



李良玉,张思影,李雪静,等. 毛蜂窝菌粗多糖超声波辅助提取工艺优化及其体外生物活性研究[J]. 轻工学报,2026,41(5):1-12.
Li L Y,Zhang S Y,Li X J,et al. Optimization of ultrasonic-assisted extraction process and *in vitro* biological activities of crude polysaccharides from *Hexagonia apiaria*[J]. Journal of Light Industry,2026,41(5):1-12.
DOI:10.12187/2026.05.001

毛蜂窝菌粗多糖超声波辅助提取工艺优化及其体外生物活性研究

李良玉^{1,2},张思影³,李雪静³,曹荣安³,王坤³,王菲菲⁴

1. 黑龙江八一农垦大学 国家杂粮工程技术研究中心,黑龙江 大庆 163319;
2. 粮食副产物加工与利用教育部工程研究中心,黑龙江 大庆 163319;
3. 黑龙江八一农垦大学 食品学院,黑龙江 大庆 163319;
4. 黑龙江农业经济职业学院 食品药品工程系,黑龙江 牡丹江 157000

摘要:【目的】优化毛蜂窝菌粗多糖(*Hexagonia apiaria* Polysaccharide, HAP)的超声波辅助提取工艺,探究HAP多维体外生物活性特征,拓宽其在功能性食品与医药保健领域的应用范围。【方法】以毛蜂窝菌为原料,采用超声波辅助法提取HAP,利用单因素和响应面试验优化提取工艺,通过自由基清除、 α -葡萄糖苷酶抑制及巨噬细胞实验评价HAP体外生物活性。【结果】HAP最佳提取工艺条件为超声功率320 W、料液比1:15.5、提取温度85.5℃、提取时间56 min,在此条件下,HAP得率为 $(1.91\pm0.02)\%$;1 mg/mL HAP的DPPH和ABTS⁺自由基清除率分别为 $(51.70\pm2.50)\%$ 和 $(78.51\pm1.42)\%$,2 mg/mL HAP的 α -葡萄糖苷酶抑制率为 $(61.99\pm1.45)\%$,并呈现浓度依赖效应;25 $\mu\text{g/mL}$ HAP对小鼠单核巨噬细胞系RAW264.7增殖具有抑制作用,细胞相对增殖率为 $(77.28\pm4.73)\%$,且该质量浓度HAP可促进RAW264.7细胞释放NO,释放量为 (24.05 ± 1.02) $\mu\text{mol/L}$,显著高于阳性对照组(12.52 ± 0.69) $\mu\text{mol/L}$),具有一定的免疫刺激潜力。【结论】HAP具有较好的体外抗氧化、降血糖及免疫刺激活性,具备作为功能性食品或医药保健成分的开发潜力。

关键词:毛蜂窝菌;多糖;超声波辅助提取;工艺优化;体外生物活性

中图分类号:TS201.2 文献标识码:A 文章编号:2096-1553(2026)05-0001-12

0 引言

毛蜂窝菌(*Hexagonia apiaria*)是一种隶属于担子菌门-非褶菌目-多孔菌科-蜂窝菌属的珍稀药用真菌^[1],又称蜂窝灵芝、龙眼梳等,主要分布于福

建、四川、云南和黑龙江等地^[2-3],在药用及保健领域具有广阔的开发利用前景^[4]。在中医临床应用中,毛蜂窝菌的子实体干品常以10~12 g煎汤温服,用于胃病治疗;亦可与灵芝、桦褐孔菌、裂蹄菌等药材共制超微粉,温水冲服,辅助治疗胃癌。此外,毛

收稿日期:2025-11-11;修回日期:2026-01-05;出版日期:2026-10-15

基金项目:中央引导地方项目(ZY23QY16);黑龙江省教育厅“双一流”学科协同创新成果项目(LJGXCG2023-043);牡丹江重点研发计划项目(HA25BR103)

作者简介:李良玉(1982—),男,黑龙江省哈尔滨市人,黑龙江八一农垦大学研究员,博士,主要研究方向为天然产物活性物质提纯与应用。E-mail: liliangyu6@163.com

蜂窝菌子实体也被用于慢性肾炎的调理^[5-6],其药理作用可能与所含的多糖类活性成分密切相关。

毛蜂窝菌多糖(*Hexagonia apiaria* Polysaccharide, HAP)是该菌的主要活性成分之一^[7-8]。研究表明,真菌多糖具有抗肿瘤^[9-10]、抗炎^[11]、抗氧化^[12]、免疫调节^[13-14]、降血糖^[15-16]等多种生物活性,是天然产物研究的重要方向。目前,HAP 研究主要集中于提取工艺优化及多糖得率比较^[8],毛蜂窝菌菌油的化学成分和 DPPH 自由基清除活性亦有报道^[7],但针对 HAP 多维体外生物活性的研究仍较少。

鉴于此,本研究拟采用广泛用于多糖提取工艺优化与活性研究的超声波辅助法^[17-18]提取 HAP 并优化提取工艺,通过 DPPH 和 ABTS⁺自由基清除实验评价 HAP 的抗氧化能力,通过 α -葡萄糖苷酶抑制实验分析其降血糖潜力,并利用巨噬细胞模型检测其免疫刺激作用,以期系统评价 HAP 的多维体外生物活性,为其深入研究和开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

毛蜂窝菌,市售;葡萄糖标准品、苯酚,上海麦克林生化科技股份有限公司;无水乙醇、石油醚,辽宁泉瑞试剂有限公司;浓硫酸(质量分数为 98%)、福林酚试剂、牛血清蛋白,上海索莱宝生物科技有限公司;MD44 MM 透析袋(截留相对分子质量为 3500 Da)、 α -葡萄糖苷酶、阿卡波糖、4-硝基苯- α -D-吡喃半乳糖苷(pNPG),合肥博美生物科技有限公司;DPPH 自由基清除率检测试剂盒,上海源叶生物科技有限公司;ABTS⁺自由基清除率检测试剂盒、总抗氧化能力试剂盒,苏州格锐思生物科技有限公司;抗坏血酸(VC),天津科密欧化学试剂有限公司;小鼠单核巨噬细胞系 RAW264.7,武汉普诺赛生命科技有限公司;DMEM 培养基、胎牛血清(FBS)、青霉素、链霉素、胰酶,赛默飞世尔科技有限公司;Hyclone 双抗,上海华雅思创有限公司;脂多糖(LPS),北京普西唐生物科技有限公司;CCK-8 检测试剂盒、一氧化氮(NO)检测试剂盒,上海碧云天生物技术股份有限公司;实验用水为超纯水。除

特别说明外,所用化学试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器与设备

DK-S24 型电热恒温水浴锅、DGG-9140AF 型电热恒温鼓风干燥箱,上海森信实验仪器有限公司;KH-500DE 型数控超声波清洗器,昆山禾创超声仪器有限公司;SCIENTZ-10YG/A 型冷冻干燥机,宁波新芝冻干设备股份有限公司;MR-96A 型多功能酶标仪,美谷分子仪器(上海)有限公司;H2050R-1 型高速冷冻离心机,湘仪离心机仪器有限公司;RE 52-99 型旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;2500C 型佳声多功能粉碎机,永康市红太阳机电有限公司;AR2140 型电子天平,梅特勒-托利多国际贸易(上海)有限公司;SZ-GY820ASP 型水分测定仪,深圳市冠亚技术科技有限公司;SW-CJ-1D 型净化工作台,浙江苏净净化设备有限公司;DMI6000 CS 型显微镜,徕卡显微系统(上海)贸易有限公司;ZCLY-100 型 CO₂ 培养箱,上海知楚仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 HAP 提取 将挑选除杂后的毛蜂窝菌原料于 60 ℃ 电热恒温鼓风干燥箱中烘干,粉碎后过 40 目筛,得到毛蜂窝菌粉末。取适量毛蜂窝菌粉末于烧瓶中,加入石油醚回流脱脂 2 次,每次 1 h;过滤并弃去滤液,将滤渣于 60 ℃ 电热恒温鼓风干燥箱中烘干至恒重后,加入适量超纯水,在设定的超声波条件下提取 HAP。将提取液于 4000 r/min 条件下离心 15 min,收集含粗多糖的上清液,于 60 ℃ 条件下真空浓缩至原体积的 1/4。在 300 r/min 磁力搅拌条件下加入浓缩液 4 倍体积的无水乙醇,放入 4 ℃ 冰箱中静置 12 h 后离心(4000 r/min, 5 min),收集沉淀,于 -50 ℃、真空度 < 10 Pa 条件下冷冻干燥 48 h,得到 HAP^[18]。HAP 得率的计算公式如下:

$$\text{HAP 得率} = \frac{\text{HAP 质量}}{\text{毛蜂窝菌样品质量}} \times 100\%$$

1.3.2 单因素试验 称取 10 g 预处理后的毛蜂窝菌粉末置于烧杯中,以超纯水为提取溶剂,按照 1.3.1 的方法提取 HAP。固定超声频率为 24 kHz,以 HAP 得率为评价指标^[19],分别考查超声功率、料液比、提取温度和提取时间对 HAP 得率的影响。单因素试验的基础条件为:超声功率 300 W、料液比

(g/mL) 1 : 15、提取温度 80 ℃、提取时间 50 min。考查某一因素时,仅改变该因素水平,其余条件保持不变。各因素的水平设置如下:超声功率为 100 W、200 W、300 W、400 W、500 W;料液比为 1 : 5、1 : 10、1 : 15、1 : 20、1 : 25;提取温度为 70 ℃、75 ℃、80 ℃、85 ℃、90 ℃;提取时间为 45 min、50 min、55 min、60 min、65 min。

1.3.3 响应面试验 在单因素试验结果的基础上,为优化 HAP 提取工艺,以 HAP 得率(Y)为响应值,选取超声功率(A/W)、料液比(B)、提取温度($C/℃$)、提取时间(D/min)作为考查因素,采用响应面法进行试验设计,并通过回归模型分析确定最佳提取条件。各因素水平设置见表 1。

1.3.4 总糖、蛋白质及水分含量测定 参考《食用菌中总糖含量的测定》(GB/T 15672—2009)中的苯酚-硫酸法^[20]并略作修改,测定 HAP 的总糖含量。分别吸取 0 mL、0.1 mL、0.2 mL、0.4 mL、0.6 mL、0.8 mL、1.0 mL 葡萄糖标准溶液(质量浓度为 100 μg/mL),置于具塞试管中,加水补足至 1.0 mL,摇匀。各管再加入 1.0 mL 质量分数为 5%的苯酚溶液和 5 mL 浓硫酸,涡旋混匀,避光反应 20 min 后,于 490 nm 处测定吸光度。以葡萄糖质量浓度(x)为横坐标、吸光度(y)为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程 $y = 0.008\ 9x - 0.012\ 7$, $R^2 = 0.999\ 1$,表明在 10~100 μg/mL 范围内线性关系良好。供试样品溶液亦按上述方法处理,将样品吸光度代入标准曲线中,得到样品中总糖的质量浓度,再乘以稀释倍数计算样品中总糖含量。

采用 Lowry 法(福林-酚法)^[21]并稍作修改,测定 HAP 的蛋白质含量。称取适量 HAP 样品,加入超纯水溶解并配制成质量浓度为 0.25 mg/mL 的溶液,于 60 ℃条件下加热溶解,备用。取 1.0 mL 上述

样品溶液,加入 5.0 mL 福林-酚甲液,涡旋混匀,室温避光反应 10 min;再加入 0.5 mL 福林-酚乙液,涡旋混匀,室温避光反应 15 min,于 750 nm 波长处测定吸光度。牛血清蛋白标准溶液与供试样品溶液均按上述方法处理,以牛血清蛋白质量浓度(x)为横坐标、吸光度(y)为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程 $y = 0.000\ 7x + 0.049\ 4$, $R^2 = 0.997\ 0$,将样品吸光度代入标准曲线中,得到样品中蛋白质的质量浓度,再乘以稀释倍数计算样品中蛋白质含量。

使用水分测定仪测定 HAP 的水分含量。称取 1.00 g HAP 样品,均匀平铺于测定盘中,设置加热温度为 100 ℃,采用仪器自动模式干燥至终点(当设定时间内样品质量变化小于 1 mg 时判定为终点)。水分测定仪直接读取失水质量与初始样品质量的差值,即为 HAP 的水分含量^[22]。

1.4 抗氧化活性测定

1.4.1 DPPH 自由基清除率 采用 DPPH 自由基清除率检测试剂盒,按照试剂盒说明书测定 HAP 的 DPPH 自由基清除率。分别设置样品测定组、样品对照组、空白组和阳性对照组。空白组微量离心(EP)管中加入 0.05 mL 氮自由基提取液、0.225 mL 无水乙醇和 0.225 mL DPPH 溶液;样品测定组 EP 管中加入 0.05 mL 不同质量浓度(0.2 mg/mL、0.4 mg/mL、0.6 mg/mL、0.8 mg/mL、1.0 mg/mL)的 HAP 溶液、0.225 mL 无水乙醇和 0.225 mL DPPH 溶液;样品对照组 EP 管中加入 0.05 mL 1.0 mg/mL 的 HAP 溶液和 0.45 mL 无水乙醇;以 VC 为阳性对照组,即以等质量浓度 VC 溶液代替 HAP 溶液,其余组分同样品测定组。各 EP 管混合均匀后于室温避光静置反应 30 min,于 517 nm 处测定各组吸光度。样品的 DPPH 自由基清除率计算公式如下:

$$\text{DPPH 自由基清除率} = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100\%$$

式中, A_0 为空白组吸光度, A_1 为样品测定组吸光度, A_2 为样品对照组吸光度。

1.4.2 ABTS⁺ 自由基清除率 采用 ABTS⁺ 自由基清除率检测试剂盒,按照说明书测定 HAP 的 ABTS⁺ 自由基清除率。分别设置样品测定组、样品对照组、

表 1 响应面试验设计因素与水平

Table 1 Factors and levels of the response surface design

水平	因素			
	A/W	B	$C/℃$	D/min
-1	200	1 : 10	80	50
0	300	1 : 15	85	55
1	400	1 : 20	90	60

空白组和阳性对照组。样品测定组 EP 管中加入 10 μL 不同质量浓度 (0.1 mg/mL、0.2 mg/mL、0.4 mg/mL、0.6 mg/mL、0.8 mg/mL、1.0 mg/mL) 的 HAP 溶液和 190 μL ABTS 工作液;样品对照组 EP 管加入 10 μL 相同质量浓度梯度的 HAP 溶液和 190 μL 无水乙醇;空白组中加入 10 μL 无水乙醇和 190 μL ABTS 工作液;阳性对照组以相同质量浓度 VC 溶液代替 HAP 溶液,其余同测定组。各组溶液混合均匀后于室温下避光反应 6 min,于 734 nm 处测定吸光度。样品的 ABTS⁺ 自由基清除率计算公式如下:

$$\text{ABTS}^+ \text{ 自由基清除率} = \left(1 - \frac{B_1 - B_2}{B_0}\right) \times 100\%$$

式中, B_0 为空白组吸光度, B_1 为样品测定组吸光度, B_2 为样品对照组吸光度。

1.4.3 总抗氧化能力 采用 FRAP 法,使用总抗氧化能力试剂盒测定 HAP 的总抗氧化能力。分别设置样品测定组、空白组和阳性对照组。样品测定组 EP 管中加入 10 μL 不同质量浓度 (1 mg/mL、2 mg/mL、3 mg/mL、4 mg/mL、5 mg/mL) 的 HAP 溶液、20 μL 超纯水和 170 μL 显色液,混合均匀;空白组加入 30 μL 超纯水和 170 μL 显色液;阳性对照组以相同质量浓度 VC 溶液代替 HAP 溶液,其余同测定组。各组混合均匀后于室温下反应 10 min,于 590 nm 处测定吸光度。样品测定组吸光度记为 C_1 ,空白组吸光度记为 C_0 ,差值 $\Delta C = C_1 - C_0$ 。结果根据 Trolox 标准曲线换算,以 Trolox 当量表示。样品的总抗氧化能力 ($\mu\text{mol Trolox} \cdot \text{mL}^{-1}$) 计算公式如下:

$$\text{总抗氧化能力} = 2.06 \times (\Delta C - 0.0042)$$

1.5 α -葡萄糖苷酶抑制率测定

参考 G. G. Niu 等^[23] 的方法并稍作修改,测定 HAP 对 α -葡萄糖苷酶的抑制率。用 pH 值为 6.8 的 PBS 缓冲液配制 α -葡萄糖苷酶溶液 (0.4 U/mL) 和 pNPG 溶液 (2.5 mmol/L)。实验设置样品测定组、样品对照组、空白组和阳性对照组。样品测定组 EP 管中依次加入 80 μL α -葡萄糖苷酶溶液、400 μL 不同质量浓度 (0.02 mg/mL、0.1 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、2.0 mg/mL) 的 HAP 溶液和 200 μL pNPG 溶液;样品对照组以

80 μL PBS 缓冲液代替酶溶液,其余组分同样品测定组,用于消除样品自身颜色对吸光度的干扰;空白组以 80 μL PBS 缓冲液代替样品,依次加入 80 μL α -葡萄糖苷酶溶液、200 μL pNPG 溶液和 400 μL PBS 缓冲液,用于测定无抑制剂存在条件下酶反应的吸光度;阳性对照组以 400 μL 相同质量浓度的阿卡波糖标准溶液代替 HAP 溶液,其余组分同样品测定组。各组混匀后于 37 $^{\circ}\text{C}$ 下反应 10 min,随后加入 200 μL 2.5 mmol/L 的 pNPG 溶液,继续于 37 $^{\circ}\text{C}$ 电热恒温水浴锅中反应 20 min,于 405 nm 处测定吸光度^[24]。HAP 对 α -葡萄糖苷酶的抑制率计算公式如下:

$$\alpha\text{-葡萄糖苷酶抑制率} = \left(1 - \frac{M_1 - M_2}{M_0}\right) \times 100\%$$

式中, M_0 为空白组吸光度, M_1 为样品测定组吸光度, M_2 为样品对照组吸光度。

1.6 体外免疫活性测定

将 RAW264.7 细胞接种于含 10% (若无特指,百分数均指体积分数) FBS、1% 青霉素和链霉素的 DMEM 培养基中,并置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱内进行常规传代培养,实验均使用对数生长期细胞。称取适量 HAP 或 LPS,用 DMEM 培养基配制成质量浓度为 1 mg/mL 的母液,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下保存备用。取处于对数生长期的 RAW264.7 细胞,调整密度至 5×10^4 个/mL,按每孔 100 μL 接种于 96 孔板。预培养 24 h 后,设置正常组 (DMEM 培养基)、PBS 组 (等体积 PBS 缓冲液对照)、阳性对照组 (终质量浓度为 10 $\mu\text{g/mL}$ 的 LPS) 和给药组 (终质量浓度为 25 $\mu\text{g/mL}$ 的 HAP)。各组继续孵育 24 h 后,吸去上清液,每孔加入 100 μL CCK-8 溶液,继续避光孵育 1 h,于 450 nm 处测定吸光度^[22]。细胞相对增殖率计算公式如下:

$$\text{细胞相对增殖率} = \frac{Z_t - Z_c}{Z_b - Z_c} \times 100\%$$

式中, Z_t 为样品组吸光度, Z_c 为正常组吸光度, Z_b 为阳性对照组吸光度。

采用 Griess 试剂盒^[25],按照说明书测定培养基中 NO 的释放量。精密称取 NaNO_2 标准品,以细胞培养液为溶剂,配制浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 NaNO_2 标准储备液,再以此为母液进行稀释,得到 0 $\mu\text{mol/L}$

L、5 μmol/L、10 μmol/L、20 μmol/L、40 μmol/L、60 μmol/L、100 μmol/L 的系列标准溶液。分别取各浓度标准溶液与等体积 Griess 试剂 I 和 II 混合,室温避光反应 10 min,于 540 nm 处测定吸光度。以 NaNO₂ 浓度为横坐标、吸光度为纵坐标绘制标准曲线,得回归方程为 $y=0.0069x-0.0055$, $R^2=0.9998$ 。细胞接种及给药处理条件同上,将样品吸光度(y)代入上述标准曲线,计算 NO₂⁻ 浓度(x , μmol/L),即为 NO 释放量。

1.7 数据处理

所有实验均重复 3 次,结果以(平均值±标准差)表示。使用 SPSS 27.0 软件进行数据分析,多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA);方差齐时,采用 LSD 法进行组间两两比较;方差不齐时,采用 Dunnett's T3 法。 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。采用 Design-Expert 13 软件对响应面试

验数据进行方差分析和模型拟合,使用 Origin 2018 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 单因素结果分析

不同因素对 HAP 得率的影响见图 1,其中不同小写字母表示组间差异显著($P<0.05$),下同。由图 1a)可知,超声功率在 100~300 W 范围内,HAP 得率随超声功率的增加而升高,并于 300 W 时达到最大值;继续提高超声功率后,HAP 得率呈下降趋势,这可能是过高的超声功率会产生过强空化作用并造成多糖链断裂或结构破坏,从而降低提取效率^[26-27]。因此,响应面试以 300 W 为中心点,考查范围为 200~400 W。由图 1b)可知,当料液比在 1:5~1:15 之间时,HAP 得率随溶剂比例的增加逐渐升高;继续增加溶剂用量后,HAP 得率趋于平

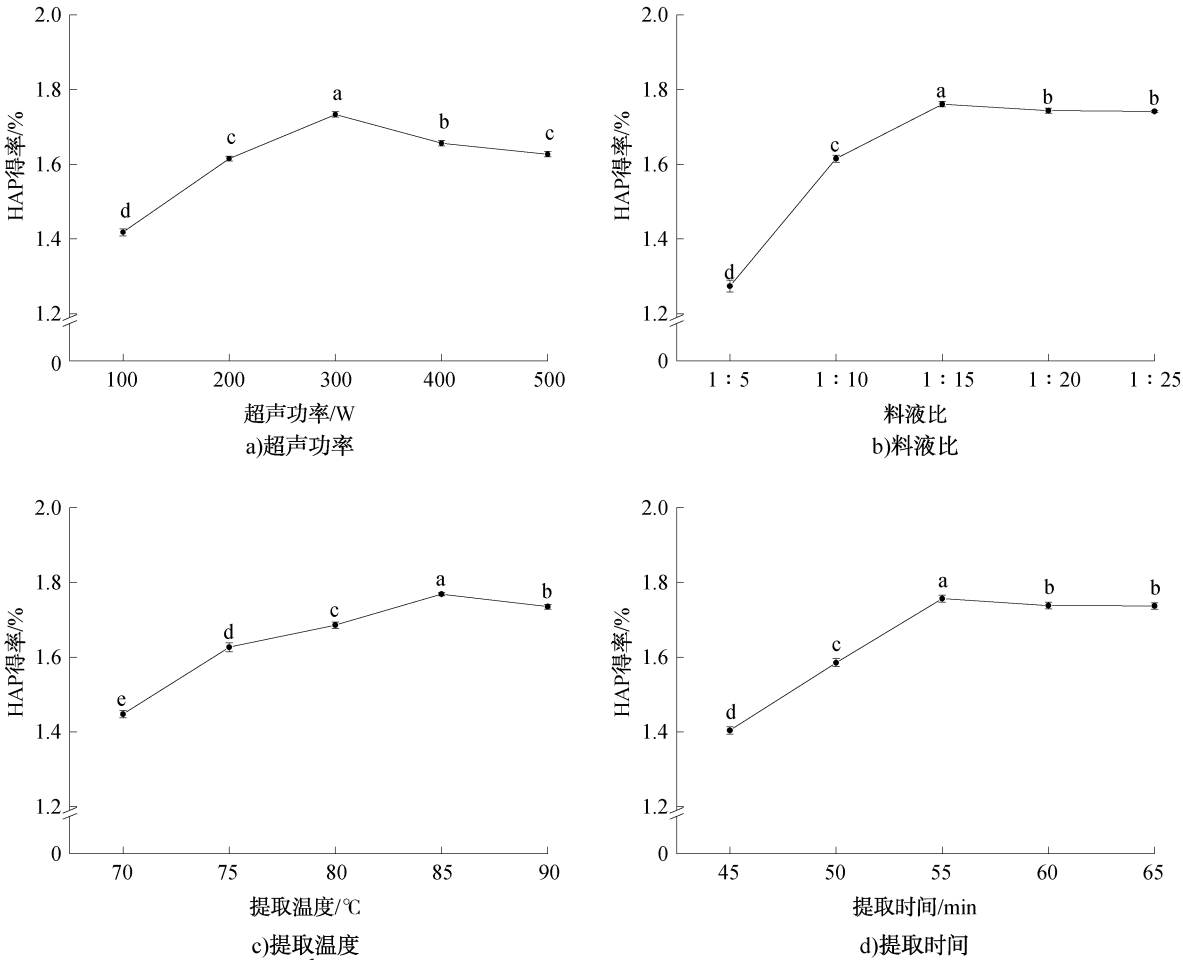


图 1 不同因素对 HAP 得率的影响
Fig. 1 Effects of different factors on HAP yield

缓并略有下降。适量增加溶剂可提高体系传质效率并促进多糖溶出,而溶剂过量会造成溶质过度稀释及杂质溶出增加,降低溶液质量浓度,从而影响提取效率^[27-29]。因此,响应面试验以 1 : 15 为中心点,考查范围为 1 : 10~1 : 20。由图 1c)可知,在 70~85 ℃ 范围内,HAP 得率随提取温度的升高而增加,并于 85 ℃ 时达到最大值;提取温度继续升高后得率略有下降。适度升温有利于多糖溶剂的溶出和扩散,温度过高则可能加剧多糖降解^[30-31]。因此,响应面试验以 85 ℃ 为中心点,考查范围为 80~90 ℃。由图 1d)可知,在 45~55 min 范围内,HAP 得率随提取时间的延长而升高,并于 55 min 时达到最大值;继续延长后,得率趋于稳定并略有下降。较长时间的超声作用可能引起多糖结构降解,并促进其他组分溶出^[32-33]。因此,响应面试验以 55 min 为中心点,考查范围为 50~60 min。

2.2 响应面试验结果分析

2.2.1 响应面试验设计与结果 响应面试验设计及结果见表 2。采用 Design-Expert 软件对表 2 数据进行二次多项式回归拟合,得到回归模型方程为:

$$Y=1.84+0.035\ 8A+0.012\ 5B+0.007\ 5C+0.040\ 8D+0.005\ 0AB+0.037\ 5AC-0.025\ 0AD-0.007\ 5BC-0.015\ 0BD-0.017\ 5CD-0.091\ 7A^2-0.061\ 7B^2-0.071\ 7C^2-0.084\ 2D^2$$

2.2.2 模型拟合与方差分析 响应面回归模型的显著性检验及方差分析见表 3。由表 3 可知,该回归模型达到极显著水平 ($P<0.01$),失拟项不显著 ($P>0.05$),模型实际决定系数 $R^2=0.984\ 3$,调整决定系数 $R^2_{adj}=0.968\ 6$,二者较为接近,表明模型拟合度良好,未见明显过拟合^[34]。一次项 A 、 B 、 D ,交互项 AC 、 AD 及二次项 A^2 、 B^2 、 C^2 、 D^2 均达到极显著水平 ($P<0.01$),表明各因素及其交互作用在不同程度上均对 HAP 得率有显著影响。由回归模型 F 值可知,各因素对 HAP 得率影响的主次顺序为: D (提取时间) $>A$ (超声功率) $>B$ (料液比) $>C$ (提取温度)。

2.2.3 最优提取工艺验证 由回归模型预测得到 HAP 的最优提取工艺条件为:超声功率 318.57 W、料液比 1 : 15.40、提取温度 85.36 ℃、提取时间 56.00 min,在此条件下 HAP 得率为 1.85%。考虑到实际操作的可行性,将提取工艺条件调整为:超声

功率 320 W、料液比 1 : 15.5、提取温度 85.5 ℃ 和提取时间 56 min。在此优化条件下进行 3 次平行验证实验,HAP 得率为 $(1.91\pm0.02)\%$,与预测值的相对标准偏差为 3.24%,表明所建模型对 HAP 超声辅助提取工艺具有较好的预测能力。

2.3 化学成分组成分析

经实验测定,HAP 的总糖、蛋白质和水分含量分别为 $(24.97\pm0.33)\%$ 、 $(13.19\pm0.74)\%$ 和 $(9.53\pm0.47)\%$ 。

2.4 抗氧化活性分析

2.4.1 DPPH 自由基清除率 不同质量浓度 HAP 对 DPPH 自由基清除率的影响见图 2。由图 2 可知,在 0.2~1.0 mg/mL 范围内,HAP 对 DPPH 自由基的清除率随质量浓度的增加而升高;当质量浓

表 2 响应面试验设计及结果
Table 2 Experimental design and results of response surface methodology

实验号	A	B	C	D	Y/%
1	0	-1	0	1	1.75
2	1	0	1	0	1.76
3	1	0	0	1	1.71
4	-1	1	0	0	1.65
5	0	0	1	1	1.72
6	1	0	0	-1	1.70
7	0	0	0	0	1.84
8	-1	0	1	0	1.62
9	0	0	-1	1	1.73
10	0	-1	-1	0	1.68
11	0	1	0	1	1.74
12	0	0	0	0	1.84
13	1	0	-1	0	1.66
14	-1	-1	0	0	1.65
15	1	-1	0	0	1.71
16	0	1	-1	0	1.74
17	-1	0	0	-1	1.57
18	-1	0	0	1	1.68
19	0	0	0	0	1.83
20	0	1	1	0	1.72
21	1	1	0	0	1.73
22	-1	0	-1	0	1.67
23	0	-1	0	-1	1.62
24	0	0	0	0	1.84
25	0	0	0	0	1.85
26	0	0	1	-1	1.67
27	0	0	-1	-1	1.61
28	0	1	0	-1	1.67
29	0	-1	1	0	1.69

表 3 回归模型的显著性检验及方差分析

Table 3 Significance test and analysis of variance for the regression model

方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	0.151 7	14	0.010 8	62.76	<0.000 1	**
A	0.015 4	1	0.015 4	89.26	<0.000 1	**
B	0.001 9	1	0.001 9	10.86	0.005 3	**
C	0.000 7	1	0.000 7	3.91	0.068 0	
D	0.020 0	1	0.020 0	115.91	<0.000 1	**
AB	0.000 1	1	0.000 1	0.58	0.459 2	
AC	0.005 6	1	0.005 6	32.59	<0.000 1	**
AD	0.002 5	1	0.002 5	14.48	0.001 9	**
BC	0.000 2	1	0.000 2	1.30	0.272 7	
BD	0.000 9	1	0.000 9	5.21	0.038 5	*
CD	0.001 2	1	0.001 2	7.10	0.018 5	*
A ²	0.054 5	1	0.054 5	315.75	<0.000 1	**
B ²	0.024 7	1	0.024 7	142.90	<0.000 1	**
C ²	0.033 3	1	0.033 3	193.00	<0.000 1	**
D ²	0.046 0	1	0.046 0	266.20	<0.000 1	**
残差	0.002 4	14	0.000 2			
失拟项	0.002 2	10	0.000 2	4.43	0.082 1	
纯误差	0.000 2	4	0.000 1			
总和	0.154 1	28				
$R^2=0.984\ 3$		$R^2_{\text{adj}}=0.968\ 6$				

注：* 表示差异显著($P<0.05$)；** 表示差异极显著($P<0.01$)。

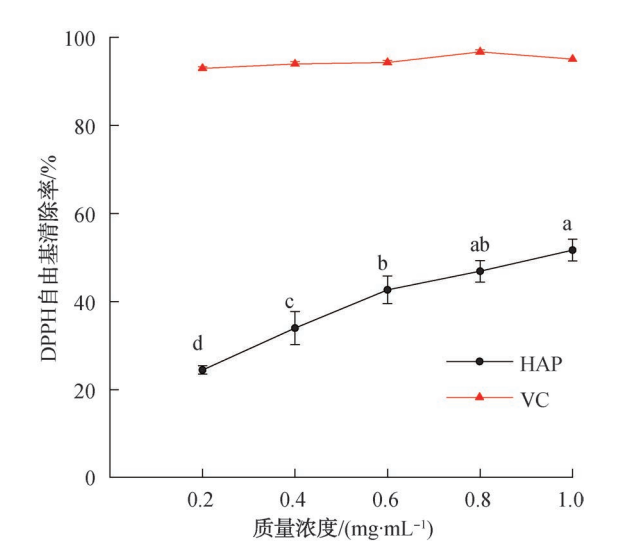


图 2 不同质量浓度 HAP 对 DPPH 自由基清除率的影响

Fig. 2 Effect of HAP concentration on DPPH radical scavenging activity

度为 1.0 mg/mL 时,清除率为 (51.70±2.50)%。为进一步量化其 DPPH 自由基清除能力,采用四参数 Logistic 方程对剂量-效应曲线进行非线性拟合,得到半数清除浓度 (IC_{50}) 为 0.925 mg/mL。上述结果

表明,HAP 对 DPPH 具有一定的清除能力,并呈现质量浓度依赖性。

2.4.2 ABTS⁺自由基清除率 不同质量浓度 HAP 对 ABTS⁺自由基清除率的影响见图 3。由图 3 可知,在 0.1~1.0 mg/mL 范围内,HAP 对 ABTS⁺自由基的清除率随质量浓度的增加而升高,呈明显量效关系。当质量浓度为 1.0 mg/mL 时,ABTS⁺自由基清除率为 (78.51±1.42)%。经四参数 Logistic 方程拟合,HAP 的 IC_{50} 为 0.147 mg/mL。上述结果表明,HAP 具有显著的 ABTS⁺自由基清除能力,且随质量浓度的增加而增强。

2.4.3 总抗氧化能力 不同质量浓度 HAP 的总抗氧化能力见图 4。由图 4 可知,在 1~5 mg/mL 范围内,HAP 的总抗氧化能力随质量浓度的增加而升高,呈质量浓度依赖性。当质量浓度为 5 mg/mL 时,HAP 的总抗氧化能力为 (3.33±0.025) $\mu\text{mol Trolox/mL}$,而 VC 在同等质量浓度下的总抗氧化能力为 (6.79±0.023) $\mu\text{mol Trolox/mL}$ 。虽然 HAP 的总抗氧化能力低于 VC,但在测试质量浓度范围内呈现良好的量效关系,表明 HAP 具有一定的总抗氧化

能力,且其抗氧化活性与质量浓度密切相关,具有进一步开发利用的潜力。

2.5 α-葡萄糖苷酶抑制能力分析

α-葡萄糖苷酶是碳水化合物消化过程中的关键酶,也是调节餐后高血糖的临床治疗靶点^[35],抑制该酶的活性可以延缓葡萄糖的生成和吸收,从而起到控制餐后血糖的作用^[36]。不同质量浓度 HAP 对 α-葡萄糖苷酶抑制率的影响见图 5。由图 5 可知,在 0.02~2.00 mg/mL 范围内,HAP 对 α-葡萄

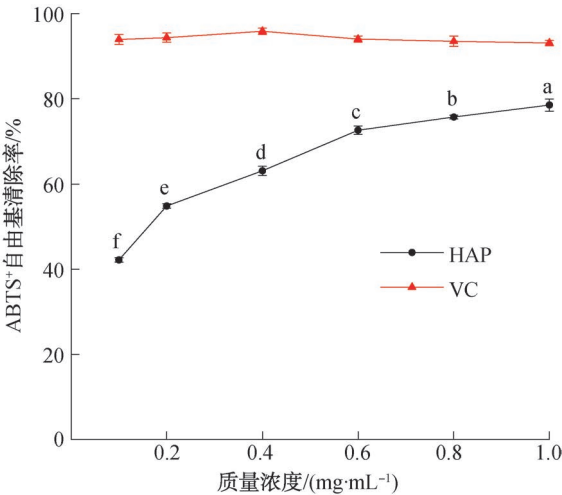


图 3 不同质量浓度 HAP 对 ABTS⁺ 自由基清除率的影响

Fig. 3 Effect of HAP concentration on ABTS⁺ radical scavenging activity

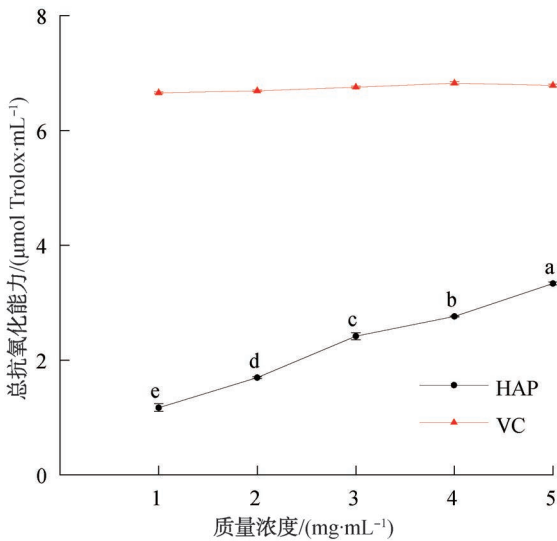


图 4 不同质量浓度 HAP 的总抗氧化能力
Fig. 4 Total antioxidant capacity of HAP at different mass concentrations

糖苷酶的抑制率随其质量浓度的增加而升高,呈质量浓度依赖性;当质量浓度为 2.00 mg/mL 时,抑制率为 (61.99±1.45)%。阿卡波糖在质量浓度为 0.1 mg/mL 时抑制率已达较高水平,随后趋于平稳。HAP 对 α-葡萄糖苷酶的 IC₅₀ 为 0.602 mg/mL,高于阿卡波糖,但低于文献报道的网地藻多糖 (22.64 mg/mL) 和余甘子多糖组分 PEP-50 (3.34 mg/mL)^[37-38],表明 HAP 对 α-葡萄糖苷酶具有一定的抑制效果。综上,在本实验质量浓度范围内尚未观察到明显平台期,更高质量浓度下的抑制效果仍需进一步验证。

2.6 体外免疫活性分析

本研究评价了 HAP 对 RAW264.7 细胞的免疫刺激作用,结果见表 4。由表 4 可知,与正常组相比,PBS 组差异不显著;阳性对照组细胞增殖率显著

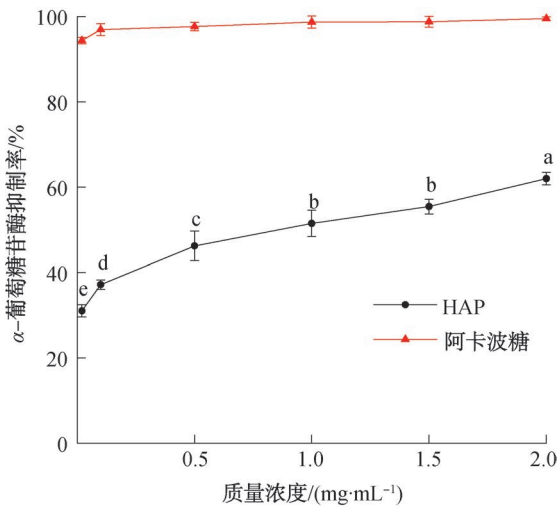


图 5 不同质量浓度 HAP 对 α-葡萄糖苷酶抑制率的影响

Fig. 5 Effect of HAP concentration on α-glucosidase inhibitory activity

表 4 HAP 对 RAW264.7 细胞增殖及 NO 释放的影响
Table 4 Effects of HAP on RAW264.7 cell proliferation and NO release

组别	细胞相对增殖率/%	NO 释放量/(μmol·L ⁻¹)	显著性
正常组	100.00±5.56	8.89±0.30	—
PBS 组	98.06±7.47	8.68±0.36	—
阳性对照组	158.33±4.41	12.52±0.69	P<0.01
给药组	77.28±4.73	24.05±1.02	P<0.01

注:—表示无统计学意义(P>0.05)。

升高;经 25 μg/mL HAP 处理后的 RAW264.7 细胞活力略有下降,细胞增殖率为 (77.28±4.73)%,表明该质量浓度 HAP 对 RAW264.7 细胞的增殖具有一定的抑制作用。然而,给药组 NO 释放量为 (24.05±1.02) μmol/L,阳性对照组 NO 释放量为 (12.52±0.69) μmol/L,与正常组和 PBS 组相比,给药组与阳性对照组的 NO 释放量均极显著升高 ($P<0.01$),且前者显著高于后者。因此,HAP 可促进 RAW264.7 细胞释放 NO,具有一定的免疫刺激潜力。

3 结论

本研究采用超声波辅助法提取了 HAP,利用单因素和响应面试验优化了 HAP 的提取工艺,并对其体外生物活性进行了研究。结果表明:最佳提取条件为超声功率 320 W、料液比 1 : 15.5、提取温度 85.5 ℃、提取时间 56 min,在此条件下 HAP 得率为 (1.91±0.02)%。HAP 具有较好的 DPPH 和 ABTS⁺ 自由基清除能力及总抗氧化能力,并对 α-葡萄糖苷酶表现出质量浓度依赖性抑制作用。25 μg/mL HAP 可显著促进 RAW264.7 细胞释放 NO,但细胞相对增殖率有所下降,表明 HAP 具有免疫刺激潜力,但其作用机制及安全性有待进一步验证。综上,HAP 表现出抗氧化、α-葡萄糖苷酶抑制、免疫调节等多维体外生物活性,可为其活性组分筛选及功能评价提供实验依据。后续研究应重点明确 HAP 的活性物质基础及构效关系,并通过细胞毒性评价、作用机制分析和动物实验进一步验证其生物学效应及安全性。

参考文献:

[1] 毕志树,郑国杨,李泰辉. 广东大型真菌志[M]. 广州: 广东科技出版社,1994:281-282.

Bi Z S,Zheng G Y,Li T H. Flora of large fungi in Guangdong [M]. Guangzhou:Guangdong Science and Technology Press,1994:281-282.

[2] 孟翔鹏,马琳. 食药真菌的研究进展及其应用前景展望[J]. 中国现代中药,2009,11(10):7-10.

Meng X P,Ma L. Research progress and application prospect of edible and medicinal fungi[J]. Modern Chinese Medicine,2009,11(10):7-10.

[3] 翁梁,温鲁. 药用真菌多糖研究进展[J]. 食品科学,

2008,29(12):748-751.

Weng L,Wen L. Review of research on medicinal fungi polysaccharides[J]. Food Science,2008,29(12):748-751.

[4] 李浩华,陈玉婵,陶美华,等. 毛蜂窝菌提取物体外抗肿瘤活性的研究[J]. 食用菌学报,2009,16(3):57-60.

Li H H,Chen Y C,Tao M H,et al. *In vitro* anti-tumor activities of hexagona apiaria extracts [J]. Acta Edulis Fungi,2009,16(3):57-60.

[5] 李浩华,章卫民,潘清灵,等. 药用真菌毛蜂窝菌的栽培技术研究初报[C]//中国菌物学会,湖北省科学技术厅,湖北省科学技术协会. 中国菌物学会第四届会员代表大会暨全国第七届菌物学学术讨论会论文集:2008年卷. 广州:广东省微生物研究所,2008:363-366.

Li H H,Zhang W M,Pan Q L,et al. Preliminary report on cultivation techniques for the medicinal fungus *Hexagonia apiaria* [C]//Chinese Mycological Society,Hubei Provincial Department of Science and Technology,Hubei Provincial Association for Science and Technology. Proceedings of the fourth general assembly of members of the Chinese mycological society and the seventh national mycological symposium:2008 Volume. Guangzhou:Guangdong Institute of Microbiology,2008:363-366.

[6] 李浩华,章卫民,潘清灵,等. 毛蜂窝菌的栽培技术研究[J]. 食用菌学报,2008,15(3):31-34.

Li H H,Zhang W M,Pan Q L,et al. Cultivation of the medicinal fungus, *Hexagonia apiaria* [J]. Acta Edulis Fungi,2008,15(3):31-34.

[7] 彭毓敏,李皓,朱峰,等. 毛蜂窝菌菌油化学成分分析与 DPPH 自由基清除活性[J]. 佛山科学技术学院学报(自然科学版),2024,42(2):74-80.

Peng Y M,Li H,Zhu F,et al. Chemical compositions analysis and DPPH radical scavenging activity of fungus oil of *Hexagonia apiaria* Pers. :Fr[J]. Journal of Foshan University (Natural Science Edition),2024,42(2):74-80.

[8] 张璐,张斌,易延逵. 毛蜂窝菌多糖提取工艺优化[J]. 辽宁中医药大学学报,2017,19(11):62-64.

Zhang L,Zhang B,Yi Y K. Extraction technological optimization of polysaccharides in *Hexagona apiaria* [J]. Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine,2017,19(11):62-64.

[9] Schritt H,Vidi S,Pleissner D. Spent mushroom substrate and sawdust to produce *Mycelium*-based thermal insulation composites[J]. Journal of Cleaner Production,2021,313:127910.

[10] 李兴海,邵建富,刘仕杰,等. 猴头菇多糖联合转化生长因子-β1 对胃癌细胞增殖及微小 RNA-302a 的影响[J]. 肿瘤代谢与营养电子杂志,2023,10(3):408-414.

Li X H,Shao J F,Liu S J,et al. *Hericium erinaceus* poly-

- saccharide combined with different doses of TGF- β 1 Effects of miR-302a on the proliferation of gastric cancer cells[J]. Electronic Journal of Metabolism and Nutrition of Cancer, 2023, 10(3): 408-414.
- [11] 谭颖颖,戴川景,卢学敏,等. 银耳多糖对人软骨细胞的增殖效应和抗炎作用[J]. 食品工业科技, 2024, 45(1): 1-8.
- Tan M Y, Dai C J, Lu X M, et al. Proliferation and anti-inflammatory effects of *Tremella fuciformis* polysaccharide on human chondrocytes [J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(1): 1-8.
- [12] Zhang Y W, Feng Y B, Wang W S, et al. Characterization and hepatoprotections of *Ganoderma lucidum* polysaccharides against multiple organ dysfunction syndrome in mice [J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2021, 2021: 9703682.
- [13] Zheng C Q, Shao Y W, Hao L M, et al. Extraction, characterization, and biological activities of a polysaccharide from *Poria cocos* peels [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2022, 46(10): e16821.
- [14] 姚艳婷,杨小兵,陈旭洁,等. 富硒蛹虫草多糖的结构表征及体外免疫调节活性[J]. 食品科学, 2023, 44(22): 39-48.
- Yao Y T, Yang X B, Chen X J, et al. Structural characterization and *in vitro* immunomodulatory activity of polysaccharides from selenium-enriched *Cordyceps militaris* [J]. Food Science, 2023, 44(22): 39-48.
- [15] 刘楠楠. 黑木耳多糖的提取纯化、结构表征及降糖活性研究[D]. 西安: 陕西科技大学, 2022.
- Liu N N. Extraction, purification, structural characterization, and hypoglycemic activity of polysaccharides from Black Fungus [D]. Xi'an: Shaanxi University of Science and Technology, 2022.
- [16] 吴睿婷,付王威,万敏,等. 黑灵芝多糖对糖尿病大鼠血糖血脂调节及肠道菌群的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(5): 91-102.
- Wu R T, Fu W W, Wan M, et al. Effect of polysaccharide from *Ganoderma atrum* on hyperglycemia, blood lipid and gut microbiota of diabetic rats [J]. Food Science, 2022, 43(5): 91-102.
- [17] 张郡月,张瑞,柴秋泉,等. 灵芝多糖的超声辅助提取工艺优化及抗氧化活性分析[J]. 现代食品科技, 2026, 42(4): 184-194.
- Zhang J Y, Zhang R, Chai Q Q, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction process and antioxidant activity of *Ganoderma lucidum* polysaccharides [J]. Modern Food Science & Technology, 2026, 42(4): 184-194.
- [18] 原梦瑶,康淑荷,崔璐娟,等. 红芪多糖超声提取工艺优化及抗氧化、美白和吸湿保湿活性[J]. 精细化工, 2025, 42(3): 577-586.
- Yuan M Y, Kang S H, Cui L J, et al. Optimization of ultrasonic extraction process for polysaccharides from *Radix Hedysari* and their antioxidant, whitening, moisture absorption and moisturizing activities [J]. Fine Chemicals, 2025, 42(3): 577-586.
- [19] 沈琴,路乐乐,潘粟,等. 黑木耳硒化多糖制备、结构及体外活性分析[J]. 食品工业科技, 2025, 46(10): 250-259.
- Shen Q, Lu L L, Pan P, et al. Preparation, structure and *in vitro* activity analysis of selenopolysaccharide from *Auricularia* [J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(10): 250-259.
- [20] GB/T 15672—2009 食用菌中总糖含量的测定[S]. GB/T 15672—2009 Determination of total sugar content in edible fungi [S].
- [21] 张凤国,张永勤,邢明霞,等. Lowry 法测定蛋白浓度的最佳波长选择[J]. 青岛科技大学学报(自然科学版), 2021, 42(2): 30-36.
- Zhang F G, Zhang Y Q, Xing M X, et al. Selection of optimal detection wavelength for determination of protein concentration by Lowry method [J]. Journal of Qingdao University of Science and Technology (Natural Science Edition), 2021, 42(2): 30-36.
- [22] 高若涵,马楠,杨明哲,等. 燕麦非淀粉多糖发酵富集法工艺优化及其免疫刺激活性分析[J]. 食品工业科技, 2025, 46(10): 21-32.
- Gao R H, Ma N, Yang M Z, et al. Optimization of the fermentation enrichment method for oat non-starch polysaccharides and study of their immunostimulatory activity [J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(10): 21-32.
- [23] Niu G G, You G, Zhou X Y, et al. Physicochemical properties and *in vitro* hypoglycemic activities of hsian-tsao polysaccharide fractions by gradient ethanol precipitation method [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 231: 123274.
- [24] 王亮亮. 川芎茎叶可溶性多糖提取、结构表征及生物活性研究[D]. 成都: 成都大学, 2025.
- Wang L L. Soluble polysaccharide extraction, structural characterization, and bioactivity study of ligusticum chuaxiong rhizome and leaves [D]. Chengdu: Chengdu University, 2025.
- [25] Yelithao K, Surayot U, Lee C, et al. Studies on structural properties and immune-enhancing activities of glycomannans from *Schizophyllum commune* [J]. Carbohydrate Polymers, 2019, 218: 37-45.
- [26] 刘永玲,刘向炼,陶欣,等. 八月瓜果皮多糖提取工艺

- 优化及其体外抗氧化、降糖活性分析[J]. 食品工业科技, 2024, 45(19): 17-24.
- Liu Y L, Liu X L, Tao X, et al. Optimization of polysaccharides extraction from the peels of *Akebia trifoliata* and evaluation of its *in vitro* antioxidant and hypoglycemic activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(19): 17-24.
- [27] 陈蕾, 郑甜甜, 朱贺宇, 等. 响应面法优化超声辅助提取姬菇多糖及其体外抗氧化性[J]. 中国食品添加剂, 2024, 35(1): 143-149.
- Chen L, Zheng T T, Zhu H Y, et al. Optimization of ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from *Agaricus blazei* by response surface methodology and its *in vitro* antioxidant activity[J]. China Food Additives, 2024, 35(1): 143-149.
- [28] Gu J Y, Zhang H H, Zhang J X, et al. Optimization, characterization, rheological study and immune activities of polysaccharide from *Sagittaria sagittifolia* L[J]. Carbohydrate Polymers, 2020, 246: 116595.
- [29] Chen Y, Xu M, Wang X Y, et al. Preparation of wood ear medicinal mushroom, *Auricularia auricula-judae* (Agaricomycetes), melanin and its antioxidant properties: evaluation *in vitro* and *in vivo* [J]. International Journal of Medicinal Mushrooms, 2021, 23(6): 89-100.
- [30] 曾祥玉. 松塔鳞片多糖的提取及其免疫生理活性研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2021.
- Zeng X Y. Extraction of polysaccharides from pine cone scales and investigation of their immunophysiological activity [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2021.
- [31] 李文宇, 王茜, 沈静, 等. 超声波辅助提取新疆香梨多糖的工艺研究[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(4): 136-142.
- Li W Y, Wang Q, Shen J, et al. Study on ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from fragrant pears in Xinjiang[J]. Food Research and Development, 2023, 44(4): 136-142.
- [32] 余金岂, 邹柯奕, 陈正睿, 等. 珊瑚状猴头菌多糖超声波辅助提取工艺优化及抗结直肠癌活性研究[J]. 生物技术通报, 2024, 40(11): 78-87.
- Yu J Q, Wu K Y, Chen Z R, et al. Study on the optimization of ultrasonic-assisted extraction process of *Hericium coralloides* (scop.) pers. polysaccharides and its anti-colorectal cancer activity [J]. Biotechnology Bulletin, 2024, 40(11): 78-87.
- [33] 黄明浩, 黄泰奇, 邓丽娟. 响应面法优化白英粗多糖提取工艺及其体外抗氧化活性的分析[J]. 食品工业科技, 2023, 44(22): 219-225.
- Huang M H, Huang T Q, Deng L J. Optimization of *Solanum lyratum* crude polysaccharide extraction process using response surface methodology and analysis of its *in vitro* antioxidant activity[J]. Science and Technology of Food Industry, 2023, 44(22): 219-225.
- [34] 李良玉, 李朝阳, 宋大巍, 等. 响应面法优化梨小豆粗多糖超声波提取工艺研究[J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(10): 1590-1596, 1516.
- Li L Y, Li C Y, Song D W, et al. Optimization of ultrasonic extraction of crude polysaccharide from pear adzuki beans [J]. Natural Product Research and Development, 2016, 28(10): 1590-1596, 1516.
- [35] 柴铁涛, 胡情, 柳冬梅, 等. 源于中药的 α -葡萄糖苷酶抑制剂研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2025, 42(11): 1967-1984.
- Chai Y T, Hu Q, Liu D M, et al. Research progress of α -glucosidase inhibitors from Chinese herbs[J]. Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy, 2025, 42(11): 1967-1984.
- [36] Jha R, Goyal K, Mehan S, et al. Dual α -amylase and α -glucosidase inhibitors: recent progress from natural and synthetic resources[J]. Bioorganic Chemistry, 2025, 163: 108762.
- [37] 冯学珍, 覃慧逢, 冯书珍. 网地藻多糖对 α -葡萄糖苷酶体外抑制作用的研究[J]. 食品研究与开发, 2020, 41(3): 35-40.
- Feng X Z, Qin H F, Feng S Z. Study on inhibition kinetics of polysaccharide from *Dictyota dichotoma* on α -glucosidase[J]. Food Research and Development, 2020, 41(3): 35-40.
- [38] 方嘉沁, 张潼, 符树勇, 等. 不同分子量余甘子多糖理化性质及其对 α -葡萄糖苷酶的抑制活性比较[J]. 现代食品科技, 2025, 41(11): 144-152.
- Fang J Q, Zhang T, Fu S Y, et al. Comparison on the physicochemical characteristics and inhibitory activity against α -glucosidase of the polysaccharides with different molecular weights from *Phyllanthus emblica* L[J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(11): 144-152.

Optimization of ultrasonic-assisted extraction process and *in vitro* biological activities of crude polysaccharides from *Hexagonia apiaria*

Li Liangyu^{1,2}, Zhang Siying³, Li Xuejing³, Cao Rongan³, Wang Kun³, Wang Feifei⁴

1. National Engineering Research Center for Minor Cereals, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China;
2. Engineering Research Center of Processing and Utilization of Grain By-products, Ministry of Education, Daqing 163319, China;
3. College of Food, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China;
4. Department of Food and Pharmaceutical Engineering, Heilongjiang Agricultural Economy Vocational College, Mudanjiang 157000, China

Abstract:【Objective】This study aimed to optimize the ultrasound-assisted extraction process of crude *Hexagonia apiaria* polysaccharide (HAP) and to investigate its multiple *in vitro* biological activities, thereby broadening its potential applications in functional foods and healthcare. 【Methods】*Hexagonia apiaria* was used as the raw material, and HAP was extracted by ultrasound-assisted extraction. The extraction process was optimized using single-factor experiments and response surface methodology. The *in vitro* biological activities of HAP were evaluated by radical scavenging, α -glucosidase inhibition, and macrophage assays. 【Results】The optimal extraction conditions were as follows: ultrasonic power, 320 W; solid-to-liquid ratio, 1 : 15.5; extraction temperature, 85.5 °C; and extraction time, 56 min. Under these conditions, the HAP yield was (1.91±0.02)%. At 1 mg/mL, the DPPH and ABTS⁺ radical scavenging rates of HAP were (51.70±2.50)% and (78.51±1.42)%, respectively. At 2 mg/mL, the α -glucosidase inhibition rate of HAP reached (61.99±1.45)%, showing a concentration-dependent effect. At a mass concentration of 25 μ g/mL, HAP inhibited the proliferation of the murine monocyte/macrophage cell line RAW264.7, with a relative cell proliferation rate of (77.28±4.73)%. Interestingly, at this concentration, HAP significantly promoted NO release from RAW264.7, with an NO release of (24.05±1.02) μ mol/L, which was significantly higher than that in the positive control group ((12.52±0.69) μ mol/L), indicating immunosuppression potential. 【Conclusion】HAP exhibits promising *in vitro* antioxidant, hypoglycemic, and immunostimulatory activities in a concentration-dependent manner, suggesting its potential for development as a functional food or nutraceutical/pharmaceutical ingredient.

Key words: *Hexagonia apiaria*; polysaccharide; ultrasound-assisted extraction; process optimization; *in vitro* biological activity

[责任编辑:王晓波 李波]