

紫花地丁多糖理化特性分析及其对小鼠运动耐力作用

陈文博¹, 任平社^{1*}, 李华文²

(1. 陕西科技大学体育部, 陕西西安 710021) (2. 陕西科技大学食品与生物工程学院, 陕西西安 710021)

摘要: 探究紫花地丁多糖 (*Viola philippica* Polysaccharide, VPP) 的理化特性, 研究其对小鼠运动耐力的作用。对粗多糖和纯化多糖进行理化特性指标测定, 通过小鼠力竭游泳实验, 测定小鼠血清生化代谢指标和肝脏氧化应激水平。结果表明, VPP 分离纯化得到两个主要组分 VPP-A (55.45%)、VPP-B (45.32%), 分别进一步纯化得到 VPP-A1 和 VPP-B1。VPP-A1、VPP-B1 重均分子量分别为 2.532×10^6 、 5.843×10^5 g/mol, VPP-A1 由甘露糖、葡萄糖、岩藻糖组成, 摩尔比为 1.76:1:0.21, VPP-B1 由葡萄糖、岩藻糖、葡萄糖醛酸组成, 摩尔比为 1:1.16:1.73。VPP-A1 和 VPP-B1 均具有一定持水性和持油性, 且具有较好的热稳定性。与 CON 相比, VPP、VPP-A1、VPP-B1 组小鼠力竭游泳时间分别显著提高了 74.26%、31.99%、45.83% ($P<0.05$); 肝糖原和肝糖原含量分别显著提高了 151.18%、52.44%、77.48% 和 117.26%、50.53%、74.53% ($P<0.05$); 肝糖原、肝糖原含量分别显著降低了 50.23%、23.24%、32.50% 和 56.94%、33.63%、45.01% ($P<0.05$); 同时 VPP、VPP-A1、VPP-B1 均显著提高了小鼠肝脏抗氧化酶活性, 降低了丙二醛含量, 缓解了肝脏的氧化应激损伤。综上所述, 紫花地丁多糖具有显著提高小鼠运动耐力的作用, 且粗多糖作用效果要优于纯化多糖。该研究为紫花地丁多糖深入开发成运动功能性食品提供了研究基础。

关键词: 紫花地丁; 多糖; 理化特性; 氧化应激; 运动耐力

文章编号: 1673-9078(2025)08-29-39 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.8.0651

Analysis of the Physicochemical Properties of *Viola philippica* Polysaccharide and Its Effect on Exercise Endurance in Mice

CHEN Wenbo¹, REN Pingshe^{1*}, LI Huawen²

(1. Shanxi University of Science and Technology PE Department, Xi'an 710021, China)
(2. College of Food and Biotechnology, Shanxi University of Science and Technology, Xi'an 710021, China)

Abstract: To explore the physicochemical properties of *Viola philippica* Polysaccharide (VPP) and its effect on the exercise endurance in mice, the physicalcochemical properties of crude and purified polysaccharides were determined. The serum biochemical metabolism indexes and liver oxidative stress levels of mice were measured after exhaustive swimming experiments. The results showed that VPP could be separated and purified into two main components, VPP-A (55.45%) and VPP-B (45.32%), which were further purified to yield VPP-A1 and VPP-B1. The weight-average molecular weights of VPP-A1 and VPP-B1 were 2.532×10^6 and 5.843×10^5 g/mol, respectively. VPP-A1 was composed of mannose, glucose, and fucose in a molar ratio of 1.76:1.00:0.21, whilst VPP-B1 was composed of glucose, fucose, and glucuronic acid in a molar

引文格式:
陈文博,任平社,李华文.紫花地丁多糖理化特性分析及其对小鼠运动耐力作用[J].现代食品科技,2025,41(8):29-39.
CHEN Wenbo, REN Pingshe, LI Huawen. Analysis of the physicochemical properties of *Viola philippica* polysaccharide and its effect on exercise endurance in mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(8): 29-39.

收稿日期: 2024-05-11
基金项目: 陕西省科技支撑重点项目 (SXKJZD202203582); 武汉圣百隆科技有限公司横向课题 (SBL202300257)
作者简介: 陈文博 (1985-), 男, 讲师, 研究方向: 运动营养学, 体育教育, 运动耐力的影响因素等, E-mail: chenwenbo085613@163.com
通讯作者: 任平社 (1974-), 男, 副教授, 研究方向: 运动耐力的影响因素, E-mail: 15838284398@163.com

ratio of 1.00:1.160:1.73. Both VPP-A1 and VPP-B1 had certain water- and oil-holding properties, as well as good thermal stability. Compared with CON, the exhaustive swimming time of mice in the VPP, VPP-A1, and VPP-B1 groups increased significantly by 74.26%, 31.99%, and 45.83% ($P<0.05$), respectively, their hepatic glycogen and muscle glycogen contents significantly increased by 151.18%, 52.44%, 77.48%, and 117.26%, 50.53%, 74.53%, respectively ($P<0.05$), and their blood lactate and blood urea nitrogen levels were significantly reduced by 50.23%, 23.24%, 32.50% and 56.94%, 33.63%, 45.01%, respectively ($P<0.05$). Meanwhile, VPP, VPP-A1, and VPP-B1 all significantly improved the activities of antioxidant enzymes in the mice's livers, reduced their contents of malondialdehyde, and alleviated oxidative stress damage to their livers. In summary, VPP had a significant improving effect on the exercise endurance of mice, and such an effect of the crude polysaccharide was greater than those of the purified polysaccharides. This study provides a research foundation for the in-depth development of *Viola philippica* polysaccharide into sports functional foods.

Key words: *Viola philippica*; polysaccharide; physicochemical properties; oxidative stress; exercise endurance

机体在高强度或持续运动状态下的最大承受耐力称为运动耐力。长期的超负荷运动会出现身体疲劳、免疫力降低等运动性疲劳现象。运动性疲劳可归因于体内糖原大量消耗、代谢物质积累以及氧自由基对细胞造成氧化损伤^[1]。近年来,大量研究表明补充植物源多糖能够有效提高机体的运动耐力,涉及作用机理包括提高机体糖原储备,提高乳酸、氨素氮代谢产物的分解,提高细胞内抗氧化酶活性。权树琳等^[2]以灰树花多糖为补充剂,作用于疲劳小鼠,能够显著提高小鼠糖原储备、降低血乳酸和血尿素氮,同时还显著提高了小鼠体内抗氧化酶活性,提高小鼠运动耐力。任广泉等^[3]以玉木耳多糖为补充剂,发现其具有提高小鼠糖原水平,抑制血清废弃物的积累,同时提高乳酸的降解速度和减少蛋白质分解,显著提升小鼠运动时间。Wong等^[4]以黄芪多糖为补充剂,发现其显著提高了小鼠握力和力竭游泳时间。目前已有部分药食同源多糖被开发成运动营养食品^[5]。可见,补充天然多糖物质对提高机体运动耐力的研究已成为食品营养领域研究热点。

紫花地丁(*Viola philippica*),又名野堇菜、箭头草,属多年生草本植物,是我国一味传统的中草药^[6]。《本草纲目》记载紫花地丁性寒、味微苦,具有清热解毒的作用。现代医学研究确认,紫花地丁具有抗肿瘤、抗炎消肿、抗氧化、保肝护肝等功效。紫花地丁主要含有黄酮、多酚、多糖、香豆素、生物碱、倍半萜类和氨基酸等成分,其中多糖(*Viola philippica* Polysaccharide, VPP)是紫花地丁最重要的活性成分之一^[7]。目前,对紫花地丁多糖已有较多研究,如 Xu 等^[8]研究发现 VPP 通过提高猪圆环病毒 2 型免疫小鼠的特异性免疫球蛋白 G 抗体及其亚类、细胞因子和 T 细胞亚群的水平,达到增强小

鼠免疫力的作用。袁会成等^[9]研究发现 VPP 具有抑制肿瘤细胞增殖的作用,符佳等^[10]研究发现 VPP 抑制了脂多糖诱导的巨噬细胞抗炎因子的分泌,降低了细胞炎症水平。已有研究表明 VPP 具有明显的抗氧化和抗炎作用,推测其具有一定的抗疲劳活性。目前,对紫花地丁多糖的研究大部分还集中在多糖提取和抗肿瘤抗炎作用上,而关于其对运动疲劳的研究还鲜有报道。因此,本研究通过水提醇沉获得紫花地丁多糖,解析其结构特性;构建小鼠负重游泳模型,测定小鼠疲劳性相关生化指标,探究紫花地丁多糖提高小鼠运动耐力的作用,实验数据能够为紫花地丁的深入开发和利用提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

紫花地丁、灵芝(赤芝),河北祁冠中药材科技有限公司(采集自金华市武义县寿仙谷灵芝基地);紫花地丁粗多糖和灵芝多糖,武汉圣百隆科技有限公司经热水浸提、乙醇沉淀得到;SPF 级雄性小鼠:生产许可证 SCXK(陕)2023-004,质量(20±2)g,陕西医药控股集团生物制品有限公司;单糖标准品(HPLC≥98%),上海惠诚生物科技有限公司;葡聚糖分子量标准品(CAS 编号,9004-54-0),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;乙腈、甲醇(HPLC 级),南京化学试剂股份有限公司;其他化学试剂均为分析纯,南京化学试剂股份有限公司;小鼠生化指标测定试剂盒,南京建成生物工程研究所。

RE 5L 旋转蒸发器,郑州杜甫仪器厂;GX 2501 真空冷冻干燥仪,杭州富睿捷科技有限公司;M 1324R 低温离心机,瑞沃德生命科技有限公司;FA 2004B 分析天平,上海精密仪器仪表有限

公司; LC-20A 高效液相色谱仪, 日本岛津公司; SpectraMax i3x 多功能酶标仪, 美谷分子仪器(上海)有限公司; GPC-1600 凝胶色谱仪, 月旭科技(上海)股份有限公司; TGA8000 热重分析仪, 珀金埃尔默企业管理(上海)有限公司。

1.2 方法

1.2.1 紫花地丁粗多糖提取及分离纯化

取干燥紫花地丁根茎 500 g, 中药材粉碎机粉碎, 过 100 目筛, 收集紫花地丁粉末。加入 3 倍体积 (m/V) 的无水乙醇浸泡过夜。收集浸泡后的紫花地丁粉末, 37 °C 烘箱干燥。加入 5 倍体积 (m/V) 的蒸馏水, 95 °C 水浴 6 h。8 层纱布过滤, 收集滤液。滤液通过旋转蒸发仪浓缩, 最终体积为 100 mL。加入 2 000 mL 无水乙醇醇沉, 4 °C 冰箱过夜, 离心收集沉淀。沉淀即为紫花地丁粗多糖。称取粗多糖提取物 50 g, 加入 150 mL 蒸馏水溶解, 加入 Sevag 试剂反复震荡, 分液漏斗分离, 直到中间层无蛋白产生为止。加入无水乙醇沉淀, 沉淀再依次经丙酮、乙醚洗涤。蒸馏水溶解沉淀倒入 3 500 Da 透析袋中, 透析 72 h, 渗透液经 50 °C 旋转蒸发浓缩, 最后冷冻干燥得到粗多糖粉末。称取 10 g 粉末, 100 mL 蒸馏水溶解, 经过 DEAE-52 离子交换层析柱, 分别经蒸馏水和浓度为 0.1、0.3、0.5 mol/L 氯化钠溶液洗脱, 苯酚-硫酸法测定洗脱液吸光值。将收集到最大量的洗脱液再经葡聚糖凝胶柱层析进一步纯化, 洗脱液经过透析袋除盐后, 真空冷冻干燥得到白色紫花地丁多糖粉末纯品。

1.2.2 紫花地丁多糖理化特性分析

1.2.2.1 紫花地丁多糖化学成分分析

分别测定紫花地丁多糖样品中总糖、还原糖、糖醛酸、蛋白质、游离酚、结合酚和硫酸基含量。以葡聚糖为标准品, 采用苯酚-硫酸法测定总糖含量^[11], 测得总糖回归方程为 $Y=1.254\ 41X+0.021\ 52$, $R^2=0.998\ 6$ 。以葡萄糖作为标准品, 采用 3,5-二硝基水杨酸法测定还原糖含量^[12], 测得还原糖回归方程为 $Y=0.021\ 44X+0.032\ 15$, $R^2=0.999\ 1$ 。以半乳糖醛酸为标准品, 采用间羟基联苯法测定糖醛酸含量^[13], 测得糖醛酸回归方程为 $Y=0.003\ 68X+0.001\ 42$, $R^2=0.999\ 3$ 。以牛血清蛋白为标准品, 采用考马斯亮蓝法测定蛋白质含量^[14], 测得蛋白质回归方程为 $Y=0.475\ 25X+0.0148\ 6$, $R^2=0.998\ 9$ 。VPP 样品中游离酚和结合酚提取方法参考 Diana 等^[15]方法, 以

没食子酸为标准品, 采用福林酚法分别测定游离酚和结合酚含量, 测定游离酚和结合酚回归方程分别为 $Y=0.004\ 14X+0.0054$, $R^2=0.997\ 5$, $Y=0.136\ 67X+0.001\ 48$, $R^2=0.999\ 4$ 。硫酸钡比浊法测定硫酸基含量^[16], 测得硫酸基回归方程为 $Y=0.564\ 32X+0.004\ 11$, $R^2=0.999\ 7$ 。

1.2.2.2 紫花地丁多糖分子量测定

参考窦祖满^[17]方法, 以不同分子量葡聚糖为标准品, 响应值 nRIU 为纵坐标, 出峰时间为横坐标建立标准曲线, 检测紫花地丁多糖的分子量大小, 分别计算重均分子量 (M_w) 和数均分子量 (M_n)。

1.2.2.3 紫花地丁多糖形貌观察

使用扫描电子显微镜 (Scanning Electron Microscope, 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溅射镀膜机进行金溅射镀膜, 然后使用 SEM 进行显微观察。样品在 15.0 kV 加速电压下进行检查, 并在不同倍放大倍率下拍摄多糖的代表性显微照片。

1.2.2.4 紫花地丁多糖平均粒径、电位大小测定

称取分离纯化后的紫花地丁多糖粉末 0.5 g, 用蒸馏水配制质量浓度为 1 mg/mL 的多糖溶液。使用马尔文纳米粒度电位仪对紫花地丁多糖溶液进行平均流体力学半径和电位测定, 并计算分散性指数。

1.2.2.5 紫花地丁多糖单糖组成分析

采用高效液相色谱法测定紫花地丁多糖的单糖组成, 测定方法参考徐湘等^[18]方法。配制不同浓度的甘露糖、葡萄糖、岩藻糖、葡萄糖醛酸标准品, 以色谱峰面积和单糖浓度建立标准品回归方程, 得到甘露糖回归方程为 $Y=1.36\times 10^5X+231.25$, $R^2=0.999\ 2$, 葡萄糖回归方程为 $Y=2.15\times 10^5X-114.72$, $R^2=0.998\ 9$ 、岩藻糖回归方程为 $Y=1.83\times 10^5X-88.64$, $R^2=0.999\ 5$, 葡萄糖醛酸回归方程为 $Y=1.12\times 10^4X+823.14$, $R^2=0.999\ 6$ 。

1.2.2.6 紫花地丁多糖持水性能和持油性能测定

持水性能测定: 将样品在 50 °C 烘箱中烘干至恒重, 准确称取 1 g 烘干样品, 放入 250 mL 烧杯中, 加入 100 mL 蒸馏水, 保鲜膜密封, 在 25 °C 恒温磁力搅拌器上搅拌 12 h, 然后 5 000 r/min 离心 10 min, 去掉全部上清液, 沉淀物称重。持油性能测定: 准确称取 1 g 烘干样品, 放入 250 mL 烧杯中, 加入 100 mL 玉米油, 其他步骤同。

$$C_1 = \frac{W_1 - W_0}{W_0} \quad (1)$$

$$C_2 = \frac{A_1 - A_0}{A_0} \quad (2)$$

式中:

C_1 ——持水力, g/g;

W_1 ——水沉淀物质量, g;

W_0 ——烘干样品质量, g;

C_2 ——持油力, g/g;

A_1 ——油沉淀物质量, g;

A_0 ——烘干样品质量, g。

1.2.2.7 紫花地丁多糖热稳定性分析

参考罗虹建等^[19]方法, 利用热重分析仪检测紫花地丁多糖的热稳定性。检测环境: 高纯氮气, 工作温度: 50~700 °C, 流量: 50 mL/min; 温度变化速率: 20 °C/min。

1.3 小鼠运动耐力实验

1.3.1 力竭游泳试验

紫花地丁粗多糖(VPP)经过分离纯化后得到2个主要组分, 记为VPP-A1和VPP-B1, 小鼠运动耐力试验共设计5个处理组, 空白对照组(CON)、阳性对照组(灵芝多糖)、紫花地丁粗多糖组(VPP)、紫花地丁纯化多糖VPP-A1组(VPP-A1)、紫花地丁纯化多糖VPP-B1组(VPP-B1)。小鼠适应性饲养一周后, 进行游泳预实验, 剔除不合格小鼠。选取50只合格小鼠, 每个处理组10只, 一笼5只。CON组灌胃生理盐水, 阳性对照灌胃灵芝纯化多糖, VPP组灌胃去蛋白透析后的粗多糖, VPP-A1组灌胃紫花地丁纯化多糖VPP-A1组分, VPP-B1组灌胃紫花地丁纯化多糖VPP-B1组分, 所有组别灌胃剂量参考Cai等^[20]方法, 根据小鼠质量灌胃剂量为0.1 g/(kg·bw), 灌胃体积0.2 mL。试验连续开展5周, 每天上午10点对小鼠进行称重灌胃, 每周连续灌胃7 d。最后一次灌胃结束后, 小鼠休息2 h, 开展力竭游泳试验。每组随机选取5只小鼠, 在其尾根处系上体质量5%的铅块, 放入水温(30±1) °C中, 用玻璃棒在小鼠四周轻微搅动, 确保小鼠四肢处于紧张游泳状态。当小鼠头部沉入水下7 s未起来时, 将小鼠捞出, 记录放入水中到捞出的时间, 即为力竭游泳时间。

1.3.2 小鼠体内糖原和代谢产物含量测定

选取剩下的全部小鼠, 进行不负重游泳, 放入游泳箱中游泳30 min, 吹干毛发, 休息60 min, 麻醉后颈椎脱臼处死, 眼球采血, 3 000 r/min 低温离

心5 min, 取上清液(血清)待测。解剖小鼠, 小心剥离后腿肌肉和肝脏, 剔除附着的脂肪组织, 无菌生理盐水清洗干净, 无菌滤纸吸干表面水分, 分别称取1 g肌肉组织和肝脏组织, 分别加入9 mL生理盐水, 研磨制成质量分数为10%的匀浆, 离心取上清液待测。用试剂盒分别测定血清中血乳酸(Blood Lactic Acid, BLA)、血尿素氮(Blood Urea Nitrogen, BUN)含量和肌肉中肌糖原(Muscle Glycogen, MG)含量、肝脏组织中肝糖原(Hepatic Glycogen, HG)含量。

1.3.3 小鼠肝脏氧化应激指标测定

取1.3.2中制备的肝脏组织悬液, 采用试剂盒测定肝脏组织内丙二醛(Malondialdehyde, MDA)含量和超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione Peroxidase, GSH-Px)活性。

1.4 数据分析

采用SPSS 22.0软件对数据进行处理, 单因素方差分析, 数据标注形式($\bar{x} \pm s$), 组间数据使用Duncan多重比较, 以 $P < 0.05$ 表示数据间差异显著, Origin 2021作图。

2 结果与分析

2.1 紫花地丁粗多糖分离纯化

图1a显示, 50 g紫花地丁粗多糖经纤维素柱层析分离得到3个组分, 分别为VPP-A、VPP-B和VPP-C, 其中VPP-A经蒸馏水分离得到, 真空冷冻干燥后质量为9.56 g, 占比55.45%, VPP-B经0.1 mol/L NaCl溶液洗脱得到, 真空冷冻干燥后质量为8.72 g, 占比45.32%, VPP-C经0.3 mol/L NaCl溶液洗脱得到, 真空冷冻干燥后质量为0.96 g, 占比4.99%。选取纯化得率较高的VPP-A和VPP-B进行后续试验, VPP-A和VPP-B进一步经葡聚糖凝胶柱层析, 图1b显示, VPP-A只有一个洗脱峰, 多糖纯度较高, 命名为VPP-A1。图1c显示, VPP-B同样也只有一个洗脱峰, 命名为VPP-B1。研究认为经蒸馏水洗脱得到的多糖为中性多糖, 而经NaCl溶液洗脱得到的多糖为酸性多糖^[21]。这说明分离纯化得到的紫花地丁多糖VPP-A1为中性多糖, VPP-B1为酸性多糖。可见, 紫花地丁多糖中既含有中性多糖又含有酸性多糖。

表 1 紫花地丁多糖化学成分含量 (%)

Table 1 Chemical composition content of polysaccharide in <i>Viola philippica</i> (%)							
多糖类型	总糖	还原糖	糖醛酸	蛋白质	游离酚	结合酚	硫酸基
VPP	68.47 ± 2.57	15.68 ± 0.84	3.26 ± 0.94	18.37 ± 0.47	0.94 ± 0.05	1.21 ± 0.04	8.64 ± 0.12
VPP-A1	87.69 ± 2.61	16.94 ± 0.95	/	0.74 ± 0.01	0.75 ± 0.03	1.67 ± 0.08	/
VPP-A2	88.42 ± 2.83	17.22 ± 1.02	5.37 ± 1.22	0.66 ± 0.04	0.82 ± 0.05	1.78 ± 0.06	3.28 ± 0.35

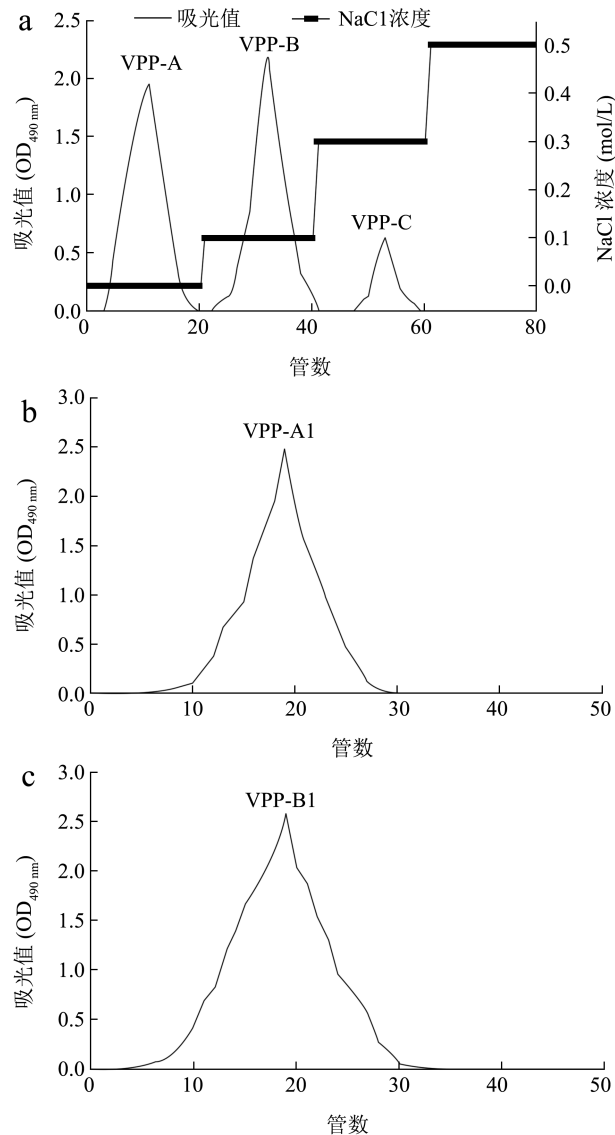


图 1 紫花地丁多糖洗脱曲线

Fig.1 Elution curve of *Viola philippica* polysaccharide
注：a. VPP 纤维素柱层析洗脱曲线；b. VPP-A 葡聚糖凝胶柱层析洗脱曲线；c. VPP-B 葡聚糖凝胶柱层析洗脱曲线。

2.2 紫花地丁多糖化学组成分析

测得紫花地丁多糖化学成分含量见表 1。VPP 中含有还原糖、糖醛酸、蛋白质、硫酸基以及少量的游离酚和结合酚，其中蛋白质质量分数占比高达 18.37%，说明 VPP 经过 Sevag 试剂难以全部清除掉蛋白质。经过纤维素柱层析得到的多糖 VPP-A1 和

VPP-B1 中总糖和还原糖含量明显提高，VPP-A1 未检测到糖醛酸和硫酸基，而 VPP-B1 中糖醛酸含量占比 5.37%，硫酸基含量占比 3.28%，进一步验证了 VPP-A1 为中性多糖，VPP-B1 为酸性多糖。另外，VPP-A1 和 VPP-B1 中都含有少量的游离酚、结合酚和蛋白质，这表明紫花地丁多糖在植物中可能以糖蛋白或糖肽的形式存在，现有的分离纯化技术还不足以完全打断多糖与蛋白质之间的化学键，纯化的紫花地丁多糖也包含一定的蛋白质。紫花地丁中含有多种多酚类化合物，如黄酮类、酚酸类、黄酮甙等。这些化合物具有抗氧化性和生物活性，在提取过程中，它们可能以游离形式存在或与多糖类物质结合。最终测定结果中，可能存在一定量的游离酚和结合酚。刘艳秋等^[22]研究发现纯化后的轮叶党参多糖同样含有少量蛋白质；王焕燃等^[23]研究发现纯化后的白块菌多糖仍含有 1.3%~1.6% 蛋白质。本研究结果同样显示纯化后的紫花地丁多糖含有 0.66%~0.74% 的蛋白质。这些研究共同表明植物多糖和食用菌多糖中存在少量的糖蛋白，以致多糖中蛋白质不能被全部清除，糖蛋白或者糖肽形式的存在，也可能为多糖复杂的生理活性提供了结构支撑。

2.3 紫花地丁多糖形貌观察

从图 2 可以看出，紫花地丁分离纯化得到的两种多糖 VPP-A1 和 VPP-B1 的微观形态存在较大差异，VPP-A1 颗粒表面粗糙，颗粒间部分聚合成线条型呈树枝状或网状，多糖内分子间交联程度高；VPP-B1 颗粒表面同样粗糙，大部分呈颗粒粉末状，少部分多糖聚合在一起呈团状。VPP-A1 不仅颗粒比 VPP-B1 大，其分子间交联作用也大于 VPP-B1。

2.4 紫花地丁多糖分子量、平均流体力学半径和电位大小测定

从图 3a 可知，葡聚糖分子量标准曲线为 $Y(\lg Mw/Mn) = 0.030 1X + 0.662 4$, $R^2 = 0.999 3$ 。从图 3b 可知，色谱图中 VPP-A1 的出峰时间在 10.85 min，VPP-B1 的出峰时间在 16.76 min，分别代入标准曲线计算多糖分子量大小，结果见表 2。VPP-A1 的重均

分子量和数均分子量大小分别为 2.532×10^6 g/mol 和 1.825×10^6 g/mol, VPP-B1 的重均分子量和数均分子量大小分别为 2.532×10^6 g/mol 和 1.825×10^6 g/mol。同时测得 VPP-A1 多分散系数为 0.664, VPP-B1 多分散系数为 0.735。研究认为在一定范围内小分子量多糖生物活性要高于大分子量多糖, 小分子量多糖更易透过细胞膜被机体吸收利用, 同时多糖 PDI 越大, 分子量分布越宽, PDI 越小, 分子量分布越均匀, 稳定性越好^[24]。VPP-B1 分子量小于 VPP-A1, 且 VPP-B1 的 PDI 小于 VPP-A1, 可推测酸性多糖 (VPP-B1) 的生物活性要高于中性多糖 (VPP-A1)。孙永进^[25]和刘养山^[26]分别研究发现从西番莲和冠县灵芝中分离纯化的多糖中, 得到的酸性多糖分子量和 PDI 要小于中性多糖, 本研究结果同样证明了这一点。另外, 从表 2 还可知, VPP-B1 的平均粒径小于 VPP-A1, VPP-B1 平均 Zeta 电位绝对值要大于 VPP-A1, 进一步表明 VPP-B1 的溶液体系更稳定。

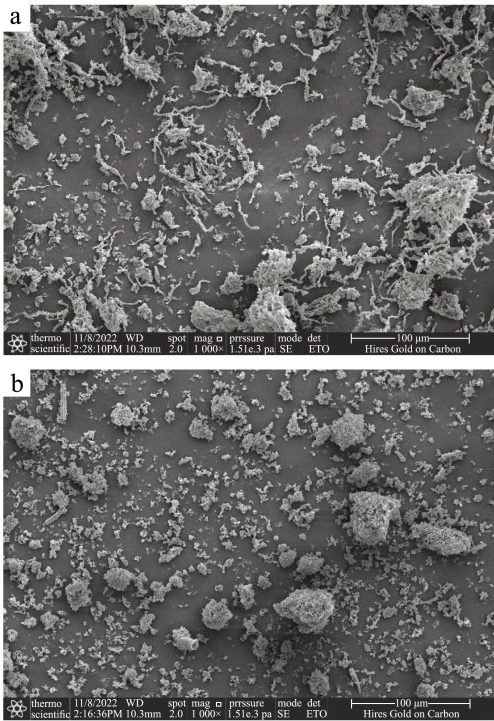


图 2 紫花地丁多糖电镜扫描图

Fig.2 Electron microscopy scanning image of polysaccharides from purple clover

注: a 图为 VPP-A1 电镜扫描图, b 图为 VPP-B1 电镜扫描图。

2.5 紫花地丁多糖的单糖组成

从图 4 色谱图可知, VPP-A1 主要由甘露糖、葡萄糖、岩藻糖组成的杂多糖, VPP-B1 主要由葡萄糖、岩藻糖、葡萄糖醛酸组成的杂多糖。紫花地

丁多糖的单糖组成见表 3, VPP-A1 中甘露糖最多, 岩藻糖最少, 具体单糖摩尔比为甘露糖:葡萄糖:岩藻糖=1.76:1:0.21, VPP-B1 中葡萄糖醛酸占比最大, 葡萄糖含量最低, 具体的单糖摩尔比为葡萄糖:岩藻糖:葡萄糖醛酸=1:1.16:1.73。耿敏等^[27]发现经去离子水洗脱得到的多糖组分中不含有葡萄糖醛酸, 而经 NaCl 溶液洗脱得到的多糖组分中含有一定量的葡萄糖醛酸, 赵小亮等^[28]同样研究发现经去离子水洗脱得到的半夏多糖中不含有葡萄糖醛酸, 而经 NaCl 溶液得到的多糖组分中均含有葡萄糖醛酸。上述学者的研究结果可进一步佐证本研究中 VPP-A1 为中性多糖, VPP-B1 为酸性多糖。

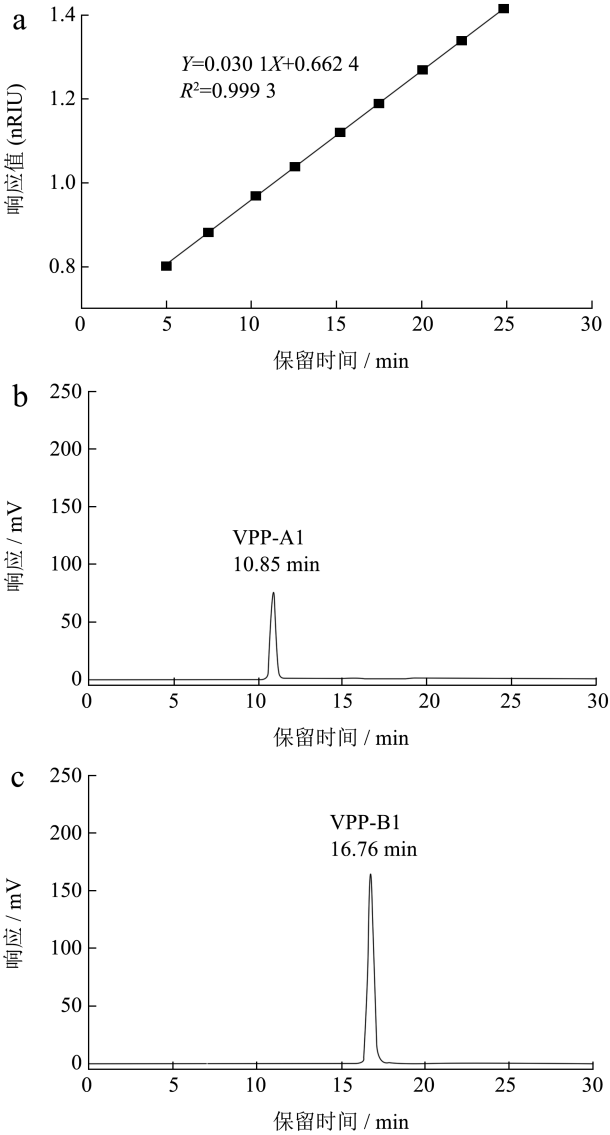


图 3 紫花地丁多糖分子量分布图

Fig.3 Molecular weight distribution of *Viola philippica* polysaccharide

注: a 为紫花地丁多糖分子量线性方程图; b 为 VPP-A1 分子量色谱图; c 为 VPP-B1 分子量色谱图。

表 2 紫花地丁多糖分子量、平均粒径和平均Zeta电位测定

Table 2 Determination of molecular weight, average particle size and average zeta potential of <i>Viola philippica</i> polysaccharide					
多糖类型	重均分子量 (<i>M_w</i>)/(g/mol)	数均分子量 (<i>M_n</i>)/(g/mol)	多分散系数 PDI	平均流体力学半径/nm	平均 Zeta 电/mV
VPP-A1	2.532×10 ⁶	1.825×10 ⁶	0.864	853.47	-23.74
VPP-B1	5.843×10 ⁵	5.322×10 ⁵	0.735	674.35	-30.75

表 3 紫花地丁多糖的单糖组成

Table 3 Monosaccharide composition of <i>Viola philippica</i> polysaccharides				
样品	单糖组成/%			
	甘露糖 (Man)	葡萄糖 (Glu)	岩藻糖 (Fuc)	葡萄糖醛酸 (GlcUA)
VPP-A1	57.25±0.87	32.48±1.02	6.47±0.34	/
VPP-B1	/	20.35±0.82	23.64±1.11	35.18±1.35

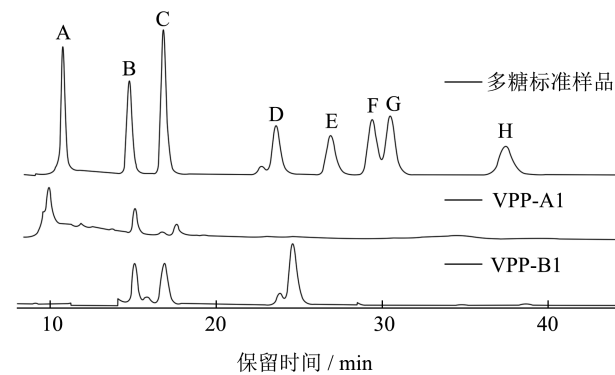


图 4 紫花地丁多糖单糖组成色谱图

Fig.4 Chromatographic diagram of the monosaccharide composition of *Viola philippica* polysaccharides

注: A. 甘露糖, B. 葡萄糖, C. 岩藻糖, D. 葡萄糖醛酸, E. 核糖, F. 半乳糖, G. 阿拉伯糖, H. 鼠李糖。

2.6 紫花地丁多糖持水性能和持油性能测定

多糖常常作为食品添加剂和改良剂，其持水性能和持油性能是重要的理化特性指标。研究认为多糖持水性高于 1.6 低于 3 时，可以作为食品添加剂和质地改良剂，改善食品的硬度和粘度，多糖持油性大于 3 时，具有提高高脂肪食物和乳制品的稳定性，可以作为食品添加剂的稳定剂。从表 4 可知，紫花地丁多糖和纯化后的多糖持水性在 1.6~1.8 之间，持油性在 3.1~3.6 之间，说明紫花地丁多糖可以较好的作为食品添加剂来改良食品特性。紫花地丁粗多糖（VPP）的持水性要高于纯化多糖 VPP-A1 和 VPP-B1，而 VPP 持油性要低于 VPP-A1 和 VPP-B1，且酸性多糖 VPP-B1 的持水性和持油性均高于中性多糖 VPP-A1。本研究与钟思彦等^[29]研究结果均表明纯化后酸性多糖的持水性和持油性要高于中性多糖。

表 4 紫花地丁多糖的持水性能和持油性能

Table 4 Water-holding and oil-holding properties of polysaccharide from *Viola philippica*

多糖类型	持水性能/(g/g)	持油性能/(g/g)
VPP	1.72 ± 0.04	3.18 ± 0.11
VPP-A1	1.61 ± 0.03	3.32 ± 0.13
VPP-A2	1.68 ± 0.05	3.61 ± 0.15

2.7 紫花地丁多糖热稳定性分析

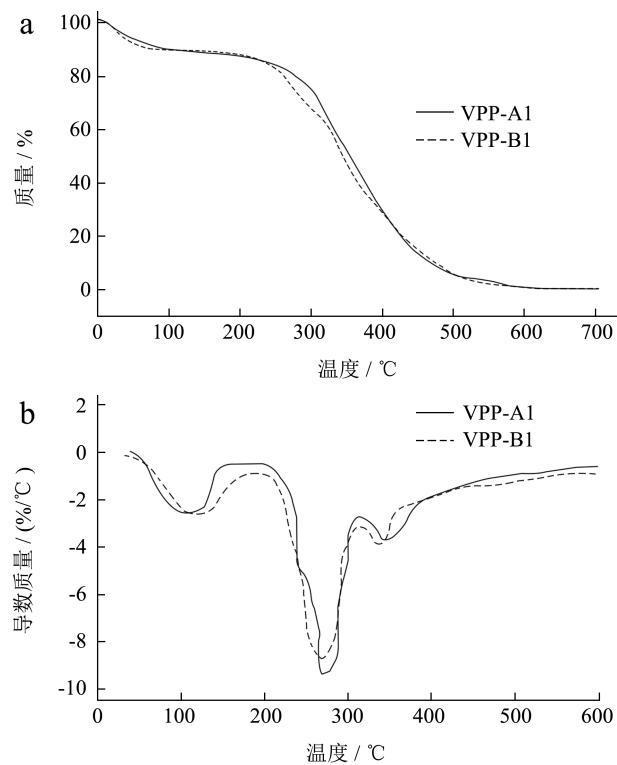


图 5 紫花地丁多糖热重分析曲线

Fig.5 Thermogravimetric analysis curve of *Viola philippica* polysaccharides

注: a. 热重曲线图; b. 微分热重曲线图。

表 5 紫花地丁多糖对小鼠体质量的影响
Table 5 Effects of *Viola philippica* polysaccharides on body weight of mice

分组	小鼠质量/g					
	第 0 周	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周	第 5 周
CON	20.35 ± 0.85 ^a	21.84 ± 1.02 ^a	23.05 ± 0.68 ^a	25.22 ± 1.05 ^a	27.33 ± 1.72 ^a	29.78 ± 1.87 ^a
阳性对照	20.67 ± 0.74 ^a	22.08 ± 0.87 ^a	23.17 ± 0.87 ^a	25.45 ± 1.12 ^a	37.18 ± 1.53 ^a	30.15 ± 2.14 ^a
VPP	19.68 ± 0.61 ^a	21.89 ± 1.33 ^a	22.86 ± 0.96 ^a	25.07 ± 1.35 ^a	27.86 ± 1.46 ^a	28.96 ± 2.55 ^a
VPP-A1	20.13 ± 0.82 ^a	21.79 ± 0.83 ^a	22.89 ± 0.83 ^a	24.97 ± 1.24 ^a	27.15 ± 20.1 ^a	29.74 ± 1.89 ^a
VPP-B1	19.87 ± 0.79 ^a	20.92 ± 0.64 ^a	23.15 ± 0.92 ^a	25.14 ± 1.16 ^a	27.93 ± 0.68 ^a	30.26 ± 1.82 ^a

注：同列右肩相同的小写字母表示不具有显著差异（ $P>0.05$ ）。

从图 5 可知，VPP-A1 和 VPP-B1 热分解均为 3 个阶段，热重曲线图走势较一致。第一阶段温度在 50~150℃，VPP-A1 和 VPP-B1 质量下降分别为 18.94% 和 19.12%，该阶段主要是由于多糖内结合水的蒸发，多糖内含有较多的亲水基团，可持有一定的结合水^[30]。第二阶段温度升高至 200~350℃，VPP-A1 和 VPP-B1 质量下降分别为 75.45% 和 74.16%，多糖在此阶段内部发生了剧烈的分解方法，该阶段主要是多糖内部连接的糖苷键和其他化学键的断裂，此外，此阶段中 VPP-A1 最高热分解温度要稍微高于 VPP-B1，说明 VPP-A1 和 VPP-B1 均具有较高 $T_{\max}$ 值，两张多糖热稳定性较好，VPP-A1 的热稳定性要稍微高于 VPP-B1^[31]。第三阶段温度在 450~600℃，两种多糖质量变化率较小，趋于平缓，此阶段主要是多糖结构的碳化转变成灰分。邢慧珍等^[32]、马婷等^[33]分别在研究淡竹叶多糖和羊栖菜多糖热重分析时，均发现多糖热重-微分曲线图分为 3 个阶段，这与本文研究紫花地丁多糖的热重曲线走势相近，且这 3 个阶段的热重温度变化同样与本研究结果高度相似。

2.8 紫花地丁多糖对小鼠体质量和力竭游泳时间的影响

从表 5 可知，在 5 周的实验期间，各组小鼠体质量均逐渐增加，分别在实验前和实验的第 1、2、3、4、5 周时，CON、阳性对照（灵芝多糖）、VPP、VPP-A1、VPP-B1 组间小鼠体质量均不存在显著差异（ $P>0.05$ ）。说明灵芝多糖、紫花地丁粗多糖和纯化多糖均对小鼠体质量增加没有促进和抑制作用，小鼠体质量的增加属于正常的生理生长，表明中药材灵芝多糖和紫花地丁多糖对小鼠生长没有毒副作用。从图 6 可知，与 CON 相比，阳性对照组、VPP、VPP-A1、VPP-B1 组小鼠力竭游泳时间分别显著提高了 52.69%、74.26%、31.99%、45.83%（ $P<0.05$ ）。与阳性对照组相比，VPP 组小鼠力竭游泳时间显著提高了 14.13%。

与 VPP 组相比，VPP-A1 组、VPP-B1 组小鼠的力竭游泳时间分别显著降低了 24.26%、16.32%（ $P<0.05$ ）。可见，紫花地丁纯化多糖对提高小鼠运动耐力的作用没有粗多糖效果显著，这与靳铁柱^[34]的研究结果相反，其认为纯化后的桑葚多糖抗疲劳作用强于粗多糖，可能原因是紫花地丁粗多糖经过纯化后清除掉了一些其他活性物质，导致紫花地丁纯化多糖活性有所降低。此外，紫花地丁酸性多糖提高小鼠运动耐力效果显著好于中性多糖。何静静等^[35]、刘宇^[36]分别在研究板栗果酒多糖和平菇多糖对小鼠的抗疲劳作用时，其结果表明经柱层析得到的酸性多糖的抗疲劳作用要优于中性多糖。这些研究结果进一步证实纯化后得到的酸性多糖具有比中性多糖更高的生物活性。

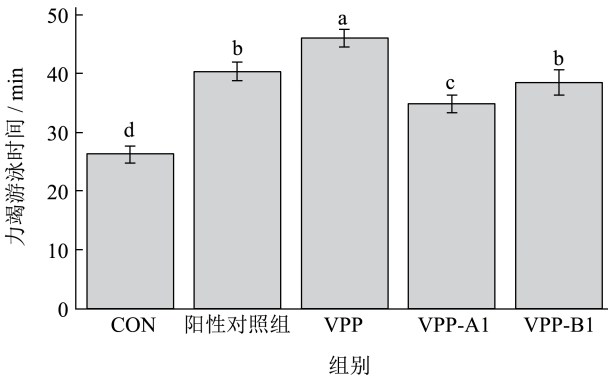


图 6 紫花地丁多糖对小鼠游泳时间的影响

Fig.6 Effect of *Viola philippica* polysaccharides on swimming time in mice

注：柱上不同小写字母表示组间差异显著（ $P<0.05$ ）。

2.9 紫花地丁多糖对小鼠糖原储备和代谢产物的影响

肝糖原（HG）和肌糖原（MG）是运动能量的主要来源，其水平影响运动耐力。血乳酸（BLA）和血尿素氮（BUN）是剧烈运动后产生的副产物，其堆积会降低耐力。从表 6 可知，与 CON 相比，阳性对照、VPP、VPP-A1、VPP-B1 组小鼠 HG

和 MG 含量均显著提高 ($P<0.05$), 分别提高了 115.43%、151.18%、52.44%、77.48% 和 88.21%、117.26%、50.53%、74.53%。与 VPP-A1 相比, VPP-B1 组小鼠 HG 和 MG 含量分别显著提高了 16.43% 和 15.94% ($P<0.05$)。此外, 与 CON 相比, 阳性对照、VPP、VPP-A1、VPP-B1 组小鼠血清内 BLA、BUN 含量分别显著降低了 39.92%、50.23%、23.24%、32.50% 和 51.21%、56.94%、33.63%、45.01% ($P<0.05$)。与 VPP-A1 相比, VPP-B1 组小鼠血清 BLA、BUN 含量分别显著降低了 12.06%、17.16% ($P<0.05$)。上述结果显示, 灵芝多糖和紫花地丁多糖均具有明显提高小鼠肝糖原和肌糖原含量的作用, 同时还具有降低血乳酸和血尿素氮水平的作用, 表明紫花地丁多糖具有显著的提高小鼠运动耐力的作用。杨雪等^[37]研究结果显示, 与猴头菇分离纯化得到的中性多糖相比, 其酸性多糖显著提高了小鼠体内糖原含量, 同时显著降低了 BLA、BUN 含量; 另外, Bai 等^[38]同样研究发现蛹虫草酸性多糖显著降低了小鼠体内疲劳代谢产物。在本研究紫花地丁酸性多糖提高小鼠体内糖原含量和降低代谢产物含量的效果要优于中性多糖。

2.10 紫花地丁多糖对小鼠肝脏氧化应激的影响

机体在剧烈运动后, 肝脏细胞内会产生大量

的活性氧, 使得细胞氧化应激水平急剧升高, 活性氧会诱导细胞内脂质过氧化生成丙二醛, 进而导致细胞膜透性增大, 器官受到氧化损伤。研究认为通过一定措施来提高细胞内抗氧化酶活性, 降低细胞的氧化应激水平可以提高机体的运动耐力。从表 7 可知, 与 CON 相比, 阳性对照、VPP、VPP-A1、VPP-B1 组小鼠肝脏 MDA 含量显著降低 ($P<0.05$), 抗氧化酶活性均显著升高 ($P<0.05$), 表明紫花地丁具有明显缓解运动疲劳小鼠肝脏氧化应激水平的作用。与 CON 相比, VPP、VPP-A1、VPP-B1 组小鼠肝脏 MDA 含量分别显著降低了 58.27%、27.34%、34.41% ($P<0.05$), SOD 活性分别显著升高了 80.87%、27.29%、35.15% ($P<0.05$), CAT 活性分别显著升高了 92.07%、28.39%、39.40% ($P<0.05$), GSH-Px 活性分别显著升高了 92.55%、33.86%、52.02% ($P<0.05$)。另外, 与 VPP-A1 相比, VPP-B1 组小鼠肝脏 MDA 含量显著降低了 9.74% ($P<0.05$), SOD、CAT、GSH-Px 活性分别显著升高了 6.17%、8.57%、13.57% ($P<0.05$)。上述结果表明, 紫花地丁明显提高了运动疲劳小鼠肝脏细胞抗氧化酶活性, 具有缓解肝脏细胞受到氧化应激损伤的作用, 且紫花地丁粗多糖降低细胞氧化应激水平的效果要优于纯化多糖, 纯化得到的酸性多糖效果要优于中性多糖。

表 6 紫花地丁多糖对小鼠肝糖原、肌糖原、血乳酸和血尿素氮水平的影响
Table 6 Effects of *Viola philippica* polysaccharides on hepatic glycogen, muscle glycogen, blood lactate, and blood urea nitrogen levels in mice

分组	HG/(mg/g)	MG/(mg/g)	BLA/(mmol/L)	BUN/(mmol/L)
CON	6.35 ± 0.86 ^c	4.75 ± 0.58 ^c	15.23 ± 1.38 ^a	14.84 ± 2.17 ^a
阳性对照	13.68 ± 1.12 ^b	8.94 ± 0.72 ^b	9.15 ± 1.08 ^d	7.24 ± 0.62 ^d
VPP	15.95 ± 1.35 ^a	10.32 ± 0.63 ^a	7.58 ± 1.14 ^c	6.39 ± 0.42 ^c
VPP-A1	9.68 ± 1.05 ^d	7.15 ± 0.51 ^d	11.69 ± 2.34 ^b	9.85 ± 0.39 ^b
VPP-B1	11.27 ± 0.94 ^c	8.29 ± 0.49 ^c	10.28 ± 2.01 ^c	8.16 ± 0.45 ^c

注: 同列右肩不同的小写字母表示差异显著 ($P<0.05$), 下同。

表 7 紫花地丁多糖对小鼠肝脏丙二醛含量和抗氧化酶活性的影响
Table 7 Effects of *Viola philippica* polysaccharide on the content of malondialdehyde and the activity of antioxidant enzymes in the liver of mice

分组	SOD/(U/mg)	CAT/(U/mg)	GSH-Px/(U/mg)	MDA/(nmol/mg)
CON	68.47 ± 7.82 ^c	12.36 ± 1.25 ^c	214.36 ± 18.35 ^c	8.34 ± 0.85 ^a
阳性对照	101.26 ± 9.47 ^b	21.69 ± 2.01 ^b	384.08 ± 21.47 ^a	4.82 ± 0.42 ^c
VPP	123.84 ± 11.35 ^a	23.74 ± 2.42 ^a	412.75 ± 26.18 ^b	3.48 ± 0.39 ^d
VPP-A1	87.16 ± 8.05 ^d	15.87 ± 1.68 ^d	286.94 ± 27.05 ^d	6.06 ± 0.81 ^b
VPP-B1	92.54 ± 6.18 ^c	17.23 ± 1.72 ^c	325.87 ± 17.64 ^c	5.47 ± 0.63 ^b

3 结论

经热水浸提和乙醇沉淀得到紫花地丁粗多糖(VPP),进一步通过纤维素柱层析和葡聚糖凝胶柱层析得到中性多糖 VPP-A1 和酸性多糖 VPP-B1。经检测 VPP-A1 和 VPP-B1 均含有还原糖以及少量的蛋白质、游离酚和结合酚。VPP-B1 还含有糖醛酸和硫酸基,而 VPP-B1 里没有。VPP-A1、VPP-B1 重均分子量分别为 2.532×10^6 g/mol 和 5.843×10^5 g/mol,数均分子量分别为 1.825×10^6 g/mol 和 5.322×10^5 g/mol, VPP-B1 的 PDI 和平均流体力学半径要小于 VPP-A1,平均电位绝对值要大于 VPP-A1,表明 VPP-B1 溶液体系稳定性要高于 VPP-A1。单糖组成研究发现, VPP-A1 主要由甘露糖、葡萄糖、岩藻糖组成,摩尔比为 1.76:1:0.21, VPP-B1 主要由葡萄糖、岩藻糖、葡萄糖醛酸组成,摩尔比为 1:1.16:1.73。另外,研究结果显示, VPP-B1 的持水性和持油性能要稍微高于 VPP-A1, VPP-A1 的热稳定性要稍微高于 VPP-B1。小鼠的力竭游泳试验结果表明, VPP、VPP-A1、VPP-B1 均可以通过提高小鼠体内肝糖原和肌糖原含量,降低小鼠血清疲劳代谢产物,以及降低小鼠肝脏内氧化应激水平来提高小鼠的运动耐力。本研究结果表明,紫花地丁多糖具有显著提高小鼠运动耐力的作用,且粗多糖作用效果要优于纯化多糖,酸性多糖作用效果要优于中性多糖。这为紫花地丁多糖的深入开发提供了理论参考,后续研究将对 VPP-A1、VPP-B1 的结构进行详细分析,同时从基因和蛋白表达水平来分析紫花地丁多糖的抗疲劳作用机制。

参考文献

- [1] 徐尚,蔡瑾如,胡玉龙.运动性疲劳相关研究热点及嬗变:基于文献计量及知识图谱分析[J].南京体育学院学报,2023,22(12):40-47.
- [2] 权树琳,张班,徐瑞豪,等.灰树花子实体多糖的结构特性分析及提高小鼠的运动耐力[J].现代食品科技,2023,39(10):25-34.
- [3] 任广泉,许志凌云,刘金秋,等.玉木耳多糖对小鼠的抗疲劳作用[J].食品与机械,2021,37(7):148-152.
- [4] WONG Y C, CHEN Y J, LI P H, et al. Enhanced anti-fatigue and exercise performances due to *Huang qi* polysaccharide supplementation in mice [J]. Arabian Journal of Chemistry, 2024, 17(3): 105583.
- [5] MEHNAZA M, PRIYANSHU S, MOHD M, et al. Fabrication, characterization, and interventions of protein, polysaccharide and lipid-based nanoemulsions in food and nutraceutical delivery applications: A review [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 241: 124485.
- [6] WANG K M, CHEN X H, LIU Z T, et al. The broad-scale accumulated and regulated patterns of leaf functional metabolites in two populations of the medicine-industrial plant *Viola philippica* [J]. Industrial Crops and Products, 2024, 211: 118216.
- [7] 顾生玖,姚志仁,顾超豪,等.基于响应面法优化紫花地丁多酚与黄酮的提取工艺[J].食品研究与开发,2022,43(9): 88-95.
- [8] XU T, HONG A C, ZHANG X L, et al. Preparation and adjuvanticity against PCV2 of *Viola philippica* polysaccharide loaded in Chitosan-Gold nanoparticle [J]. Vaccine, 2024, 42(10): 2608-2620.
- [9] 袁会成,赵良存,万学娜,等.紫花地丁多糖对A549细胞增殖抑制机理的研究[J].热带医学杂志,2020,20(8):1005-1008.
- [10] 符佳,陈加容,胡樱凡,等.紫花地丁提取物对LPS诱导 RAW 264.7细胞的体外抗炎作用[J].成都大学学报(自然科学版),2020,39(2):143-147,175.
- [11] 池源,王丽波.苯酚-硫酸法测定南瓜籽多糖含量的条件优化[J].食品与机械,2014,30(1):89-92.
- [12] 王鹏亭,赵宗杰,周荣灵,等.3,5-二硝基水杨酸法测定樟芝中多糖的含量[J].食品研究与开发,2016,37(9):163-167.
- [13] 王梓轩,李娅琦,柳国霞,等.高效阴离子交换色谱-脉冲安培检测法测定枸杞多糖的单糖及糖醛酸组成[J].中华中医药杂志,2021,36(10):6082-6085.
- [14] 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.
- [15] DIANA A B, CASAS M J, VILLALUENGA C, et al. Wheat and oat brans as sources of polyphenol compounds for development of antioxidant nutraceutical ingredients [J]. Foods, 2021, 10(1): 115.
- [16] 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.
- [17] 窦祖满.不同分子量黑莓多糖的制备、结构解析及其体外消化、酵解特性研究[D].广州:华南理工大学,2022.
- [18] 徐湘,庞旭佳,张名位,等.不同提取工艺淮山多糖的理化性质及抗氧化活性分析[J].现代食品科技,2023,39(10): 128-138.
- [19] 罗虹建,王赛贞,王联福,等.灵芝多糖肽GL-PPSQ2的热分析研究[J].药物分析杂志,2023,43(9):1468-1475.
- [20] CAI M, XING H, TIAN B, et al. Characteristics and antifatigue activity of graded polysaccharides from *Ganoderma lucidum* separated by cascade membrane technology [J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 269: 118329.

- [21] 刘钰菲,唐年初,徐德平.牛膝多糖降血糖活性成分的分离鉴定[J].食品与生物技术学报,2023,42(7):104-111.
- [22] 刘艳秋,王亚茹,毛迪锐,等.轮叶党参多糖的分离纯化及结构研究[J].食品与机械,2023,39(9):162-168,240.
- [23] 王焕燃,朱轶龙,孙萍.白块菌多糖理化特性分析及对运动疲劳小鼠肝脏氧化损伤的保护作用[J].现代食品科技,2024,40(3):56-64.
- [24] DANIEL M, DEHGHANKHOLD M, ATAEL S, et al. Impact of particle size and polydispersity index on the clinical applications of lipidic nanocarrier systems [J]. *Pharmaceutics*, 2018, 10(2): 57.
- [25] 孙永进.西番莲果皮多糖的纯化、结构表征及体外降脂活性研究[D].桂林:桂林理工大学,2023.
- [26] 刘养山.冠县灵芝多糖的分离纯化、结构表征及抗氧化活性研究[D].聊城:聊城大学,2023.
- [27] 耿敏,李晓婧,王嘉怿,等.食用菌姬松茸多糖的分离纯化及结构分析[J].东北师大学报(自然科学版),2024,56(1): 115-124.
- [28] 赵小亮,郭正磊,杨超福,等.半夏多糖的制备和表征及抗氧化和免疫增强活性研究[J].中成药,2024,46(3):1013-1018.
- [29] 钟思彦,邹波,吴继军,等.黄皮多糖结构表征及抗氧化与益生活性研究[J].食品与发酵工业,2025,51(3):234-242.
- [30] DONG H M, LIN S, ZHANG Q, et al. Effect of extraction methods on the properties and antioxidant activities of *Chuanminshen violaceum* polysaccharides [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, 93: 179-185.
- [31] ZHENG Q W, JIA R B, OU Z R, et al. Comparative study on the structural characterization and α -glucosidase inhibitory activity of polysaccharide fractions extracted from *Sargassum fusiforme* at different pH conditions [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 194: 602-610.
- [32] 邢慧珍,张玉梅,刘会平,等.淡竹叶多糖的制备、热稳定性及其抗氧化活性[J].食品研究与开发,2023,44(19):86-96.
- [33] 马婷,曲航,杨海龙.提取方法对羊栖菜多糖理化性质及体外生物活性的影响[J].食品安全质量检测学报,2023, 14(15):259-268.
- [34] 靳铁柱.响应面法优化桑葚多糖纯化工艺及不同产物的抗运动疲劳活性比较[J].保鲜与加工,2022,22(4):67-73.
- [35] 何静静,杨晓宽.板栗果酒多糖的提取纯化及其抗疲劳活性[J].食品工业科技,2024,45(24):222-232.
- [36] 刘宇.平菇多糖分离纯化、结构分析及其抗疲劳活性研究[D].长春:吉林农业大学,2021.
- [37] 杨雪,张海悦,张鑫,等.猴头菇多糖对小鼠抗疲劳作用研究[J].食品工业科技,2015,36(13): 368-370,375.
- [38] BAI L D, TAN C J, REN J, et al. Cordyceps militaris acidic polysaccharides improve learning and memory impairment in mice with exercise fatigue through the PI3K/NRF2/HO-1 signalling pathway [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2023, 227: 158-172.