

猴头菇多糖对小鼠抗疲劳作用研究

杨雪,张海悦*,张鑫,李震

(长春工业大学化学与生命科学学院,吉林长春 130012)

摘要:研究猴头菇多糖的抗疲劳作用及单糖组成。分别以猴头菇粗多糖(Crude polysaccharide from *Hericium erinaceus*, HEPC)、中性多糖(Neutral polysaccharide from *Hericium erinaceus*, HEPN)、酸性多糖(Acidic polysaccharide from *Hericium erinaceus*, HEPA)和蒸馏水灌胃小鼠,连续灌胃15d后进行负重游泳实验,考察其对力竭游泳时间及血乳酸(Blood lactic acid, BLA)、血清尿素氮(Blood urea nitrogen, BUN)、肝糖原(Hepatic glycogen, HG)含量的影响。结果显示猴头菇多糖,特别是酸性多糖能显著延长小鼠负重游泳时间,提高小鼠体内肝糖原的储备量,降低小鼠血乳酸和血清尿素氮含量。该结果表明猴头菇多糖对小鼠具有抗疲劳作用,且猴头菇酸性多糖的作用最强。将猴头菇多糖水解和PMP衍生化后,用高效液相色谱法(High performance liquid chromatography, HPLC)分析其单糖组成,显示猴头菇多糖是由甘露糖、鼠李糖、葡萄糖、半乳糖、岩藻糖和葡萄糖醛酸组成的杂多糖。

关键词:猴头菇多糖,抗疲劳,单糖组成

Anti-fatigue effects of polysaccharides from *Hericium erinaceus* in mice

YANG Xue, ZHANG Hai-yue*, ZHANG Xin, LI Zhen

(College of Chemical and Life Science, Changchun University of Technology, Changchun 130012, China)

Abstract: To investigate the anti-fatigue effects of polysaccharides from *Hericium erinaceus* (HEP) and monosaccharide composition. Mice were orally administrated with Crude polysaccharide from *Hericium erinaceus* (HEPC), Neutral polysaccharide from *Hericium erinaceus* (HEPN), Acidic polysaccharide from *Hericium erinaceus* (HEPA) and distilled water. After 15 days, all mice were subjected to weight-loaded swim test. The exhaustive swimming time, blood lactic acid, blood urea nitrogen and hepatic glycogen were measured. The results showed that HEP especially HEPA could significantly lengthen the swimming time of mice, improve the mice hepatic glycogen reserves, reduce blood lactic acid and blood urea nitrogen content. The HEP has anti-fatigue function and the strongest was HEPA. After PMP derivatization, High performance liquid chromatography (HPLC) was used for analyzing monosaccharide composition of polysaccharides. The result indicated that HEP was heteropolysaccharide and consisted of mannose, rhamnose, glucose, galactose, fucose and glucuronic acid.

Key words: polysaccharides from *Hericium erinaceus* (HEP); anti-fatigue; monosaccharide composition

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)13-0368-04

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.13.069

猴头菇是一种药食同源的真菌,常见于亚洲东亚地区,史载于《农政全书》。东北猴头菇已经有2000多年的历史,在中国长白山上资源极为丰富。由于其优越的自然生长条件,在营养价值方面也优于其他的猴头菇。猴头菇多糖可抗溃疡^[1],抗肿瘤^[2],可明显改善环磷酰胺引起免疫抑制小鼠的非特异性免疫、体液免疫及细胞免疫功能的低下状况^[3],提高机体耐缺氧能力^[4],但对其抗疲劳活性鲜有报道。仅魏跃臣等对猴头菇的抗疲劳进行研究,结果表明复方猴头菇饮料具有明显的抗疲劳作用^[5]。疲劳是指在特定水平上机体生理过程不能维持预定的运动强度,或不能持续其功能致使身体和精神状态

下降,从而导致工作能力和工作效率的衰退^[6]。忙碌的生活,让“过劳模”们无法从压力中完全逃开,因此,如何缓解疲劳和抵抗疲劳成为目前运动医学和保健医学研究的一个热点问题。本文研究了猴头菇多糖对小鼠抗疲劳作用的影响,并分析了其单糖组成,为猴头菇多糖抗疲劳活性研究及其相关保健食品应用开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

猴头菇 购买于吉林省长白山二道白河,由东北师范大学生物系鉴定;18~22g 清洁级(CL)昆明种

收稿日期:2014-08-22

作者简介:杨雪(1989-),女,硕士,研究方向:天然产物开发。

*通讯作者:张海悦(1967-),女,博士,教授,研究方向:天然产物开发。

雄性小白鼠 购买于吉林大学动物实验中心。

血乳酸(BLA)试剂盒、血尿素氮(BUN)试剂盒、肝糖原(HG)试剂盒 南京建成生物工程研究所; DEAE-纤维素 上海恒信化学试剂有限公司; 间羟基联苯 东京化成工业株式会社; 甘露糖、鼠李糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、葡萄糖、半乳糖、木糖、阿拉伯糖、岩藻糖标准品 上海时代生物科技有限公司; 其它试剂 均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

DGSY-III 电热恒温水浴锅 北京市意成科技开发公司; TGL-16A 高速台式离心机 上海安亭科学仪器厂; Sigma3K-15 高速冷冻离心机 博励行实验仪器有限公司; FD-1A-50 冷冻干燥机 北京博医康技术公司; 离子交换柱(8.0 × 20) 上海沪西分析仪器厂; HL-2 横流泵 上海沪西分析仪器厂; BS-100A 自动部分收集器 上海沪西分析仪器厂; 752 型紫外可见分光光度计 上海光谱仪器有限公司; HY-4 调速多用振荡器 金坛市荣华仪器制造有限公司; LC-10AT/Series III 高效液相色谱仪 日本岛津苏州公司/美国科学系统公司。

1.3 实验方法

1.3.1 猴头菇粗多糖、中性多糖和酸性多糖的制备

将猴头菇子实体分离出来切块儿, 烘干至恒重粉碎过筛。称取猴头菇子实体粉末, 加 20 倍蒸馏水, 80℃ 下, 浸提过滤 3 次, 每次 4h, 合并三次滤液, 减压浓缩至 1/2, Sevag 法除蛋白 5 次, 离心去除游离蛋白产生的凝胶状沉淀, 上清液减压浓缩, 挥发除去有机溶剂, 即得浓缩液, 加入 4 倍体积的 95% 乙醇, 抽滤, 收集沉淀, 待复溶于蒸馏水后, 冷冻干燥, 即得猴头菇粗多糖^[7]。

称取猴头菇粗多糖, 溶解于蒸馏水中(磁力搅拌器搅拌过夜, 使之充分溶解), 用蒸馏水、0.5mol/L NaCl 经 DEAE-纤维素柱(8.0 × 20)洗脱, 流速 12.5mL/min, 每管收集 50mL 洗脱液, 用苯酚硫酸法和间羟基联苯法检测洗脱液, 根据洗脱峰收集制备液, 浓缩制备液, 透析去除 NaCl, 冷冻干燥即得猴头菇中性多糖和酸性多糖^[8]。

1.3.2 小鼠负重游泳实验条件及环境 将 18~22g 清洁级(CL)雄性昆明种小鼠 40 只, 随机的分成四组, 每组 10 只。在负重游泳实验前一周对动物进行检疫, 检疫期间, 小鼠在室温 20~23℃ 下自由摄食和取水, 自然采光, 并保持通风换气。根据《家常养生祛病食疗宝典》中猴头菇推荐成人每日适宜摄入量为 30g, 根据本实验猴头菇粗多糖、酸性多糖、中性多糖得率分别为 3%、0.66%、1.7%, 即成人每日适宜摄入量分别为 900、510、198mg, 我国成人总平均体重 60kg, 则成人推荐剂量分别为 15mg/(kg·d)、8.5mg/(kg·d)、3.3mg/(kg·d) 体重, 根据《保健食品功能评价》实验组小鼠按相当于人体推荐剂量的 30 倍进行灌胃, 即以 100mg/(kg·d) 体重灌胃, 对照组以蒸馏水灌胃, 灌胃体积为 0.4mL/20g 体重, 连续灌胃 15d, 第 15d 灌胃受试物 30min 后, 给予小鼠尾根部负荷 5% 体重的铅皮在有机玻璃水槽(长:50cm, 宽:50cm,

深:40cm, 水温 26℃ ± 1.0℃ 中进行负重游泳实验, 注意每只小鼠, 使其四肢不停运动, 用秒表记录小鼠入水至头部全部入水持续 8s 不能浮出水面为止的时间^[9]。

1.3.3 生化指标的测定 将游泳力竭的小鼠从水槽中捞出, 即刻于眼眶采血, 静置 3h 后 4000r/min 离心 10min 取上清液, 分别用血乳酸(BLA)试剂盒、血尿素氮(BUN)试剂盒, 结合 752 型紫外可见分光光度计(比色法)检测血乳酸(BLA)和血清尿素氮(BUN)的含量。

将采血后的实验小鼠脱臼处死立即取出肝脏用生理盐水漂洗, 再用滤纸吸干, 精确称取处理后的肝脏 100mg, 加入 5% 三氯醋酸(TCA) 8mL, 匀浆处理, 然后将匀浆液倒入离心管中, 在 4000r/min 下离心 10min, 之后每管加入 4mL 95% 的乙醇, 充分混匀。于室温下竖立放置过夜。沉淀完全后, 4000r/min 离心 10min。在将试管倒立放置 10min, 之后用 2mL 蒸馏水溶解糖原, 肝糖原(HG)试剂盒结合 752 型紫外可见分光光度计(比色法)测定肝糖原(HG)含量^[10]。

1.3.4 1-苯基-3-甲基-5-吡啶啉酮(PMP)衍生化

PMP 是还原糖衍生化的最有效试剂之一, 其优点是产物不易裂解, 不产生异构峰, 且在 245nm 处有强烈的紫外吸收, 可应用高效液相、毛细管电泳的技术加以分析。此方法操作简单, 灵敏度高, 可用于大批量样品的分析。向完全酸水解后获得的干燥样品中加入 PMP 试剂 0.5mL 和 0.3mol/L 的 NaOH 溶液 0.5mL, 待样品充分溶解后取其中的 0.1mL 于小离心管中, 70℃ 水浴 30min。10000r/min 离心 5min 后, 加入 0.3mol/L 盐酸溶液 0.05mL 和蒸馏水 0.05mL, 充分混匀。加入 1mL 三氯甲烷, 混匀后抽提剩余的 PMP 试剂, 吸去三氯甲烷层, 保留水层。用 0.22μm 滤膜过滤后, 加入适量蒸馏水稀释后, 待 HPLC 检测^[11]。

1.3.5 HPLC 分析 采用 Shimadzu HPLC 系统(LC-10ATvp 泵和 SPD-10AVD 紫外光检测器), DIKMA Inertsil ODS-3 色谱柱(4.6 × 150mm), 流动相为 PBS(0.1M, pH7.0)-乙腈 82:18(v/v), 流速为 1.0mL/min, 进样量为 20μL, 检测波长为 245nm^[12], 样品与 9 种混合标准品, 进行出峰时间与出峰面积的对照。

1.4 统计分析

应用 SPSS 13.0 软件进行处理, 计量资料均采用“ $\bar{x} \pm s$ ”表示, 多组数据比较采用方差分析, 两组间比较采用 t 检验, 以 $p < 0.05$ 为差异有显著性意义; $p < 0.01$ 为差异有极显著性意义。

2 结果与分析

2.1 猴头菇多糖离子交换柱层析制备

猴头菇粗多糖经 DEAE-纤维素柱分级, 用蒸馏水和 0.5mol/L NaCl 溶液洗脱后于每个梯度各得一个级分, 由苯酚硫酸法和间羟基联苯法分别检测洗脱液的总糖和糖醛酸分布情况, 如图 1 所示, 水洗脱级分命名为 HEPN, 多糖得率为 1.7%; 0.5mol/L NaCl 溶液洗脱级分, 命名为 HEPA, 多糖得率为 0.66%。由蒸馏水洗脱出来的洗脱液中未检测出糖醛酸, 洗

脱峰单一,说明该柱效较好,可很好地吸附酸性糖,将中性糖单一洗出。由 0.5mol/L NaCl 溶液洗脱出来的洗脱液,总糖与糖醛酸洗脱峰基本重合,且洗脱峰单一,说明吸附在 DEAE-纤维素柱上的酸性糖被充分洗脱下来,此步完成了对猴头菇中性糖和酸性糖的制备。制得的猴头菇粗多糖为棕黄色粉末,中性多糖和酸性多糖为淡黄色粉末,无异味,多糖含量 $\geq 90\%$,溶解度 $\geq 99\%$,水分 $\leq 6\%$,灰分 $\leq 4\%$ 。

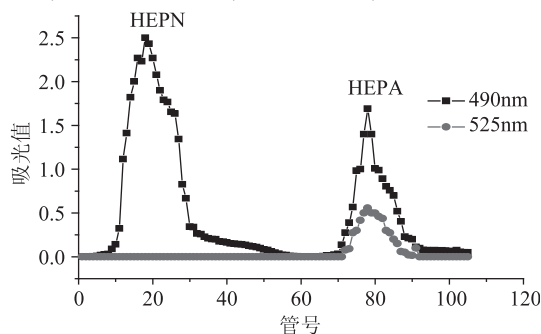


图1 猴头菇多糖的洗脱曲线
Fig.1 The elution curves of HEP

2.2 猴头菇多糖对小鼠力竭游泳时间的影响

由表1可知,与灌胃蒸馏水的对照组相比,灌胃多糖的实验组小鼠游泳时间较长。其中,HEPA组小鼠游泳时间最长,与对照组相比,差异极显著($p < 0.01$),力竭游泳时间增加了 146.7%;HEPC组和HEPN组与对照组相比,差异显著($p < 0.05$),力竭游泳时间分别增加了 53.9%和 51.2%。这说明猴头菇多糖能够提高小鼠运动耐力^[12],延长了小鼠运动时间,具有缓解疲劳的作用,以猴头菇酸性多糖作用尤为突出。小鼠负重游泳时间的长短可以较好地反映动物运动耐力,小鼠负重游泳实验时,肌肉不仅消耗糖原,还大量摄取血糖。当摄取速度大于肝糖原的分解速度时,血糖水平降低。由于中枢神经系统主要靠血糖供能,血糖降低引起中枢神经系统供能不足,从而导致全身性疲劳的发生。本实验中灌胃猴头菇多糖的小鼠血清尿素氮含量(HEPC组 < 0.05 ; HEPN组 < 0.05 ; HEPA组 < 0.01)也低于对照组,说明猴头菇多糖可延缓蛋白质与氨基酸的分解,机体仍能承受负荷,延长小鼠负重游泳时间(HEPC组 < 0.05 ; HEPN组 < 0.05 ; HEPA组 < 0.01)。

表1 猴头菇多糖对小鼠力竭游泳时间的影响

Table 1 Effect of HEP on the exhaustive swimming time of mice($x \pm s, n = 10$)

组别	小鼠力竭游泳时间(min)	延长速率(%)
对照组	8.36 \pm 1.13	-
HEPC	12.87 \pm 2.47*	53.9
HEPN	12.64 \pm 2.11*	51.2
HEPA	20.62 \pm 2.96**	146.7

注:*.与对照组相比,差异显著($p < 0.05$);**.与对照组相比,差异极显著($p < 0.01$)。

2.3 猴头菇多糖对小鼠相关生化指标的影响

由表2可知,与灌胃蒸馏水的对照组相比,灌胃多糖的实验组小鼠BLA、BUN含量降低, HG含量增

加。说明猴头菇多糖具有控制小鼠运动代谢情况,能量物质储存及动员情况的作用^[14]。其中,HEPC组、HEPN组和HEPA组小鼠BLA含量,与对照组相比,差异显著($p < 0.05$)。说明猴头菇多糖能加快乳酸的清除代谢速度,有氧代谢能力提高,有利于疲劳的迅速消除^[15]。HEPA组小鼠BUN, HG含量,与对照组相比,差异极显著($p < 0.01$);HEPC组和HEPN组小鼠BUN, HG含量,与对照组相比,差异显著($p < 0.05$)。说明猴头菇酸性多糖对小鼠耐力增加,提高小鼠负荷适应能力作用尤为显著。运动耐力的提高是抗疲劳能力加强的宏观表现。同时,与疲劳产生机制有关的生物化学指标可以评价某一保健食品或药物是否有抗疲劳的作用及其效果如何。其中,血乳酸、血清尿素氮和肝糖原含量等生化指标最具有代表性,反映了运动时物质代谢情况和能量物质储存、动员情况。本实验中猴头菇多糖可提高小鼠体内肝糖原的储备量(HEPC组 < 0.05 ; HEPN组 < 0.05 ; HEPA组 < 0.01),维持小鼠运动时的血糖水平,延缓疲劳感的产生。本实验中灌胃猴头菇多糖的小鼠血乳酸含量(HEPC组 < 0.05 ; HEPN组 < 0.05 ; HEPA组 < 0.05)明显低于对照组,说明猴头菇多糖能够提供能源物质,减少乳酸堆积,减缓疲劳程度。

表2 猴头菇多糖对小鼠相关生化指标的影响

Table 2 Effect of HEP on the related biochemical indexes of mice($x \pm s, n = 10$)

组别	BLA (mg/100mL)	BUN (mmol/L)	HG (mg/g)
对照组	28.62 \pm 2.37	24.35 \pm 1.08	6.52 \pm 0.91
HEPC	23.32 \pm 1.74*	20.17 \pm 1.35*	9.14 \pm 1.31*
HEPN	24.59 \pm 2.08*	21.73 \pm 0.97*	8.78 \pm 1.89*
HEPA	23.04 \pm 1.23*	16.86 \pm 1.51**	13.86 \pm 1.04**

注:*.与对照组相比,差异显著($p < 0.05$);**.与对照组相比,差异极显著($p < 0.01$)。

2.4 猴头菇多糖的单糖组成

由表3可知,猴头菇粗多糖是由甘露糖、鼠李糖、葡萄糖、半乳糖、岩藻糖和葡萄糖醛酸组成的杂多糖。酸性糖部分由甘露糖、鼠李糖、葡萄糖、半乳糖、岩藻糖和葡萄糖醛酸组成。中性糖主要组分有甘露糖、鼠李糖、葡萄糖、半乳糖、岩藻糖。

表3 猴头菇多糖的单糖组成

Table 3 The monosaccharide composition of HEP

多糖	单糖组成(%)					
	甘露糖	鼠李糖	葡萄糖	半乳糖	岩藻糖	葡萄糖醛酸
HEPC	2.58	2.73	38.89	45.53	7.1	3.17
HEPN	3.68	0.3	56.89	37.59	1.54	-
HEPA	1.3	0.9	68.37	21.82	5.15	2.46

3 结论

猴头菇多糖可以延长小鼠负重游泳时间,能提供能源物质,减少乳酸堆积,减缓疲劳程度,对小鼠具有抗疲劳作用,以猴头菇酸性多糖作用尤为突出,

(下转第375页)

险。酶解絮凝法则在较温和的条件下采用自然沉降的方式固液分离沉淀山药黏液蛋白,极大的提高了生产效率和安全性,是一种资源节约型和环境友好型工艺。酶解絮凝的优点在于不存在有机溶剂废液污染问题,利用自然沉降的方式来实现固液分离,步骤简单且降低了生产成本,并且得到的成品不含对人体有害的物质,后续处理方便。残存的壳聚糖本身作为一种天然的食品添加剂,还具有一定的抗菌防腐的作用,大大促进了山药粘蛋白粉的推广应用。

利用山药多糖的抗肿瘤研究在国内外有过许多报道^[6,15-16],但对山药黏液蛋白作用于人食管癌细胞的研究仍为空白。本实验研究发现山药黏液蛋白对人食管癌细胞 EC-109 有较好的抑制作用,在一定的稀释范围内,黏液蛋白浓度越高,对食管癌细胞的抑制作用越明显。本研究结果为抗肿瘤药物的筛选奠定了基础,也拓宽了新的思路。

参考文献

- [1] 李敏. 山药活性成分提取技术及药理功能的研究进展[J]. 南方农业学报, 2013, 44(7): 1184-1189.
- [2] 王震宙, 黄绍华. 山药中的功能保健成分及其在食品加工中的应用[J]. 食品工业, 2004, 25(4): 51-52.
- [3] 宋永刚, 胡晓波, 王震宙. 山药的活性成分研究概况[J]. 山西食品工业, 2007(4): 45-48.
- [4] 何凤玲. 山药中活性成分的提取及降糖活性研究[D]. 重庆: 西南大学, 2011.
- [5] 何凤玲, 叶小利, 李学刚, 等. 山药中降糖活性成分的筛选与比较[J]. 食品工业科技, 2011, 32(6): 373-375.

(上接第 370 页)

其抗疲劳作用的具体机制有待进一步研究。单糖组成结果显示,猴头菇多糖是由甘露糖、鼠李糖、葡萄糖、半乳糖、岩藻糖和葡萄糖醛酸组成的杂多糖。

参考文献

- [1] 林海鸣, 许琼明, 孙晓飞, 等. 猴头菌抗胃溃疡作用的研究[J]. 中草药, 2009, 39(12): 1861-1863.
- [2] 郭焱, 崔健丽, 朱娜. 猴头菇多糖对 TGF- β 1 抑制的 T 淋巴细胞增殖的影响[J]. 中国实验诊断学, 2012, 16(1): 48-49.
- [3] 柳璐. 猴头菇多糖对小鼠免疫调节作用的实验研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2012.
- [4] 杜志强, 王建英. 猴头菇多糖抗氧化活性及耐缺氧功能的研究[J]. 江苏农业科学, 2011(5): 398-399.
- [5] 魏跃臣, 张绪东, 全连信, 等. 复方猴头菇饮料对运动性疲劳小鼠影响的实验研究[J]. 牡丹江医学院学报, 2005, 26(3): 8-10.
- [6] 金宗廉. 功能食品教程[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2005.
- [7] 樊伟伟, 黄惠华. 猴头菇多糖研究进展[J]. 食品科学, 2008, 29(1): 355-358.
- [8] 张海悦. 狭叶荨麻中降血糖和抗疲劳活性成分的研究[D]. 吉林: 东北师范大学, 2011.

- [6] 赵国华, 李志孝, 陈宗道, 等. 山药多糖 RDPS-1 的结构分析及抗肿瘤活性[J]. 药学学报, 2003, 38(1): 37-41.
- [7] 李义, 李红霞, 陈星, 等. 山药水溶性粗多糖提取工艺的研究[J]. 饲料工业, 2005, 26(16): 45-47.
- [8] 张元, 林强, 魏静娜, 等. 酶法提取山药中多糖的工艺研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(4): 374-377.
- [9] Chuan SC, Jeng SD, Heng YC. Antioxidant and anti-inflammatory properties of taiwanese yam (*Dioscorea japonica* Thunb. var. *pseudojaponica* (Hayata) Yamam.) and its reference compounds[J]. Food Chemistry, 2013, 141(2): 1087-1096.
- [10] Juliana QM, Denise CC, Mirna DA, et al. Anti-inflammatory activity of American yam *Dioscorea trifida* L.f. in food allergy induced by ovalbumin in mice[J]. Journal of Functional Foods, 2013, 5(4): 1975-1984.
- [11] 孙莹, 纪跃芝, 马爱民, 等. 水提-醇沉法提取大黄多糖工艺优化研究[J]. 中国实用医药, 2010, 5(18): 6-8.
- [12] 周衡, 黄贵华. 中医对食管癌的认识和治疗研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2012, 14(2): 212-215.
- [13] 杜树辉. 50 例原发性食道癌中医证候特点及演变规律分析[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2013.
- [14] 马庆双. 低聚壳聚糖的制备及应用研究[D]. 南京: 南京理工大学, 2004.
- [15] 赵国华, 李志孝, 陈宗道. 化学改性对山药多糖抗肿瘤活性的影响[J]. 中国食品学报, 2004(1): 42-45.
- [16] Jong MP, Yoon JK, Ju SK, et al. Anti-inflammatory and carbonic anhydrase restoring actions of yam powder (*Dioscorea* spp) contribute to the prevention of cysteamine-induced duodenal ulcer in a rat model [J]. Nutrition Research, 2013, 33(8): 677-685.

- [9] Uthayathas S, Karuppagounder S S, Tamer S I, et al. Evaluation of neuroprotective and anti-fatigue effects of sildenafil [J]. Life sciences, 2007, 81(12): 988-992.
- [10] Tang W, Zhang Y, Gao J, et al. The anti-fatigue effect of 20(R)-ginsenoside Rg3 in mice by intranasally administration [J]. Biological & pharmaceutical bulletin, 2008, 31(11): 2024-2027.
- [11] Strydom D J. Chromatographic separation of 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone-derivatized neutral, acidic and basic aldoses [J]. Journal of Chromatography A, 1994, 678(1): 17-23.
- [12] Fu D T, Oneill R A. Monosaccharide composition analysis of oligosaccharides and glycoproteins by high-performance liquid chromatography [J]. Analytical biochemistry, 1995, 227(2): 377-384.
- [13] 邓国良, 纪丽娟. 广枣提取液对小鼠免疫功能和运动耐力的影响[J]. 体育与科学, 2004, 23(5): 53-54.
- [14] Zheng S Q, Jiang F, Gao H Y, et al. Preliminary observations on the antifatigue effects of longan (*Dimocarpus longan* Lour.) seed polysaccharides [J]. Phytotherapy research, 2010, 24(4): 622-624.
- [15] Jung K A, Han D, Kwon E K, et al. Antifatigue effect of *Rubus coreanus* Miquel extract in mice [J]. Journal of medicinal food, 2007, 10(4): 689-693.