

毛木耳子实体蛋白降血脂活性的研究

赵爽, 刘宇, 许峰, 王守现, 陈杰, 耿小丽

(北京农林科学院植物保护环境保护研究所, 北京 100097)

摘要: 本研究以毛木耳子实体为研究对象, 研究了子实体中蛋白提取物体内降血脂的活性。研究显示毛木耳的具有明显降低胆固醇的作用。研究方法: 提取毛木耳子实体中蛋白类的物质, 进行大鼠降血脂的研究。结果显示毛木耳蛋白提取物有明显降低血液中胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇的功效, 降低率分别为 28.4%、22.95% 和 42.14%, 同时能够明显缓解高脂饮食引起的脂肪肝症状。由于毛木耳具有降血脂的功效可作为保健食品研发的原材料。

关键词: 毛木耳; 蛋白类提取物; 胆固醇; 降血脂

文章编号: 1673-9078(2013)5-941-944

Hypolipidemic Function of *Auricularia polytricha* Protein Extract

ZHAO Shuang, LIU Yu, XU Feng, WANG Shou-xian, CHEN Jie, GENG Xiao-li

(Institute of Plant and Environment Protection, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China)

Abstract: The hypolipidemic functions of *Auricularia polytricha* was investigated in this research. The results showed that *Auricularia polytricha* could decrease the cholesterol level significantly *in vivo*. The protein component was then extracted and its hypolipidemic function *in vivo* towards rats was studied. It was found that the protein extract of *Auricularia polytricha* could decrease the levels of cholesterol, triglycerides and low-density lipoprotein cholesterol in blood with the ratio of 28.4%, 22.95% and 42.14%, respectively. The protein extract also could relief the degree of fat liver. *Auricularia polytricha* protein extract could be applied in preparation of health supplement

Key words: *Auricularia polytricha*; protein extract; cholesterol; hypolipidemic function

随着人们生活水平的不断提高, 高能高脂食物的大量摄入、饮酒量的增加以及运动量的减少致使高血脂症的发病率呈明显上升趋势, 高血脂症是诱发冠状动脉粥样硬化性心脏病(冠心病)、动脉硬化、脂肪肝、糖尿病、肥胖症等的重要因素^[1]。因此寻找高效无毒的降血脂药物有重要的现实意义。近些年来, 在治疗高血脂症方面, 中医采用天然药食两用药材研制成的降脂中药, 因其具有降脂作用确切, 毒副作用小, 材料容易获得且价格便宜等优势得到了较大的发展。到目前为止, 研究表明, 具有降脂作用的单味中药大约有七十多种, 但是食用菌来源的材料比较少。食用菌被认为是临床效果较为确切的一类低毒而免疫活性强的生物类物质, 具有丰富的营养和保健作用。许多品种的食用菌在提高免疫力、降低三高、抗菌抗病毒方面具有明显的效果, 例如灵芝提取物、香菇、虫草、灰树花等^[2-5], 其主要的功能成分有蛋白质、核酸、糖

类、脂类等, 不仅对人体无害而且还是重要的营养物质。在降血脂的植物源中药成分中, 研究较多的是多糖、蛋白、不饱和脂肪酸、苷、黄酮类物质^[6-8]。

其中蛋白降脂成分的研究主要有大豆蛋白、甘薯的粘蛋白^[9]、决明子蛋白质^[10]以及贻贝富含的蛋白质^[11], 这些蛋白中富含活性肽和一些氨基酸等物质来发挥降脂功效, 但对于食用菌来源的蛋白类降脂成分未见报道。本发明研究毛木耳降血脂的功效, 对毛木耳蛋白进行了必要的提取制备, 并对其毛木耳蛋白提取物降血脂的功能进行研究, 发现其具有明显的活性, 填补了食用菌来源蛋白降血脂研究领域的空白。

毛木耳隶属于担子菌门、层菌纲、木耳目、木耳科、木耳属。学名 *Auricularia polytricha*, 又名构耳、粗木耳, 又称黄背木耳、白背木耳^[12]。据中国科学院成都生物所分析, 毛木耳干品含氨基酸的总量为 41.68%。有人体必需氨基酸 7 种, 占总量的 42.31%, 有其它氨基酸 9 种, 占总量的 57.69%。从中医角度上分析, 毛木耳入药有益气强身、活血、止血、止痛之功效。可治寒湿性腰腿疼痛、产后虚弱、抽筋麻木、外伤引起的疼痛、血脉不通、麻木不仁、手足抽搐、白带过多、便血、痔疮出血、子宫出血、反胃多痰、

收稿日期: 2013-01-14

项目基金: 北京市农林科学院青年基金(QNUJ201009)、北京市农林科学院科技创新能力建设专项(KJCX201101002)

作者简介: 赵爽(1982-), 女, 博士, 助理研究员, 从事食用菌产品加工方向研究

年老生疮久不封口等病症^[13]。但报道中对于毛木耳降血脂的研究较少,尤其对毛木耳降血脂功能成分的分析研究更是少之甚少。本研究立足于利用传统的提取加工工艺对降血脂新品种进行功能性研究,研发出新的材料来源,为中药降血脂的研究拓宽了技术领域。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

本实验以毛木耳(*Auricularia polytricha*)子实体为研究对象,该菌株为本实验室多年保藏菌株,子实体通过栽培实验获得。

1.2 动物实验材料

1.2.1 实验动物

封闭群 SPF 级别雄性 SD 健康大鼠,6 周龄,体重 150~180 g,购自北京华阜康生物科技股份有限公司(许可号 SCXK(京)2009-0007,合格证号:0151730)。实验开始前,所有动物需要经过 3 d 的动物检疫,合格后待用。

1.2.2 动物饲料的配方

基础饲料购自北京华阜康生物科技股份有限公司。

高脂饲料根据文献配方加以改良(以质量分数计):基础饲料添加 1%胆固醇、10%猪油、0.1%胆酸盐、10%蛋黄粉^[14];降脂饲料(以质量分数计):高脂饲料分别添加 0.375%、0.75%、1.125%的毛木耳粉末。

1.3 实验方法

1.3.1 毛木耳粉末的制备

将收集得到的毛木耳子实体经过自然风晾干,干燥的木耳分别放入高速万能破碎机。反复破碎 4 次,每次 20 s,制成大约 100 目的均一木耳粉,待用。

1.3.2 毛木耳蛋白提取物的制备

1.3.2.1 蛋白提取物的制备方法

取一定量的毛木耳粉,以料液比 1:40 的比例加入去离子水,4℃浸泡 12 h,充分浸提毛木耳中的内容物,8000 r/min 离心 15 min,取上清,先进行饱和度为 30%的硫酸铵沉淀,去除沉淀后,上清液进行饱和度为 80%的硫酸铵沉淀,收集沉淀,去离子水透析 12 h 后 6000 r/min 离心 20 min,取上清,液氮冷冻后,进行冷冻干燥,制备成毛木耳蛋白提取物干粉。

1.3.2.2 毛木耳蛋白提取物含量的检测

标准曲线的制作:利用标准样品小牛血清蛋白(BSA)配置成不同浓度的蛋白溶液,采用 BCA(北京博迈德科技公司)蛋白定量试剂盒制作标准曲线。将毛木耳蛋白提取物干粉配制不同的浓度溶液,采用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白质含量,并以此含

量为标准调配降脂活性检测的给药剂量。

1.3.3 降脂动物实验

1.3.3.1 高脂动物模型的建立

雄性 SD 大鼠随机分为两组,一组是正常饲料喂养组,喂以基础饲料;另一组是高脂饲料诱导组,喂以高脂饲料。动物采取自由取食的方式,饮水不限。高脂饲料饲喂 60 d 后,全部大鼠禁食 12 h,取血,测定血脂各项生理指标:血清胆固醇(TC),甘油三酯(TG),高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C),低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C),并测量大鼠体重,确定模型的建立成功。

1.3.3.2 毛木耳全粉降血脂研究

设置正常处理组大鼠 1 组,高脂大鼠随机分为 4 组:高脂对照组和毛木耳 3 个处理组,每组 7 只大鼠。毛木耳粉以高中低[300、600、900 mg/(kg·d)]三种剂量添加入饲料中进行饲喂饮食干预,正常对照组和高脂对照组大鼠继续饲喂相应的饲料。降脂实验饲喂 15 d 后,大鼠禁食 12 h,尾静脉取血,测定血脂生理指标和大鼠体重。

1.3.3.3 毛木耳蛋白提取物降脂实验

毛木耳蛋白提取物按照上述方法制备,并确定蛋白含量,根据毛木耳粉 300、600 mg/(kg·d)两个剂量设定蛋白提取物的剂量为 20、40 mg/(kg·d)。采取上述建模方式,将成型的大鼠分为高脂对照组、正常对照组、高剂量组和低剂量组,每组 7 只动物,降脂期间毛木耳蛋白提取物以灌胃的形式给予动物 28 d,每 7 d 检测一次血脂中各项指标。

1.4 毛木耳蛋白提取物对脏器影响的病理分析

在降脂实验终点,对高脂组、毛木耳提取物高低剂量组分别取样,进行解剖取心脏、肝脏和肾脏送检中国医学科学院医学实验动物研究所比较医学中心进行病理分析,观察加入毛木耳蛋白提取物对高脂喂养的 SD 大鼠心脏、主动脉、肝脏及肾脏形态的影响。

2 结果与讨论

2.1 毛木耳全粉降脂研究

毛木耳是北方地区广泛栽培的一种食用菌,其生产周期和出菇率和黑木耳比起来都具有优势,但是由于毛木耳的口感不好,在价格上一直处于劣势。本研究以毛木耳为原料进行探索,能够节省原材料成本,也为毛木耳的深加工应用奠定了科学研究基础,拓展了毛木耳产品转化的方向。

经过 15 d 降脂功能粉末饮食添加后,血脂测定结果显示毛木耳所有剂量添加组中胆固醇含量(TC)显

著低于高脂对照组, 差异程度可以达到 $P < 0.01$, 见图 1。TC 下降效果随着剂量的增加而明显, 其中毛木耳高剂量处理组 900 mg/(kg·d) 可使 TC 降低 26.8%。同时毛木耳粉添加组可降低低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C), 虽然与高脂对照组比较未达到显著差异水平, 但是添加组的降低效果随剂量的增高而增大。HDL-C、TC 和摄食量结果虽然在组间也存在显著性差异, 但未呈现出随剂量变化的明显趋势。毛木耳添加各剂量处理组中大鼠体重都保持在正常生长的趋势, 摄食量正常, 未形成差异。

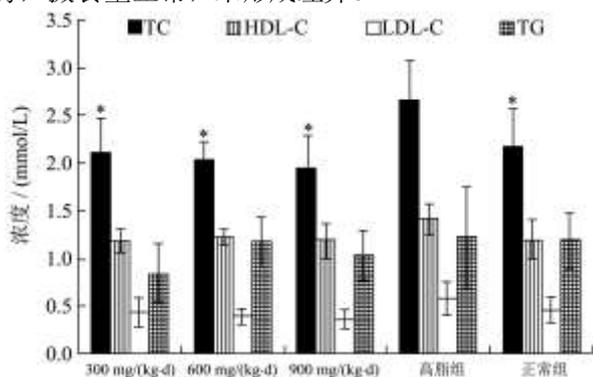


图 1 毛木耳降低血脂中各项指标图

Fig.1 The hypolipidemic functions index of *Auricularia polytricha*

2.2 毛木耳蛋白提取物降脂实验

在研究毛木耳蛋白提取物的降血脂中, 我们发现蛋白类提取物对高脂动物血液中 TC、TG 和 LDL-C 三种指标都有降低的作用, 并且在各个检测点上蛋白提取物都可以使处理组和高脂对照组形成显著性差异

的程度 ($P < 0.05$), 如图 2 所示。毛木耳蛋白提取物处理组中大鼠体重都保持在正常生长的趋势, 摄食量正常, 未形成差异, 结果见表 1。高低 2 个剂量处理组之间并未在所有的检测点都达到统计学上 5% 的差异, 在给药前期阶段, 降脂效果较为明显, 蛋白提取物可降低 TC 率高达 28.4%, 降低 TG 率高达 22.95%, 降低 LDL-C 率高达 42.14%。但随着周期的延长, 动物的血脂指标逐渐上升, 效果减弱。这一现象可能是由于动物对药物产生耐受所引起的, 也可能是降脂物质、高脂饲料和动物的适应性共同作用而产生的。在蛋白提取物降脂研究中, 未发现高低剂量组产生明显的药效差异, 虽然在个别时间点上能够形成统计学上的差异, 但是总体分析, 差异程度不能说明两剂量的药效作用。根据实验结果可以证明毛木耳蛋白提取物能够综合缓解高脂血症的情况。

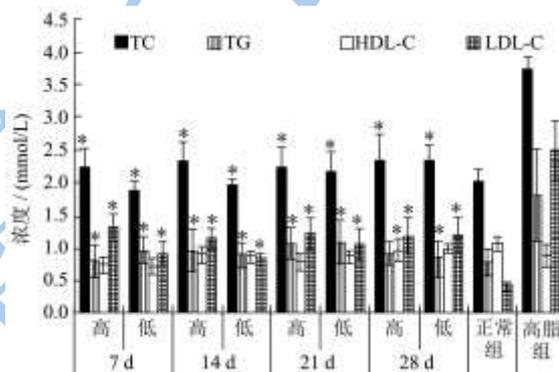


图 2 毛木耳蛋白提取物降低血脂中各项指标图

Fig.2 The hypolipidemic functions index of *Auricularia polytricha* protein extract

表 1 实验期间大鼠体重变化情况 (g)

Table 1 Statistical results of rats weight

分组	建模前	建模终点	降脂 7 d	降脂 14 d	降脂 21 d	降脂 28 d
正常组	176.7±9.5	486.5±31.5	503.9±31.7	520.0±31.3	525.5±39.8	549.4±41.7
高脂组		512.1±33.1	533.2±39.4	547.1±43.2	551.8±38.3	576.8±42.5
高剂量	178.8±9.1	526.9±38.4	549.1±42.1	559.2±42.4	573.9±42.5	581.9±41.0
低剂量		492.6±19.1	512.2±24.4	519.3±28.8	533.2±24.6	557.5±27.7

注: 数据结果以平均数±标准差表示 (n=7)。

2.3 毛木耳蛋白提取物对脏器影响的病理分析

通过对心脏、肾脏和肝脏的病理分析发现以本研究方法构建的高脂模型, 未见到心脏、主动脉和肾脏的病变, 在肝脏中形成中度脂肪肝的病理症状, 以小泡性脂肪变性为主。毛木耳蛋白提取物对高脂饮食引起的脂肪肝具有明显的缓解作用, 稍见肝脏细胞水肿, 研究结果见表 2 和图 3。从统计结果发现, 毛木耳蛋白处理组可以使肝细胞病变程度由 2/3 降至 1/3 以下, 可以明显改善脂肪肝的症状。在降脂过程中肝细胞出现部分水肿, 形成了糖原和水复合的泡状结构, 分析

原因可能是毛木耳蛋白提取物作用于脂肪代谢的过程, 使脂肪代谢转化成中间产物, 形成水肿的现象。

表 2 病理分析情况

Table 2 The results of pathological analysis

处理	心	主动脉	肾	肝	
				肝细胞脂肪	肝细胞水肿
高脂	-	-	-	++	-
低剂量	-	-	-	+	+
高剂量	-	-	-	+	+

注:“-”未见细胞变性,“+”肝小叶内小于 1/3 的肝细胞变性,

“++”肝小叶内 1/3-2/3 的肝细胞变性。



高脂对照组 低剂量组 高剂量组

图 3 肝细胞病理分析结果

Fig.3 Pathological analysis of liver cells

3 结论

通过本研究发现毛木耳适合作为原料应用到保健食品加工生产中,其具有明显降低血脂胆固醇的作用,毛木耳的蛋白类提取物能够降低血液中胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇的含量,还具有缓解脂肪肝的作用,可以深度开发将其应用到降脂保健食品和药物的研发领域。

参考文献

- [1] 孔泽峰.从血脂异常控制现状谈高血脂危害[J].中国医师杂志,2005(增刊):471-473
- [2] 王格林,林志彬.香菇多糖的免疫调节作用[J].药学学报,1996,31(2):86-90
- [3] 何斌,熊子仙,李本常.皱木耳多糖降血脂作用的研究[J].食用菌,1998,54(11):91
- [4] 杨杰,陈顺志.虫草素研究进展[J].中国生化药物杂志,2008,29(6):414-417
- [5] 杨庆伟,鲁梅芳,金玉妍.灰树花菌丝体多糖的硫酸酯化及其降血脂作用[J].天津科技大学学报,2009,24(4):25-28
- [6] 张勇,尚德静,李庆伟.中药降血脂的研究进展[J].辽宁师范大学学报(自然科学版),2004,27(2):201-205
- [7] 姚思宇,赵鹏,李彬,等.黄酮降血脂功效的动物试验[J].中国热带医学,2006,6(3):531-532
- [8] 刘安军,郭丹青,刘慧慧,等.绿茶提取物的降血脂及减肥作用研究[J].现代食品科技,2012,28(6):601-605
- [9] 李亚娜,赵谋明.甘薯糖蛋白的分离、纯化及其降血脂功能[J].食品科学,2003,24(1):118-212
- [10] 李续娥,郭宝江.决明子蛋白质和蒽醌苷对高脂血症大鼠血脂的影响[J].中国医药杂志,2002,27(5):374-375
- [11] 刘志峰,李桂生.贻贝提取物抗高血脂作用的观察[J].中国海洋药物,2001,6:9210
- [12] 罗信昌,陈士瑜.中国菇业大典[M].北京:清华大学出版社,2010
- [13] 张丹,郑有良.毛木耳(*Auricularia polytricha*)的研究进展[J].西南农业学报,2004,17(5):668-673
- [14] 周国华,于国萍.黑木耳多糖降血脂作用的研究[J].现代食品科技,2005,21(1):46-48