

路欣彤, 齐欣, 高雪峰, 等. 辐照处理对桦褐孔菌多糖抗疲劳作用的影响 [J]. 食品工业科技, 2022, 43(3): 351–357. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021050192

LU Xintong, QI Xin, GAO Xuefeng, et al. Effect of Irradiated Process on Anti-fatigue Activity of *Inonotus obliquus* Polysaccharide[J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(3): 351–357. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2021050192

· 营养与保健 ·

辐照处理对桦褐孔菌多糖抗疲劳作用的影响

路欣彤¹, 齐欣², 高雪峰^{3,*}, 崔承弼^{1,2,*}

(1. 延边大学农学院, 吉林延吉 133000;

2. 延边大学药学院, 吉林延吉 133000;

3. 延边韩工坊健康制品有限公司, 吉林延吉 133000)

摘要: 目的: 研究经过辐照处理的桦褐孔菌多糖对小鼠的抗疲劳作用。方法: 用⁶⁰Co- γ 射线进行辐照, 得到 5、10、20、30 kGy 辐照剂量和未辐照的桦褐孔菌菌粉制得多糖。分为对照组、辐照高中低剂量组和未辐照高剂量组, 对雄性昆明种小鼠进行四周连续灌胃, 测定小鼠爬杆、力竭游泳时间, 肝糖原 (LG)、肌糖原 (MG)、全血乳酸 (BLA) 含量、乳酸脱氢酶 (LDH) 活性、血清尿素氮含量 (SUN)、骨骼肌中超氧化物歧化酶 (SOD) 活性和丙二醛 (MDA) 含量的变化。结果: 实验测得的最优辐照剂量为 20 kGy。各剂量组对小鼠体重没有显著影响 ($P>0.05$), 辐照高、中剂量组与未辐照组显著延长了小鼠爬杆时间、力竭游泳时间 ($P<0.05$)。辐照桦褐孔菌多糖增加了小鼠肝糖原、肌糖原含量, 最高为 28.90、10.58 mg/g, 减少了小鼠 BLA、SUN 及 MDA 含量, 增加了小鼠 LDH、SOD 活性, 最高为 5308.80 U/L、11.44 nU/mg。且辐照高剂量组 LG、MG、LDH、SUN、SOD、MDA 与未辐照组相比均差异显著 ($P<0.05$), 两组 BLA 差异不显著 ($P>0.05$)。结论: 该实验由此证明辐照处理桦褐孔菌多糖与未辐照组相比抗疲劳作用有进一步提高, 且辐照处理桦褐孔菌多糖能够在一定程度上缓解疲劳症状。

关键词: 辐照, 桦褐孔菌, 多糖, 抗疲劳

中图分类号: R151.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2022)03-0351-07

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2021050192

本文网刊:



Effect of Irradiated Process on Anti-fatigue Activity of *Inonotus obliquus* Polysaccharide

LU Xintong¹, QI Xin², GAO Xuefeng^{3,*}, CUI Chengbi^{1,2,*}

(1. College of Agricultural, Yanbian University, Yanji 133000, China;

2. College of Pharmacy, Yanbian University, Yanji 133000, China;

3. Yanbian Hangongfang Health Products Co., Ltd., Yanji 133000, China)

Abstract: Objective: To study the anti-fatigue effect of irradiated *Inonotus obliquus* polysaccharide on mice. Method: ⁶⁰Co- γ rays were irradiated to obtain 5, 10, 20, 30 kGy irradiation doses and unirradiated *Inonotus obliquus* bacteria powder to produce polysaccharides. Divided into a control group, an irradiated high-medium-low-dose group, and a non-irradiated high-dose group. Male Kunming mice were given four weeks continuous gavage to determine the rod climbing, exhausted swimming time, changes in liver glycogen (LG), muscle glycogen (MG), blood lactate (BLA), lactate dehydrogenase (LDH), serum urea nitrogen (SUN), superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) in skeletal muscle. Result: The optimal radiation dose measured in the experiment was 20 kGy. Each dose group had no significant effect on the body weight of the mice ($P>0.05$). The high and medium dose groups and the non-irradiated groups significantly prolonged the rod climbing time and exhausted swimming time of the mice ($P<0.05$). Irradiation of *Inonotus obliquus* polysaccharides increased the contents of liver glycogen and muscle glycogen in mice to the highest levels of 28.90 mg/g and 10.58 mg/g,

收稿日期: 2021-05-21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31160314)。

作者简介: 路欣彤 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与安全, E-mail: 916494699@qq.com。

* 通信作者: 高雪峰 (1982-), 男, 博士, 研究方向: 保健食品加工, E-mail: 686268@qq.com。

崔承弼 (1968-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 营养与食品安全, E-mail: cuichengbi@ybu.edu.cn。

reduced the contents of BLA, SUN and MDA in mice, and increased LDH and SOD activities in mice. The highest activity was 5308.80 U/L and 11.44 nU/mg. Moreover, LG, MG, LDH, SUN, SOD, MDA in the high-dose irradiated group were significantly different from those in the non-irradiated group ($P < 0.05$), and there was no significant difference in BLA between the two groups ($P > 0.05$). Conclusion: This test proves that the anti-fatigue effect of the irradiated *Inonotus obliquus* polysaccharide is further improved compared with the non-irradiated group, and that the irradiated *Inonotus obliquus* polysaccharide can relieve fatigue symptoms to a certain extent.

Key words: irradiation; *Inonotus obliquus*; polysaccharide; anti-fatigue

疲劳是人体非常复杂的生理状态,随着社会压力的增大,许多人的身体处于一种亚健康的状态^[1]。在神经系统疾病中,在多发性硬化症、脑出血以及神经肌肉等疾病中,疲劳患者的患病率会增加^[2]。首先,肌肉疲劳是由于乳酸和尿素氮等代谢物的过度产生和积累导致的^[3];其次,肌肉或其他相关器官(如肝脏)中活性氧的产生导致氧化应激和对身体的损害,最终机体在无氧运动状态下,通过糖酵解反应获取能量,此运动下产生乳酸,乳酸含量的增多,导致疲劳状况的发生^[4]。一些化学药物和天然草药,如黄芪、蛹虫草和红景天等^[5]均已被报道具有抗疲劳作用。因此,有必要对天然抗疲劳的活性物质进行研究开发与^[6]。

桦褐孔菌(*Inonotus obliquus*),属于多孔菌科褐卧孔菌属,是一种药食两用的木腐菌^[7],又名桦树茸、西伯利亚灵芝^[8]等,无任何毒副作用,主要产于北纬45°~50°的俄罗斯、吉林长白山、日本北海道等地^[9-11]。桦褐孔菌中,多糖是其主要的活性成分^[12]。目前,来自于各种植物、动物、微生物的多糖,因纯天然、药理活性强、无毒副作用、易于药物质量控制等优点^[13]而受到广泛重视,是一种潜在的保健功能成分。此外,许多研究表明,桦褐孔菌含有200多种活性物质,其含有的多糖、桦褐孔菌素、三萜类化合物等,具有抗肿瘤、抗氧化、降血糖、抗疲劳、促进益生菌增殖等功效^[14-16]。

桦褐孔菌因外界吸收了化学物质成分而导致其在长期的保存和加工过程中营养成分受到影响,一些有机生物的物质成分也发生变化,所以必须对其进行净化处理^[17]。辐照是一种新兴的食品保鲜技术,目的是提高食品安全^[18-19]。主要运用在杀菌诱变等方面^[20],⁶⁰Co产生的 γ -射线可以与食品相互作用使其发生生理生化反应或生物效应,可通过这种辐照方式提高食品中活性物质各方面的特性^[21]。食品经过辐照处理后,对于微量元素、氨基酸、蛋白质以及糖类损失较少,达到消灭食品或农产品中的微生物,如病毒、细菌等的目的。此外,辐照有助于提高卫生 and 安全性^[22]。陈浙娅等^[23]研究辐照对裂褶菌多糖提取、分子量及生物活性的影响,发现在一定剂量范围内,随着辐照剂量的增加,裂褶菌多糖的提取率和纯度有显著增加。因此,本实验在前期研究的基础上将选定最优辐照剂量,选择经⁶⁰Co- γ 射线辐照后的桦褐孔菌与未辐照桦褐孔菌制得多糖,研究其对小鼠的抗疲劳效果,为辐照桦褐孔菌多糖在抗疲劳方面的开发与利用提供理论性参考。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

雄性昆明种小鼠30只,体重(19±1)g 延边大学动物实验中心(生产许可证号:SCXK(吉)2009-0003);桦褐孔菌干样 长白山科学研究院提供并于四川省原子能研究院进行辐照处理;乙醇(85%)、浓硫酸(98%) 天津市科密欧化学试剂有限公司;葡萄糖粉剂 广西梧州制药(集团)股份有限公司;MDA、SOD、SUN 试剂盒、糖原测试盒、乳酸(LD)测试盒、乳酸脱氢酶(LDH)测试盒 南京建成生物工程研究所。

⁶⁰Co- γ 辐照源 四川省原子能研究院;DF-35型落地式连续投料粉碎机 温岭市林大机械有限公司;HWS-24型电热恒温水浴锅 上海一恒科学仪器有限公司;ScoutSE-SE202FZH型电子天平 常州奥豪斯仪器有限公司;TG16A-WS型离心机 上海卢湘仪器有限公司;CCA-1111-CE型旋蒸冷凝器 东京理化器械株式会社;LyoQuest-55实验型冷冻干燥机 西班牙 Telstar 集团公司;DTC-22B型真空泵 日本 ULUACKIKO 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 桦褐孔菌材料处理 将桦褐孔菌破碎,用40目型粉碎机进行粉碎成桦褐孔菌粉末。将桦褐孔菌粉末送至四川省原子能研究院进行辐照处理,以⁶⁰Co- γ 射线为辐照源,根据前期实验设计辐照剂量分别设为5、10、20、30 kGy,每组桦褐孔菌剂量率均为1 kGy/h,辐射距离37 cm,平铺厚度3 mm,重铬酸钾剂量计进行剂量追踪,辐照时间分别为5、10、20、30 h,重复三次。辐照处理后的桦褐孔菌置于冰箱冷藏室内4℃贮存备用。

1.2.2 桦褐孔菌多糖的提取 根据多项研究证实,使用乙醚或乙醇等有机溶液,可以脱去多糖中的脂类,防止多糖降解及含量的减少^[24]。利用热水浸提法,取不同辐照剂量(5、10、20、30 kGy)桦褐孔菌菌粉各10 g 分别放入四个烧杯中,未辐照的桦褐孔菌菌粉10 g 放入一个烧杯中,分别加入85%的乙醇(500 mL)并充分混合,80℃水浴2.5 h,冷却达到室温,3500 r/min离心5 min,抽滤取清液后旋蒸,置于平皿中充分冻干,即得粗多糖粉末。

1.2.3 最优辐照剂量的选定

1.2.3.1 葡萄糖标准曲线的测定 称取葡萄糖粉末5 mg,定容至50 mL,配制成0.1 mg/mL的母液,取

0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 葡萄糖溶液,后在各个烧杯中分别进行如下操作:用蒸馏水填补到 1 mL,加苯酚 0.6 mL,浓硫酸 3.6 mL,混合均匀,100 ℃ 水浴显色 20 min,降至室温并测得 490 nm 处的 OD 值,得到葡萄糖的标准曲线。

1.2.3.2 辐照剂量选定 桦褐孔菌经过提取过程获得多糖粉末后,称量辐照后的桦褐孔菌多糖粉末和未辐照粉末各 1 mg,分别进行以下操作:使用蒸馏水定容至 10 mL,混合试剂后,取 1 mL,加入苯酚和浓硫酸,全部混合,高温水浴 20 min,降至室温并测得 490 nm 处的 OD 值。测定桦褐孔菌多糖含量,确定最佳辐照剂量。

1.2.4 实验动物分组及给药 选取体重(19±1)g 的 SPF 级雄性昆明种小鼠,适应性喂养 7 d,按照体重随机分成 5 组,每组 6 只,即空白对照组、⁶⁰Co-γ 射线最佳辐照剂量桦褐孔菌多糖低剂量组、中剂量组、高剂量组、未辐照桦褐孔菌多糖高剂量组。三种剂量分别为 50、250、500 mg/kg·BW,空白对照组灌胃生理盐水,小鼠灌胃剂量 0.1 mL/10 g,实验剂量的确定参考其他研究中的剂量^[25]。每天记录体重、粮重、水重,持续灌胃 30 d。

1.2.5 小鼠试验前后体重、体重增加量与进食量测定 根据中华人民共和国卫生部颁布的《保健食品检验与评价技术规范》^[26] 的要求每天记录小鼠的体重、粮重、水重,喂养 30 d 后根据各组数据进行分析。

1.2.6 小鼠爬杆时间与力竭游泳时间测定 第 30 d 灌胃 1 h 后,进行爬杆实验。准备有机棒,将爬杆架放入水深 30 cm,水温(26±2)℃ 水箱中进行实验,使小鼠肌肉处于静力紧张状态,记录从实验开始到小鼠无力支撑从有机棒上掉落的时间^[27]。按以上实验方法,第 3 次跌落时终止实验,累计 3 次的总时间作为爬杆时间,实验结束后继续饲养。测定完爬杆时间后,休息 1 d,将小鼠放入水深约 30 cm、水温(26±2)℃ 水箱中进行游泳实验,使小鼠一直处于肌肉紧张状态。小鼠力竭的时间判断为头部沉入水中 10 s 内不返回水面,记录时间^[28-29],实验重复三次。

1.2.7 小鼠肝糖原、肌糖原、全血乳酸含量与乳酸脱氢酶活性的测定 小鼠游泳结束后休息 30 min,内眦取静脉血。脱颈处死后解剖取出小鼠肝脏,除去结缔组织。实验操作方法根据试剂盒方法,进行测定肝糖原储备量、肌糖原含量,测定全血乳酸含量^[30],测定血清中乳酸脱氢酶活性^[31]。

1.2.8 小鼠血清尿素氮含量、超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)测定 取游泳力竭后的立即处死的小鼠骨骼肌细胞,根据试剂盒说明要求制备成骨骼肌细胞匀浆。检测血清尿素氮含量与骨骼肌中 SOD 活力、MDA 含量。

1.3 统计学分析

本实验使用 SPSS 23.0 对整理后的实验数据进行统计学分析,计算各组均值与标准偏差,进行显著性差异分析。所得的数据以图表和均值±标准偏差($\bar{x}\pm SD$)的形式表示。 $P<0.05$ 表示有显著性差异, $P>0.05$ 表示无显著性差异即无统计学意义。

2 结果与分析

2.1 桦褐孔菌多糖最佳辐照剂量的选定

经测定,标准曲线为 $y=0.3299x+0.1833$ ($R^2=0.986$),多糖含量如下表所示,由表 1 得出,桦褐孔菌经⁶⁰Co-γ 辐照后,随着辐照剂量的增大,多糖含量增加,且 20 kGy 处理增加最显著($P<0.05$),可能是因为产物中含有酸性物质或含有羧基基团的物质,龚志华^[32]通过对茯苓不同辐照剂量处理多糖相对分子量和组分分析表明,茯苓辐照后,水溶性总糖的数均相对分子质量(M_n)、重均相对分子质量(M_w)以及多分散系数(PI)均不同程度地增大;同时,茯苓辐照降解产物的多糖组成分析结果显示:茯苓经 1000 kGy 辐照剂量处理后,降解产物主要是以酸性多糖为主。辐照剂量过高可能导致多糖分子结构发生改变,从而导致多糖含量下降。当辐照剂量为 20 kGy 时,桦褐孔菌菌粉中提取出的多糖含量最高,故本实验选取辐照剂量为 20 kGy 的桦褐孔菌用于后续的动物实验。

表 1 不同辐照剂量处理后的多糖含量

Table 1 Polysaccharide content after treatment with different irradiation doses

辐照剂量(kGy)	0	5	10	20	30
多糖含量(%)	26.09±1.23 ^c	50.05±0.74 ^d	74.29±1.44 ^c	86.66±0.19 ^a	81.77±1.57 ^b

注:不同字母表示具有显著性差异($P<0.05$)。

2.2 桦褐孔菌多糖对小鼠基础指标的影响

2.2.1 小鼠实验前后体重、增加量与进食量结果 由表 2 结果可知,30 d 灌胃药品并未对小鼠体重有明显影响,且未出现任何异常,各剂量组间动物体重增加量基本一致。其他四组摄食量比空白对照组高,灌胃组进水量相比于空白组较高,且在每天换一次垫料的条件下,与对照组相比,其他组垫料较湿润,小鼠

表 2 实验前后小鼠指标结果

Table 2 Mouse index results before and after the test

组别(n=6)	实验初体重(g)	实验末体重(g)	体重增加量(g)	进食量(g)	进水量(g)
CK	21.07±0.48	46.31±2.27	25.24±2.49	76.75	56.93
辐照低剂量组	20.83±0.60	46.34±2.24	25.51±2.40	116.78	119.05
辐照中剂量组	21.48±0.33	45.06±2.92	24.18±2.67	108.27	77.39
辐照高剂量组	20.77±0.83	48.67±3.17	27.91±3.52	97.53	84.38
未辐照高剂量组	21.04±0.82	47.10±1.26	26.07±1.37	106.37	80.52

毛发柔顺具有光泽,较活泼,且精力旺盛。结果表明,经灌胃后小鼠摄食量、进水量增加,且毛色更加有光泽。

2.2.2 力竭游泳与爬杆时间研究结果 运动时间的长短,直接反映了药物的效果,即抗疲劳效果。给药组随着给药剂量的增加,爬杆时间与力竭游泳时间均有不同程度的增加。

结果如表3所示,与CK相比,辐照桦褐孔菌多糖的中、高剂量组与未辐照组小鼠力竭游泳和爬杆时间均有显著差异($P<0.05$),CK与辐照低剂量组无显著差异($P>0.05$)。由此说明,经桦褐孔菌多糖干预后小鼠游泳与爬杆运动时间均得到提高,其中,未辐照组与辐照高剂量组效果有显著差异($P<0.05$)。曹利丹^[33]通过小鼠负重游泳实验结果得出桦褐孔菌多糖能够显著延长小鼠游泳时间。辐照高剂量组显著增加了小鼠游泳和爬杆时间,因此,辐照桦褐孔菌多糖比未辐照桦褐孔菌多糖能更明显地延长小鼠游泳与爬杆时间,且在500 mg/kg·BW(辐照高剂量)灌胃剂量下有效增加小鼠运动的时间。

表3 小鼠力竭游泳与爬杆时间结果

Table 3 Mice exhausted swimming and pole climbing time results

组别(n=6)	游泳运动时间(min)	爬杆运动时间(min)
CK	22.47±0.90 ^d	3.56±0.52 ^e
辐照低剂量组	23.71±1.63 ^{cd}	3.89±0.48 ^e
辐照中剂量组	24.92±0.54 ^c	6.60±1.02 ^b
未辐照高剂量组	31.46±2.11 ^b	7.44±0.70 ^a
辐照高剂量组	33.81±1.34 ^a	7.84±0.54 ^a

注:同列不同字母表示具有显著性差异($P<0.05$);表4~表8同。

2.2.3 小鼠肝糖原、肌糖原含量检测结果 糖原是人体储备能量的一种形式,在体内葡萄糖降低的时候能够分解为葡萄糖供能,同时脂肪及蛋白质在葡萄糖降低的时候也会通过糖异生的途径转化为肝糖原从而提供能量。肌糖原的主要作用也是为机体提供能量。运动时体力衰竭是运动促进了糖原的消耗,为了维持糖原的水平,导致机体中糖原分解速度的加快^[34]。

由表4可知,与CK比较,经桦褐孔菌多糖干预后的肌糖原含量均显著升高($P<0.05$),CK与低剂量组对肝糖原含量无显著差异($P>0.05$),这可能是由于辐照低剂量组灌胃剂量少,对肝糖原含量影响较小。高剂量组中肝糖原、肌糖原含量最高,且相同浓度作用下,未辐照组肝糖原、肌糖原含量显著低于辐

表4 各组小鼠肝糖原、肌糖原含量

Table 4 Contents of liver glycogen and muscle glycogen in each group of mice

组别(n=6)	肌糖原含量(mg·g ⁻¹)	肝糖原含量(mg·g ⁻¹)
CK	4.59±0.18 ^d	19.39±0.47 ^c
辐照低剂量组	5.29±0.06 ^c	20.36±0.83 ^c
辐照中剂量组	7.60±0.17 ^b	25.58±1.09 ^b
未辐照高剂量组	7.64±0.17 ^b	26.38±0.83 ^b
辐照高剂量组	10.58±0.03 ^a	28.90±1.11 ^a

照组($P<0.05$)。黄铃^[35]通过小鼠灌胃桦褐孔菌多糖测定肝糖原含量得出,多糖各剂量组小鼠的肝糖原含量均高于对照组,证实了此实验对抗疲劳效果的有效性,因此辐照桦褐孔菌多糖有能明显增加小鼠肝糖原、肌糖原储备量的作用。

2.2.4 小鼠全血中乳酸含量检测结果 一般运动时机体会进行无氧呼吸,产生大量乳酸,造成缺氧,使得体内乳酸堆积,所以一般运动后会出现身体酸痛的情况,造成疲劳现象,所以产生乳酸的浓度与疲劳产生程度有很大的关系,且呈正比。

如表5所示,与CK相比,其他组乳酸含量均有所下降,且呈剂量依赖性。辐照桦褐孔菌多糖的低、中、高剂量组与未辐照组小鼠BLA含量均有显著差异($P<0.05$),未辐照高剂量组与辐照高剂量组差异不显著($P>0.05$)。ZHONG等^[36]通过小鼠游泳实验,证明了桦褐孔菌多糖能够增加肝糖原含量,降低全血乳酸含量。从而可知,乳酸的产生会使机体产生疲劳现象,辐照桦褐孔菌多糖能够降低小鼠乳酸含量,缓解运动中无氧呼吸造成的乳酸堆积现象。

表5 各组小鼠BLA含量

Table 5 BLA content of mice in each group

组别(n=6)	乳酸含量(mmol·L ⁻¹)
CK	18.95±1.92 ^a
辐照低剂量组	16.49±0.67 ^b
辐照中剂量组	15.75±0.46 ^b
未辐照高剂量组	12.83±0.52 ^c
辐照高剂量组	12.52±0.34 ^c

2.2.5 小鼠血清中乳酸脱氢酶活性检测结果 血清中的乳酸脱氢酶是一种体内能量代谢过程中产生的酶,在肝脏等组织中广泛存在。通过检测乳酸脱氢酶的活性,可以有效为医学病理学提供帮助,例如心脑血管病、动脉硬化及肝病等大多数疾病^[37]。乳酸含量与清除乳酸的乳酸脱氢酶活性是评价机体疲劳和抗疲劳能力的重要指标。

如表6所示,与CK相比,其他组都增加了乳酸脱氢酶活性,辐照桦褐孔菌多糖的低、中、高剂量组与未辐照组小鼠LDH活性均有显著差异($P<0.05$),未辐照组LDH活性显著低于辐照组($P<0.05$),且辐照组呈浓度依赖性。乳酸脱氢酶能够加速乳酸的代谢,维持机体乳酸平衡,从而减少机体中乳酸产生,减轻疲劳症状。此实验证实辐照高剂量组对增强小鼠运动时LDH活性有显著效果。

表6 各组小鼠血清中LDH活性

Table 6 LDH activity in mouse serum of each group

组别(n=6)	LDH活性(U·L ⁻¹)
CK	2593.23±361.77 ^d
辐照低剂量组	3569.56±213.01 ^c
辐照中剂量组	4527.94±250.58 ^b
未辐照高剂量组	4812.63±251.16 ^b
辐照高剂量组	5308.80±310.93 ^a

2.2.6 小鼠血清尿素氮含量检测结果 正常情况下, 机体尿素的生成与排泄处于平衡状态, 机体经过长时间运动时不能获得代谢所得的足够能量, 导致蛋白质、氨基酸的分解代谢水平上升, 进而使血液中尿素氮含量有所上升^[38]。机体的抗疲劳能力在一定程度上体现为减少机体中血清尿素氮含量。

如表 7 所示, 与 CK 相比, 辐照桦褐孔菌多糖的中、高剂量组与未辐照组血清尿素氮含量均有显著差异($P<0.05$), 随着灌胃剂量的增加, 血清尿素氮含量相应减少。CK 组经过长时间运动后血清尿素氮含量迅速上升, 辐照高剂量组能够显著降低血清尿素氮含量, 且显著低于未辐照高剂量组($P<0.05$)。实验证明经过辐照桦褐孔菌多糖干预能够有效降低血清尿素氮含量, 缓解疲劳症状。

表 7 各组小鼠血清尿素氮含量
Table 7 Urea nitrogen content in mouse serum of each group

组别(n=6)	血清尿素氮含量(mmol·L ⁻¹)
CK	9.94±0.78 ^a
辐照低剂量组	9.32±0.62 ^{ab}
辐照中剂量组	8.81±0.78 ^b
未辐照高剂量组	8.72±0.43 ^b
辐照高剂量组	7.93±0.51 ^c

2.2.7 小鼠 SOD 活力、MDA 含量检测结果 机体运动时自由基增多, 会导致细胞膜的结构与功能下降, 产生疲劳, 自由基与多不饱和脂肪酸反应形成过氧化脂质, 代谢生成丙二醛(MDA)^[39]。SOD 是体内清除超氧阴离子自由基最重要的酶。

如表 8 所示, 与 CK 相比, 辐照桦褐孔菌多糖的中、高剂量组与未辐照组小鼠骨骼肌细胞中 SOD 活力、MDA 含量均有显著差异($P<0.05$), 经过力竭测试后, 小鼠骨骼肌中 MDA 含量上升, 辐照高剂量组能够显著降低骨骼肌中 MDA 含量($P<0.05$), 且显著低于未辐照组; 辐照高剂量组能够显著增加骨骼肌中 SOD 活性($P<0.05$), 且显著高于未辐照组, 说明辐照桦褐孔菌多糖具有清除自由基的作用, 从而减少代谢生成 MDA, 对自由基造成的机体损害具有保护作用。

表 8 各组小鼠 SOD 活力、MDA 含量
Table 8 SOD activity and MDA content in mouse of each group

组别(n=6)	SOD(nU·mg ⁻¹)	MDA(nmol·mg ⁻¹)
CK	7.51±0.30 ^d	3.57±0.18 ^a
辐照低剂量组	9.07±0.50 ^c	3.24±0.45 ^a
辐照中剂量组	10.46±0.42 ^b	2.76±0.41 ^b
未辐照高剂量组	10.58±0.54 ^b	2.95±0.52 ^b
辐照高剂量组	11.44±1.29 ^a	2.28±0.37 ^c

3 讨论与结论

疲劳是一种疲惫和缺乏能量的亚健康状态, 已成为影响世界 20 % 以上人口的严重问题。疲劳

常分为中枢疲劳和外周疲劳, 外周疲劳是指由于过度训练而使肌肉功能下降从而导致的不良生理状态^[40]。据报道, 组织糖原的消耗是外周疲劳的一个关键因素^[41]。能量资源的持续供应和代谢副产物的消除可以恢复外周疲劳^[42]。此外, 体内氧化系统和抗氧化系统之间的平衡会被剧烈运动破坏, 导致活性氧化物和丙二醛的过量产生。这些过氧化物也会导致身体疲劳^[43]。

据报道, 力竭性游泳运动会导致一些与疲劳有关的血液生化指标的变化, 如乳酸和尿素氮^[44], 碳水化合物糖酵解将葡萄糖转化为乳酸。乳酸的过度积累导致肌肉和血液 pH 下降, 并抑制糖酵解相关酶的产生和 ATP 的合成, 导致肌肉疲劳。肝脏和骨骼肌中的糖原水平可以反映疲劳程度, 糖原的水平直接决定了身体的运动耐力^[45]。

本研究讨论了辐照桦褐孔菌多糖对于小鼠抗疲劳能力的影响, 结果表明, 在 5、10、20、30 kGy 辐照剂量中, 经过⁶⁰Co- γ 射线辐照处理后的桦褐孔菌菌粉, 提取所获得的多糖含量最多的为 20 kGy 下的辐照剂量。通过给小鼠灌胃辐照桦褐孔菌多糖, 测定其对小鼠力竭游泳时间和相关抗疲劳的生化指标的影响, 实验表明, 辐照桦褐孔菌多糖不会对小鼠的生长及发育造成不良影响, 且可有效延长小鼠力竭游泳时长与爬杆时间, 提高体内肝糖原和肌糖原的水平, 增加 LDH、SOD 的活性, 并有效延缓 BLA、SUN 及 MDA 的积累, 且经⁶⁰Co- γ 射线辐照处理后的桦褐孔菌多糖作用要优于未辐照组, 推测由于辐照后多糖含量增加, 纯度有所上升, 营养物质得到保留。孙熙洽等^[46]探讨了⁶⁰Co- γ 射线辐照处理对红景天乙醇提取物抗氧化及美白作用的影响, 得出 20 kGy 的⁶⁰Co- γ 射线辐照处理红景天乙醇提取物的抗氧化活性最强, 并具有良好的美白功效, 提示辐照处理能够提高植物活性。ZHANG 等^[47]通过游泳测试等相关指标测定发现桦褐孔菌多糖 PIO-1 不仅具有延缓身体疲劳的巨大潜力, 而且改善精神疲劳。

综上所述, 经⁶⁰Co- γ 射线辐照处理后的桦褐孔菌多糖具有比未辐照桦褐孔菌多糖更好的抗疲劳活性, 说明其能够在一定程度上缓解疲劳症状, 发挥其营养价值与保健功效, 这为辐照桦褐孔菌多糖在抗疲劳方面的开发与利用提供理论性参考。

参考文献

[1] 刘睿, 康家伟, 珠娜, 等. 核桃低聚肽对亚健康大鼠氧化应激和炎症反应的影响[J]. 食品工业科技, 2020, 41(4): 316–321. [LIUR, KANG J W, ZHU N, et al. Effects of walnut oligopeptides on oxidative stress and inflammation in sub-healthy rats[J]. Food Industry Science and Technology, 2020, 41(4): 316–321.]

[2] 黄桂丹. ⁶⁰Co- γ 射线辐射育种研究进展[J]. 林业与环境科学, 2016, 32(2): 107–111. [HUANG G D. Research progress of ⁶⁰Co- γ -ray radiation breeding[J]. Forestry and Environmental Science, 2016, 32(2): 107–111.]

[3] PEDERSEN T H, NIELSEN O B, LAMB G D, et al. Stephen-

- son intracellular acidosis enhances the excitability of working muscle[J]. Science, 305(2004): 1144-1147.
- [4] 闫立珠, 刘光斌. 金锁二仙口服液提高肾虚小鼠体能及抗疲劳的实验研究[J]. 临床合理用药杂志, 2017, 10(1): 100-101.
- [YAN L Z, LIU G B. Experimental study of Jinsuo Erxian oral liquid on improving physical performance and anti-fatigue in mice with kidney deficiency[J]. Journal of Clinical Rational Use, 2017, 10(1): 100-101.]
- [5] 朴成浩. 辐照处理长白山红景天抗氧化和抗疲劳作用研究[D]. 延吉: 延边大学, 2020. [PIAO C H. Research on the anti-oxidation and anti-fatigue effects of *Rhodiola radiata* in Changbai Mountain[D]. Yanji: Yanbian University, 2020.]
- [6] 李欣. 黑灵芝多糖缓解运动性疲劳的效果[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(4): 59-65. [LI X. The effect of black *Ganoderma* polysaccharide on relieving exercise fatigue[J]. Food Research and Development, 2021, 42(4): 59-65.]
- [7] 黄年来. 俄罗斯神秘的民间药用真菌—桦褐孔菌[J]. 中国食用菌, 2002, 21(4): 7-8. [HUANG N L. The mysterious folk medicinal fungus in Russia—*Inonotus obliquus*[J]. Edible Fungus in China, 2002, 21(4): 7-8.]
- [8] 李艳青, 齐婷婷, 郭婷婷, 等. 桦褐孔菌乙酸乙酯提取物抗食管癌作用的研究[J]. 生物技术通讯, 2019, 30(1): 15-19. [LI Y Q, QI T J, GUO T T, et al. Anti-esophageal cancer effect of ethyl acetate extract of *Inonotus obliquus*[J]. Biotechnology Communications, 2019, 30(1): 15-19.]
- [9] 马丹丹, 汪雯翰, 薛蓓, 等. 桦褐孔菌降糖活性成分及治疗糖尿病机制研究进展[J]. 南京师大学报(自然科学版), 2019, 42(4): 111-117. [MA D D, WANG W H, XUE B, et al. Research progress on the hypoglycemic active ingredients of *Inonotus obliquus* and the mechanism of treatment of diabetes[J]. Journal of Nanjing Normal University(Natural Science Edition), 2019, 42(4): 111-117.]
- [10] GLAMO C LIJA J, C IRIC A, NIKOLIC M, et al. Chemical characterization and biological activity of chaga(*Inonotus obliquus*), a medicinal "mushroom"[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2015, 162: 323-332.
- [11] DU X J, MU H M, ZHOU S, et al. Chemical analysis and antioxidant activity of polysaccharides extracted from *Inonotus obliquus* sclerotia[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013(62): 691-696.
- [12] 王梦雅, 赵超祺, 薛娇, 等. 桦褐孔菌纯化多糖体外降血糖活性研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(10): 316-320, 326. [WANG M Y, ZHAO Z Z, XUE J, et al. In vitro hypoglycemic activity of purified polysaccharide from *Inonotus obliquus*[J]. Food Industry Science and Technology, 2020, 41(10): 316-320, 326.]
- [13] 魏振华, 陈妮, 范秋领, 等. 桦褐孔菌多糖对糖尿病大鼠糖脂代谢水平的影响[J]. 菌物研究, 2020, 18(3): 195-200. [WEI Z H, CHEN N, FAN Q L, et al. Effects of *Inonotus obliquus* polysaccharides on the level of glucose and lipid metabolism in diabetic rats[J]. Mycology Research, 2020, 18(3): 195-200.]
- [14] 崔杰, 于新, 王立勋, 等. 桦褐孔菌化学成分和药理作用研究进展[J]. 河北中医药学报, 2017, 32(3): 48-53. [CUI J, YU X, WANG L X, et al. Research progress on the chemical constituents and pharmacological effects of *Inonotus obliquus*[J]. Hebei Journal of Traditional Chinese Medicine, 2017, 32(3): 48-53.]
- [15] BALANDAYKIN M E, ZMITROVICH I V. Review on chaga medicinal mushroom, *Inonotus obliquus*(higher basidiomycetes): Realm of medicinal applications and approaches on estimating its resource potential[J]. Int J Med Mushrooms, 2015, 17(2): 95-104.
- [16] SHIBNEV V A, GARAEV T M, FINOGENOVA M P, et al. Antiviral activity of aqueous extracts of the birch fungus *Inonotus obliquus* on the human immunodeficiency virus[J]. Voprosy Virusologii, 2015, 60(2): 35.
- [17] 孔广红, 柳颀, 倪书邦. 澳洲坚果接穗⁶⁰Co- γ 射线辐射诱变育种适宜剂量的研究[J]. 西南农业学报, 2016, 29(1): 39-43.
- [KONG G H, LIU G, NI S B. Study on the appropriate dose of ⁶⁰Co- γ ray radiation mutation breeding for macadamia scion[J]. Southwest Agricultural Journal, 2016, 29(1): 39-43.]
- [18] 陈湘霞. 辐照对食品中营养成分的影响分析[J]. 技术与市场, 2017, 24(9): 67-68. [CHEN X X. Analysis of the influence of irradiation on the nutritional components of food[J]. Technology and Market, 2017, 24(9): 67-68.]
- [19] 李斌, 杨泰, 肖洪, 等. 辐照对食品品质的影响及辐照食品的研究进展[J]. 粮食与油脂, 2019, 32(4): 4-6. [LI B, YANG Q, XIAO H, et al. The effect of irradiation on food quality and the research progress of irradiated food[J]. Cereals and Oils, 2019, 32(4): 4-6.]
- [20] SONG HY, KIM HM, KIM WS, et al. Effect of γ -irradiation on the anti-oxidant and anti-melanogenic activity of black ginseng extract in B16F10 melanoma cells[J]. Radiat Phys Chem, 2018, 149: 33-40.
- [21] 王润. 食品辐照保藏技术对食品品质的影响以及安全性讨论[J]. 现代食品, 2015(13): 56-58. [WANG R. The influence of food radiation preservation technology on food quality and safety discussion[J]. Modern Food, 2015(13): 56-58.]
- [22] PATHAK B, OMRE P K, BISHT B, et al. Effect of thermal and non-thermal processing methods on food allergens[J]. Progressive Research—An International Journal, 2018(13): 314-319.
- [23] 陈浙娅, 殷朝敏, 史德芳, 等. 辐照处理对裂褶菌多糖理化性质及生物活性的影响[A]. 中国菌物学会, 2019: 1. [CHEN Z Y, YIN C M, SHI D F, et al. The effect of irradiation treatment on the physicochemical properties and biological activity of *Schizophyllum* polysaccharide[A]. Chinese Society of Mycology, 2019: 1.]
- [24] 高洋, 邹丹, 付雯雯, 等. 桦褐孔菌不同乙醇浓度提取物中有效成分含量测定[J]. 长春中医药大学学报, 2020, 36(6): 1157-1159. [GAO Y, WU D, FU W W, et al. Determination of active ingredients in different ethanol concentrations of *Inonotus obliquus* extracts[J]. Journal of Changchun University of Traditional Chinese Medicine, 2020, 36(6): 1157-1159.]
- [25] 张淑萍, 王亚军, 胡春荣, 等. 刺五加提取物对睡眠剥夺小鼠抗氧化抗疲劳作用的研究[J]. 黑龙江医药科学, 2015, 38(6): 1-3. [ZHANG S P, WANG Y J, HU C R, et al. Study on the anti-oxidant and anti-fatigue effects of *Acanthopanax senticosus* extract on sleep deprived mice[J]. Black Longjiang Medical Science, 2015, 38(6): 1-3.]

- [26] 中华人民共和国卫生部. 保健食品检验与评价技术规范[S]. 北京: 清华同方电子出版社, 2003: 87-93. [Ministry of Health of the People's Republic of China. Technical specifications for health food inspection and evaluation[S]. Beijing: Tsinghua Tongfang Electronic Press, 2003: 87-93.]
- [27] 林伟龙, 李兆安, 蔡金艳. 复方赤灵芝营养粉对小鼠抗疲劳作用和氧化损伤模型小鼠的影响[J]. 广东药科大学学报, 2019, 35(2): 242-245. [LIN W L, LI Z A, CAI J Y. The effect of compound red *Ganoderma lucidum* nutritional powder on the anti-fatigue effect of mice and oxidative damage model mice[J]. Journal of Guangdong Pharmaceutical University, 2019, 35(2): 242-245.]
- [28] ZENG Y, ZHANG J, ZHANG Y, et al. Prebiotic, immunomodulating and antifatigue effects of konjac oligosaccharide[J]. *Food Sci*, 2018, 83(12): 3110-3117.
- [29] MATSUOKA R, KIMURA M, UNO S, et al. Egg white hydrolysate improves fatigue due to short-term swimming load test in mice[J]. *Food Sci*, 2018, 6(8): 2314-2320.
- [30] 席晓志, 郭弘, 郭莎莎. 洋参蒺藜多糖片的制备及其抗疲劳功能研究[J]. *中国食品添加剂*, 2018, 10(2): 67-72. [XI X Z, GUO H, GUO S S. Preparation of *Tribulus terrestris* polysaccharide tablets and its anti-fatigue function[J]. *China Food Additives*, 2018, 10(2): 67-72.]
- [31] 史得君, 黄柏中, 崔清美. 黑参对昆明种小鼠的抗疲劳作用研究[J]. 延边大学农学学报, 2016, 38(3): 204-208. [SHI D J, HUANG B S, CUI Q M. Study on the anti-fatigue effect of black ginseng on Kunming mice[J]. Journal of Agricultural Science Yanbian University, 2016, 38(3): 204-208.]
- [32] 龚志华. 茯苓辐照降解及其产物生物活性研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2010. [GONG Z H. Radiation degradation of *Poria* and the biological activity of its products[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2010.]
- [33] 曹利丹. 桦褐孔菌多糖对小鼠抗运动疲劳的影响[J]. 赤峰学院学报, 2017, 33(22): 149-150. [CAO L D. The effect of *Inonotus obliquus* polysaccharides on resistance to exercise fatigue in mice[J]. Journal of Chifeng University, 2017, 33(22): 149-150.]
- [34] 赵小宁. 牛大力抗疲劳药效筛选及其作用机理研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2015. [ZHAO X N. Anti-fatigue efficacy screening of *Niu Dali* and its mechanism of action[D]. Guangzhou: Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, 2015.]
- [35] 黄铃. 桦褐孔菌液体发酵工艺及其多糖抗疲劳的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2011. [HUANG L. Study on the liquid fermentation process of *Inonotus obliquus* and the anti-fatigue of its polysaccharides[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2011.]
- [36] ZHONG X H, ZHONG Y, YANG S Y. Effect of *In-onotus obliquus* polysaccharides on physical fatigue in mice[J]. *Tradit Chin Med*, 2015, 35(4): 468-472.
- [37] 焦迎春, 旷慧, 吴嘉南. 柴达木大肥菇多糖对小鼠的抗疲劳作用[J]. 现代食品科技, 2018, 34(8): 24-30. [JIAO Y C, KUANG H, WU J N. Anti-fatigue effect of Chaidamu big fat mushroom polysaccharide on mice[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2018, 34(8): 24-30.]
- [38] 郭瑞. 白藜芦醇抗疲劳作用及其机理研究[J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(24): 174-179. [GUO R. Research on the anti-fatigue effect of resveratrol and its mechanism[J]. *Food Research and Development*, 2018, 39(24): 174-179.]
- [39] 侯登勇, 张建, 何颖, 等. 核桃分心木水提物抗疲劳作用研究[J]. 中国食物与营养, 2021, 27(9): 73-77. [HOU D Y, ZHANG J, HE Y, et al. Study on the anti-fatigue effect of the water extract of walnut distracted wood[J]. *Chinese Food and Nutrition*, 2021, 27(9): 73-77.]
- [40] Prinsen H, DIJK J P V, ZWARTS M J, et al. The role of central and peripheral muscle fatigue in postcancer fatigue: A randomized controlled trial[J]. *Pain Symptom Manag*, 2015, 49: 173-182.
- [41] LUO C H, XU X R, WEI X C, et al. Natural medicines for the treatment of fatigue: Bioactive components, pharmacology and mechanisms[J]. *Pharmacol Res*, 2019, 148: 1-22.
- [42] WANG P X, ZENG H L, LIN S L, et al. Anti-fatigue activities of hairtail(*Trichiurus lepturus*) hydrolysate in an endurance swimming mice model[J]. *Funct Foods*, 2020: 74.
- [43] YANG D K, LEE S J, ADAM G O, et al. *Aralia continentalis* kitagawa extract attenuates the fatigue induced by exhaustive exercise through inhibition of oxidative stress[J]. *Antioxidants*, 2020, 9: 379.
- [44] ZHONG L, MA N, ZHENG H H, et al. *Tuber indicum* polysaccharide relieves fatigue by regulating gut microbiota in mice[J]. *Funct Foods*, 2019, 63: 103580.
- [45] WAN J J, QIN Z, LEI H, et al. Erythromycin has therapeutic efficacy on muscle fatigue acting specifically on orosomucoid to increase muscle bioenergetics and physiological parameters of endurance[J]. *Pharmacol Res*, 2020, 161: 105118.
- [46] 孙熙澄, 齐欣, 崔承弼. 辐照红景天乙醇提取物的抗氧化作用及美白作用研究[J]. 食品工业科技, 2020, 41(23): 325-331. [SUN X H, QI X, CUI C B. Study on the antioxidant and whitening effects of irradiated ethanol extract of *Rhodiola rosea*[J]. *Food Industry Science and Technology*, 2020, 41(23): 325-331.]
- [47] ZHANG C J, GUO J Y, CHENG H, et al. Spatial structure and anti-fatigue of polysaccharide from *Inonotus obliquus*[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 151: 855-860.