

附件 2

《巴尔喀什蘑菇子实体多糖提取技术规程》

编制说明

一、任务来源(含目的意义)

巴尔喀什蘑菇(*Agaricus balchaschensis*)在分类学上隶属于真菌界(Fungi)、担子菌门(Basidiomycota), 蘑菇纲(Agaricomycetes), 蘑菇目(Agaricales), 蘑菇科(Agaricaceae), 蘑菇属(*Agaricus*), 又称焉耆黑蘑菇、博湖蘑菇、芦苇蘑菇等, 是新疆特有的野生蘑菇品种。主要生长在博湖县、焉耆县等地内陆湖泊沿岸, 芦苇腐殖质丰富的沙滩上, 常埋于沙层中。菇形大、口感好、香味浓郁, 而且还富有多种维生素和营养成分, 具有抗癌、降血压、降血糖等医疗作用。

目前关于巴尔喀什蘑菇主要集中在野生资源调查和子实体驯化培养方面, 对其营养成分成分以及液体发酵技术的研究较少, 因此也对新疆当地巴尔喀什蘑菇的产业化深入发展有着相当的限制。多糖是食用菌中一类重要的营养功能性成分, 通常具有免疫调节、抗氧化、抗炎、抗肿瘤等生物活性, 但多糖的外观品质和生物活性极易受到提取纯化工艺的影响, 因此合适的脱色、纯化工艺就显得尤为重要。本技术规程旨在建立巴尔喀什蘑菇子实体多糖的提取、纯化工艺技术标准, 为新疆野生巴尔喀什蘑菇的高效开发利用以及推动其产业化纵深发展的提供依据。

与其他同类别技术规程相比，本项目在常规的水提醇沉法提取多糖的基础之上，采用了活性炭和过氧化氢二次脱色，得到了高品相（白色或淡黄色）的多糖产品，在此基础之上通过离子色谱层析进一步纯化得到高纯度多糖，并对其单糖组成进行了解析，为新疆野生巴尔喀什蘑菇资源的开发利用起到重要的支撑作用。

二、起草工作简要过程（含主要参加单位及工作组成员）

根据任务分工，编制小组对巴尔喀什蘑菇多糖的相关资料进行了系统的收集与探讨。通过查阅大量文献、分析现有研究基础，小组发现巴尔喀什蘑菇子实体多糖的提取工艺在多个环节上存在不规范之处，同时当前同类别食用菌多糖提取工艺中存在脱色不完全、纯度较低等问题，亟需进一步优化和标准化。基于此，编制小组结合现行标准体系，经过反复讨论与修改，最终形成了《巴尔喀什蘑菇子实体多糖提取技术规程》报审稿及编制说明。该规程旨在为巴尔喀什蘑菇子实体多糖的提取提供科学、规范的操作指南，确保提取工艺的稳定性与可重复性，为后续研究和应用奠定基础。

表 1 标准主要起草人员信息及任务分工统计表

序号	姓名	性别	职务/职称	工作单位	任务分工
1	努尔孜亚·亚力买买提	女	研究员	新疆维吾尔自治区农业科学院	项目负责人，标准编写
2	贾培松	男	研究员	新疆维吾尔自治区农业科学院	标准资料汇总和编写
3	罗影	女	副研究员	新疆维吾尔自治区农业科学院	标准资料汇总和校正
4	贾文捷	男	农艺师	新疆维吾尔自治区农业科学院	标准资料汇总和编写
5	李煊	男	引进博士	新疆维吾尔自治区农业科学院	提供标准资料

6	朱琦	女	助理研究员	新疆维吾尔自治区农业科学院	标准编写和校正
7	刘汉兵	男	引进博士	新疆维吾尔自治区农业科学院	提供标准资料
8	刘新君	男	研究员	新疆维吾尔自治区农业科学院	标准资料校正
9	田梦	女	研究生博士	新疆农业大学	标准资料校正
10	赵振豪	男	研究生硕士	新疆农业大学	标准资料校正
11	石文婷	女	研究生硕士	新疆农业大学	提供标准资料

三、编写原则和确定标准主要内容的依据

3.1 制定标准的原则

本标准规范了巴尔喀什蘑菇子实体多糖的提取工艺，明确了原料要求、工艺流程、操作要点、质量控制等关键环节，旨在为巴尔喀什蘑菇子实体多糖的规模化生产和质量控制提供技术依据，促进巴尔喀什蘑菇资源的可持续利用和产业健康发展。

3.2 制定标准的依据

新疆维吾尔自治区农业科学院依托国家现代农业产业技术体系“国家食用菌产业技术体系新疆综合试验站（CARS-20）”，国家自然科学基金项目“巴尔喀什蘑菇子实体多糖促进小鼠体内重金属汞代谢排出的研究（32060709）”、“巴尔喀什蘑菇子实体发育期漆酶活性变化及其调控机制研究（3156110452）”等项目的研究结果，验证了该规程相关技术的可靠性和可重复性。

四、技术经济分析论证和预期的经济效益

4.1 巴尔喀什蘑菇子实体多糖提取工艺研究

(1) 巴尔喀什蘑菇子实体多糖提取条件优化

由于多糖在酸碱条件下易降解，本实验采用热水醇沉法提取

巴尔喀什蘑菇子实体中的水溶性多糖，研究提取温度、时间和次数对多糖得率的影响。根据图 1 所示，热水提醇沉法提取巴尔喀什蘑菇粗多糖时，三个因素对粗多糖提取率的影响顺序依次为：提取时间 > 提取温度 > 提取次数。其中，提取时间对粗多糖提取率有极显著影响，提取温度有显著影响，而提取次数的影响不明显。最终确定的最佳提取工艺条件为：提取时间 6 小时、提取温度 60℃、提取次数 2 次，在此条件下粗多糖的提取率达到 15.6%。研究表明，利用热水提醇沉法提取巴尔喀什蘑菇粗多糖的工艺具有可行性，并具备实际应用价值。

（2）巴尔喀什蘑菇子实体多糖活性炭脱色效果

活性炭添加量对多糖脱色影响：在 60℃，pH 值为 4 的条件下，加入不同比例的活性炭，吸附 45 min，脱色结果见图 2-A 所示，活性炭含量从 5%增加到 35%，巴尔喀什蘑菇子实体多糖脱色率从 14.29%增加到 24.57%。活性炭含量 5%至 20%时脱色率差异性不显著，与 25%和 30%含量差异性显著增加。活性炭含量 30%时脱色率最高，35%含量略有下降。

pH 对多糖脱色影响：在 60℃，加入 3.0%活性炭，在不同的 pH 值 2、3、4、5、6 和 7 条件下，吸附 45min，实验结果见图 2-B 所示，pH 值为 2 时，脱色率为 61.87%，pH 值为 3 时，脱色率为 74.07%，达到最高值。随酸度降低脱色率快速降低，当 pH 值为 7 时，脱色率仅为 10.66%，酸性条件下脱色率呈现显著性差异。

温度对多糖脱色影响：pH 值为 3，加入 30%活性炭，分别置于 30℃、40℃、50℃、60℃和 70℃下吸附 30min，实验结果

见图 2-C 所示, 温度 40℃时, 脱色率为 87.537%, 温度 60℃时, 脱色率为 89.42%, 达到最高值。随温度升高脱色率逐步降低。

水浴时间对多糖脱色的影响: pH 值调为 3, 在 60℃条件下, 加入 30%活性炭, 分别吸附 15、30、45、60 min, 实验结果见图 2-D 所示, 温浴时间 15 min, 脱色率为 84.89%, 温浴时间 45 min, 脱色率为 86.14%, 达到最高值。超过 45 min 之后脱色率随温浴时间增加而降低。

(3) 巴尔喀什蘑菇子实体多糖 H_2O_2 脱色效果

H_2O_2 添加量对多糖脱色影响: 水浴 60℃、3 h, pH 值为 9 的条件下, H_2O_2 浓度从 4%增加到 12%, 巴尔喀什蘑菇子实体多糖脱色率从 63.36%增加到 70.57%, H_2O_2 浓度 12%时脱色率最高。

温度对多糖脱色的影响: pH 值为 9, H_2O_2 浓度为 10%的条件下, 50、60、70、80℃水浴 3 h, 随着水浴温度从 50℃升高至 80℃, 多糖的脱色率呈现先升后降的趋势。在 70℃时脱色率达到最高值 77.04%, 而当温度进一步升高时, 脱色率均有所下降, 其中 50℃时脱色率为 68.52%, 80℃时则降至 67.04%。

水浴时间对多糖脱色的影响: pH 值为 9, H_2O_2 浓度 10%的条件下, 0.5 h、1 h、2 h、3 h 水浴 60℃, 随着水浴时间从 0.5 h 增加到 3 h, 脱色率从 50.37%上升至 70.74%, 水浴时间 3 h 时, 脱色率最高。

H_2O_2 脱色最佳条件为: H_2O_2 为 10%、温度为 70℃、水浴时间为 3 h、在 pH 为 9 条件下, 脱色率最高为 77.04%, 不同脱色方法的脱色效果存在明显差异(详见表 2)。

(4) 活性炭和 H_2O_2 交互作用对多糖脱色的影响

据上述结果,可知活性炭含量在 25-35%、时间在 35-55 min、温度在 50-70℃条件下,或 H₂O₂ 浓度在 8-12%、时间在 60-180 min 和温度在 50-70℃条件下,均能达到较高的多糖脱色率,为了确定取活性炭含量和 H₂O₂ 浓度的最终脱色效果,按照 L9(34)设计进行正交实验,以确定活性炭和 H₂O₂ 浓度脱色影响因素及水平。表 3 显示活性炭脱色法各因素对巴尔喀什蘑菇多糖脱色影响的主次顺序为温度>pH 值>时间>活性炭加量;最优水平为脱色温度 60℃、脱色时间 45 min、活性炭加量 25%、pH=3,此条件下巴尔喀什蘑菇粗多糖脱色率最高(80.4%,表 3)。H₂O₂ 脱色法各因素对巴尔喀什蘑菇多糖脱色影响的主次顺序为时间>温度>H₂O₂ 加量>pH;最优水平为脱色温度 60℃、脱色时间 180 min、H₂O₂ 加量 10%、pH=9。此条件下巴尔喀什蘑菇粗多糖脱色率最高 86.23% (详见表 4)。

(5) 巴尔喀什蘑菇子实体多糖纯化

为了获得纯度高且均一的巴尔喀什蘑菇多糖,收集的粗多糖通过 DEAE seplife FF 柱层析纯化。上样后使用不同浓度的 NaCl 洗脱液进行洗脱。其中,0.1 M NaCl 洗脱部分因含有高纯度多糖而被保留,冻干后获得了高纯度的巴尔喀什蘑菇多糖。

实验结果显示,粗多糖经离子交换层析得到两个峰(见图 3),洗脱液 30-40 管合并为峰 1,含糖 1095.8 mg,纯度 46.39%;41-50 管合并为峰 2,含糖 295.8 mg,纯度 43.27%,总收率: 68.34%。

(6) 巴尔喀什蘑菇子实体多糖单糖组成分析

纯化的巴尔喀什蘑菇子实体多糖经离子色谱分离和标准品定量分析,确定了其单糖组成。根据图 4 的结果,巴尔喀什蘑菇

子实体多糖的主要单糖成分包括葡萄糖、半乳糖、葡萄糖醛酸和甘露糖醛酸。其中，葡萄糖含量最高，占 52.54%，其次是半乳糖（21.47%）和葡萄糖醛酸（16.26%）。葡萄糖、半乳糖和葡萄糖醛酸的摩尔比为 1:0.63:0.42。此外，还检测到三种糖醛酸（半乳糖醛酸、古罗糖醛酸和甘露糖醛酸），总占比为 17.27%。

4.2 巴尔喀什蘑菇子实体多糖提取工艺经济分析

本项提取工艺采用水提醇沉法结合活性炭、过氧化氢二次脱色制备粗多糖，后续采用离子柱层析纯化制备多糖。工艺过程中主要成本来源于大量乙醇溶剂，但考虑乙醇本身的性质以及本工艺流程中不存在其他溶剂污染，可通过蒸馏进行乙醇溶剂回收循环利用，可极大的减少本项工艺的成本，其他的成本原料如活性炭成本低、过氧化氢用量少、填料可再生均对本技术不构成经济条件方面的限制，因此本项技术在经济上具备可行性。此外工艺过程中技术手段、方法、设备均可实现工业化生产放大，适用于工业化生产。

4.3 预期的经济效益

本标准的制定与实施为巴尔喀什蘑菇子实体多糖及其衍生产品的精深加工建立了规范化技术框架，通过规范生产工艺流程和质量控制指标，将有效提升产品的一致性与稳定性。标准实施后，基于该多糖原料开发的保健食品、医药辅料及化妆品添加剂等系列产品的技术指标将得到显著优化，预计可使相关产品年产值提升 40-50 万元。

五、采用国际标准和国外先进标准情况及水平对比

无

六、与现行法律、法规、政策及相关标准的协调性

本标准引用了 GB/T 12728-2006 《食用菌术语》、GB 7096-2014 《食品安全国家标准 食用菌及其制品》、NY/T 1676-2008 《食用菌中多糖的测定》、GB 5009.3-2016 《食品安全国家标准 食品中水分的测定》、GB 5749-2022 《生活饮用水卫生要求》、GB 31640-2016 《食品安全国家标准 食用酒精》的通用专业术语与部分原理。本标准与现行法律法规无任何冲突。

七、贯彻实施标准的措施和建议

(1) 充分认识实施本规范对巴尔喀什蘑菇子实体多糖提取工艺的重要指导意义。

(2) 加强宣传和培训力度，利用各种形式，对规范进行有计划、有步骤地组织讲解和培训，全面掌握、准确应用好规范，使其发挥出应有的规范作用。

(3) 检查监督本规范的实施情况，认真解决实施过程中发现的问题，全面评估实施后规范的作用和效益，以便于对本文件进行及时修订和完善。

八、其它应予说明的事项

无

附表、附图

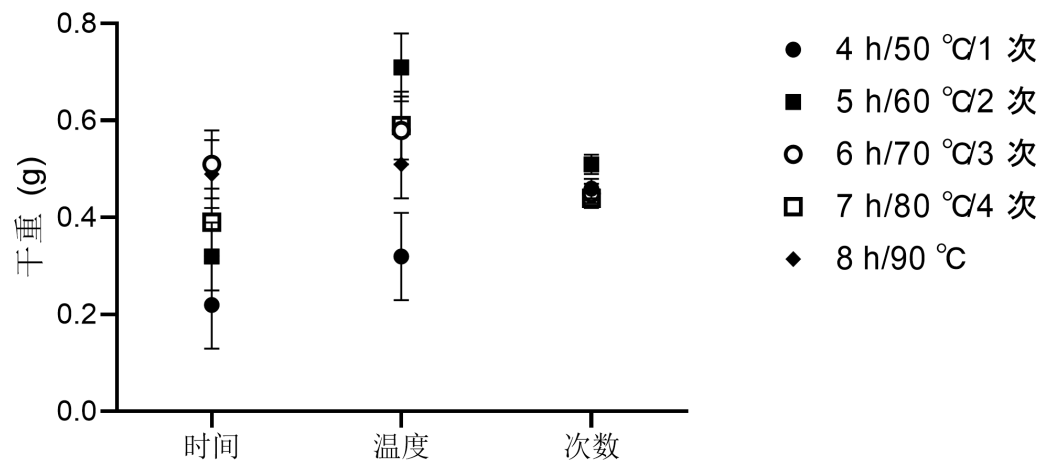


图 1 不同时间、温度和提取次数下的巴尔喀什蘑菇子实体多糖干重

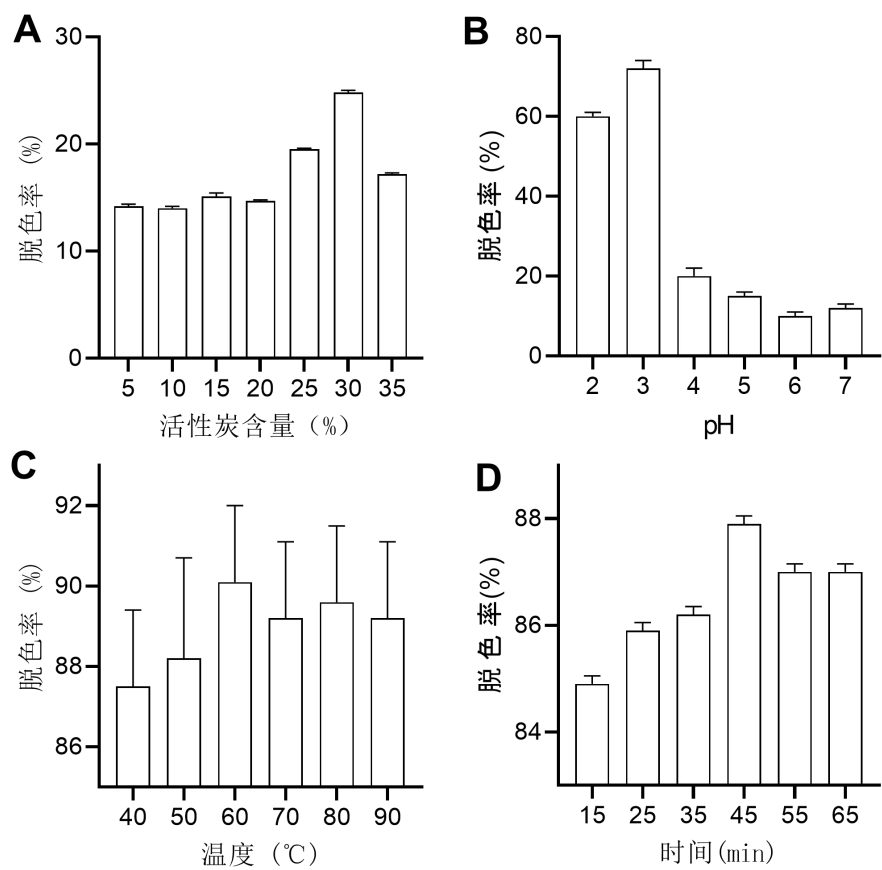


图 2 活性炭(A)、pH(B)、温度(C)和温浴时间 (D)对子实体多糖脱色效率的影响

表 2 H₂O₂ 溶液下同浓度、温度、时间对多糖脱色效率的影响

温度 (°C)	浓度 (%)	脱色率 (%)			
		0.5h	1h	2h	3h
50	4	26.72	28.63	32.86	61.07
60	4	41.22	53.48	57.26	63.36
70	4	45.81	57.64	59.54	69.08
80	4	33.97	38.57	46.56	57.25
50	6	28.97	37.17	45.72	60.97
60	6	47.96	57.62	60.59	67.29
70	6	59.85	62.83	65.43	72.49
80	6	39.45	44.69	52.04	63.57
50	8	27.59	35.63	48.28	61.3
60	8	50.57	54.41	65.13	65.52
70	8	60.92	64.37	67.05	73.18
80	8	39.85	45.98	54.41	65.13
50	10	35.56	43.33	52.96	68.52
60	10	50.37	54.44	61.85	70.74
70	10	59.26	65.56	71.11	77.04
80	10	43.33	50.74	61.11	67.04
50	12	33.96	43.02	51.32	68.3
60	12	54.72	62.26	67.55	70.57
70	12	60.38	68.68	70.57	76.98
80	12	44.15	51.32	58.87	67.92

表 3 活性炭和 H₂O₂ 脱色正交试验水平因素

	含量 (%)	时间 (min)	温度 (°C)	pH
活性炭	25	35	50	2
	30	45	60	3
	35	55	70	4
H ₂ O ₂ 浓度	8	60	50	9
	10	120	60	10
	12	180	70	11

表 4 活性炭和 H₂O₂ 脱色正交试验结果

	序号	含量 (%)	时间 (min)	温度 (°C)	pH	脱色率(%)
活性炭	1	1	1	1	1	72.23
	2	1	2	2	2	88.17
	3	1	3	3	3	53.4
	4	2	1	2	3	70.65
	5	2	2	3	1	48.21
	6	2	3	1	2	66.31
	7	3	1	3	2	51.97

	8	3	2	1	3	74.19
	9	3	3	2	1	50.71
	K1	62.65	58.93	64.89	51.03	
	K2	61.72	67.6	67.25	66.23	
	K3	58.95	58.81	51.19	66.08	
	R	3.7	8.79	16.06	15.2	
H ₂ O ₂	1	1	1	1	1	63.83
	2	1	2	2	2	78.05
	3	1	3	3	3	79.5
	4	2	1	2	3	70.36
	5	2	2	3	1	81.09
	6	2	3	1	2	86.23
	7	3	1	3	2	63.32
	8	3	2	1	3	76.89
	9	3	3	2	1	76.59
	K1	73.93	65.84	75.65	74.84	
	K2	79.23	78.69	75	75.87	
	K3	72.27	81.11	74.64	75.58	
	R	6.96	15.27	1.01	1.03	

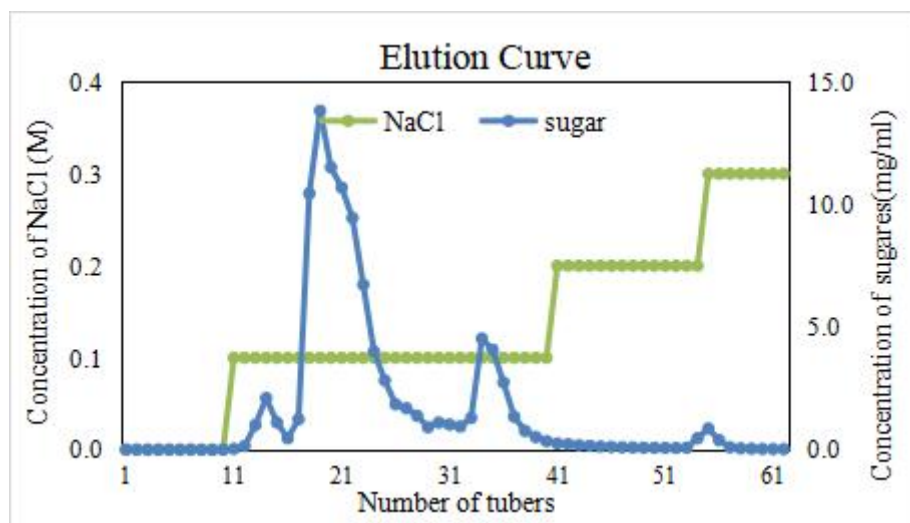


图 3 离子纯化多糖洗脱图

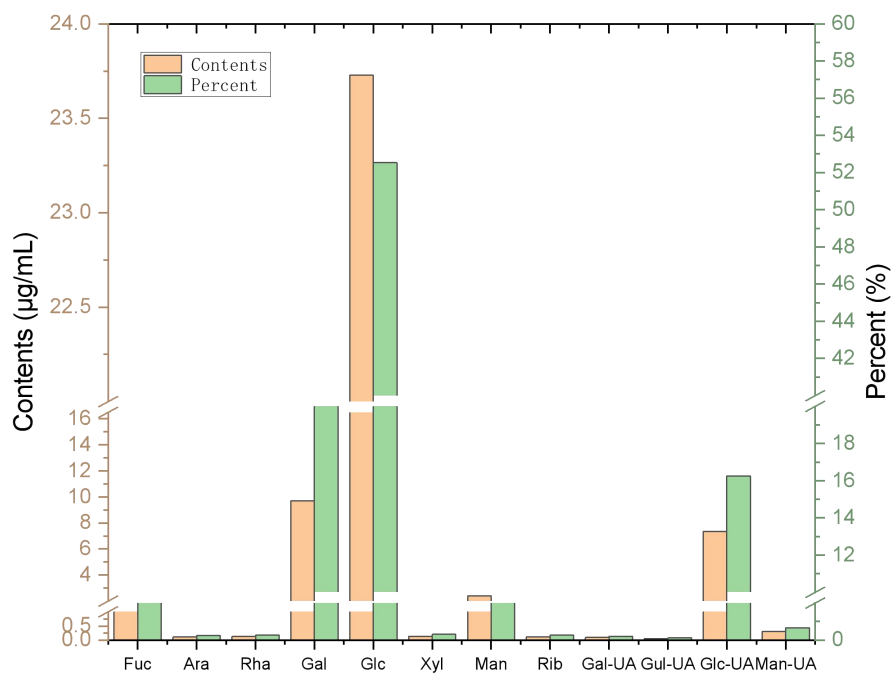


图 4 巴尔喀什蘑菇子实体多糖单糖组成分析

Fuc, 岩藻糖; Ara, 阿拉伯糖; Rha, 鼠李糖; Gal, 半乳糖; Glc, 葡萄糖; Xyl, 木糖; Man, 甘露醇; Rib, 核糖; Gal-UA, 半乳糖醛酸; Gul-UA, 古罗糖醛酸; Glc-UA, 葡萄糖醛酸; Man-UA, 甘露糖醛酸。