对羊肚菌中多糖结构和免疫活性的影响,采用热风干燥(HD)和冷冻干燥(FD)对新鲜羊肚菌进行干燥处理,采用大孔吸附树脂柱对两种干燥方式处理后提取的羊肚菌多糖(MEP)进行纯化(HMEP和FMEP)。结果表明,HMEP和FMEP的单糖均由甘露糖、葡萄糖和半乳糖组成,物质的量比分别为1:0.34:0.33和1:4.50:0.02。HD处理导致多糖中C—O—C键断裂,促进形成多糖的 α -构型。HMEP和FMEP均通过诱导RAW 264.7细胞的吞噬和刺激NO、TNF- α 、IL-6和IL-1 β 的分泌来提高其免疫活性,且在质量浓度为50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,FMEP刺激RAW 264.7细胞分泌NO的量为 $(35.29 \pm 1.25) \mu\text{mol}/\text{L}$,高于HMEP $[(28.05 \pm 2.52) \mu\text{mol}/\text{L}]$ 和模型组 $[(32.47 \pm 1.30) \mu\text{mol}/\text{L}]$ 。在质量浓度为25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,FMEP刺激巨噬细胞分泌TNF- α 的量为 $(289.96 \pm 49.00) \text{ng}/\text{mL}$,高于HMEP $[(188.56 \pm 13.60) \text{ng}/\text{mL}]$ 和模型组 $[(97.76 \pm 2.00) \text{ng}/\text{mL}]$ 。表明FMEP的免疫调节活性高于HMEP。综合考量,冷冻干燥工艺更适合制备具有高免疫调节功能的羊肚菌多糖。

关键词 羊肚菌; 多糖; 冷冻干燥; 热风干燥; 结构; 免疫活性

文章编号 1009-7848(2026)01-0166-10 **DOI**: 10.16429/j.1009-7848.2026.01.015

羊肚菌(*Morchella esculenta*)又名羊肚蘑、羊肝菜、麻子菌,其子实体菌盖外观呈蜂窝状,因形极似羊肚而得名,为珍稀药食两用真菌^[1-2],其口感细腻,风味独特,营养丰富,有“素中之荤”和“软黄金”的美誉^[3-4]。羊肚菌含有丰富的多糖、蛋白质、固醇类和酚类,其中多糖含量最高,且是有效的生物活性成分^[5]。羊肚菌多糖具有提高免疫力^[6-7],抗炎^[8],抗氧化^[9-10]和抗肿瘤^[11]等生物活性功能。此外,研究发现从六妹羊肚菌(*Morchella sextelata*)中分离的多糖能促进RAW264.7巨噬细胞增殖,一氧化氮(NO)释放,肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和白介素6(IL-6)分泌^[1]。

因新鲜羊肚菌的含水量高,故保鲜困难且贮藏期短,通常采用干燥处理来降低其含水量以延长贮藏时间。研究发现干燥方法会影响多糖的生物活性和理化性质^[12-14]。常用的脱水技术有热风干燥、冷冻干燥、真空干燥和微波干燥^[15-16]。有研究表

明,热风干燥处理会改变香菇多糖的 α -和 β -构型,并增强免疫调节活性^[15]。冷冻干燥会提高白桦茸多糖的抗氧化活性^[13]。与热风干燥对比,真空冷冻干燥更能保持羊肚菌的外观形状和抗氧化活性^[2]。目前,还未见干燥方式对羊肚菌多糖结构和免疫活性影响的研究。

针对不同干燥方式对羊肚菌多糖结构和免疫调节活性影响的问题,本研究通过热风干燥(HD)和冷冻干燥(FD)对羊肚菌进行干燥处理,提取纯化后获得羊肚菌多糖。通过红外光谱和核磁共振波谱分析两种干燥方式下羊肚菌多糖的结构特征,通过羊肚菌多糖对RAW264.7巨噬细胞的增殖活性、吞噬能力、NO分泌和细胞因子(TNF- α 、IL-6和IL-1 β)释放量的影响,评价其免疫调节活性,为羊肚菌的干燥方式,以及羊肚菌多糖结构和免疫调节活性关系的研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

新鲜羊肚菌来自山东济南。苯酚、硫酸、1-苯基-3-甲基-5-吡啶啉酮、三氟乙酸、溴化钾、磷酸、二甲基亚砜(DMSO)、磺胺、*N*-1 萘乙二胺盐酸盐、亚硝酸钠、无水乙醇、冰醋酸、中性红、国药集团化学试剂有限公司;乙腈,安耐吉化学;D3250大孔

收稿日期: 2025-02-13

基金项目: 湖北省现代农业产业技术体系食用菌产业技术体系项目(2025HBSTX4-09);湖北省农业科技创新中心农产品加工与综合利用项目(2021-620-000-001-031)

第一作者: 张莉佳,女,博士生

通信作者: 刘莹 E-mail: yingliu@mail.hzau.edu.cn

树脂、葡萄糖、甘露糖、核糖、鼠李糖、木糖、半乳糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、岩藻糖、阿拉伯糖标准品,上海源叶生物科技有限公司;基础培养基(DMEM)、胎牛血清(FBS),美国Gibco公司;噻唑蓝(MTT),白鲨生物科技有限公司;青霉素/链霉素(100×),美国Genivew公司;脂多糖(LPS),美国Sigma公司;酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒,广州欣博盛生物科技有限公司。

1.2 仪器与设备

BSA124 分析天平, Sartorius 公司; IS50 傅里叶变换红外光谱仪, 苏州奥普斯等离子体科技有限公司; Agilent 1200 高效液相色谱仪, 美国 Agilent 公司; C18 色谱柱 (250 mm×4.6 mm×5 μm), Shimadzu 公司; AVANCE III 400 MHz 核磁共振仪, 德国布鲁克(Bruker)公司; 1550 酶标仪, Thermo scientific 公司; CT-C 型热风循环烘箱, 常州易能干燥设备有限公司; RE-52AA 旋转蒸发仪, 上海亚荣仪器有限公司; D8023CSL-K4 微波炉, 佛山市顺德区格兰仕微波炉电器有限公司; JYL-C020E 粉碎机, 九阳股份有限公司; Avanti JXN-26 离心机, 美国 Beckman coulter 公司; LGJ-10 型冷冻干燥机, 北京松源华兴科技发展有限公司; Heracell™ 240i 恒温二氧化碳培养箱, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 羊肚菌的干燥处理 对新鲜、无损伤的羊肚菌采用两种干燥方式处理。热风干燥(HD):将羊肚菌在 60 ℃的热风循环烘箱中干燥 5 h 至恒重。冷冻干燥(FD):将羊肚菌在冷冻干燥机中干燥 48 h 至恒重。将干燥至恒重的羊肚菌用打粉机打成粉末备用。

1.3.2 羊肚菌多糖的制备 采用微波辅助提取法,称取 2.0 g 羊肚菌粉末,溶于 100 mL 蒸馏水中(料液比 1:50),提取时间 2 min,微波功率 640 W。提取完成后冷却至室温,10 000 r/min 离心 10 min,取上清液,经旋转蒸发仪浓缩,75%乙醇醇沉,冻干即得到羊肚菌粗多糖^[17]。

1.3.3 羊肚菌多糖的分离、纯化 采用 D3250 大孔树脂动态吸附法,对羊肚菌粗多糖进行脱色和脱蛋白处理。称取 200 mg 羊肚菌粗多糖溶于 50 mL 蒸馏水中,配制成质量浓度为 4 mg/mL 的多糖

溶液,采用蒸馏水洗脱,以 2 BV/h 的流速收集洗脱液,苯酚-硫酸法^[18]检测洗脱液收集管中的多糖含量,直至检测不到多糖,停止收集。将洗脱液经旋转蒸发仪浓缩后,冻干,得到羊肚菌多糖^[15]。热风干燥和冷冻干燥处理的羊肚菌收集的多糖分别记为 HMEP 和 FMEP。

1.3.4 单糖组分分析 参考 Liu 等^[19]的方法测定 HMEP 和 FMEP 的单糖组成,称取 10 mg 样品加入三氟乙酸(4 mol/L)水解 4 h,使用 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(0.5 mol/L)提取。采用高效液相色谱仪(HPLC),配备 C18 柱(250 mm×4.6 mm×5 μm)进行分析,使用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(82%)和乙腈(18%)洗脱。流速为 1.0 mL/min,检测波长为 245 nm。标准品为葡萄糖、甘露糖、鼠李糖、核糖、木糖、半乳糖、半乳糖醛酸、葡萄糖醛酸、岩藻糖和阿拉伯糖。

1.3.5 红外光谱分析 参考 Liu 等^[19]的方法,使用傅里叶变换红外光谱仪,将 HMEP 和 FMEP 与溴化钾粉末混合均匀压成薄片后扫描,波长范围为 4 000~400 cm⁻¹。

1.3.6 核磁共振分析 称取 20 mg HMEP 和 FMEP,溶于 0.55 mL 重水(D₂O),使用核磁共振仪进行 ¹H NMR 谱测定。

1.3.7 RAW264.7 巨噬细胞培养条件 RAW264.7 巨噬细胞来自中国科学院,DMEM 培养基含有 1% 抗生素(100 U/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素)和 10%FBS,细胞于 37 ℃,5% CO₂ 的恒温二氧化碳培养箱中培养。

1.3.8 细胞活性测定 采用 MTT 法^[21]测定 HMEP 和 FMEP 对细胞活性的影响,将 RAW264.7 细胞以 6×10⁴ 细胞/mL 密度接种到 96 孔板中,培养 24 h。设置空白组(DMEM 培养基)、LPS 阳性对照组(1 mg/mL)和样品组,样品组加入不同质量浓度(12.5, 25, 50, 100, 200 μg/mL)的 HMEP 和 FMEP,继续培养 24 h 后,吸出培养基上清,每孔加入 100 μL MTT(0.5 mg/mL),继续培养 4 h 后弃掉上清,加入 DMSO(150 μL),于酶标仪上检测各孔的吸光度,检测波长 490 nm。

细胞活力(%)=(OD_{试验}-OD_{空白})/(OD_{对照}-OD_{空白})×100 (1)

式中:OD_{试验}为样品组吸光度;OD_{空白}为空白

组吸光度; $OD_{\text{对照}}$ 为LPS阳性对照组吸光度。

1.3.9 吞噬能力测定 参考Sun等^[21]的中性红试验来测定RAW264.7细胞的吞噬能力。将RAW264.7细胞以 2×10^4 细胞/mL密度接种到96孔板中,培养24 h。设置空白组(DMEM培养基)、LPS阳性对照组(1 mg/mL)和样品组,样品组加入不同质量浓度(12.5, 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g/mL}$)的HMEP和FMEP,继续培养24 h后,弃培养基上清,PBS洗涤2次,每孔加入100 μL 中性红溶液(0.75 mg/mL)孵育0.5 h后,PBS洗涤3次,每孔再加入200 μL 裂解液(无水乙醇:冰醋酸,1:1, V/V)反应0.5 h,酶标仪上测定各孔在波长540 nm处的吸光度。

$$\text{吞噬能力}(\%) = (\text{OD}_{\text{试验}} - \text{OD}_{\text{空白}}) / (\text{OD}_{\text{对照}} - \text{OD}_{\text{空白}}) \times 100 \quad (2)$$

式中: $OD_{\text{试验}}$ 为样品组吸光度; $OD_{\text{空白}}$ 为空白组吸光度; $OD_{\text{对照}}$ 为LPS阳性对照组吸光度。

1.3.10 NO分泌量的测定 参考Zhang等^[22]中的Griess法检测RAW264.7细胞的NO分泌,巨噬细胞以 3×10^5 细胞/mL密度接种到24孔板中,培养24 h。设置空白组(DMEM培养基)、LPS阳性对照组(1 mg/mL)和样品组,样品组加入不同质量浓度(12.5, 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g/mL}$)的HMEP和FMEP,继续培养24 h后,取100 μL 上清液与100 μL Griess试剂混合,室温静置5 min,酶标仪上振动5 min后,测定其在波长540 nm处的吸光度,根据 NaNO_2 标准曲线定量上清液中的亚硝酸盐(NO_2^-)含量。Griess A试剂为0.50 g的磺胺溶解于50 mL 5%磷酸中(5%的磷酸用超纯水配制),Griess B试剂为0.05 g的N-1-萘乙二胺盐酸盐定容至50 mL。Griess试剂为Griess A和Griess B等比

例混和。 NaNO_2 标准曲线为: $y = 0.0107x + 0.0626$ 。

1.3.11 细胞因子测定 检测RAW264.7细胞的TNF- α 、IL-6和IL-1 β 分泌。巨噬细胞以 3×10^5 细胞/mL密度接种到24孔板中,培养24 h。设置空白组(DMEM培养基)、LPS阳性对照组(1 mg/mL)和样品组,样品组加入不同质量浓度(12.5, 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g/mL}$)的HMEP和FMEP,继续培养24 h后,收集上清,2 500 r/min离心10 min后取上清,按照ELISA试剂盒说明书测定。

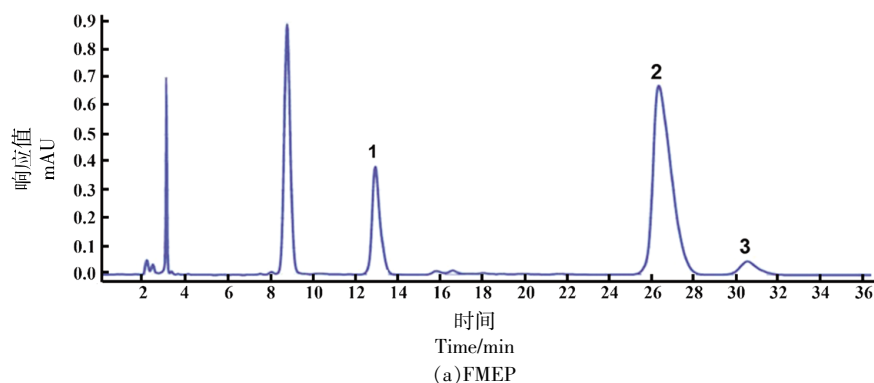
1.4 统计分析

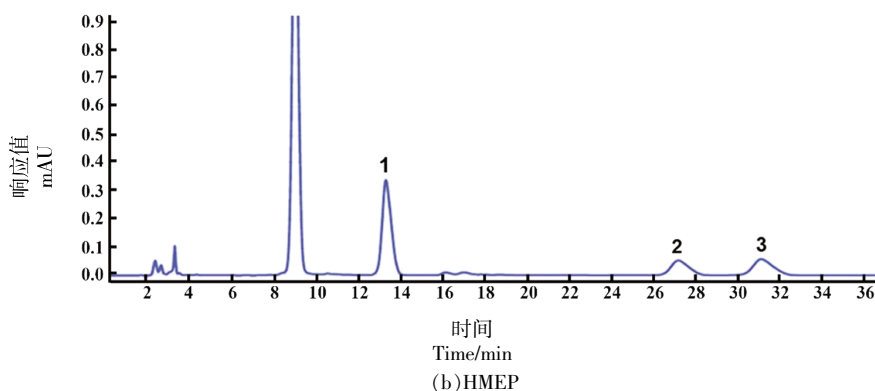
所有试验数据均使用Origin 2019软件分析,使用SPSS 25.0检验组间差异,结果以“平均值 \pm 标准方差(SD)”表示, $P < 0.05$ 表示存在显著性差异。

2 结果与分析

2.1 单糖组成分析

HPLC是鉴定多糖组成及物质的量比的常用方法,由图1可知,FMEP和HMEP的单糖包括甘露糖、葡萄糖和半乳糖,与报道的香菇多糖^[15]和竹黄多糖^[23]的单糖组成相似。由表1可知,FMEP和HMEP的甘露糖、葡萄糖和半乳糖物质的量比不同,FMEP的甘露糖:葡萄糖:半乳糖的物质的量比为1:4.5:0.02,HMEP的甘露糖:葡萄糖:半乳糖的物质的量比为1:0.34:0.33。与HMEP相比,FMEP含有更多的葡萄糖和更少的半乳糖,与香菇多糖相似^[15]。据研究报道表明,热风干燥处理后的葡萄糖含量的变化可能与高温或氧浓度相关^[24-25],不同干燥方式对白桦茸多糖^[13]和大球盖菇多糖^[25]的单糖组成比例也有影响。本试验也证明了羊肚菌多糖的单糖组成受干燥方式影响。





注:1. 甘露糖,2. 葡萄糖,3. 半乳糖。

图1 FMEP和HMEP的HPLC谱图

Fig.1 HPLC chromatogram of FMEP and HMEP

表1 羊肚菌多糖的单糖组成(物质的量比)

Table 1 Monosaccharide composition of polysaccharides from *M. esculenta* (molar ratio)

单糖组成	多糖样品	
	FMEP	HMEP
甘露糖	1	1
葡萄糖	4.50	0.34
半乳糖	0.02	0.33

2.2 红外光谱分析

图2为FMEP和HMEP含有的官能团和结构信息的红外光谱图,多糖在 3415 cm^{-1} 处的吸收峰是由于O—H键的存在^[26]。在 2927 cm^{-1} 和 2360 cm^{-1} 出现的吸收峰是C—H伸缩振动^[27],

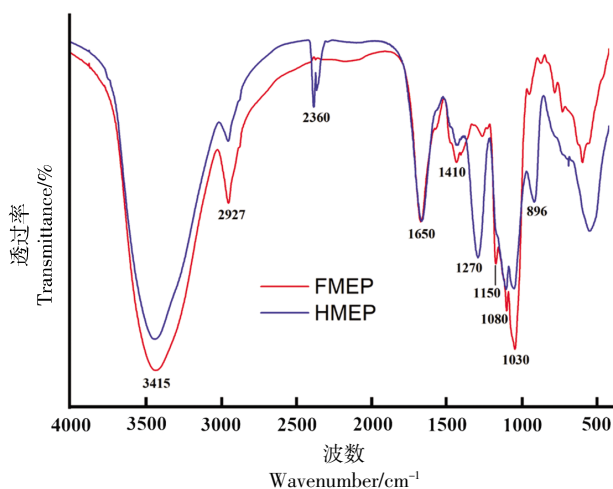


图2 FMEP和HMEP的红外光谱图

Fig.2 The FT-IR spectrum of FMEP and HMEP

在 1410 cm^{-1} 和 1650 cm^{-1} 处的强吸收峰表明含有C—H和C=O^[28], 1270 cm^{-1} 是由于O—H的变形振动引起的吸收峰^[29],在 1546 cm^{-1} 处的吸收峰表明C=O存在对称振动^[8],羊肚菌多糖的单糖在 $1200\sim 1000\text{ cm}^{-1}$ 范围内的吸收峰是因为存在吡喃糖环^[27], 1150 cm^{-1} 出现的峰表示存在C—O—H^[30],在 1030 cm^{-1} 处的吸收峰较强烈是由于C—O—H的伸缩振动^[31],在 896 cm^{-1} 处的吸收峰可能与 β -糖苷键有关^[32]。与FMEP相比,HMEP在 1270 cm^{-1} 和 2360 cm^{-1} 处有较强的吸收峰,在 1030 cm^{-1} 处有较弱的吸收峰,该现象与C—H、O—H和C—O—C的拉伸有关。结果表明,热风干燥处理会使羊肚菌多糖中的C—O—C键发生断裂。

2.3 核磁共振分析

由图3可知,FMEP和HMEP的核磁共振谱中, $3\times 10^{-6}\sim 5.5\times 10^{-6}$ 处发生化学迁移,这是多糖的典型特征^[33]。在 $5.0\times 10^{-6}\sim 5.5\times 10^{-6}$ 和 $4.3\times 10^{-6}\sim 4.9\times 10^{-6}$ 的峰是由于吡喃糖的 α 和 β -糖苷构型上的异头质子引起的^[18]。FMEP和HMEP在 5.0×10^{-6} , 5.2×10^{-6} , 5.3×10^{-6} 的信号峰与 α -D-甘露糖、 α -D-葡萄糖和 α -D-半乳糖有关^[34]。 4.5×10^{-6} 的迁移是由 β -D-葡萄糖引起^[35],与表1中的羊肚菌多糖的单糖组分结果一致。以上结果证明,HD能促进羊肚菌多糖 α -构型的形成。

2.4 羊肚菌多糖体外免疫活性

2.4.1 HMEP和FMEP对RAW264.7巨噬细胞增殖活性的影响 如图4所示,HMEP($50\sim 100\text{ }\mu\text{g/}$

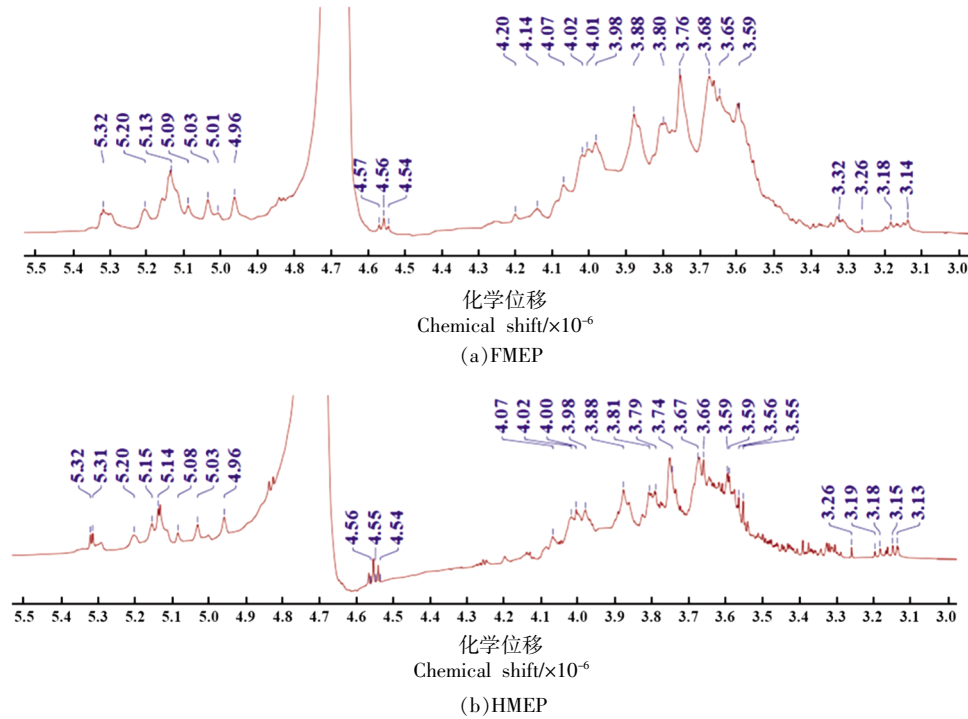
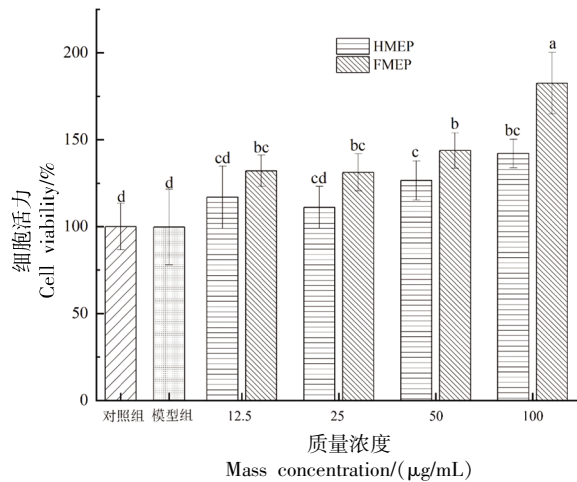


图3 FMEP和HMEP的核磁共振谱图

Fig.3 The ^1H NMR spectra of FMEP and HMEP

mL)和FMEP(12.5~100 $\mu\text{g/mL}$)均显著促进巨噬细胞的增殖 ($P<0.05$), 在质量浓度为100 $\mu\text{g/mL}$ 时,FMEP和HMEP的细胞增值活性分别为(182.5 \pm 17.65)%和(142.07 \pm 8.24)%,均显著促进巨噬细胞增殖($P<0.05$)。以上结果表明,HMEP和FMEP不具有细胞毒性且能促进细胞增殖,与文献[36]报道一致。此外,经FMEP处理的巨噬细胞增殖活性高于HMEP处理,表明对比HD处理,FD处理更能提高羊肚菌多糖对RAW264.7巨噬细胞的增殖活性。

2.4.2 HMEP和FMEP对RAW264.7巨噬细胞吞噬活性的影响 吞噬作用对于巨噬细胞抵御和清除病毒、病原体以及入侵细胞的能力至关重要,并且是生物体的一种重要防御机制^[37]。巨噬细胞激活是免疫调节最基本的功能,吞噬作用增强是检测激活的指标之一^[31]。中性红试验测定HMEP和FMEP对RAW264.7巨噬细胞吞噬作用的影响,如图5所示,HMEP和FMEP质量浓度为12.5~100 $\mu\text{g/mL}$ 时,RAW264.7细胞的吞噬作用显著增强($P<0.05$),表明HMEP和FMEP能激活RAW264.7巨噬细胞的免疫活性并增强整体的免疫应答。与

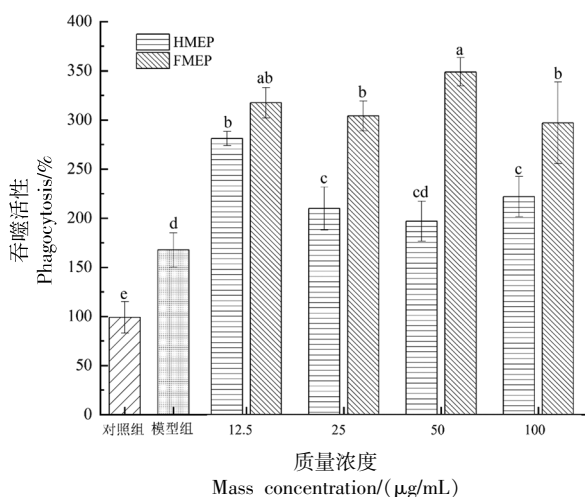


注:不同小写字母表示组间存在显著性差异($P<0.05$)。

图4 HMEP和FMEP对RAW264.7巨噬细胞活性的影响

Fig.4 Effects of HMEP and FMEP on viability of RAW264.7 macrophages

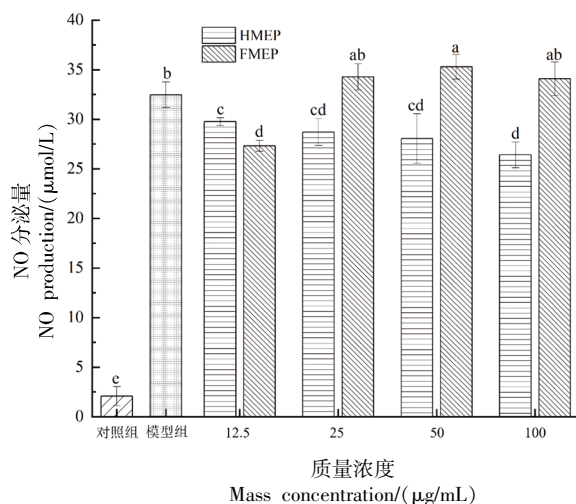
HMEP组相比,FMEP组表现出更高的吞噬活性,表明冷冻干燥处理更有利于羊肚菌多糖发挥吞噬活性。



注:不同小写字母表示组间存在显著性差异($P<0.05$)。

图5 HMEP和FMEP对RAW 264.7巨噬细胞吞噬活性的影响

Fig.5 Effect of HMEP and FMEP on phagocytosis of RAW 264.7 macrophages



注:不同小写字母表示组间存在显著性差异($P<0.05$)。

图6 HMEP和FMEP对RAW264.7巨噬细胞NO分泌量的影响

Fig.6 Effects of HMEP and FMEP on NO production of RAW264.7 macrophages

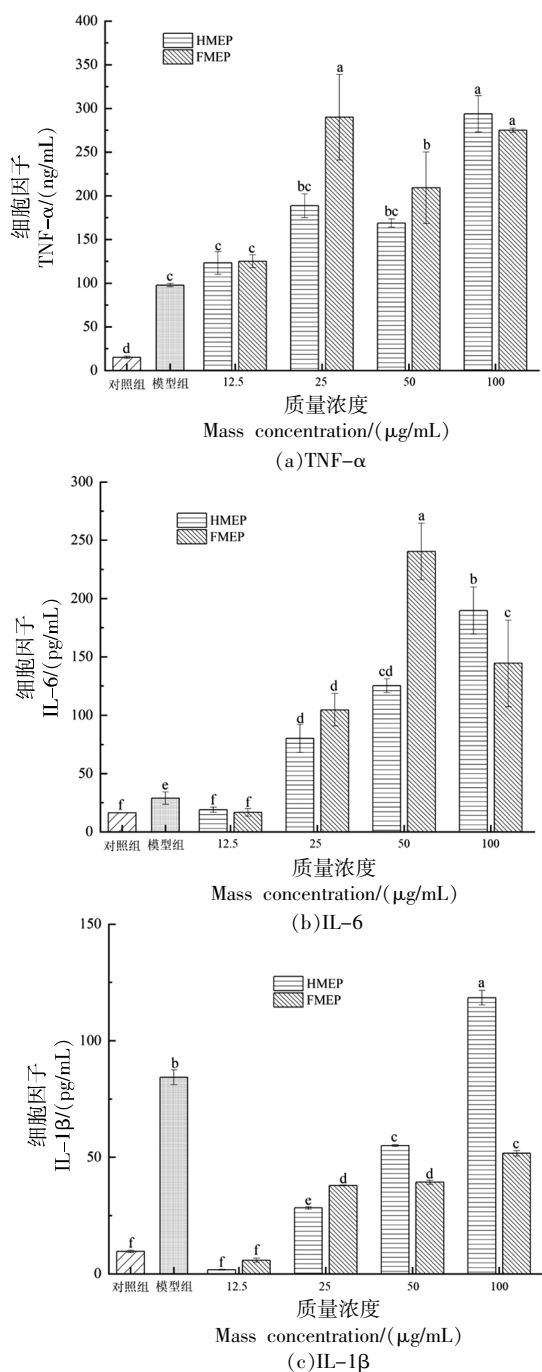
2.4.3 HMEP和FMEP对RAW264.7巨噬细胞NO分泌量的影响 NO是活化的巨噬细胞分泌的效应因子之一,并参与免疫应答的调节^[20]。如图6所示,与对照组相比,HMEP和FMEP刺激能显著增强巨噬细胞NO的释放,在12.5~100 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度范围内,羊肚菌多糖能显著诱导RAW264.7细胞NO的产生($P<0.05$)。在25,50,100 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度下,FMEP的NO分泌量分别为(34.27 ± 1.32), (35.29 ± 1.25), (34.08 ± 1.70) $\mu\text{mol/L}$,均高于HMEP的(28.71 ± 1.36), (28.05 ± 2.52), (26.42 ± 1.30) $\mu\text{mol/L}$ 和模型组的(32.47 ± 1.30) $\mu\text{mol/L}$ 。以上结果表明,与热风干燥处理相比,羊肚菌多糖经冷冻干燥处理能显著提高RAW263.7细胞NO的分泌量($P<0.05$)。

2.4.4 HMEP和FMEP对RAW264.7巨噬细胞细胞因子的影响 活化的巨噬细胞可分泌多种细胞因子,如TNF- α 、IL-6和IL-1 β ,在机体免疫防御中发挥多种功能,因此,可以通过检测TNF- α 、IL-6和IL-1 β 的分泌来评估物质的免疫调节能力^[38]。如图7a所示,与对照组相比,经12.5~100 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度范围内的HMEP和FMEP刺激后,RAW264.7细胞分泌TNF- α 含量显著升高($P<0.05$),25 $\mu\text{g/mL}$ FMEP刺激巨噬细胞分泌TNF-

α 的量为(289.96 ± 49.00) ng/mL ,明显高于HMEP【(188.56 ± 13.60) ng/mL]和模型组【(97.76 ± 2.00) ng/mL 】。由图7b可知,在25~100 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度范围内,FMEP和HMEP均能显著促进巨噬细胞释放IL-6($P<0.05$),50 $\mu\text{g/mL}$ FMEP组的IL-6含量为(240.40 ± 24.28) pg/mL ,高于HMEP【(125.17 ± 5.95) pg/mL]和模型组【(28.98 ± 5.26) pg/mL 】($P<0.05$)。如图7c所示,与对照组相比,在25~100 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度范围内的FMEP和HMEP处理后,巨噬细胞IL-1 β 的释放量显著增强($P<0.05$)。此外,100 $\mu\text{g/mL}$ HMEP刺激巨噬细胞分泌IL-1 β 的量为(118.45 ± 3.10) pg/mL ,明显高于模型组【(84.31 ± 3.10) pg/mL 】($P<0.05$)。以上结果表明,HMEP和FMEP处理对RAW264.7细胞的免疫调节活性均有增强作用,且在25~50 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度范围内,FMEP组的NO、TNF- α 和IL-6分泌量均高于HMEP,表明经冷冻干燥处理的羊肚菌多糖的免疫调节活性高于热风干燥。

3 结论

本研究采用热风干燥和冷冻干燥两种方式处理羊肚菌,将经两种干燥方式处理后的羊肚菌,通过大孔吸附树脂柱分离出HMEP和FMEP两种多



注:不同小写字母表示组间存在显著性差异($P < 0.05$)。

图7 HMEP和FMEP对RAW264.7巨噬细胞的细胞因子分泌量的影响

Fig.7 Effect of HMEP and FMEP on cytokines secretion of RAW 264.7 macrophages

糖,探究干燥方式对羊肚菌多糖结构特征和免疫活性的影响。结果表明,干燥方式对羊肚菌多糖的单糖组成、构型和免疫调节活性均有影响。HMEP

和FMEP的单糖均由甘露糖、葡萄糖和半乳糖组成,其中,热风处理的羊肚菌多糖半乳糖含量高,冷冻干燥处理的羊肚菌多糖葡萄糖含量高。热风干燥处理能促进羊肚菌多糖 α -构型的形成。与HMEP相比,FMEP对巨噬细胞表现出更好的增殖活性,更高的吞噬活性,并提高了RAW263.7细胞NO的分泌,且诱导细胞分泌更多的TNF- α 、IL-6和IL-1 β ,表明冷冻干燥处理的羊肚菌多糖具有更好的免疫调节活性。研究结果为新鲜羊肚菌干燥方式的选择提供了参考。未来,需进一步研究羊肚菌多糖结构与其免疫调节活性关系的作用机制。

参考文献

- [1] FENG L, WANG K H, DONG X B, et al. Structure, conformation and immunomodulatory activity of a polysaccharide from *Morchella sextelata*[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2022, 57(7): 4628-4637.
- [2] 王俊,夏伶俐,谢玲,等.不同干燥方式对羊肚菌品质的影响[J].食药用菌,2024,32(2):109-117. WANG J, XIA L L, XIE L, et al. Effects of different drying methods on the quality of *Morchella*[J]. Edible and Medicinal Mushrooms, 2024, 32(2): 109-117.
- [3] TIETEL Z, MASAPHY S. True morels (*Morchella*)-nutritional and phytochemical composition, health benefits and flavor: A review[J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2018, 58(11): 1888-1901.
- [4] 刘倩,李正,欧佳琪,等.羊肚菌液体发酵培养基的优化及发酵产物抗氧化活性研究[J].中国食品学报,2023,23(10):41-50. LIU Q, LI Z, OU J Q, et al. Optimization of liquid fermentation medium of *Morchella* and studies on antioxidant activity of fermentation products [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(10): 41-50.
- [5] LI F, JIN Y, WANG J, et al. Structure identification of two polysaccharides from *Morchella sextelata* with antioxidant activity [J]. Foods, 2022, 11(7): 982.
- [6] MENG X, CHE C C, ZHANG J M, et al. Struc-

- tural characterization and immunomodulating activities of polysaccharides from a newly collected wild *Morchella sextelata*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 129: 608–614.
- [7] WEN Y, PENG D, LI C L, et al. A new polysaccharide isolated from *Morchella importuna* fruiting bodies and its immunoregulatory mechanism[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 137: 8–19.
- [8] LI W, CAI Z N, MEHMOOD S, et al. Anti-inflammatory effects of *Morchella esculenta* polysaccharide and its derivatives in fine particulate matter-treated NR8383 cells[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 129: 904–915.
- [9] CAI Z N, LI W, MEHMOOD S, et al. Structural characterization, *in vitro* and *in vivo* antioxidant activities of a heteropolysaccharide from the fruiting bodies of *Morchella esculenta*[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 195: 29–38.
- [10] DONG Y H, QI Y R, LIU M, et al. Antioxidant, anti-hyperlipidemia and hepatic protection of enzyme-assisted *Morchella esculenta* polysaccharide[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 120: 1490–1499.
- [11] LIU C, SUN Y H, MAO Q, et al. Characteristics and antitumor activity of *Morchella esculenta* polysaccharide extracted by pulsed electric field[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2016, 17(6): 986.
- [12] NEP E I, CONWAY B R. Physicochemical characterization of grewia polysaccharide gum: Effect of drying method[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 8(1): 446–453.
- [13] MA L S, CHEN H X, ZHU W C, et al. Effect of different drying methods on physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharides extracted from mushroom *Inonotus obliquus*[J]. Food Research International, 2013, 50(2): 633–640.
- [14] WANG Y, LI X, ZHAO P, et al. Physicochemical characterizations of polysaccharides from *Angelica sinensis Radix* under different drying methods for various applications[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 121: 381–389.
- [15] LIU Y, LUO M L, LIU F, et al. Effects of freeze drying and hot-air drying on the physicochemical properties and bioactivities of polysaccharides from *Lentinula edodes*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 145: 476–483.
- [16] WANG Q F, LI S, HAN X, et al. Quality evaluation and drying kinetics of shitake mushrooms dried by hot air, infrared and intermittent microwave-assisted drying methods[J]. LWT—Food Science and Technology, 2019, 107: 236–242.
- [17] LIU Y, ZHANG B, IBRAHIM S A, et al. Purification, characterization and antioxidant activity of polysaccharides from *Flammulina velutipes* residue[J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 145: 71–77.
- [18] FAN L P, DING S D, AI L Z, et al. Antitumor and immunomodulatory activity of water-soluble polysaccharide from *Inonotus obliquus*[J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 90(2): 870–874.
- [19] LIU Y, LIU A L, IBRAHIM S A, et al. Isolation and characterization of microcrystalline cellulose from pomelo peel[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 111: 717–721.
- [20] YU Y Y, ZHANG Y J, HU C B, et al. Chemistry and immunostimulatory activity of a polysaccharide from *Undaria pinnatifida*[J]. Food and Chemical Toxicology, 2019, 128: 119–128.
- [21] SUN H X, ZHANG J, CHEN F Y, et al. Activation of RAW264.7 macrophages by the polysaccharide from the roots of *Actinidia eriantha* and its molecular mechanisms[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 121: 388–402.
- [22] ZHANG L J, YIN M Z, FENG X, et al. Anti-inflammatory activity of four triterpenoids isolated from *Poriae Cutis*[J]. Foods, 2021, 10(12): 3155.
- [23] ZHANG H, NIE S P, YIN J Y, et al. Structural characterization of a heterogalactan purified from fruiting bodies of *Ganoderma atrum* [J]. Food Hydrocolloids, 2014, 36: 339–347.
- [24] CHEN G J, LI C F, WANG S S, et al. Characterization of physicochemical properties and antioxidant activity of polysaccharides from shoot residues of bamboo (*Chimonobambusa quadrangularis*): Effect of drying procedures [J]. Food Chemistry, 2019, 292: 281–293.
- [25] WANG Q, ZHAO Y L, FENG X, et al. Effects of drying on the structural characteristics and antioxidant activities of polysaccharides from *Stropharia rugosoannulata* [J]. Journal of Food Science and Technology, 2021, 8(9): 3622–3631.

- [26] LIU F, LIU Y, FENG X, et al. Structure characterization and in vitro immunomodulatory activities of carboxymethyl pachymaran[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 178: 94–103.
- [27] LIU Y H, LIU C H, JIANG H Q, et al. Isolation, structural characterization and neurotrophic activity of a polysaccharide from *Phellinus ribis*[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2015, 127: 145–151.
- [28] GE Y, DUAN Y F, FANG G Z, et al. Polysaccharides from fruit calyx of *Physalis alkekengi* var. *Francheti*: Isolation, purification, structural features and antioxidant activities[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2009, 77(2): 188–193.
- [29] LI C, YOU L J, FU X, et al. Structural characterization and immunomodulatory activity of a new heteropolysaccharide from *Prunella vulgaris*[J]. *Food & Function*, 2015, 6(5): 1557–1567.
- [30] KACURAKOVA M, CAPEK P, SASINKOVA V, et al. FT-IR study of plant cell wall model compounds: Pectic polysaccharides and hemicelluloses[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2000, 43(2): 195–203.
- [31] ZHOU D J, LI P P, DONG Z, et al. Structure and immunoregulatory activity of beta-D-galactofuranose-containing polysaccharides from the medicinal fungus *Shiraia bambusicola*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 129: 530–537.
- [32] CUI H L, CHEN Y, WANG S S, et al. Isolation, partial characterisation and immunomodulatory activities of polysaccharide from *Morchella esculenta*[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2011, 91(12): 2180–2185.
- [33] DORE C M P G, ALVES M G D C, SANTOS M D G L, et al. Antioxidant and anti-inflammatory properties of an extract rich in polysaccharides of the mushroom *Polyporus dermatoporus*[J]. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 2014, 3: 730–744.
- [34] LIU Y, HU C F, FENG X, et al. Isolation, characterization and antioxidant of polysaccharides from *Stropharia rugosoannulata* [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 155: 883–889.
- [35] XU Y, ZHANG X, YAN X H, et al. Characterization, hypolipidemic and antioxidant activities of degraded polysaccharides from *Ganoderma lucidum*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 135: 706–716.
- [36] LI F, LEI H J, XU H D. Influences of subcritical water extraction on the characterization and biological properties of polysaccharides from *Morchella sextelata* [J]. *Journal of Food Processing and Preservation*, 2022, 46(9): e16024.
- [37] REN D Y, ZHAO Y, ZHENG Q, et al. Immunomodulatory effects of an acidic polysaccharide fraction from herbal *Gynostemma pentaphyllum* tea in RAW264.7 cells[J]. *Food & Function*, 2019, 10(4): 2186–2197.
- [38] XU S Q, QIU M L, ZHANG Q, et al. Chain structure and immunomodulatory activity of a fructosylated chondroitin from an engineered *Escherichia coli* K4[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, 133: 702–711.

Effects of Drying Methods on the Structural Characteristics and Immunomodulatory Activity of Polysaccharides from *Morchella esculenta*

ZHANG Lijia¹, LIU Jing¹, HAN Le¹, HUANG Wen^{1,2}, LIU Ying^{1,2*}

¹College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070

²Hubei Key Laboratory of Fruit and Vegetable Processing and Quality Control, Wuhan 430070)

Abstract To investigate the effects of drying methods on the structure characteristics and immunomodulatory activity of polysaccharides derived from *Morchella esculenta*, fresh *M. esculenta* were separately subjected to hot-air drying (HD) and freeze drying (FD). Polysaccharides from *M. esculenta* (MEP) extracted from the two dried samples were purified by macroporous adsorption resin column chromatography, yielding HD-treated MEP (HMEP) and FD-treated MEP (FMEP). The monosaccharides of HMEP and FMEP were consisted of mannose, glucose and galactose while with different molar ratios of 1:0.34:0.33 and 1:4.50:0.02, respectively. HD treatment caused the break of C—O—C glycosidic linkages in polysaccharides chains and enhanced the abundance of α -configuration in polysaccharides from *M. esculenta*. Both HMEP

and FMEP improved immunity by inducing phagocytosis and the secretions of NO, TNF- α , IL-6 and IL-1 β of RAW 264.7 cells. At 50 $\mu\text{g/mL}$, FMEP stimulated RAW 264.7 cells to secrete NO at a level of (35.29 ± 1.25) $\mu\text{mol/L}$, which was higher than that induced by HMEP $[(28.05\pm 2.52)$ $\mu\text{mol/L}]$ and the model group $[(32.47\pm 1.30)$ $\mu\text{mol/L}]$ at 50 $\mu\text{g/mL}$. At 25 $\mu\text{g/mL}$, FMEP stimulated macrophage TNF- α secretion to (289.96 ± 49.00) ng/mL , which was higher than that of HMEP $[(188.56\pm 13.60)$ $\text{ng/mL}]$ and the model group $[(97.76\pm 2.00)$ $\text{ng/mL}]$. This indicates that FMEP exhibited higher immunomodulatory activity than HMEP. After comprehensive consideration, freeze drying would be recommended as a suitable drying process for use in the preparation of immunomodulatory polysaccharides from *M. esculenta* as functional foods.

Keywords *Morehella esculenta*; polysaccharides; freeze drying; hot air drying; structural characteristics; immunomodulatory activity