

基于高能电子束辐照人工栽培灵芝多糖的结构分析及其抗运动疲劳活性

肖东林¹, 王蓉², 王怀虎³, 魏玉琴^{3*}

(1. 西安石油大学体育学院, 陕西西安 710065) (2. 西安石油大学化工学院, 陕西西安 710065)

(3. 天水师范学院体育运动与健康学院, 甘肃天水 741001)

摘要: 研究高能电子束辐照对人工栽培灵芝多糖 (GLP) 理化性质的影响及其抗运动疲劳活性。GLP 通过水提醇沉法提取, 并通过离子交换层析和分子排阻色谱纯化。采用不同剂量的高能电子束辐照处理 GLP, 并利用扫描电镜和红外光谱进行理化性质表征。通过负重游泳构建运动疲劳大鼠模型, 灌胃 GLP, 验证其抗运动疲劳效果。结果显示: GLP 重均分子量 1.87×10^6 u, 平均粒径 779.42 nm, 异头碳为 β 构型。随着辐照剂量增加, GLP 分子量和粒径先增大后减小, 表现出先交联后解聚的变化。20 kGy 辐照处理的 GLP 显著提高了疲劳大鼠的肝糖原含量 (增加 31.37%) 和肌糖原含量 (增加 52.94%), 同时降低了尿素氮含量 (降低 41.67%) 和血清乳酸含量 (降低 43.75%)。此外, 辐照处理后的 GLP 能够增强大鼠线粒体内源性抗氧化酶活性并减少丙二醛积累。与阳性对照 (红景天苷) 相比, 20 kGy 辐照处理的 GLP 表现出更好的抗疲劳效果。因此, 适宜剂量的高能电子束辐照是一种改性 GLP 的理想方法。

关键词: 灵芝; 多糖; 结构分析; 高能电子束辐照; 抗运动疲劳

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.9.0889

Structural Analysis and Anti-Fatigue Activity of Polysaccharides from *Ganodema lingzhi* Irradiated by High-Energy Electron Beams

XIAO Donglin¹, WANG Rong², WANG Huaihu³, WEI Yuqin^{3*}

(1.College of Physical Education, Xi'an Shiyou University, Xi'an 710065, China)

(2.College of Chemical Engineering, Xi'an Shiyou University, Xi'an 710065, China)

(3.PE Department of Tianshui School of Sport and Health, Tianshui 741001, China)

Abstract: The effects of high-energy electron beam irradiation on the physicochemical properties and anti-fatigue activity of polysaccharides from cultivated *Ganodema lingzhi* (GLP) were investigated. GLP was extracted using the water extraction and alcohol precipitation method, and was then purified through ion exchange chromatography and gel filtration chromatography. Different doses of high-energy electron beam irradiation were applied to the GLP, and its physicochemical properties were characterized using scanning electron microscopy and infrared spectroscopy. A weight-loaded swimming model was used to induce exercise fatigue in rats, which were then administered GLP via gavage to verify its anti-fatigue effects. The results showed that the weight-average molecular weight of GLP was 1.87×10^6 u, with an average particle size of 779.42 nm, and the anomeric carbon was in the β -configuration. As the irradiation dose increased, the molecular weight and particle size of GLP initially increased and then decreased, indicating a transition from cross-linking to depolymerization. GLP treated with 20 kGy irradiation was found to significantly increase liver glycogen content (by 31.37%) and muscle glycogen content (by 52.94%) in fatigued rats, while blood urea nitrogen content was reduced (by 41.67%) and serum lactic acid content was lowered (by 43.75%). Additionally, the irradiated GLP was shown to enhance the activity of endogenous antioxidant enzymes in rat mitochondria and reduce malondialdehyde accumulation. Compared to the positive control (*rhodiola rosea* glycoside), GLP treated with 20 kGy irradiation demonstrated superior anti-fatigue effects. Therefore, an appropriate dose of high-energy electron beam irradiation was deemed an

收稿日期: 2024-06-24; 修回日期: 2024-08-28; 接受日期: 2024-08-29

基金项目: 陕西省教育厅专项科研计划项目 (22JK0148); 陕西省高等教育教学改革研究项目 (23ZY016); 西安石油大学校级教育教学改革研究项目 (JGQZ202303); 天水师范学院科研创新基金专项 (CXJ2023-09)

作者简介: 肖东林 (1991-), 男, 硕士, 讲师, 研究方向: 体育教学与运动营养学, E-mail: 812616100@qq.com

通讯作者: 魏玉琴 (1970-), 女, 硕士, 副教授, 研究方向: 体育教学与运动营养学, E-mail: 403133671@qq.com

ideal method for modifying GLP.

Key words: *Ganoderma lingzhi*; Polysaccharide; Structural analysis; High-energy electron beam irradiation; Anti-fatigue activity

多糖是真菌中最具代表性的功效成分之一,具备抗氧化、抗肿瘤、免疫调节、神经保护等活性^[1,2]。结构多样的多糖已从众多不同种类的真菌中分离并鉴定。羊肚菌(*Morchella esculenta*)多糖是一种含有 β 糖苷键的吡喃糖,通过1 \rightarrow 3,1 \rightarrow 6连接,分子量接近45 ku^[3]。松茸(*Tricholoma matsutake*)多糖是一种由 β -1,6-吡喃型葡萄糖构成的无支链多糖,分子量372 ku^[4]。香菇(*Lentinus edodes*)多糖以 β -1,6-D-葡萄糖为主链, β -1,3-D-葡萄糖为支链,分子量90 ku^[5]。由此可知,活性真菌多糖多具备 β 构型异头碳,且分子量大。高分子量能够支撑多糖具备复杂的高级结构,从而实现复杂的生物学功能。但是,高分子量也会造成多糖黏度高,水溶性差,从而难以被人体吸收。已有研究证明,低分子量的物质更容易被人体吸收从而发挥生理活性^[6,7]。因此,如何通过理化方法改性多糖,提高其生理活性,是一个值得研究的问题。

多糖改性最常见的是化学方法,但是化学方法往往伴随着环境污染,反应复杂^[8]。物理修饰通常采用辐照方法,具备快捷、环保的优点^[9]。高能电子加速器在食品领域应用广泛,其主要功能包括杀灭病原微生物、延长食品保质期、抑制食品中有害虫的繁殖和控制食品成熟过程^[10]。与传统的⁶⁰Co辐照装置相比,高能电子加速器因其辐照效率高,加工速度快的特点而广受关注^[11]。

运动型疲劳(Exercise-Induced Fatigue, EIF)通常定义为机体长时间或剧烈运动后机能下降,且无法维持原来的运动强度的现象^[12]。EIF通常伴随着代谢产物积累,机体会产生大量的活性氧(Reactive oxygen species, ROS)和炎症因子,ROS介导的氧化压力产生氧化损伤,与心血管疾病、肿瘤的发生密切相关^[13]。长时间的EIF状态,会对肝脏、心脏等器官产生严重的危害。因此,从缓解氧化压力入手,能够有效缓解EIF对机体的损伤。灵芝(*Ganoderma spp.*)是我国广受赞誉的食药两用真菌,扶正固本,强身健体是其最有代表性的功效^[14]。灵芝多糖具备抗肿瘤、免疫强化的作用。我国灵芝人工栽培产业发展迅速,目前确认,不同于大量研究的赤芝(*Ganoderma lucidum*),中国大面积栽培的灵芝是我国特有的品种,定名为*Ganoderma lingzhi*,其生理活性有待论证^[15]。

基于以上分析,本文采用水提醇沉法提取人工栽培灵芝的多糖,通过离子交换树脂和分子排阻色谱纯化。通过不同剂量的高能电子束辐照灵芝多糖,采用扫描电镜(Scanning Electron Microscope, SEM)、高效凝胶渗透色谱法(High Performance Gel Permeation Chromatography, HPGPC)及傅里叶红外光谱仪(Fourier Transform Infrared Spectrometer, FT-IR)比较辐照多糖的理化性质。构建负重力竭游泳大鼠模型,测定肝糖原、血清乳酸等生理生化指标,评价辐照多糖对大鼠运动疲劳的缓解作用并探索作用机理。研究结果可为辐照法多糖改性提供理论支撑,拓宽了高能电子束辐照技术在真菌多糖改性增效上的应用范围。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

人工栽培灵芝(*G. lingzhi*)的子实体,购买自四川省农业科学院食用菌研究所。新鲜灵芝子实体用切片机切片,置于37℃烘箱中48 h,烘干至恒重。SD大鼠(生产许可证号为SCXK(四川)2015-030),购自成都达硕实验动物有限公司(中国),动物伦理批准号XSYU2024-017。常规鼠饲料,购自北京华阜康生物科技股份有限公司(中国),并符合国家标准(GB14925-2010)。

DEAE-52离子交换树脂、Sephadex G-100凝胶填料,购买自美国GE Healthcare公司。色谱级试剂(三氯乙酸、PMP衍生剂、乙腈、甲醇),购买自中国京科瑞达科技有限公司。内源性抗氧化酶(过氧化氢酶Catalase, CAT、超氧化物歧化酶Superoxide Dismutase, SOD、谷胱甘肽过氧化物酶Glutathione Peroxidase, GSH-Px)活性测定试剂盒,购买自中国碧云天生物科技公司。大鼠生化指标(血尿素氮Blood Urea Nitrogen, BUN、肌糖原Muscle Glycogen, MG、血乳酸Blood Lactate, BLA、肝糖原Hepatic Glycogen, HG)测定试剂盒,购买自中国南京建成生物工程研究所。本研究中用到的其余试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

HBS-1096A酶标仪,中国良谊仪器;Zetasizer Nano ZS90 zeta电位分析仪,英国Malvern公司;Sorvall ST8

台式高速离心机, 美国 Thermo 公司; AdVantage Pro 真空冷冻干燥机, 美国 VirTis 公司; ChemiDoc MP 凝胶成像仪, 美国 Bio-Rad 公司; R-300 旋转蒸发仪, 德国 Büchi 公司; IX73 荧光倒置显微镜, 日本 Olympus 公司; CCR-1 傅里叶变换红外光谱, 美国 Thermo 公司; JA303P 电子分析天平, 中国常州幸运电子设备公司。

1.3 灵芝多糖的提取纯化

人工栽培灵芝的多糖提取采用水提醇沉法完成。取干燥的人工栽培灵芝 (*G. lingzhi*) 的子实体切片 200 g, 中药材粉碎机粉碎, 过 100 目筛, 收集灵芝粉末。灵芝粉末用 5 L 无水乙醇浸泡 24 h, 离心后收集粉末, 37 °C 烘箱烘干。干燥子实体粉末加入 5 L 蒸馏水, 保持 95 °C 水浴 6 h, 期间每隔 30 min 用玻璃棒搅拌。离心收集上清液, 采用真空旋转蒸发仪浓缩上清液, 最终体积 100 mL。在 100 mL 浓缩液中加入 5 L 无水乙醇, 静置 12 h 后, 离心, 收集沉淀。沉淀即为人工栽培灵芝粗多糖提取物。

人工栽培灵芝粗多糖提取物溶于 1 L 蒸馏水, 加入体积分数为 10% 的 Sevag 试剂 (氯仿-正丁醇=4:1), 剧烈振荡 30 min 以去除蛋白质。混合液体 4 000 r/min 离心 10 min, 收集上清液, 向上清液中加入 3 倍体积的无水乙醇, 静置 12 h, 离心, 收集沉淀。沉淀即为人工栽培灵芝粗多糖。

称取 10 g 人工栽培灵芝粗多糖, 加入蒸馏水, 配制成质量浓度为 10 mg/mL 的多糖溶液。采用离子交换柱和分子筛柱逐级分离。其中, 离子交换柱用纯水和不同浓度的 NaCl 溶液洗脱, 分子筛柱采用蒸馏水洗脱, 流速设定为 0.8 mL/min。通过苯酚硫酸法测定多糖浓度。最终计算出人工栽培灵芝精多糖 (Polysaccharide Isolated From the Fruiting Bodies of *G. lingzhi*, GLP) 的得率。

1.4 人工栽培灵芝多糖的成分测定

以人工栽培灵芝粗多糖和精多糖 (GLP) 作为样品, 采用苯酚-硫酸法测定其多糖的含量^[16], 样品中的蛋白质含量采用考马斯亮蓝法测定^[17], 糖醛酸含量的测定采用间羟基联苯法^[18], 样品中硫酸根的含量采用硫酸钡比浊法测定^[19]。

1.5 人工栽培灵芝精多糖的辐照处理

称取 GLP 1 g, 用蒸馏水配制成质量浓度为 10 mg/mL 的 GLP 水溶液, 将水溶液加入密封管中, 使用 VF ProAcc 10/20 高能电子加速器进行精多糖的辐照处理, 高能电子加速器的能量为 10 MeV, 束流强度为 1.5 mA, 最大束流功率设定为 20 kW, 束流重复率 260/s。最终保证辐照的总剂量分别为 2、20 和 40 kGy, 不同剂量辐照后的 GLP 分别命名为 RGLP-1、RGLP-2 和 RGLP-3。

1.6 人工栽培灵芝精多糖与辐照多糖的理化性质

1.6.1 形貌观察

使用扫描电子显微镜 (SEM) 观察多糖的形貌。将样品固定在 SEM 支架上, 并在真空条件下使用英国 Q150R Plus 溅射镀膜机进行金溅射镀膜, 然后使用日本 JSM-7500F SEM 进行显微观察。样品在 15.0 kV 加速电压下进行检查, 并在 $\times 4\ 000$ 倍放大倍率下拍摄多糖的代表性显微照片。

1.6.2 傅里叶变换红外光谱 (FTIR) 测定

按照质量比 1:100 的比例将多糖与 KBr 均匀混合后压制成片进行测量。使用 KBr 作为空白进行校准, 并在 400~4 000 cm^{-1} 范围内记录光谱 (Nicolet 6700, 美国 Thermo Electron Corporation)。

1.6.3 分子量测定

本研究采用高效凝胶渗透色谱 (HPGPC) 分析来测定辐照多糖的平均分子量。将多糖样品配制成质量浓度为 5 mg/mL 的溶液, 并用 0.45 μm 滤膜过滤。进样体积为 20 μL , 流动相为 1 wt.% Na_2SO_4 纯水溶液, 流速为 0.6 mL/min。柱温设定为 37 °C。使用标准的 T 系列葡聚糖 (T-10、T-40、T-70、T-110 和 T-500) 来获得校准曲线, 校准曲线如图 1 所示。

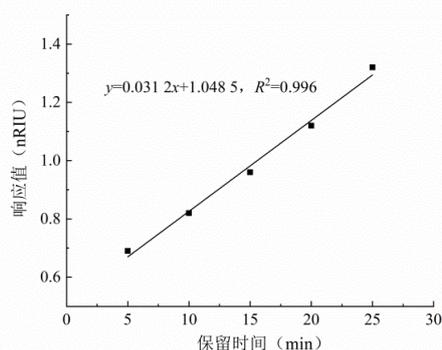


图1 T系列葡聚糖校准曲线

Fig.1 Calibration Curve of T-series Dextran

1.6.4 粒径测定

将多糖样品配置成质量浓度为 100 mg/mL 的溶液, 通过纳米粒度电位仪测定多糖样品的粒径。测定在室温条件下进行。

1.6.5 热稳定性测试

精确称量 GLP (10 mg) 并放入坩锅中。温度范围设定为 30~650 °C, 线性升温速率为 5 °C/min。样品室内 N₂ 的流速为 20 mL/min。在上述条件下, 通过热重分析 (TG) 和差示热重分析 (DTG) 对多糖样品进行分析 (TGA/DSC2, 捷克 Mettler Toledo)。

1.7 运动疲劳大鼠模型建立及生理生化指标测定

取 56 只大鼠 (体重 120±25 g) 随机分成 7 组, 每组 8 只, 分别设置为安静对照组 (Q-CG), 阳性对照组 (红景天苷)、运动疲劳对照组 (E-CG)、多糖组 (GLP) 以及辐照多糖组 (RGLP-1、RGLP-2、RGLP-3)。药物处理设计如下: Q-CG 组、E-CG 组每天灌胃生理盐水, 阳性对照组每天灌胃剂量为红景天苷 100 mg/kg, 多糖组则为不同处理的多糖 100 mg/kg。Q-CG 组不进行运动, 其余组每天进行游泳训练。每天灌胃后, 大鼠休息 1 h, 之后在大鼠尾部绑上体重 5% 的铅块, 进行大鼠力竭游泳测试, 测试结束后继续喂养大鼠。建模时间持续 5 周, 每周训练 6 d, 时间为周一至周六, 周日休息, 建立大鼠运动疲劳模型。

大鼠运动疲劳模型构建后, 进行最后一次负重游泳训练, 大鼠休息 1 h, 测定大鼠体重。之后采用麻醉处死大鼠。注射器采血, 血液离心后收集上清液, 保存于冻存管。此外, 收集大鼠的肝脏、肾脏和骨骼肌。肝脏和肾脏称重, 进行脏器系数分析。样本通过 4 °C 预冷的生理盐水冲洗干净后, 捣碎并保存于冻存管, -80 °C 冰箱保存冻存管。采用试剂盒提供的方法测定大鼠的血清中 BUN、BLA 的含量, 大鼠骨骼肌 MG 和肝脏中 HG 含量。采用试剂盒提供的方法测定大鼠血清中天门冬氨酸转氨酶 (Aspartate Aminotransferase, AST) 和丙氨酸转氨酶 (Alanine Aminotransferase, ALT) 的含量。采用试剂盒提取大鼠骨骼肌中的线粒体, 按照试剂盒说明书要求, 测定骨骼肌线粒体中的 MDA 含量, 进一步测定内源性抗氧化酶系活力, 包括 SOD、CAT 和 GSH-Px 的活性。

1.8 数据处理与分析

本研究中, 所有实验数据采用平均值±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 数据采用 SPSS 19.0 软件分析。多组均数比较采用 ANOVA 检验, $P < 0.05$ 视为显著性差异。

2 结果与分析

2.1 人工栽培灵芝精多糖 (GLP) 的分离提取

200 g 人工栽培灵芝的干燥子实体切片采用水提醇沉法, 获得沉淀 33.54 g, 即为人工栽培灵芝粗多糖提取物。33.54 g 粗多糖提取物经过 Sevag 试剂除尽蛋白后, 获得人工栽培灵芝粗多糖 21.29 g。

将人工栽培灵芝粗多糖上样于离子交换柱和分子筛柱, 进行进一步的纯化。通过 DEAE-52 离子交换柱洗脱, 可以获得 3 个组分, 如图 2A 所示, A、B、C 这 3 个组分对应的洗脱液分别是蒸馏水, 以及质量浓度为 0.1 mol/L

和 0.3 mol/L 的 NaCl 溶液。其中 B 组分含量最多，收集 B 组分，上样于分子筛柱，用蒸馏水洗脱，可获得 2 个组分（图 2B）。选择 A 组分收集，命名为 GLP。21.29 g 粗多糖经过离子交换柱和分子筛柱的纯化，获得人工栽培灵芝精多糖（GLP）共计 1.96 g，因此，GLP 的得率为 0.98%。

熊川等^[14]选用人工栽培灵芝（*G. lingzhi*）进行了多糖的分离纯化，其报道浓度为 0.5 mol/L NaCl 溶液洗脱，Sephadex G-100 纯化，多糖得率为 1.14%，略高于本研究。此外，有关报道确认，经 NaCl 溶液洗脱所得多糖通常为酸性多糖^[16]，本研究中，GLP 的洗脱液是浓度为 0.1 mol/L 的 NaCl 溶液，可推测获得的 GLP 同样是一种酸性多糖。

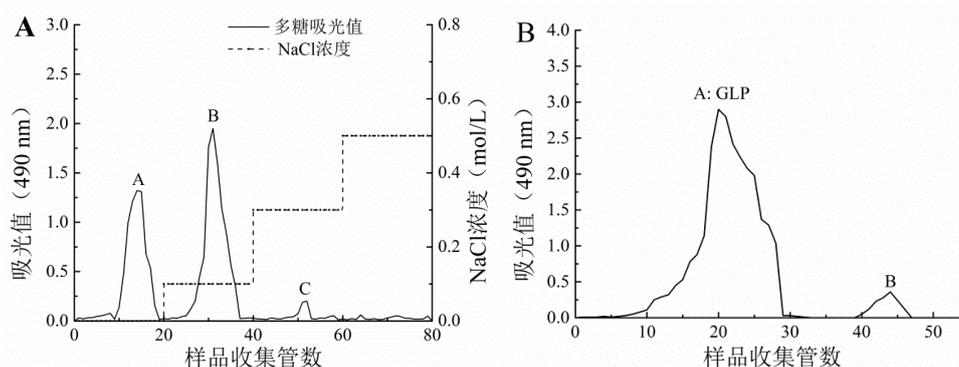


图 2 人工栽培灵芝多糖的分离和纯化

Fig.2 Separation and Purification of Polysaccharides isolated from the fruiting bodies of *G. lingzhi*

注：A.离子交换柱洗脱曲线；B.分子筛柱洗脱曲线。

2.2 人工栽培灵芝精多糖（GLP）的成分分析

分别配制不同浓度葡萄糖、葡萄糖醛酸、蛋白质以及硫酸基标准溶液，通过分光光度计测定不同浓度标准溶液的吸光值，进一步绘制标准曲线。最终测得总糖含量的线性回归方程为 $y=1.134\ 52x+0.042\ 34$, $R^2=0.992\ 14$ ；糖醛酸含量的线性回归方程为 $y=0.052\ 41x+0.003\ 49$, $R^2=0.991\ 21$ ；蛋白质含量的线性回归方程为 $y=0.021\ 65x+0.003\ 28$, $R^2=0.990\ 12$ ，硫酸基含量的线性回归方程为 $y=0.004\ 71x+0.002\ 35$, $R^2=0.992\ 25$ 。人工栽培灵芝粗多糖和 GLP 的含量组成见表 1。由表 1 的数据可知，采用水提醇沉法获得的人工栽培灵芝粗多糖中，含有蛋白质、糖醛酸和硫酸基，且蛋白质的含量较高。经过阴离子交换柱和分子筛柱纯化后，GLP 中的多糖含量显著提升，蛋白质和硫酸基含量显著下降，且未检测到糖醛酸。GLP 是浓度为 0.1 mol/L 的 NaCl 洗脱而得，其成分中含有硫酸基，证明 GLP 是一种酸性多糖。

表 1 GLP 中总糖、蛋白质、糖醛酸、硫酸根含量（%）

Table 1 Contents of total sugar, protein, uronic acid and sulfate in GFP and GFP-A1 samples (%)

样品	总糖含量	蛋白质含量	糖醛酸含量	硫酸基含量
粗多糖	60.89±4.92	11.16±1.13	2.89±0.38	8.67±0.59
GLP	91.17±5.08	1.14±0.26	0	4.62±0.36

2.3 高能电子束辐照对 GLP 理化性质的影响

2.3.1 高能电子束辐照改变 GLP 形貌

通过 SEM 观察，GLP 呈现不规则的片状结构（图 3A）。低剂量高能电子束辐照后，GLP 的单一片状结构的面积减小（图 3B）。随着辐照剂量的增加，片状结构表面的粗糙度有所增加，片状结构的面积继续减小（图 3C、D）。

辐照处理作为一种重要的物理改性手段，已广泛应用于多糖类物质的结构和功能研究。本研究中发现，辐照处理后，真菌多糖的表面形貌发生显著变化，表现为表面粗糙度增加和颗粒尺寸减小。已有学者报道，辐照淀粉^[17]、辐照海藻多糖^[18]等，也出现了类似的变化趋势。低剂量的 γ 射线辐照后，淀粉中的糖单元发生了交联，表现出一种相对致密的网状结构，疏水性进一步增加。随着辐照剂量的进一步加大，网状结构开始解聚，观察到微

观裂纹和孔洞,并在局部出现细小颗粒状的聚合。基于以上分析可以推测, GLP 形貌变化可能是由于辐照引起的多糖分子链交联和断裂作用所致。

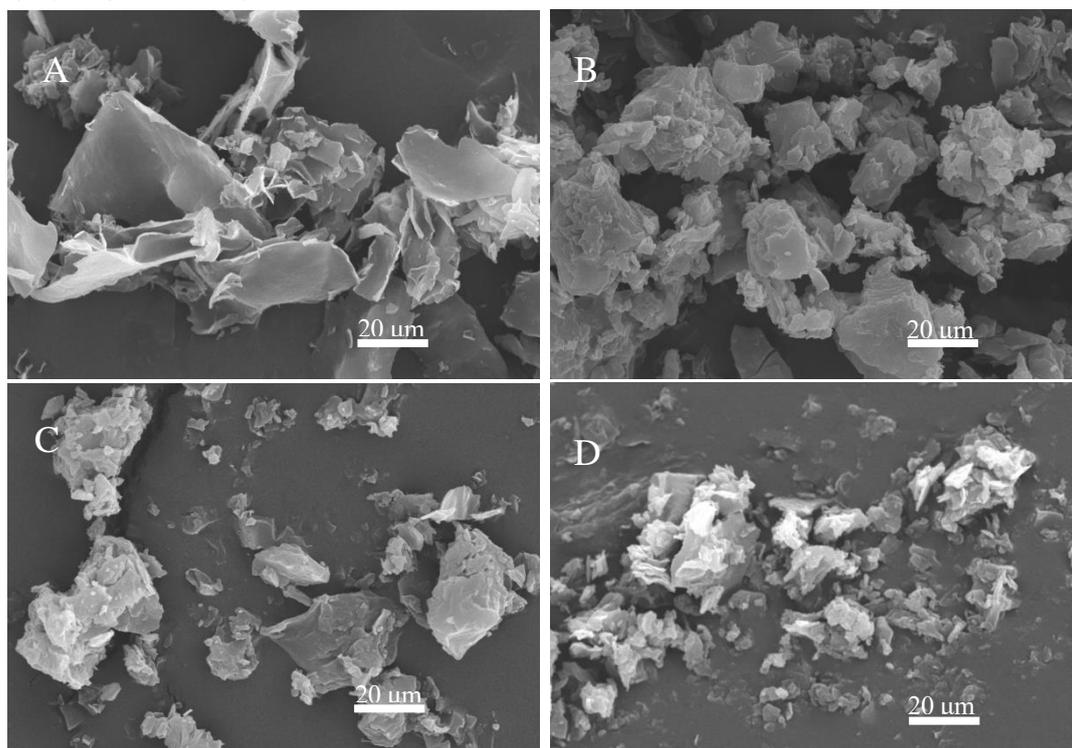


图3 GLP 和 RGLPs 的扫描电镜图

Fig.3 Scanning electron microscopy of GLP and RGLPs

注: A 为 GLP 的 SEM 扫描电镜图; B-D 依次代表 RGLP-1、RGLP-2 和 RGLP-3 的 SEM 扫描电镜图。放大倍率皆为 4 000 倍, 图片中标尺代表 20 μm 。

2.3.2 高能电子束辐照影响 GLP 分子量和粒径

采用高效凝胶渗透色谱 (HPGPC) 分析来测定辐照多糖的平均分子量, 使用标准的 T 系列葡聚糖 (T-10、T-40、T-70、T-110 和 T-500) 来获得校准曲线。GLP 和 RGLPs 的分子量和粒径如表 2 所示, GLP 的分子量和粒径伴随辐照剂量的增加, 呈现出先增大后减小的趋势。RGLP-1 对应的高能电子束辐照剂量为 2 kGy, 这个辐照剂量使得 GLP 的分子量和粒径都增大, 且与 GLP 呈现显著性差异。剂量进一步增大, 达到 20 kGy 时 (RGLP-2), 分子量和粒径减小, 显著低于 GLP。但随着辐照剂量的进一步增大, 分子量和粒径略有下降, RGLP-2 和 RGLP-3 之间未见显著性差异。

表 2 GLP 和 RGLPs 的分子量及粒径

Table 2 Molecular weight and particle size of GLP and RGLPs			
样品	重均分子量/(Mw, U)	数均分子量/(Mn, U)	粒径/nm
GLP	$(1.87 \pm 0.07) \times 10^{6b}$	$(1.69 \pm 0.02) \times 10^{6b}$	779.42 ± 23.31^b
RGLP-1	$(2.13 \pm 0.04) \times 10^{6a}$	$(2.34 \pm 0.05) \times 10^{6a}$	809.32 ± 19.96^a
RGLP-2	$(1.18 \pm 0.09) \times 10^{5c}$	$(1.54 \pm 0.06) \times 10^{5c}$	632.32 ± 21.15^c
RGLP-3	$(1.03 \pm 0.07) \times 10^{5c}$	$(1.31 \pm 0.03) \times 10^{5c}$	621.17 ± 15.82^c

注: 同一列中不同小写字母代表 5% 水平下的显著性差异。

高能电子束辐照处理对 GLP 的分子量产生了显著影响, 2 kGy 的辐照处理, 使得 Mw 增加了 13.90%, 20 kGy 的辐照处理, 则下降了 42.53%, 这种趋势符合已有报道^[6]。例如, 褐藻胶的平均分子量可以通过 50 kGy 的辐射从 2.17×10^5 u 降低到 1.0×10^4 u^[18]。经过 10 kGy 的 γ 辐射处理后的 β -葡聚糖, 其平均分子量从未辐射的 1.99×10^5 u 降至 7.0×10^4 u^[17]。辐照处理还会影响多糖的粒径, 低剂量的辐照处理表现出促使多糖发生交联, 高剂量的辐照处理则是发生解聚。这一结果与 SEM 观察的结果相符。

2.3.3 GLP 和 RGLPs 的热稳定性分析

如图 4A 所示, 多糖的典型失重峰出现在 GLP、RGLP-1 和 RGLP-2 中。在 GLP 的 TG 曲线中(图 4A), 第一个失重峰出现在约 70 °C, 失重率为 9.43%。第二个失重峰的起始温度为 129.09 °C, GLP 的失重率迅速增加到 53.38%。对于 RGLP-2, 第二个失重峰的起始温度为 157.66 °C。然而, RGLP-3 中出现了四个失重峰, 起始温度分别为 67.71、150.94、252.45 和 387.09 °C, 各阶段的失重率分别为 9.17%、20.88%、21.09% 和 11.15%。与 GLP、RGLP-1 和 RGLP-2 相比, RGLP-3 的曲线中没有出现大的失重峰。根据 DTG 图(图 4B), 可以确定 GLP 和 RGLPs 的最大失重速率点的温度。GLP、RGLP-1 和 RGLP-2 的温度接近 300 °C, 而 RGLP-3 约为 200 °C。此外, 除了这个温度点外, RGLP-3 还有两个对应于较大失重速率的温度点, 分别为 110 °C 和 320 °C。与 GLP、RGLP-1 和 RGLP-2 相比, RGLP-3 可以保持连续和均匀的失重过程。

在大约 70 °C 处出现的宽吸热峰(失重峰) 归因于自由水或结合水的损失^[19]。在约 130 °C 处发现的额外放热现象是由于聚合物的分解和降解^[6,20]。低剂量的辐射处理可以导致这一观察到的温度升高, RGLP-1 的温度升高到 161.68 °C, 表现出最佳的热稳定性。然而, GLP 的热稳定性在中剂量(20 kGy) 和高剂量(40 kGy) 辐射下有所降低。此外, 在最高剂量的辐射下, GLP 的结构发生了变化, RGLP-3 中出现了 4 个吸热峰, 而不是多糖的具有代表性的大吸热峰。通常情况, 真菌多糖低温区(30~120 °C) 失重主要归因于样品中吸附水和结合水的蒸发, 因为真菌多糖通常具有一定的亲水性, 容易吸附水分。中温区(120~300 °C) 失重可能与多糖链中一些较弱键的断裂有关, 如脱水反应或小分子挥发物(如低分子量的有机酸、醇类等) 的释放。SEM 分析显示, 辐照处理后的 RGLP-3 表面形态发生了显著变化, 表现为表面更加粗糙且有更多微观结构。这表明分子链的断裂和重组可能导致了表面结构的变化。高能电子束辐照可能引起多糖链的交联与解聚的反应, 进而可能形成更多的分支结构。这样的结构变化会增加多糖的结构复杂性, 导致在热分析中检测到多个吸热峰。分支结构的多样性可能对应于不同的吸热峰。因此, 上述原因使得 RGLP-3 在热分析过程中表现出与传统多糖不同的热行为。

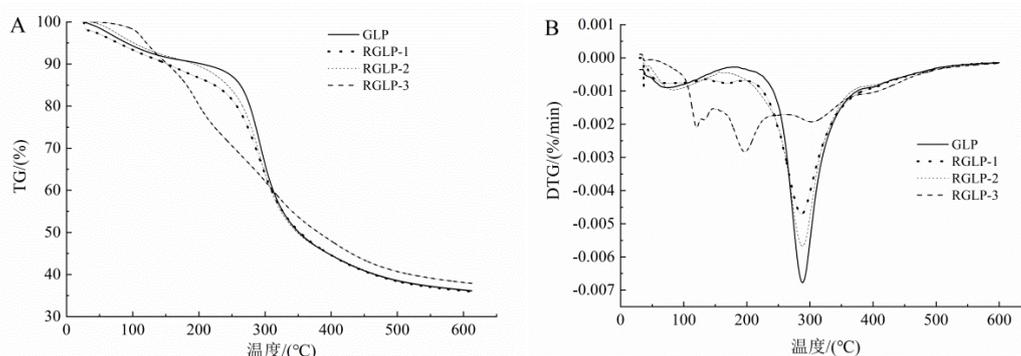


图 4 GLP 和 RGLPs 的热重分析(TG) 和差示热重分析(DTG) 曲线

Fig.4 Thermogravimetry (TG)-differential thermogravimetry (DTG) curves of GLP and RGLPs

注: A.热重分析曲线; B.差示热重分析曲线。

2.3.4 高能电子束辐照影响 GLP 分子结构

GLP 和 RGLPs 的红外图谱如图 5 所示, GLP 和 RGLPs 都具有一般多糖的特征结构。在 GLP 的红外光谱中, 3417 cm^{-1} 处出现了强烈而宽广的吸收带, 这可能是由 O-H 伸缩振动引起的^[21]。 2910 cm^{-1} 的吸收带是由饱和 C-H 伸缩振动引起的。这组峰可以用来表征多糖的特征吸收。基于上述分析, 可以确认 GLP 中的 $-\text{CH}_2$ 和 $-\text{CH}_3$ 基团。此外, 889 cm^{-1} 处的吸收峰可用于确定 GLP 的糖苷键类型为 β -糖苷键^[22]。随着辐射剂量的增加, 羟基 (3417 cm^{-1}) 和亚甲基 (2910 cm^{-1}) 的吸收峰先增加后减少。当辐射剂量达到 40 kGy 时, 一些特征峰显著增加或减少。碳氧双键的特征吸收峰出现在 1715 cm^{-1} , 归因于羰基基团的吸收。然而, 1154 cm^{-1} 和 889 cm^{-1} 处的吸收峰显著减少。糖类的降解可能是由于辐射导致糖苷键断裂引起的。 889 cm^{-1} 处的特征吸收表明 GLP 含有 β -糖苷键。经过 40 kGy 辐射处理后, RGLP-3 在 889 cm^{-1} 处的吸收峰显著减少。基于这一结果, 可以推断 RGLP-3 中的糖苷键已经断裂, 这些断裂的糖苷键在辐射下形成了新的羰基。因此, 在 RGLP-3 的红外光谱中, 1715 cm^{-1} 处出现了碳氧双键的吸收峰, 原因是羰基基团的出现, 并且随着辐照剂量的增加而增强。 $1200\sim 950\text{ cm}^{-1}$ 的强度带表现出微小的差异, 随着辐照剂量从 0 到 40 kGy 变化, 对应于 C-O-C 的减少。辐照对于真菌多糖的最直观的影响就是打断糖苷键^[6,23], 从而影响真菌多糖的高级结构、分子量和特殊化学键, 进而粘度、溶解度会受到影响^[18,24]。整体上结构的改变又会影响真菌多糖的生物活性, 因此, 辐照处理能够从结构上修饰多糖, 从而改变其生理活性。

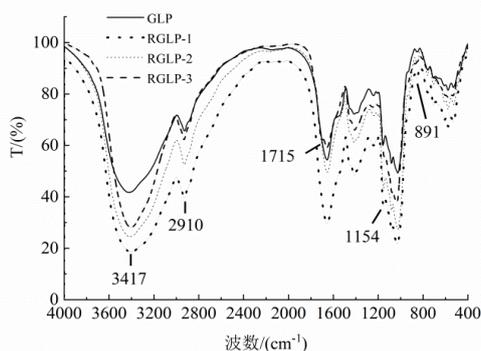


图 5 GLP 和 RGLPs 的红外图谱

Fig.5 Fourier transform infrared (FTIR) spectra of GLP and RGLPs

2.4 高能电子束辐照对 GLP 抗疲劳活性的影响

2.4.1 GLP 对大鼠生化指标的影响

灌胃高能电子束辐照改性 GLP 后,大鼠生化指标如表 3 所示,实验测定了不同处理组大鼠的体重、脏器系数和血清转氨酶。共计 5 周的饲喂后,辐照多糖组大鼠的体重、肝脏系数、肾脏系数和血清转氨酶的含量,相较于对照组,未观察到显著性的变化。在评估药物毒性时,平均体重的变化是一个关键指标。当实验动物在短时间内体重下降超过 10%时,说明测试的药物可能会产生不良影响。进一步结合血液中的转氨酶含量、肝脏和肾脏指数,可以确定,在本研究中,不超过 40 kGy 的辐照剂量处理的多糖,不会对大鼠的生理指标产生不良影响。

表 3 GLP 和 RGLPs 对大鼠生化指标的影响

Table 3 The impact of GLP and RGLPs on biochemical indices in rats

组别	体重/g	肝脏系数	肾脏系数	天门冬氨酸转氨酶/(U/L)	丙氨酸转氨酶/(U/L)
Q-CG	120.15±15.53	3.24±0.21	0.61±0.03	228.83±10.57	51.15±10.14
E-CG	124.42±7.23	3.03±0.18	0.58±0.02	233.35±14.85	45.56±8.28
红景天苷	126.27±12.52	3.02±0.16	0.56±0.02	218.89±11.74	53.32±7.73
GLP	119.92±11.17	3.53±0.16	0.57±0.05	228.93±15.42	48.83±7.73
RGLP-1	118.89±12.21	3.28±0.19	0.52±0.05	219.26±16.54	51.53±9.73
RGLP-2	123.37±12.43	3.54±0.14	0.61±0.03	227.25±14.47	55.85±8.82
RGLP-3	124.52±11.99	3.53±0.16	0.59±0.07	227.89±10.91	54.83±9.01

2.4.2 辐照提升大鼠肌糖原 (MG) 和肝糖原 (HG) 含量

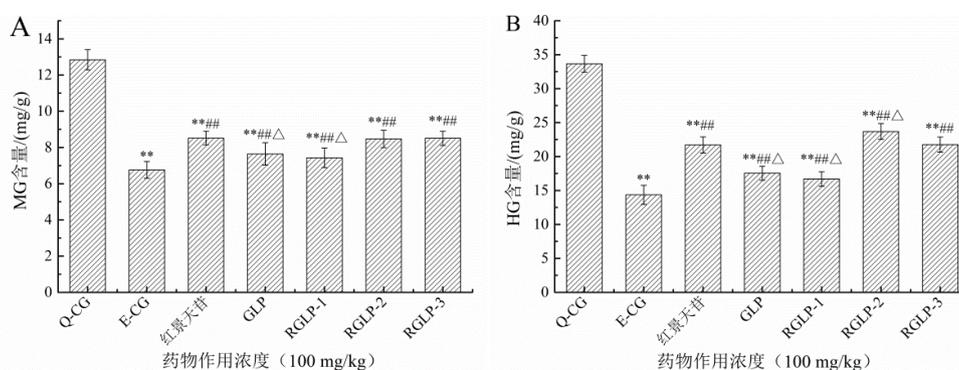


图 6 GLP 和 RGLPs 对大鼠肌糖原 (MG) 和肝糖原 (HG) 含量的提升效果

Fig.6 The effects of GLP and RGLPs on the enhancement of MG and HG levels in rats

注: **代表与 Q-CG 组相比, 1%水平下的显著性差异; ###代表与 E-CG 组相比, 1%水平下的显著性差异; △代表与红景天苷组 (阳性对照组) 相比, 5%水平下的显著性差异。

高能电子束辐照改性 GLP 后,其对大鼠 MG 和 HG 含量的影响如图 6 所示。相较于 Q-CG 组,其余各组大鼠

体内的 MG 和 HG 的含量均出现极显著下降,说明周期性的大鼠负重游泳训练消耗了大鼠体内的糖原,大鼠处于一种运动疲劳状态,实验模型构建成功。与 E-CG 组相比较,红景天苷组(阳性对照)、GLP 组和 RGLPs 组大鼠体内的 MG 和 HG 含量均出现极显著性升高,说明实验灌胃的药物都具备缓解大鼠运动疲劳的功效。红景天苷能够极显著提高运动疲劳大鼠体内 MG 和 HG 含量,比例为 27.15%和 42.18%。GLP 的提升能力则显著弱于红景天苷,此外,低剂量的高能电子束辐照处理,未见对 GLP 抗疲劳活性的显著性提升。然而,当辐照剂量达到 20 kGy 和 40 kGy 时,即 RGLP-2 和 RGLP-3 的灌胃处理,会使得 MG 和 HG 含量与红景天苷组相当,其中, RGLP-2 组的 HG 含量优于红景天苷组。

作为哺乳动物运动过程中最重要的供能物质之一,糖原是抗运动疲劳研究中最直观的检测指标。长时间的剧烈运动,会造成血糖大量消耗,血糖的减少会直接影响中枢神经系统的活性,进而表现出一种疲劳状态^[25]。机体为了维持正常的血糖水平,就会加速 MG 和 HG 的分解,而 MG 和 HG 是给生物体供能的糖原的最主要的 2 种形式,通常会被认为其含量与抗疲劳能力正相关,即 MG 和 HG 的含量越高,机体的抗疲劳能力越强。本研究确认, GLP 具备提升运动疲劳大鼠体内 MG 和 HG 含量的能力,但是提升的能力较弱。而适宜剂量(20 kGy 和 40 kGy)的高能电子束辐照处理后的 GLP,对 MG 和 HG 的提升能力显著增强。已有学者报道,羊肚菌多糖^[26]、桑黄多糖^[27]等都具备一定的抗疲劳活性,羊肚菌多糖在疲劳大鼠中对 HG 含量的提升率约为 31.15%,对 MG 含量的提升率约为 15.57%;桑黄多糖对 HG 的提升率约为 28.87%,对 MG 的提升率约为 17.74%。本研究中, GLP 的 HG 含量提升率约为 18.54%,MG 则为 16.67%。由此可知,相较于羊肚菌多糖和桑黄多糖, GLP 对 HG 含量的提升作用较弱,对 MG 含量的提升作用与二者相当。但是, RGLP-2 对 HG 的提升率为 35.59%,MG 则为 28.87%,二者都出现了显著的上升,且效果优于羊肚菌多糖和桑黄多糖。因此,高能电子束辐照处理,能够强化 GLP 对 HG 和 MG 含量的提升作用,提高了 GLP 的抗疲劳效果,能够在更多具备抗疲劳活性的多糖的改性上应用。

2.4.3 GLP 和 RGLPs 对大鼠尿素氮(BUN)和血清乳酸(BLA)含量的影响

高能电子束辐照改性 GLP 后,其对大鼠 BUN 和 BLA 含量的影响如图 7 所示。与 Q-CG 组相比,其余所有组的大鼠 BUN 和 BLA 的含量都极显著上升, E-CG 组大鼠的 BUN 含量升高近 300%, BLA 含量近 400%,说明运动疲劳会产生大量的 BUN 和 BLA。红景天苷组、GLP 以及 RGLPs 组大鼠的 BUN 和 BLA,相较于 E-CG 都出现了极显著的下降,红景天苷的灌胃,使疲劳大鼠 BUN 下降了 37.56%, BLA 下降了 41.08%。灌胃 GLP 则分别下降 33.21%和 34.47%,效果弱于红景天苷。而辐照处理后的 RGLP-2 和 RGLP-3 的效果与红景天苷相当,其中, RGLP-2 对大鼠 BLA 的降低效果优于红景天苷。

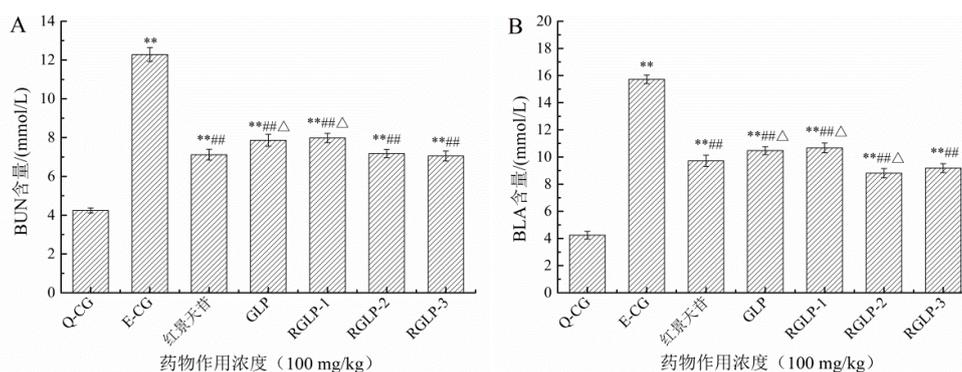


图 7 GLP 和 RGLPs 对大鼠血清中 BLA 和 BUN 含量的影响

Fig.7 The effects of GLP and RGLPs on the levels of BLA and BUN in rat serum

注: **代表与 Q-CG 组相比, 1%水平下的显著性差异; ##代表与 E-CG 组相比, 1%水平下的显著性差异; Δ代表与红景天苷组(阳性对照组)相比, 5%水平下的显著性差异。

现代研究确认, 为了满足运动过程中的能量供给, HG 和 MG 会通过磷酸肌酸系统实现转化, 最终成为机体能够直接利用葡萄糖, 后者进一步代谢以满足更高的能量需求。当运动持续且强度较大时, 能量消耗会超过能量供给, 直接导致产生疲劳感的副产物增加, 且通常无法在短时间内清除。这些代谢物(包括无机磷和氨、乳酸等)会在体内积累, 进而引起肌肉疲劳。因此, 要从运动引起的疲劳中恢复, 必须减少这些代谢物的积累, 这也是目前抗疲劳研究保健品或药品研发中重点关注的生理指标。作用剂量为 400 mg/kg 的淫羊藿多糖能够显著减少运动

疲劳大鼠体内的 BUN 和 BLA 的含量,其中, BUN 的含量从 10.53 mmol/L 下降到 7.49 mmol/L, BLA 的含量则从 17.31 mmol/L 下降到 12.54 mmol/L^[28]。本研究中,作用剂量为 100 mg/kg 的 RGLP-2 的效果几乎与 400 mg/kg 的淫羊藿多糖相当。说明高能电子束辐照后, GLP 对 BUN 和 BLA 的清除活性显著增强,即某些天然多糖本身具备一定的 BUN 和 BLA 清除活性,适宜剂量的高能电子束辐照,能够强化天然多糖的清除活性,提高其抗运动疲劳领域的活性。

2.4.4 GLP 和 RGLPs 对大鼠骨骼肌线粒体内源性抗氧化酶系及丙二醛 (MDA) 含量的影响

GLP 和 RGLPs 对大鼠骨骼肌线粒体内源性抗氧化酶系及丙二醛 (MDA) 含量的影响如表 4 所示,运动疲劳会降低大鼠内源性抗氧化酶系活力, SOD、CAT 和 GSH-Px 的下降超过 50%,同时会使得线粒体 MDA 的含量升高, E-CG 组 MDA 的含量是 Q-CG 组的 2.66 倍。红景天苷、GLP 和 RGLPs 的处理使得内源性抗氧化酶系活力显著提升, MDA 的含量出现显著性下降。GLP 的效果整体弱于红景天苷,辐照过后的 GLP 的活性有所增强,具体来讲, RGLP-2 和 RGLP-3 对内源性抗氧化酶系活力的恢复效果与红景天苷相当,对 MDA 含量的抑制作用则优于红景天苷。

表 4 GLP 和 RGLPs 对疲劳大鼠氧化指标的影响

Table 4 The impact of GLP and RGLPs on oxidative markers in fatigued rats

组别	SOD 活性/(U/mg)	CAT 活性/(U/mg)	GSH-Px 活性/(U/mg)	MDA 含量/(nmol/mg)
Q-CG	35.45±2.48 ^a	18.85±1.96 ^a	26.64±2.07 ^a	5.01±0.25 ^c
E-CG	14.42±1.23 ^d	9.03±1.08 ^d	13.38±0.87 ^c	13.35±0.85 ^a
红景天苷	22.29±2.34 ^b	15.02±0.96 ^b	16.36±0.92 ^b	8.82±0.74 ^c
GLP	19.92±1.15 ^c	14.53±0.86 ^b	15.82±0.75 ^b	8.93±0.42 ^c
RGLP-1	18.82±1.21 ^c	13.28±0.59 ^c	15.52±0.81 ^b	9.26±0.54 ^b
RGLP-2	23.31±2.27 ^b	15.54±0.74 ^b	16.36±0.93 ^b	7.25±0.38 ^d
RGLP-3	23.07±1.96 ^b	15.53±0.76 ^b	15.59±0.71 ^b	7.89±0.41 ^d

注:同一列中不同小写字母代表 5%水平下的显著性差异。

高等哺乳动物依赖骨骼肌完成运动,骨骼肌在剧烈运动或长时间活动过程中,会产生大量的活性氧 (ROS),包括自由基如超氧化物阴离子 ($O_2^{\cdot-}$)、氢过氧化物 (H_2O_2) 和羟自由基 ($\cdot OH$)。这些 ROS 对肌肉细胞有多方面的影响,会引起氧化应激,导致肌肉疲劳。因此,自由基被认为是导致机体疲劳的重要因素之一^[29]。人体清除自由基依赖于内源性抗氧化酶系,其中, SOD、CAT 和 GSH-Px 是最有代表性的 3 种内源性抗氧化酶, SOD 能够高效清除超氧阴离子自由基 ($O_2^{\cdot-}$),能够有效改善各种氧化压力诱导的氧化损伤; CAT 则能够高效分解过氧化氢,防止高浓度过氧化氢对细胞的损伤; GSH-Px 则能够缓解氧化压力,减少脂质过氧化反应,保护细胞膜的完整性。从内源性抗氧化酶活力入手,是评价天然产物抗疲劳活性的有效途径。已有报道确认,三七多糖体外具备较好的自由基清除活性,体内则能重塑内源性抗氧化酶系活力,具备缓解疲劳的功效^[30]。400 mg/kg 的三七多糖灌胃后,小鼠体内的 SOD、CAT 和 GSH-Px 的含量,分别达到阴性对照的 1.65 倍, 1.82 倍和 1.31 倍,本研究中, 100 mg/kg 的 RGLP-2 处理后, SOD、CAT 和 GSH-Px 的含量,分别是运动疲劳组的 1.61 倍, 1.73 倍和 1.23 倍。可见, 100 mg/kg 的 RGLP-2 对内源性抗氧化酶活力的重塑效果与 400 mg/kg 的三七多糖灌胃的效果相当。茶叶中茶多酚、茶氨酸等活性物质通过调节氧化应激,发挥抗运动疲劳作用^[31]。淫羊藿多糖同样具备抗氧化活力,调节 SOD 等活性,基于 NF- κ B 信号通路发挥抗运动疲劳的效果^[28]。MDA 是脂质过氧化的最终产物,常用作衡量氧化应激水平的生物标志物。在剧烈运动过程中, ROS 的生成增加,导致脂质过氧化反应增强,产生更多的 MDA。高水平的 MDA 反映出细胞膜脂质受到了严重的氧化损伤^[32]。而运动后 MDA 水平显著升高,这与运动引起的疲劳密切相关。降低 MDA 的含量,是缓解运动疲劳的有效方法。GLP 对 MDA 具备抑制作用,但是抑制效果弱于红景天苷。而 RGLP-2 和 RGLP-3 对 MDA 的抑制作用强于红景天苷,说明辐照处理能够增强 GLP 的 MDA 抑制活性,在抗运动疲劳上具备更好的效果。

3 结论

本研究收集人工栽培灵芝 (*G. lingzhi*) 的子实体,采用水提醇沉法提取粗多糖,通过离子交换柱和分子筛柱纯化,最终分离获得 GLP,得率为 0.98%。GLP 为 β -糖苷键连接的酸性多糖。采用高能电子束辐照处理 GLP,随

着辐照剂量的增加, GLP 表现出先交联后解聚的变化趋势, 对应的分子量和粒径也表现出先增大后减小的趋势。辐照处理还能够打断糖苷键, 形成新的基团。采用负重游泳训练构建运动疲劳大鼠模型, 灌胃 GLP 和 RGLPs 后确认, GLP 能够缓解大鼠运动疲劳, 其作用机理包括: (1) 强化肝糖原 (HG) 和肌糖原 (MG) 的储备; (2) 加快尿素氮 (BUN) 和血清乳酸 (BLA) 的消耗; (3) 减少丙二醛 (MDA) 生成, 重塑内源性抗氧化酶活力。比较研究发现, 20 kGy 辐照处理后的 GLP, 其抗疲劳活性优于红景天苷。本研究将高能电子束辐照引入真菌多糖改性研究领域, 且证实适宜剂量的高能电子束辐照能够显著增强真菌多糖的抗运动疲劳活性。以上结论进一步拓宽了人工栽培灵芝多糖的应用范围, 还能为真菌多糖辐照改性及活性强化提供新途径。

参考文献

- [1] YU W B, ZHANG Y F, YAO L H, et al. Research progress on the prevention of tumor by fungal polysaccharides [J]. Trends in Food Science & Technology, 2024, 147: 104422.
- [2] WOLD C W, CHRISTOPOULOS P F, ARIAS M A, et al. Fungal polysaccharides from *Inonotus obliquus* are agonists for Toll-like receptors and induce macrophage anti-cancer activity [J]. Communications Biology, 2024, 7(1): 222.
- [3] CHENG X, WANG J W, LI T D, et al. Preparation, structural characterization and protective effect on PC12 cells of polysaccharides from the stipe of *Morchella esculenta* [J]. Process Biochemistry, 2024, 144: 199-209.
- [4] LI M, ZHANG Y, LU Q, et al. Structure, bioactivities and applications of the polysaccharides from *Tricholoma Matsutake*: a review [J]. Food Science and Technology, 2022, 42: e44922.
- [5] SHENG K, WANG C, CHEN B, et al. Recent advances in polysaccharides from *Lentinus edodes* (Berk.): Isolation, structures and bioactivities [J]. Food Chemistry, 2021, 358: 129883.
- [6] XIONG C, LI P, LUO Q, et al. Effect of γ -irradiation on the structure and antioxidant activity of polysaccharide isolated from the fruiting bodies of *Morchella sextelata* [J]. Bioscience Reports, 2020, 40(9): BSR20194522.
- [7] SAND A, VYAS A, GUPTA A K. Graft copolymer based on (sodium alginate-g-acrylamide): Characterization and study of Water swelling capacity, metal ion sorption, flocculation and resistance to biodegradability [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 90: 37-43.
- [8] ROSIAK P, LATANSKA I, PAUL P, et al. Modification of alginates to modulate their physic-chemical properties and obtain biomaterials with different functional properties [J]. Molecules, 2021, 26(23): 7264.
- [9] SOFI B A, WANI I A, MASOODI F A, et al. Effect of gamma irradiation on physicochemical properties of broad bean (*Vicia faba* L.) starch [J]. LWT-Food Science and Technology, 2013, 54(1): 63-72.
- [10] 唐艺文, 黄敏, 付孟, 等. 高能电子束辐照对黄精品质的影响 [J]. 食品研究与开发, 2024, 45(7): 74-80.
- [11] 陈倩, 陈昭斌. 高能电子束辐照技术在消毒领域的应用 [J]. 中国消毒学杂志, 2017, 34(10): 966-969.
- [12] 张振刚, 王峰. 有氧运动联合补充 D-核糖对小鼠抗疲劳和抗氧化的作用 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(2): 368-375.
- [13] PALMA F R, GANTNER B N, SAKIYAMA M J, et al. ROS production by mitochondria: function or dysfunction? [J]. Oncogene, 2024, 43(5): 295-303.
- [14] 熊川, 罗强, 金鑫, 等. 人工栽培灵芝中多糖的部分理化性质及免疫调节作用 [J]. 微生物学通报, 2018, 45(4): 825-835.
- [15] 戴玉成, 曹云, 周丽伟, 等. 中国灵芝学名之管见 [J]. 菌物学报, 2013, 32(6): 947-952.
- [16] 王迎香, 唐子惟, 彭腾, 等. 苯酚-硫酸法测定酒蒸多花黄精多糖含量的优化 [J]. 食品工业科技, 2021, 42(18): 308-316.
- [17] 聂昌宏, 郑欣, 阿依居来克·卡得尔, 等. 考马斯亮蓝法检测不同乳中乳清蛋白含量 [J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(5): 1138-1142.
- [18] 任珍芸, 刘爱萍, 陈晓航, 等. 改良间羟基联苯法用于测定肺炎球菌荚膜多糖中糖醛酸含量 [J]. 中国新药杂志, 2018, 27(6): 644-649.
- [19] 张亚男. 硫酸钡比浊法测定皂角多糖修饰物中硫酸基的研究 [J]. 泰山学院学报, 2011, 33(3): 67-71.
- [20] 苗品囡, 邱军强, 李海霞, 等. 一种黑木耳酸性多糖的分离纯化及其结构鉴定 [J]. 食品研究与开发, 2019, 40(6): 1-8.
- [21] SHAH A, MASOODI F A, GANI A, et al. Effect of γ -irradiation on antioxidant and antiproliferative properties of oat β -glucan [J]. Radiation Physics and Chemistry, 2015, 117: 120-127.
- [22] CHOI J, KIM H J, KIM J H, et al. Application of gamma irradiation for the enhanced physiological properties of polysaccharides from seaweeds [J]. Applied Radiation and Isotopes, 2009, 67(7-8): 1277-1281.
- [23] PAWAR H A, GAVASANE A J, CHOUDHARY P D. Extraction of polysaccharide from fruits of *Cordia dichotoma* G. Forst using acid

- precipitation method and its physicochemical characterization [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2018, 115: 871-875.
- [24] LI P, XIONG C, HUANG W. Gamma-Irradiation-Induced Degradation of the Water-Soluble Polysaccharide from *Auricularia polytricha* and Its Anti-Hypercholesterolemic Activity. *Molecules*. 2022, 27(3): 1110-1122.
- [25] KOZARSKI M, KLAUS A, NIKSIC M, et al. Antioxidative and immunomodulating activities of polysaccharide extracts of the medicinal mushrooms *Agaricus bisporus*, *Agaricus brasiliensis*, *Ganoderma lucidum* and *Phellinus linteus* [J]. *Food Chemistry*, 2011, 129(4): 1667-1675.
- [26] 赵伟科,杨道然,王美华.羊肚菌硒化多糖结构表征及抗运动疲劳作用[J].食品工业科技,2024,45(6):110-120.
- [27] 钟臣.桑黄发酵液多糖的抗运动疲劳作用[J].中国食用菌,2020,39(6):46-48.
- [28] 邹悦,萧闵,孟宇豪,等.基于 p38 MAPK/NF- κ B 信号通路探讨淫羊藿多糖对运动性疲劳小鼠的影响及作用机制[J].中国实验方剂学杂志,2024,30(10):20-28.
- [29] CHEN L, LIU Z, YANG T, et al. Photoaged Tire Wear Particles Leading to the Oxidative Damage on Earthworms (*Eisenia fetida*) by Disrupting the Antioxidant Defense System: The Definitive Role of Environmental Free Radicals [J]. *Environmental Science & Technology*, 2024, 58(10): 4500-4509.
- [30] 位盼盼,晏子俊,邓萌玥,等.三七多糖体内抗疲劳研究[J].中国临床药理学杂志,2024,40(1):87-91.
- [31] 王振生.茶氨酸抗运动性疲劳机制及应用研究[J].福建茶叶,2019,41(1):22-23.
- [32] DONG J, LI J, LIU Y, et al. A comparative study of the anti-fatigue activity of extracts from different parts of *Cistanche tubulosa* (Schenk) Wight [J]. *Journal of Traditional Chinese Medical Sciences*, 2024, 11(2): 222-231.