

玉木耳多糖对小鼠的抗疲劳作用

Anti-fatigue effect of the polysaccharide from *Auricularia cornea*

任广泉¹许志凌云²刘金秋²徐春雨杭²夏 宁²REN Guang-quan¹ XU Zhi-ling-yun² LIU Jin-qiu² XU Chun-yu-hang² XIA Ning²

(1. 吉林农业大学国际足球教育学院, 吉林 长春 130000; 2. 吉林农业大学食品科学与工程学院, 吉林 长春 130000)

(1. College of International Football Education, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130000, China;

2. College of Food Science and Engineering, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130000, China)

摘要:目的:以玉木耳多糖为原料,探寻其对小鼠的抗疲劳作用。方法:以雄性昆明小鼠为研究对象,在正常饮食中加入 50~200 mg/kg 的玉木耳多糖(*Auricularia cornea* Polysaccharides, AP),考察其对小鼠抗疲劳能力的影响。结果:AP 对小鼠体重无显著影响,但 AP100 和 AP200 处理组可显著提升小鼠力竭游泳时间($P<0.05$);在小鼠游泳运动 30 min 后,AP200 处理组较对照组显著提升肝糖原和肌糖原的储备、抑制血清中乳酸和尿素氮的堆积($P<0.05$),还可以显著降低机体自由基水平、提高 SOD 和 GSH-Px 含量($P<0.05$)。结论:AP 具有提高小鼠运动耐力,提升小鼠抗疲劳能力的作用。

关键词:玉木耳;多糖;抗疲劳;抗氧化

Abstract: Objective: *Auricularia cornea* was used as raw material to explore the anti-fatigue effect in this study. Methods: *Auricularia cornea* is a new member of *Auricularia polytricha*. Male KM mice were used to explore the anti-fatigue effect of polysaccharides from *Auricularia cornea* (AP). Results: AP has no significant impact on body weight. The biochemical analysis found that glycogen contents in the liver and muscle were significantly enhanced ($P<0.05$) after swimming for 30 minutes. The accumulation of BLA and BUN in the serum was inhibited; the level of free radical was decreased, and the contents of SOD and GSH-Px were increased ($P<0.05$). Furthermore, the exhaustion time was significantly increased in the AP100 and AP200 groups ($P<0.05$). Conclusion: AP can improve exercise tolerance and enhance the anti-fatigue ability of mice.

Keywords: *Auricularia cornea*; polysaccharide; anti-fatigue; anti-oxidation

玉木耳(*Auricularia cornea*)为吉林农业大学食药菌教育部工程研究中心团队驯化的新型木耳品种,现已在东北地区大面积推广,同时山东、浙江、广西等地也有栽培^[1]。玉木耳因其洁白的子实体也备受人们关注,由于其富含蛋白、多糖、膳食纤维等活性成分,备受消费者喜爱^[1-3]。大量研究^[4-8]证明,植物来源多糖具有提高免疫力、抗氧化、抗癌等生理活性。已有研究^[9]证实玉木耳多糖具有一定的抗氧化活性,但未见关于玉木耳多糖抗疲劳活性相关的报道。

疲劳是指由于机体运动而引起的运动能力和机体功能暂时下降的现象,其发生机制较为复杂,与糖脂代谢异常、细胞内自由基产生、内环境稳态失调等相关^[10]。已有研究证实,人参多肽^[11]、黄秋葵多糖^[12]、黑参多糖^[13]、南瓜多糖^[14]、虾青素^[15]、枸杞多糖^[16]、巴戟天多糖^[17]等膳食活性成分具有显著的抗疲劳作用。研究拟以昆明小鼠为研究对象,在正常饮食中加入玉木耳多糖(*Auricularia cornea* Polysaccharides, AP),观察其添加量对小鼠抗疲劳能力的影响,旨在为进一步开发适合运动员的抗疲劳功能饮料提供依据。

1 试验材料

1.1 试验动物

SPF 级健康雄性 KM 小鼠:体重 16~18 g,许可证编号 SCXK(辽)2020-0001,辽宁长生生物技术有限公司。

1.2 材料与试剂

玉木耳多糖(AP)样品:总多糖含量为 85.32%,水分含量为 10.54%的,蛋白质含量为 4.14%,于 2020 年 3 月由实验室采用水提醇沉法制备;

全血乳酸(BLA)检测试剂盒(货号:A019-1-1)、血清尿素氮(BUN)检测试剂盒(货号:C013-2-1)、糖原检测试剂盒(货号:A043-1-1)、超氧化物酶(SOD)检测试剂盒(货号:A001-3-2)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)检测试剂盒(货号:A005-1-2)、丙二醛(MDA)检测试剂盒(货号:

基金项目:吉林省教育厅“十三五”科学技术项目(编号:JKH20180640KJ)

作者简介:任广泉(1990—),男,吉林农业大学助教,硕士。

E-mail: renguangquan@jlau.edu.cn

收稿日期:2020-07-29

A003-1-1): 南京建成生物工程研究所;

人参北芪胶囊(GB): 江西银涛药业有限公司;

其他所用试剂均为国产分析纯。

1.3 仪器与设备

全自动酶标仪: FLUOstar Omega 型, 德国 BGM Labtech 公司;

高速冷冻离心机: Allegra X-30R 型, 美国 Beckman Coulter 公司。

1.4 试验方法

小鼠适应性饲养 1 周后随机分为 5 组: 空白对照组 (Control, $n=30$)、AP 低、中、高剂量组 (AP50、AP100、AP200, $n=20$)、药物对照组 (GB, $n=20$), 所有组别均饲喂普通饲料, 空白对照组每日灌胃蒸馏水, AP 低、中、高剂量组每日分别灌胃 50, 100, 200 mg/kg AP (溶剂为蒸馏水), 药物对照组每日灌胃 GB (200 mg/kg), 连续灌胃 4 周, 每周测量体重。4 周后, 每组提供 10 只用于力竭游泳试验。Control 组抽 10 只小鼠作为无游泳对照组 (NS), 末次喂食 30 min 后处死; 每组另外 10 只游泳 30 min 处死, 收集血清、肝脏和肌肉组织, 进行生化指标检测^[18]。

1.4.1 体重测定与计算 适应性饲养 1 周后, 记录各小鼠体重, 为小鼠的初始体重。灌胃处理后, 每周在同一时间段分别对小鼠进行称重、记录, 用于分析小鼠体重增长情况, 并按式(1)计算体重增加量。

$$m = m_2 - m_1, \quad (1)$$

式中:

m ——体重增加量, g;

m_2 ——末次体重, g;

m_1 ——初始体重, g。

1.4.2 力竭游泳试验 根据陈辉等^[15]的方法并修改。每组随机抽取 10 只小鼠, 最后一次灌胃 30 min 后, 于尾部负 5% 体重的铅块, 置于游泳箱 (水深不少于 30 cm, 水温控制在 25 °C) 中进行试验, 至小鼠完全沉入水底且 10 s 内不再浮起作为试验终点, 记录力竭游泳时间。

1.4.3 血乳酸、血清尿素氮的测定 每组 10 只小鼠在最后一次灌胃 30 min 后, 不重置于游泳箱中游泳 30 min (水温 25 °C, 水深不少于 30 cm), 眼眶取血, 分离血清用于血清尿素氮及抗氧化指标的测定; 15 min 后采尾部静脉血测定血乳酸, 采用 BLA、BUN 试剂盒进行检测^[19]。

1.4.4 糖原含量测定 取血后将小鼠处死, 立即取出肝脏和后腿肌肉组织, 根据试剂盒方法分别检测肝糖原和肌糖原的含量。

1.4.5 抗氧化指标检测 按照试剂盒说明书分别检测小鼠血清和肝脏组织的 MDA、SOD、GSH-Px 水平。

1.4.6 数据统计分析 试验数据以均数±标准差表示, 采用 Graphpad Prism 7.0 软件对数据进行 one-way ANOVA 统计分析并作图。与 NS 组相比, # 为差异极显著 ($P<0.01$); 与 Control 组相比, * 为差异显著 ($P<0.05$)、** 为差异极显著 ($P<0.01$)。

2 结果与分析

2.1 对小鼠体重的影响

由图 1 可知, 连续灌胃 4 周后, 各组小鼠体重无显著差异。因此, 50~200 mg/kg 的 AP 对雄性 KM 小鼠体重无影响。此外, 在给予受试物期间, 小鼠并无不良反应, 毛色正常, 并未出现异常死亡现象, 说明 AP 在 50~200 mg/kg 剂量内对小鼠并未发现毒副作用。因此, 该剂量范围可用于后续试验。

2.2 对小鼠力竭游泳时间的影响

由图 2 可知, 随着 AP 剂量的增加, 小鼠力竭游泳时间增加, 尤其是 AP100 和 AP200 处理组能够显著延长力竭游泳时间 ($P<0.05$)。AP200 处理组的力竭游泳时间略低于 GB 组, 可达到 91.5 min, 较 Control 组 (70.1 min) 提高了 30.5%, 具有极显著差异 ($P<0.01$)。疲劳是人在剧烈运动时产生的一种系统性的生理过程, 是机体的一种自我保护反应^[10]。小鼠力竭游泳时间可以较好地反映小鼠的抗疲劳能力, 刘雅娜等^[20]研究也发现沙棘多糖低、中、高剂量组负重游泳时间比空白组分别延长了 33.51%,

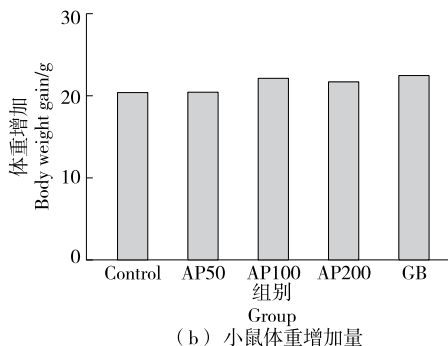
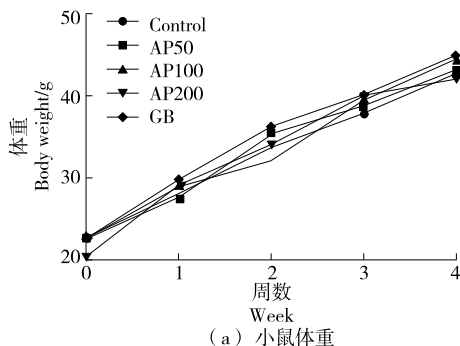


图 1 AP 对小鼠体重的影响

Figure 1 Effects of AP on the body weight of mice

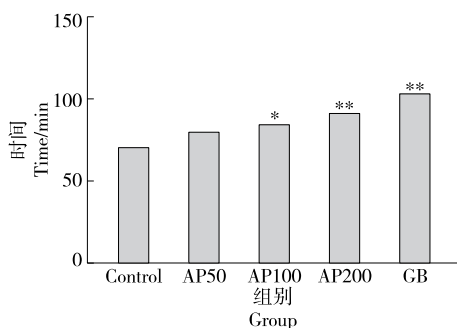


图 2 AP 对小鼠力竭游泳时间的影响

Figure 2 Effects of AP on the exhaustion time of mice

58.89%, 55.35%。综上, AP 可延长小鼠的力竭游泳时间, 表现出了一定的抗疲劳能力。

2.3 对小鼠 BUN 和 BLA 的影响

机体在长期运动后会造成乳酸累积, BLA 水平升高, 肌肉产生酸痛感从而加重疲劳感; BUN 水平增高说明机体已经产生疲劳感, 因此二者水平的升高会降低小鼠运动耐性^[12-13]。由图 3 可知, 与 NS 组相比, 游泳组 (Control 组) 小鼠血清中 BUN 和 BLA 水平均显著升高 ($P < 0.05$), 表明通过强制游泳会使小鼠产生疲劳现象, 成功建立疲劳模型。在小鼠不负重游泳 30 min 后, AP50 处理组和 Control 组的 BUN、BLA 含量无显著差异, 但是 AP100 和 AP200 处理组小鼠血清中的 BUN、BLA 含量

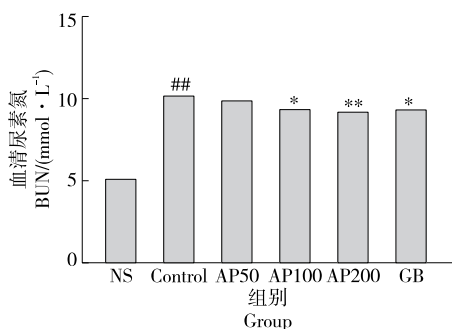
显著低于 Control 组 (AP100, $P < 0.05$; AP200, $P < 0.01$)。综上, AP 能够减少运动疲劳导致的 BUN、BLA 积累, 从而提高小鼠的运动耐性, 起到抗疲劳作用。

2.4 对小鼠血肝糖原和肌糖原的影响

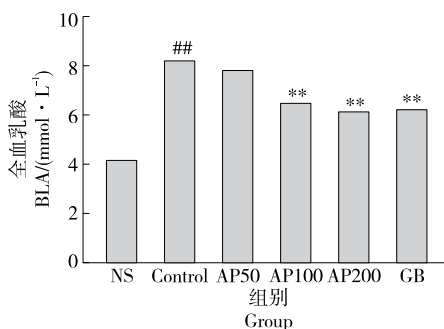
由图 4 可知, 游泳 30 min 后, AP50、AP100、AP200 处理组小鼠的肝糖原含量均显著高于 Control 组 ($P < 0.01$), 尤其是 AP200 处理组, 其肝糖原含量为 (13.13 ± 1.32) mg/g, 是 Control 组的 1.5 倍。AP100 和 AP200 处理组小鼠的肌糖原含量显著高于 Control 组 ($P < 0.01$)。综上, AP 处理组可显著增强肝脏和肌肉组织中的糖原储备, 且在一定剂量范围内呈剂量依赖性, 具有一定的抗疲劳能力。何立佳^[21]研究发现, 松茸多糖在 5~15 g/kg 剂量范围内, 以剂量依赖性显著增加肝糖原水平, 说明松茸多糖能够显著降低机体运动过程中的疲劳。食源性真菌多糖如香菇、木耳等多糖均能够显著提高大鼠或小鼠运动前后体内糖原储备^[22]。研究^[23]发现, 黑木耳多糖对力竭游泳时间、血乳酸、糖原水平有显著而积极的影响, 能够有效延缓疲劳产生并消除疲劳。

2.5 对小鼠抗氧化能力的影响

剧烈运动会引起机体的自由基水平升高, 此时迫切需要抗氧化因子 SOD、GSH-Px 等对其进行清除; 而丙二醛 (MDA) 是自由基攻击不饱和脂肪酸的代谢产物, 代表了体内自由基的水平^[24-27]。



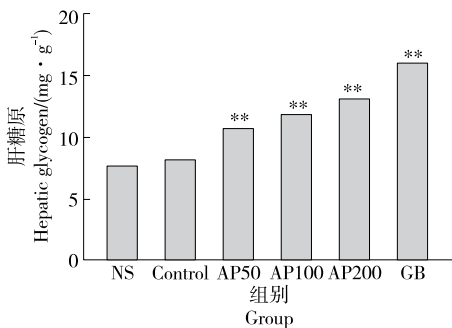
(a) 血清尿素氮



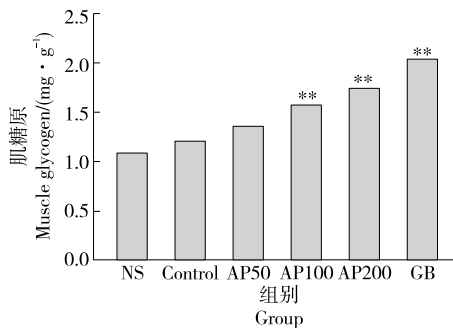
(b) 全血乳酸

图 3 AP 对小鼠 BUN 和 BLA 水平的影响

Figure 3 Effects of AP on the BUN and BLA of mice



(a) 肝糖原



(b) 肌糖原

图 4 AP 对机体糖原水平的影响

Figure 4 Effects of AP on the glycogen content of mice

由图5可知, 50~200 mg/kg的AP可显著降低血清和肝脏组织中的MDA含量($P<0.01$), 缓解机体的氧化应激状态。100~200 mg/kg的AP可以显著提升血清中SOD和GSH-Px活性($P<0.01$)。与血清指标检测结果

相似, AP处理可以显著提高肝脏组织中的SOD和GSH-Px活性, 且呈一定的剂量依赖性。综上, AP能够通过提高机体抗氧化能力、清除机体内的自由基来帮助减少自由基的伤害, 从而提升机体的抗疲劳能力。

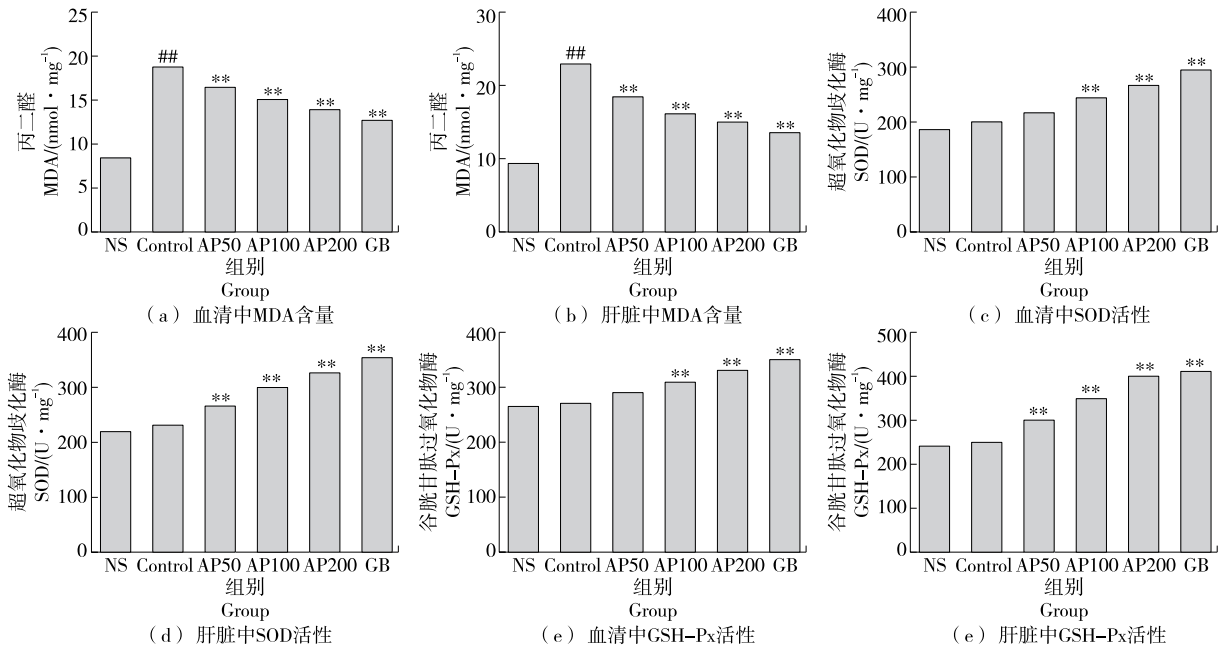


图5 AP对小鼠MDA、SOD和GSH-Px的影响

Figure 5 Effects of AP on the MDA, SOD and GSH of mice

3 结论

运动会引起机体疲劳, 加速全血乳酸的堆积, 积累量越大, 机体越疲劳; 血清尿素氮水平可用于判断机体承受负荷的能力。随着运动时间的增加, 机体内糖原水平不断下降, 自由基含量不断增加, 因此增加糖原的储备, 清除自由基能够有效延缓疲劳状态^[10,27]。试验表明, 玉米耳多糖在一定剂量范围内可显著提升小鼠力竭游泳时间, 通过增加肝糖原和肌糖原的储备、抑制血清中乳酸和尿素氮的堆积以及降低机体自由基水平来提高小鼠运动耐性、缓解机体氧化应激水平, 从而提升小鼠的抗疲劳能力。后续可进一步研究玉米耳多糖发挥功能活性的明确组分及分子机制。

参考文献

- [1] 张旭, 贾俊, 张爱国, 等. 玉米耳新品与传统黑木耳营养成分检测及分析研究[J]. 食品安全导刊, 2017(30): 97.
- ZHANG Xu, JIA Jun, ZHANG Ai-guo, et al. Test and analysis of nutritional components of new jade fungus and traditional black fungus[J]. China Food Safety Magazine, 2017(30): 97.
- [2] 王秀秀. 玉米耳子实体多糖抗氧化、抗炎和保肝作用分析[D]. 泰安: 山东农业大学, 2019: 5-7.
- WANG Xiu-xiu. Antioxidant, Anti-inflammatory and hepatoprotective

effects of fruit body polysaccharides from *Auricularia cornea*[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2019: 5-7.

- [3] 司凤玲, 刘小裕, 邓俊林. 玉米耳根膳食纤维提取工艺优化及理化性质测定[J]. 食品与发酵工业, 2019, 45(20): 209-214.
- SI Feng-ling, LIU Xiao-yu, DENG Jun-lin. Optimization of extraction process and physicochemical properties of dietary fiber from *Auricularia cornea* var. Li Root[J]. Food and Fermentation Industry, 2019, 45(20): 209-214.
- [4] YU Yue, SHEN Ming-yue, SONG Qian-qian, et al. Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: A review[J]. Carbohydr Polym, 2018, 183: 91-101.
- [5] WANG Bing-yue, LIU Qian, HUANG Ying-hong, et al. Extraction of polysaccharide from *Spirulina* and evaluation of its activities[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2018, 2018: 3425615.
- [6] 苏建青, 刘学彬, 张晓云, 等. 植物多糖免疫调节功能研究进展[J]. 湖北农业科学, 2018, 57(11): 10-13.
- SU Jian-qing, LIU Xue-bin, ZHANG Xiao-yun, et al. Research progress in immunomodulating functions of plant polysaccharide[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2018, 57(11): 10-13.
- [7] 肖瑞希, 陈华国, 周欣. 植物多糖降血糖作用及机制研究进展[J]. 食品科学, 2019, 40(11): 254-260.
- XIAO Rui-xi, CHEN Hua-guo, ZHOU Xin. Recent progress in understanding of hypoglycemic effect and underlying mechanism of plant polysaccharides[J]. Food Science, 2019, 40(11): 254-260.

- [8] 余腾飞, 唐年初, 刘诚毅. 忧遁草多糖提取工艺优化及抗氧化活性研究[J]. 食品与机械, 2020, 36(2): 171-175.
- YU Teng-fei, TANG Nian-chu, LIU Cheng-yi. Optimization of extraction process and antioxidant activity of polycycharide from *Clinacanthus nutans* by response surface methodology[J]. Food & Machinery, 2020, 36(2): 171-175.
- [9] 吴玉柱, 崔维建, 李妍. 超声波辅助提取玉木耳多糖及其抗氧化活性分析[J]. 食品工业科技, 2020, 41(23): 142-148.
- WU Yu-zhu, CUI Wei-jian, LI Yan. Ultrasound assisted extraction of polysaccharides from *auricularia cornea ehrenb.* and its antioxidant activity analysis[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(23): 142-148.
- [10] ZHOU Si-si, JIANG Jian-guo. Anti-fatigue effects of active ingredients from traditional chinese medicine: A Review[J]. Curr Med Chem, 2019, 26(10): 1 833-1 848.
- [11] LI Di, REN Jin-wei, ZHANG Ting, et al. Anti-fatigue effects of small-molecule oligopeptides isolated from *Panax quinquefolium* L. in mice[J]. Food Funct, 2018, 9(8): 4 266-4 273.
- [12] XIA Fang-bo, ZHONG Yu, LI Meng-qiu, et al. Antioxidant and anti-fatigue constituents of okra[J]. Nutrients, 2015, 7(10): 8 846-8 858.
- [13] 刘兴龙, 赵迎春, 陈雪艳, 等. 黑参多糖抗疲劳作用的分子机制[J]. 食品科学, 2020, 41(5): 173-179.
- LIU Xing-long, ZHAO Ying-chun, CHEN Xue-yan, et al. Anti-fatigue effect and molecular mechanism of black ginseng polysaccharides in mice[J]. Food Science, 2020, 41(5): 173-179.
- [14] CHEN Fang, HUANG Gang-liang. Extraction and antioxidant activities of cushaw polysaccharide[J]. Int J Biol Macromol, 2018, 120(Pt B): 1 646-1 649.
- [15] IKEUCHI M, KOYAMA T, TAKAHASHI J, et al. Effects of astaxanthin supplementation on exercise-induced fatigue in mice[J]. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2006, 29(10): 2 106-2 110.
- [16] 胡馨予, 赵冰, 孙晓琪, 等. 枸杞子多糖抗疲劳活性研究[J]. 食品科技, 2015(7): 202-205.
- HU Xin-yu, ZHAO Bing, SUN Xiao-qi, et al. Anti-fatigue action of *Lycium barbarum* polysaccharides in mice[J]. Food Science And Technology, 2015(7): 202-205.
- [17] 梁小军, 韦炳墩, 陈茜, 等. 巴戟天多糖提取工艺及抗氧化抗疲劳活性研究[J]. 食品与机械, 2018, 34(7): 158-163.
- LIANG Xiao-jun, WEI Bing-dun, CHEN Xi, et al. Optimization of polysaccharide extraction process form *Morinda officinalis* How and its biological activity in vitro and in vivo[J]. Food & Machinery, 2018, 34(7): 158-163.
- [18] 陈辉. 榆黄蘑制剂抗运动性疲劳及提高运动耐力的作用[J]. 中国食用菌, 2020, 39(9): 58-60, 64.
- CHEN Hui. Effect of *pleurotus citrinopileatus* drink on anti sports fatigue and improving sports endurance[J]. Edible Fungi of China, 2020, 39(9): 58-60, 64.
- [19] 薛勇闯, 周永玲, 陈国亮. 龙葵果提取物抗氧化活性及抗疲劳作用的研究[J]. 粮食与油脂, 2020, 33(11): 126-128.
- XUE Yong-chuang, ZHOU Yong-ling, CHEN Guo-liang. Study on antioxidant activity and anti-fatigue activity of *Solanum nigrum* extract[J]. Cereals & Oils, 2020, 33(11): 126-128.
- [20] 刘雅娜, 包晓玮, 王娟, 等. 沙棘多糖抗运动性疲劳及抗氧化作用的研究[J]. 食品工业科技, 2021, 42(10): 321-326.
- LIU Ya-na, BAO Xiao-wei, WANG Juan, et al. Anti exercise fatigue and antioxidant of polysaccharide from *Hippophae rhamnoides*[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(10): 321-326.
- [21] 何立佳. 松茸多糖对小鼠运动疲劳康复的影响[J]. 中国食用菌, 2020, 39(8): 47-49.
- HE Li-jia. Research on the effect of *tricholoma matsutake* polysaccharide on exercise fatigue rehabilitation[J]. Edible Fungi of China, 2020, 39(8): 47-49.
- [22] 李国锋. 抗运动疲劳食源性活性成分的研究进展[J]. 食品工业科技, 2020, 41(24): 344-353.
- LI Guo-feng. Research and development of active ingredients from food sources for anti-motion fatigue[J]. Science and Technology of Food Industry, 2020, 41(24): 344-353.
- [23] 朱磊, 王振宇. 黑木耳多糖对小鼠抗疲劳作用的研究[J]. 营养学报, 2008(4): 430-432.
- ZHU Lei, WANG Zhen-yu. Effects of polysaccharides from *auricularia auricula* on fatigue in mice[J]. Acta Nutrimenta Sinica, 2008(4): 430-432.
- [24] 陈永芬, 申琳, 鱼泳泳, 等. 低聚原花青素方剂对小鼠肝脏、血清中相关抗氧化酶活性及MDA、活性氧含量的影响[J]. 食品科学, 2004(S1): 164-167.
- CHEN Yong-fen, SHEN Lin, YU Yong-yong, et al. Effects of Oligomeric Proanthocyanidins prescription on the activity of related antioxidant enzymes, MDA and reactive oxygen species in liver and serum of mice[J]. Food Science, 2004(S1): 164-167.
- [25] 程超, 李伟. 几种植物水溶性多糖的体外抗氧化作用[J]. 食品工业科技, 2006(9): 63-65.
- CHENG Chao, LI Wei. Antioxidant effects of several plant water-soluble polysaccharides in vitro[J]. Science and Technology of Food Industry, 2006(9): 63-65.
- [26] 刘晶, 苗颖, 赵征, 等. 抗氧化作用延缓疲劳的研究进展[J]. 中国乳品工业, 2012, 40(1): 42-45.
- LIU Jing, MIAO Ying, ZHAO Zheng, et al. Research on antioxidation to delay fatigue[J]. China Dairy Industry, 2012, 40(1): 42-45.
- [27] PRASAD W, KHAMRUI K, MANDAL S, et al. Anti-oxidative, physico-chemical and sensory attributes of burfi affected by incorporation of different herbs and its comparison with synthetic antioxidant (BHA)[J]. Journal of Food Science and Technology, 2017, 54(12): 3 802-3 809.