

降血脂鼠李糖乳杆菌的筛选及其对高脂模型地鼠血脂的影响

曹蓝¹, 白玉芹², 余萍¹, 汤纯¹, 矫艳平^{1*}, 闵祥博¹

(1. 江西仁仁健康产业有限公司, 江西樟树 331200) (2. 汉臣氏(沈阳)儿童制品有限公司, 辽宁沈阳 110000)

摘要: 该实验旨在筛选出一株具有较强降血脂功能的乳杆菌。试验采用的菌株分离自健康婴儿肠道, 通过邻苯二甲醛比色法测定菌株降胆固醇能力、单试剂法测定降甘油三酯能力, 并测定了其耐酸及胆盐的耐受性, 从中筛选出具有降胆固醇和降甘油三酯功能较强的菌株进行 16S rDNA 鉴定。通过建立高脂地鼠模型, 研究菌株体内降血脂能力。结果表明, 鼠李糖乳杆菌 HCS01-013 的降胆固醇和甘油三酯能力较强, 其胆固醇降解率达到 35.40%; 甘油三酯降解率达到 44.32%; 在 0.3% 和 1.5% 的胆盐环境下培养 17 h 的存活率分别为 99.67% 和 96.79%, 在 pH 3.0 和 pH 2.0 环境下培养 17 h 后存活率能达到 88.76% 和 71.34%; 黄金地鼠喂养高脂饲料建立的高脂地鼠模型后, 喂养鼠李糖乳杆菌 HCS01-013 各剂量组与喂养生理盐水的模型对照组相比甘油三酯含量均明显降低。鼠李糖乳杆菌 HCS01-013 具有一定的降血脂功能, 且耐逆环境能力较强, 为该菌株相关研究及产品研发提供理论依据。

关键词: 鼠李糖乳杆菌; 降胆固醇; 降甘油三酯; 黄金地鼠

文章编号: 1673-9078(2022)07-48-54

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.7.1295

Screening of Hypolipidemic *Lactocaseibacillus rhamnosus* and Exploration of Its Effect on High-fat Hamster Models

CAO Lan¹, BAI Yuqin², YU Ping¹, TANG Chun¹, JIAO Yanping^{1*}, MIN Xiangbo¹

(1. Jiangxi Renren Health Industry Co. Ltd., Zhangshu 331200, China)

(2. High Change (Shenyang) Baby Product Co. Ltd., Shenyang 110000, China)

Abstract: Screening was performed for a strain of *Lactocaseibacillus* with strong cholesterol reduction ability from experimental strains isolated from the intestinal tract of healthy infants. The cholesterol reduction ability of the strains was measured using the o-phthalaldehyde colorimetric method, whereas triglyceride reduction ability was measured using the GPO-PAP method. The tolerance of the strains to acids and bile salts was also measured. Strains with strong cholesterol and triglyceride reduction functions were selected and confirmed using 16S rDNA. The hypolipidemic ability was studied by establishing a hyperlipidemic hamster model. Results showed that *Lactocaseibacillus rhamnosus* HCS01-013 had strong cholesterol and triglyceride reduction ability, with cholesterol degradation rate reaching 35.40% and triglyceride degradation rate reaching 44.32%. The survival rates after culturing in 0.3% and 1.5% bile salts for 17 h were 99.67% and 96.79%, respectively, and 88.76% and 71.34% after culturing in pH 3.0 and pH 2.0 for 17 h, respectively. After establishing the high-fat hamster model through a high-fat diet, hamsters were treated with different doses of probiotics. Regardless of dosage, triglyceride levels in the group fed with *Lactocaseibacillus rhamnosus* HCS01-013 was significantly lower than that of the model control group fed with normal saline. *Lactocaseibacillus rhamnosus* HCS01-013 has definite lipid lowering function and strong resistance to adverse environments, which provides a theoretical basis for related research for this strain and product development.

Key words: *Lactocaseibacillus rhamnosus*; cholesterol reduction; triglyceride reduction; hamster model

引文格式:

曹蓝,白玉芹,余萍,等.降血脂鼠李糖乳杆菌的筛选及其对高脂模型地鼠血脂的影响[J].现代食品科技,2022,38(7):48-54,+69

CAO Lan, BAI Yuqin, YU Ping, et al. Screening of hypolipidemic *Lactocaseibacillus rhamnosus* and exploration of its effect on high-fat hamster models [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(7): 48-54, +69

收稿日期: 2021-11-19

作者简介: 曹蓝(1991-),女,本科,助理工程师,研究方向: 益生菌制剂, E-mail: 277934026@qq.com

通讯作者: 矫艳平(1989-),女,工程师,研究方向: 益生菌制剂, E-mail: jiaoyanping12@163.com

血脂是血浆中的胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)等中性脂肪和类脂的总称,它是生存必须的代谢物质。血脂中TC主要合成细胞浆膜、类固醇激素及胆汁酸,TG主要参与体内能量代谢^[1,2]。随着社会的进步,生活水平的逐渐提升,食品中营养的不断增加,饮食中摄入胆固醇食品也在增长,现如今高血脂症一跃成为威胁我国中老年人身体健康第一大隐患。关于高血脂引起的疾病逐渐增多,例如冠心病、心肌梗塞和动脉硬化等,此类疾病的发病率高,治愈率相对较低,因此需要正确的认识高血脂,并尽早进行预防^[3-6]。高血脂症是指脂肪代谢或者运转异常使人体血液中的血脂含量超过正常范围,其中人体血清中胆固醇过高,甘油三酯过高,高密度脂蛋白胆固醇过低都是高血脂的重要指标^[7-10]。虽然降血脂的相关药物也在不断的研发且得到了大量的采用,但是关于降血脂的药物或多或少会具有一定的副作用,而可以辅助降血脂的功能食品则不会有此影响。

现国内外大量的研究人员致力利用益生菌改善血清中的血脂水平,研究表明,一部分益生菌对于降低血清中的血脂具有显著的功效^[11,12]。在认识了益生菌在对人体降低血脂有重要作用后,关于筛选降血脂的益生菌研究逐渐增多,但研究中多数对降血脂有作用的菌株都是来自于自然发酵食物中分离,对于来源于健康婴幼儿肠道中的乳酸菌降血脂的试验较少,因此本实验筛选样本来自于健康婴儿的肠道,筛选出的菌株通过体外降胆固醇、甘油三酯试验、胆盐耐受性试验得出较好的菌株,并进行形态鉴定、过氧化氢试验、16S rDNA 序列分析及电镜形态观察鉴定,以期获得降血脂性能较好的菌株。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验样品

实验样品为6月龄顺产健康的婴儿粪便,确保婴儿在采样前没有服用过任何药物及乳酸菌产品,采样工具全部进行灭菌处理,并将样品采集好后套上厌氧袋并使用厌氧产气包进行运输。

1.1.2 试剂及培养基

胆固醇(C8667-1G)、牛胆盐(T4009-5G),西格玛奥德里奇(上海)贸易有限公司;邻苯二甲醛(化学纯CP)、硫代乙醇酸钠(分析纯AR),上海麦克林生化科技有限公司;正己烷(分析纯AR),天津市恒兴化学试剂制造有限公司;葵花籽油,中粮福临门食品营销有限公司;甘油三酯试剂盒(A110-1-1),南京

建成生物试剂公司。

高胆固醇培养基(MRS-CHOL):在根据王湘竹^[13]研究所述方法配置MRS培养基中加入0.3%牛胆盐,0.2%硫代乙醇酸钠,100 μg/mL胆固醇溶液^[14]。

甘油三酯培养基^[15]:将2%的聚乙烯醇水溶液与植物油按体积比3:1混合,用超声波处理(控制参数每次超声5s,间隔时间5s,共超声70次)后混合均匀制成植物油乳化液作为甘油三酯的来源。将上述制备的植物油乳化液按5%的比例加入到MRS培养基中,调pH至6.5±0.2,在115℃下,灭菌30min,将制备的甘油三酯培养基于4℃冰箱冷却备用。

1.1.3 仪器与设备

TGL-16M型低温高速离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;SCIENTZ-IID型超声波细胞粉碎机,宁波新芝生物科技股份有限公司;Multiskan FC酶标仪,赛默飞世尔科技公司;QL-861旋涡振荡器,海门市其林贝尔仪器制造有限公司;LDZX-50KBS立式压力蒸汽灭菌器,上海申安医疗器械厂;LAI-3DT厌氧手套箱,上海龙跃仪器设备有限公司;PHS-25B数字酸度计,上海大普仪器有限公司。

1.1.4 动物来源

金黄地鼠(许可证号:SCXK(辽)2020-0001),50只,雄性,90~110g,购于辽宁长生生物技术有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 菌株的分离纯化筛选及鉴定

将6月龄顺产健康的婴儿粪便稀释在平板上分离,37℃,48h后进行观察,找到典型菌落后,对其反复划线分离及纯化后获得纯菌株。通过革兰氏染色后镜检、过氧化氢酶试验进行鉴定,将疑似乳酸菌接种于MRS斜面培养基上培养并于4℃保存备用^[16,17]。

1.2.2 体外降胆固醇及降甘油三酯功能性筛选试验

1.2.2.1 体外降胆固醇功能性筛选

(1) 乳酸菌的活化

菌株接种5mL MRS培养基中,37℃,20±0.5h,取培养物接种100mL上述培养基中,17h备用。

(2) 胆固醇含量测定^[18,19]

1mg/mL胆固醇溶液:用无水乙醇将0.1g胆固醇定容于100mL容量瓶中,0.22 μm滤膜过滤除菌,4℃储藏备用。

图1是胆固醇标准曲线,线性方程为 $y=0.0167x+0.0171$, $R^2=0.9953$,线性关系良好。

待用菌种接种于MRS-CHOL培养基,以未接种的MRS-CHOL培养基作为对照。37℃培养24h后离

心 (6000 ×g, 5 °C, 10 min), 收集上清液, 通过 OPA 法进行测定。

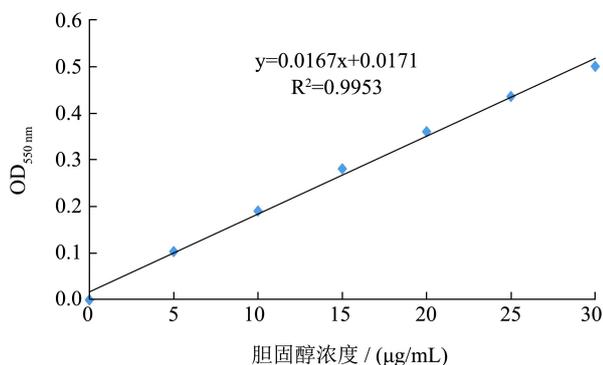


图1 胆固醇标准曲线

Fig.1 Cholesterol standard curve

取上清液 4.0 mL, 加入 2.0 mL 50% KOH, 混和均匀后加入 3.0 mL 95%乙醇, 漩涡震荡后, 将反应物置于 60 °C皂化 15 min, 加入 3.0 mL 正己烷, 混匀并加入 2.0 mL 蒸馏水, 漩涡震荡 1 min, 静置 15 min。取 2.0 mL 正己烷层溶液于干净离心管中, 60 °C氮吹挥发, 加入 2.0 mL 邻苯二甲醛溶液复溶, 加入 1.0 mL 浓硫酸, 漩涡震荡, 测定 OD₅₅₀。

根据标准曲线测定样品中胆固醇含量

$$\text{胆固醇降解率}/\% = \frac{C_0 - C}{C_0} \times 100\%$$

式中:

C_0 ——未接种上清液中胆固醇实测浓度, μg/mL;

C ——接种后发酵液上清液中胆固醇实测浓度, μg/mL。

1.2.2.2 菌株体外降甘油三酯功能性筛选

(1) 乳酸菌的活化

菌株接种于 5 mL 培养基中, 37 °C, 培养 20 h, 取 5 mL 培养物接至 100 mL 培养基中, 继续以适宜温度培养 17 h, 最后将菌液以 3%接种量接种至 100 mL 适宜甘油三酯培养基及未接种菌液的适宜甘油三酯培养基中, 37 °C下培养 24 h, 待后续试验。

(2) 单试剂法甘油三酯含量测定^[20]

将培养后的菌液及未接种菌液的适宜甘油三酯培养基分别取 10 mL, (6000 ×g, 5 °C, 10 min) 收集上清液。用 96 孔板把样本、校准品、蒸馏水取 2.5 μL 分别加入样本空、校准孔和空白孔中, 然后再加 250 μL 工作液混合, 37 °C孵育, 用酶标仪测定 OD₅₁₀ 值。

以如下计算公式计算未接种乳酸菌的甘油三酯培养基中甘油三酯 TG 含量和接种乳酸菌的甘油三酯培养基中残留 TG 含量。

$$\text{TG含量}/(\text{mmol}/\text{L}) = \frac{\text{样品OD值} - \text{空白OD值}}{\text{校准OD值} - \text{空白OD值}} \times \text{校准品浓度}(\text{mmol}/\text{L})$$

用总 TG 含量和残留 TG 含量以如下公式计算乳

酸菌的 TG 降解率。

$$\text{TG降解率}/\% = \frac{\text{总TG含量} - \text{残留TG含量}}{\text{总TG含量}} \times 100\%$$

1.2.3 菌株的胆盐耐受性及耐酸性试验

将传代三次的菌液按照 10%分别接种于空白对照和不同胆盐浓度及不同 pH 的 MRS 培养基中, 37 °C, 17 h 培养, 进行一系列的稀释, 分别取适宜稀释度的菌液 1000 μL 进行活菌计数操作, 每个稀释度 2 次重复, 37 °C静置培养 36~48 h 后测定活菌数。

不同条件处理, 取样计数测得的活菌数 (用 N 表示); 空白对照试验中不同时间取样测得的活菌数 (用 N_0 表示);

$$\text{耐酸(耐胆盐)存活率}/\% = \frac{\lg \text{CFU } N}{\lg \text{CFU } N_0} \times 100\%$$

1.2.4 降血脂功能菌株的鉴定

通过 SH-Q001-004-2019 生物学检测微生物菌种扫描电镜方法观察形态学特征、16S rDNA 基因序列测序及 BLAST 程序进行同源性对比鉴定筛选出的降胆固醇及甘油三酯能力强且具有较高耐酸耐胆盐能力的菌株。扫描电镜检测委托中国工业微生物菌种保藏管理中心完成, 16S rDNA 基因序列测序鉴定委托中国科学院微生物研究所完成。

1.2.5 体内降血脂试验

1.2.5.1 动物造模

选取金黄地鼠 50 只, 平衡饲养 3 d 后, 按体重随机分为 5 组, 每组 10 只, 5 组分别为: 溶剂对照组, 模型对照组, 样品的低、中、高剂量组^[21]。溶剂对照组采用基础饲料喂养, 模型对照组、鼠李糖乳杆菌 HCS01-013 剂量组给予高脂饲料喂养 7 d 造模成功后, HCS01-013 (6.5×10^{10} CFU/g) 剂量组按照 1 g/kg、2 g/kg、4 g/kg 剂量, 灌胃喂养 28 d, 溶剂对照组与模型对照组每天灌胃等体积生理盐水。试验期间, 各组实验动物自由摄食、饮水, 同时, 密切观察动物体重生长情况以及给样对动物的影响^[22]。

1.2.5.2 指标检测

给样结束后, 各组试验动物禁食 12 h, 于眼眶后静脉丛取血, (6000 ×g, 5 °C, 10 min) 收集上清, 应用甘油三酯试剂盒测定各组实验动物血清中甘油三酯含量。

1.3 数据统计分析

应用软件 SPSS 22.0 进行数据处理分析。每组试验重复 3 次, 试验结果以平均值±标准差表示, 采用 t 检验进行差异分析, $p < 0.05$ 认为差异存在统计学意义。

2 结果与分析

2.1 菌株的分离

从婴儿粪便样品中筛选分离出 6 株纯菌株, 革兰氏染色阳性, 菌落圆形, 乳白色或白色, 表面凸起, 呈杆状, 接触酶阴性, 初步判断为乳酸菌^[23]。

2.2 体外降胆固醇及降甘油三酯功能性的测定

2.2.1 体外降胆固醇功能性的测定

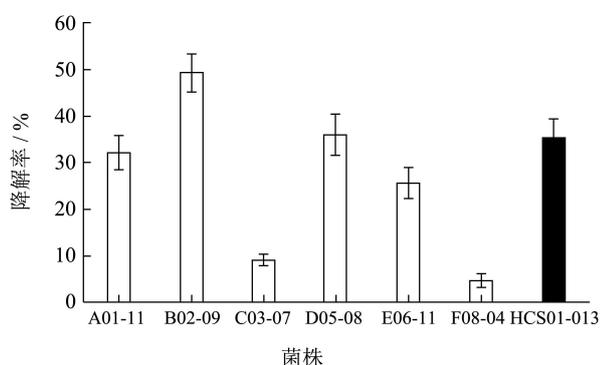


图 2 各菌株对胆固醇的降解率

Fig.2 Degradation rate of cholesterol by each strain

经邻苯二甲醛测定的 6 株乳杆菌胆固醇降解试验 (图 2), 由图中可知, 各菌株对胆固醇降解率差异较大, 其中 3 株菌的体外降胆固醇能力较强, 分别为 B02-09、D05-08、HCS01-013, 降解率分别为 49.32%、35.93%、35.40%, 其降解机制可能是通过吸附或共沉淀的方式达到的, 比现有研究如王欢等^[24]用邻苯二甲醛法筛选出的 1 株具有降胆固醇功能的植物乳杆菌 (降解率为 24.95%) 及王今雨等^[25]用邻苯二甲醛法筛

表 1 各菌株不同胆盐浓度中的活菌数及存活率

Table 1 The number of viable bacteria and survival rate in different bile salt concentrations of each strain

菌株	胆盐质量分数														
	NA			0.3%			0.5%			1.0%			1.5%		
	活菌数/ (CFU/mL)	活菌数/ (CFU/mL)	存活率 /%												
A01-11	6.50E+08	4.60E+08	97.41	2.64E+08	2.64E+08	94.71	2.24E+08	2.24E+08	93.92	1.94E+08	1.94E+08	93.03	1.94E+08	1.94E+08	93.03
B02-09	2.78E+09	1.19E+08	85.59	4.30E+07	4.30E+07	80.82	4.50E+06	4.50E+06	70.44	5.85E+05	5.85E+05	61.11	5.85E+05	5.85E+05	61.11
C03-07	2.54E+09	2.12E+09	99.15	1.95E+09	1.95E+09	98.72	1.29E+09	1.29E+09	96.81	1.26E+09	1.26E+09	96.71	1.26E+09	1.26E+09	96.71
D05-08	1.07E+09	2.79E+08	93.57	1.64E+08	1.64E+08	90.91	9.75E+07	9.75E+07	88.48	6.75E+07	6.75E+07	86.71	6.75E+07	6.75E+07	86.71
E06-11	2.55E+08	1.82E+08	98.22	1.25E+08	1.25E+08	96.28	9.05E+07	9.05E+07	94.61	2.40E+07	2.40E+07	87.76	2.40E+07	2.40E+07	87.76
F08-04	2.19E+09	9.70E+08	96.25	6.40E+08	6.40E+08	94.32	5.60E+08	5.60E+08	93.68	3.85E+08	3.85E+08	91.97	3.85E+08	3.85E+08	91.97
HCS01-013	1.08E+09	1.00E+09	99.67	7.05E+08	7.05E+08	98.01	6.20E+08	6.20E+08	97.34	5.55E+08	5.55E+08	96.79	5.55E+08	5.55E+08	96.79

选出的乳杆菌(胆固醇的降解率 32.87%)降解率均高。

2.2.2 体外降甘油三酯功能的测定

经单试剂法 (GPO-PAP) 甘油三酯含量测定试验 (图 3), 由图可知, 各菌株对甘油三酯的降解率差异较大, 菌株 B02-09 为 19.21%, C03-07 为 35.73%、D05-08 为 17.64%、E06-11 为 13.29%、F08-04 为 15.06%, HCS01-013 明显高于其他菌株 ($p < 0.05$), 降解率为 44.20%。阿依米热·毛拉木等用甘油三酯试剂盒测定含量, 筛选出具有降甘油三酯功能的植物乳杆菌^[14], 其降解率为 39.38%, 干酪乳杆菌, 降解率为 28.43%, 卢海鹏用甘油三酯试剂盒筛选出 12 株具有降甘油三酯能力的鼠李糖乳杆菌, 其中降解率最高的为 22.4%^[26]。菌株 HCS01-013 的甘油三酯降解能力水平较高, 可能也是通过吸附或共沉淀的方式降解, 有待进一步研究, 也可进一步用于在降血脂保健药品及功能保健食品的应用研究。

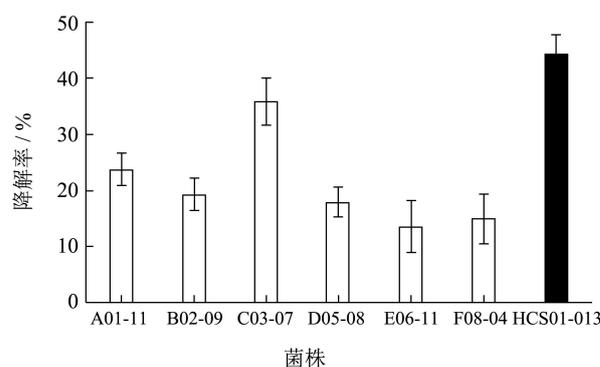


图 3 各菌株对甘油三酯的降解率

Fig.3 Degradation rate of triglyceride by each strain

2.3 菌株的胆盐耐受性及耐酸性的测定

2.3.1 菌株的耐胆盐能力测定结果

表2 各菌株不同 pH 中的活菌数及存活率

菌株	NA	PH 3.0		PH 2.0	
	活菌数/(CFU/mL)	活菌数/(CFU/mL)	存活率/%	活菌数/(CFU/mL)	存活率/%
A01-11	6.50E+8	1.4E+8	93.25	0	0
B02-09	6.50E+8	1.4E+8	93.25	0	0
C03-07	2.55E+9	1.95E+8	88.10	0	0
D05-08	1.07E+9	1.16E+8	89.26	0	0
E06-11	2.55E+8	2.00E+3	39.24	2	0.3
F08-04	2.19E+9	1.47E+8	87.50	1.08E+5	53.90
HCS01-013	1.4E+9	1.36E+8	88.76	6.30E+5	71.34

表3 菌株 HCS01-013 的 16S rDNA 序列同源性分析

菌株	同源性/%
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> strain 6870 16S ribosomal RNA gene, complete sequence	100
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG chromosome, complete genome	100
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> strain SCT-10-10-60 chromosome, complete genome	100
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> strain ATCC 11443 chromosome, complete genome	100
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> DSM 14870, complete genome	100
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> strain LR5, complete genome	100
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> strain TSP-LRh1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	100
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> strain 4B15, complete genome	100
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> strain Pen, complete genome	100
<i>Lactobacillus</i> sp. JCM 8652 gene for 16S rRNA, partial sequence, strain: JCM 8652	100

正常人体的小肠分泌的胆汁酸浓度一般在 0.3% 左右, 所以菌株需要在高胆盐环境下发挥作用, 本实验选择 4 个梯度 (0.3%、0.5%、1.0%、1.5%) 进行筛选, 结果如表 1。由表 1 可见, 在 0.3% 的胆盐浓度环境下, 6 株菌的存活率达到 95.00% 以上, 胆盐浓度提升到 1.5% 的环境下, 活菌数均有下降, 仅有 2 株菌存活率高于 95.00%, 其中 HCS01-013 的存活率最高为 96.79%。

2.3.2 菌株的耐酸环境能力测定结果

菌体进入到体内需要对相应较低酸环境, 人体的胃酸 pH 3.5~2.0 左右, 所以菌株需要在低酸环境下发挥作用, 本实验选择 2 个梯度 (pH 2.0 和 pH 3.0) 进行筛选, 结果如表 2。由表 2 可见, 在 pH 3.0 的条件下, 6 株菌的存活率达到 85.00% 以上, 当降低到 pH 2.0 的条件下, 活菌数均有下降, 仅有 2 株菌存活率高于 50.00%, 综上所述, HCS01-013 对胆盐的耐受性及耐酸性较好。

2.4 功能菌株鉴定结果

根据降胆固醇、降甘油三酯及胆盐耐受性试验结果, 菌株 HCS01-013 具有较强的降血脂能力及胆盐耐

受能力, 因此将其作为目标菌株进行鉴定。电镜扫描显示菌株 HCS01-013 菌体呈杆状, 0.4~0.5 μm × 0.7~1.3 μm , 单个或成对排列, 菌落呈圆形, 表面凸起, 白色, 湿润且边缘整齐。结合 BLAST 程序比对序列同源性分析及 16s rDNA 基因序列测序鉴定结果, 发现菌株 HCS01-013 的基因序列与鼠李糖乳杆菌 (*Lactocaseibacillus rhamnosus*) 的同源性为 100%, 在 MEGA-X 图形界面下构建系统发育树, 菌株 HCS01-013 在系统发育树上 *Lactobacillus rhamnosus* strain JCM1136 在一个分支上 (图 5), 因此鉴定菌株 HCS01-013 为一株鼠李糖乳杆菌 (*Lactocaseibacillus rhamnosus*)。



图4 菌株 HCS01-013 菌株电镜下形态

Fig.4 Electron microscopic morphology of HCS01-013

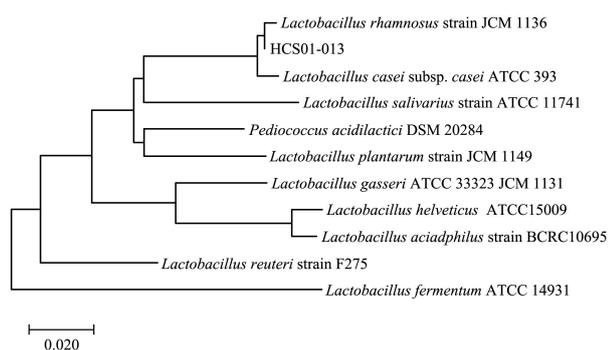


图5 HCS01-013 的系统进化树

Fig.5 Phylogenetic tree of HCS01-013

2.5 HCS01-013 对高血脂症地鼠血脂影响

表4 动物血清中甘油三酯含量 (TG, mmol/L)

Table 4 Serum triglyceride content of experimental animals in each group (TG, mmol/L)

组别	第 0 d	第 28 d
溶剂对照组	0.82±0.20	0.88±0.12
模型对照组	2.49±0.18	2.45±0.29
1 g/kg 剂量组	2.53±0.22	1.81±0.26*
2 g/kg 剂量组	2.42±0.16	1.72±0.31*
4 g/kg 剂量组	2.46±0.21	1.69±0.19*

注: * $p < 0.05$, 与模型对照组相比。

由表4可知,造模第28d,模型组与溶剂对照组相比,血清TG含量显著升高,说明在本实验条件下,高血脂模型造模成功。经过28d小鼠灌胃处理,低、中、高剂量组血清TG含量均明显下降,这说明在此剂量下鼠李糖乳杆菌对TG有一定的调节能力。

3 结论

3.1 本实验从健康婴儿肠道中筛选乳酸菌,并对胆固醇与甘油三酯的降解率进行研究,首先将6株菌株用邻苯二甲醛法进行胆固醇降解率测定,其中有3株菌对胆固醇降解率高于35%,分别为B02-09, D05-08, HCS01-013。经单试剂法(GPO-PAP法)测定6株乳酸菌株的甘油三酯降解能力,结果菌株HCS01-013甘油三酯降解能力最强,其降解率为44.20%,在耐酸试验中,菌株HCS01-013耐酸能力最强,在pH 3.0和pH 2.0酸性条件下培养17h,存活率能达到88.76%和71.34%。在胆盐耐受性的实验中,通过研究发现经过17h高浓度胆盐培养下各菌株的活菌数和存活率都有所下降,但是各菌株的存活率都能达到60%以上,均具有较强的耐胆盐的能力,其中HCS01-013的胆盐耐受能力较为突出,在1.5%的胆盐浓度下存活率达96.79%。

3.2 尽管本次试验在降低胆固醇、降甘油三酯作用得到实验支持,但其机理尚未定论,目前通过实验能够看出在降血脂的两项体外试验中HCS01-013的降解率相对较好,同时又具有较强的耐受酸及胆盐的能力。在对高血脂症地鼠试验结果表明,在高脂饲料的诱导下,血液中TG含量可明显升高,经过28d的鼠李糖乳杆菌HCS01-013喂养后,金黄地鼠血清TG含量明显下降,这说明鼠李糖乳杆菌HCS01-013表现出了有一定的体内降甘油三酯的能力。

3.3 在降胆固醇与降甘油三酯试验过程中所使用的为离心过后的上清液,在之后的实验中可考虑菌体吸收是否对试验有影响,并对其进行研究;在HCS01-013对高血脂症地鼠血脂影响中发现各剂量组之间没有表现出明显的降甘油三酯量效关系,这可能与该菌株降解甘油三酯机理或者给样时间较短有关。由于试验条件所限,本次试验仅对给样后金黄地鼠血清中甘油三酯含量进行了测定,之后可增加检测如低密度脂蛋白、高密度脂蛋白等指标,考察鼠李糖乳杆菌HCS01-013对胆固醇转化的作用,以期更全面的了解该菌株降血脂的机理,为后续的开发和应用提供数据支持。

参考文献

- [1] 赵媛媛,覃骊兰,郝二伟.高血脂症动物模型研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(18):215-221
ZHAO Yuanyuan, QIN Lilan, HAO Erwei. Advances in animal models of hyperlipidemia [J]. Chinese Journal of Experimental Formulae, 2018, 24(18): 215-221
- [2] 朱琪,曾立,李庚喜,等.金银花水提取总黄酮对高血脂小鼠的降血脂机制研究[J].中国预防医学杂志,2020,21(7):23-29
ZHU Qi, ZENG Li, LI Gengxi, et al. Study on hypidemic mechanism of total flavonoids extracted from honeysuckle water on hyperlipidemia mice [J]. Chinese Journal of Preventive Medicine, 2020, 21(7): 23-29
- [3] 王炳艳.瑞舒伐他汀治疗高血脂症合并颈动脉粥样硬化患者的效果及对其血清TC、TG和LDL-C水平的影响分析[J].中国医药指南,2019,17(15):158
WANG Bingyan. Effects of rosuvastatin on serum TC, TG and LDL-C levels in patients with hyperlipidemia complicated with carotid atherosclerosis [J]. Chinese Medical Guide, 2019, 17(15): 158
- [4] Francois M, Colin B, Alberico L C, et al. 2019 ESC/EAS guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk: the task force for the management of dyslipidaemias of the European society of cardiology (ESC) and European atherosclerosis society

- (EAS) [J]. *Europ Heart J*, 2019, 455: 1-78
- [5] Kishimoto M, Adachi M, Takahashi K, et al. Clonazepam-induced liver dysfunction, severe hyperlipidaemia, and hyperglycaemic crisis: a case report [J]. *SAGE Open Med Case Rep*, 2019, 7: 2050313X-19842976X
- [6] Yung L C, Lucy S H. Cholesterol-lowering effect of phytosterol-containing lactic-fermented milk powder in hamsters [J]. *Food Chemistry*, 2010, 119: 1121-1126
- [7] Mitchell L J, Satya P. Microencapsulated genetically engineered *Lactobacillus plantarum* 80 (pCBH1) for bile acid deconjugation and its implication in lowering cholesterol [J]. *Journal of Biomed & Biotech*, 2004, 1: 61-69
- [8] Kimoto H, Ohmomo S, Okamoto T. Cholesterol removal from media by lactococci [J]. *Journal of Dairy Science*, 2002, 85: 3182-3188
- [9] Guo J, Tao H, Cao Y, et al. Prevention of obesity and type 2 diabetes with aged citrus peel (Chenpi) extract [J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(10): 2053-2061
- [10] 于翠云,袁琳.化浊行血方剂和血脂康治疗老年人高血脂症的疗效和安全性比较[J].*实用医药杂志*,2019,36(7):617-619
YU Cuiyun, YUAN Lin. Comparison of efficacy and safety of Huazhuo Xingxue Fang and Xuezhikang in treating hyperlipidemia in the aged [J]. *Journal of Practical Medicine*, 2019, 36(7): 617-619
- [11] 王成,胡乃华,余琳媛,等.降脂模型研究进展[J].*中国比较医学杂志*,2020,30(4):121-130
WANG Cheng, HU Naihua, YU Linyuan, et al. Research progress of lipid-lowering model [J]. *Chinese Journal of Comparative Medicine*, 2020, 30(4): 121-130
- [12] 高玉荣,刘立君,李本领,等.发酵食品中降胆固醇益生菌的筛选及鉴定[J].*农产品加工*,2016,4:37-39
GAO Yurong, LIU Lijun, LI Benling, et al. Screening and identification of cholesterol-lowering probiotics in fermented food [J]. *Agricultural Processing*, 2016, 4: 37-39
- [13] 王湘竹.内蒙古酸粥中乳酸菌生物学特性及功能性研究[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2009
WANG Xiangzhu. Biological characteristics and function of lactobacillus in Inner Mongolia [D]. Huhehot: Inner Mongolia Agricultural University, 2009
- [14] 阿依米热·毛拉木,努斯热提古丽·安外尔,布沙热木·阿布力孜,等.新疆喀什长寿老人肠道益生菌的分离鉴定及生物学特性研究[J].*食品与机械*,2018,34(5):33-37
AYMIHRI Mollam, NUSRATGUL Anwar, BUSARAM Abliz, et al. Isolation, identification and biological characteristics of intestinal probiotics from the longevity crowd in Kashi, Xinjiang [J]. *Food & Machinery*, 2018, 34(5): 33-37
- [15] 郝林.食品微生物学实验技术[M].北京:中国农业出版社,2001
HAO Lin. *Experimental Techniques of Food Microbiology* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2001
- [16] 石超.传统发酵牦牛酸奶中降胆固醇乳酸菌的筛选及其对高脂模型大鼠的益生作用[D].兰州:兰州大学,2014
SHI Chao. Screening of cholesterol-lowering lactic acid bacteria from traditional fermented yak yoghurt and its probiotic effect on high-fat model rats [D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2014
- [17] 凌代文,东秀珠.乳酸菌细菌分类鉴定及实验方法[M].北京:中国轻工业出版社,1999
LING Daiwen, DONG Xiuzhu. *Classification and Identification of Lactic Acid Bacteria and Experimental Methods* [M]. Beijing: China Light Industry Press, 1999
- [18] 赵佳锐,范晓兵.人体肠道益生菌体外降胆固醇活性研究[J].*微生物学报*,2005,45(6):920-923
ZHAO Jiarui, FAN Xiaobing. Study on cholesterol-lowering activity of human intestinal probiotics *in vitro* [J]. *Journal of Microbiology*, 2005, 45(6): 920-923
- [19] 唐雅茹,于上富,国立东,等.一株降胆固醇乳杆菌的筛选及其益生作用的研究[J].*食品工业科技*,2016,37(1):142-144
TANG Yaru, YU Shangfu, GUO Lidong, et al. Screening of a strain of cholesterol-lowering *Lactobacillus* and study on its probiotics [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2016, 37(1): 142-144
- [20] Danielson A D. Anticholesterolemic property of *Lactobacillus acidophilus* yoghurt fed to mature boars [J]. *J Anim Sci*, 1989, 67: 966-974
- [21] 张泽生,王俊辉,李健,等.四株益生菌对高脂血症仓鼠降血脂作用的研究[J].*食品工业科技*,2012,32(12):365-367
ZHANG Zesheng, WANG Junhui, LI Jian, et al. Hypolipidemic effect of four strains of probiotics on hyperlipidemia hamster [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2012, 32(12): 365-367
- [22] 卜荣华,吕文平,钟海燕,等.CirQ-life保恩素胶囊毒性研究[J].*湖北工业大学学报*,2016,31(1):5
BU Ronghua, LV Wenping, ZHONG Haiyan, et al. CirQ-life pauntin capsule toxicity study [J]. *Journal of Hubei University of Technology*, 2016, 31(1): 5

(下转第 69 页)