

# 富硒红曲米对高脂饮食小鼠 脂代谢和肠道菌群的改善作用

张亚萍<sup>1</sup>, 袁亚宏<sup>1</sup>, 岳田利<sup>1,2\*</sup>

(1. 西北农林科技大学食品科学与工程学院, 陕西杨凌 712100)

(2. 西北大学食品科学与工程学院, 陕西西安 710069)

**摘要:** 该研究旨在探究富硒红曲米对高脂饮食小鼠脂代谢和肠道菌群的影响。选用 48 只 C57BL/6J 小鼠随机分为 6 组 (n=8): 正常饮食组、高脂饮食组、富硒红曲米的低、中、高剂量组和红曲米组。灌胃 8 周后, 测定血清中总甘油三酯 (TG)、总胆固醇 (TC)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 和低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 含量, 对肝脏组织和脂肪状态进行镜检, 并采用 16S rRNA 高通量测序技术分析肠道菌群。研究发现, 与高脂饮食组相比, 富硒红曲米高剂量组的血脂水平、肝脏脂肪堆积和肠道菌群有显著改善, 其中血清 TG、TC 和 LDL-C 水平分别显著降低了 26.97%、24.43%、49.03%, HDL-C 水平显著增加了 95.71%; 肠道菌群的物种丰富度和多样性明显增加, 肠道菌群结构显著改善, 其中厚壁菌门 (与血脂水平呈正相关) 的相对丰度降低了 39.26%, 疣微菌门和阿克曼菌属 (与血脂水平呈负相关) 的相对丰度分别增加了 36.09%、36.93%。相较于红曲米组, 富硒红曲米高剂量组的 LDL-C 水平显著降低了 42.31%, 此外, 厚壁菌门减少了 26.10%, 疣微菌门和阿克曼菌属的相对丰度分别增加了 46.59%、44.01%。研究表明, 与红曲米相比, 富硒红曲米对高脂饮食诱导的小鼠脂代谢紊乱和肠道菌群失调具有显著的改善效果。

**关键词:** 富硒红曲米; 脂代谢; 肠道菌群; 高脂饮食

文章编号: 1673-9078(2022)02-1-11

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.2.0609

## Selenium-enriched Red Yeast Rice Improves Lipid Metabolism and Intestinal Flora in Mice Fed A High-fat Diet

ZHANG Yaping<sup>1</sup>, YUAN Yahong<sup>1</sup>, YUE Tianli<sup>1,2\*</sup>

(1. College of Food Science and Engineering, Northwest A & F University, Yangling 712100, China)

(2. College of Food Science and Technology, Northwest University, Xi'an 710069, China)

**Abstract:** The effects of selenium-enriched red yeast rice on lipid metabolism and intestinal flora in mice fed a high-fat diet were investigated. Forty-eight C57BL/6J mice were divided randomly into six groups (n=8 each): a common diet group; high-fat diet group; low-, medium-, and high-dose selenium-enriched red yeast rice group; and red yeast rice group. After gavage for 8 weeks, the serum total triglyceride, total cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol, and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) contents were determined. The liver tissue and fat status were examined using a microscope, and intestinal flora were analyzed using 16S rRNA high-throughput sequencing. Compared to the high-fat diet group, the high-dose selenium-enriched red yeast rice group showed significantly improved blood lipid levels, liver fat accumulation, and intestinal flora. Serum triglyceride, total cholesterol, and LDL-C levels were significantly reduced by 26.97%, 24.43%, and 49.03%, respectively, and high-density lipoprotein cholesterol levels were significantly increased by 95.71%. Additionally, the species richness and diversity of the intestinal flora were significantly increased, and the structure of the intestinal flora was significantly improved.

引文格式:

张亚萍,袁亚宏,岳田利.富硒红曲米对高脂饮食小鼠脂代谢和肠道菌群的改善作用[J].现代食品科技,2022,38(2):1-11

ZHANG Yaping, YUAN Yahong, YUE Tianli. Selenium-enriched red yeast rice improves lipid metabolism and intestinal flora in mice fed a high-fat diet [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(2): 1-11

收稿日期: 2021-06-09

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2019YFC1606703)

作者简介: 张亚萍 (1996-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品功能化加工工程技术, E-mail: 1507761721@qq.com

通讯作者: 岳田利 (1965-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品安全识别控制工程, 营养健康食品制造工程, E-mail: yuetl@nwfufu.edu.cn

improved. The relative abundance of Firmicutes (positively correlated with blood lipid levels) was decreased by 39.26%, and those of Verrucomicrobia and *Akkermansia* (negatively correlated with blood lipid levels) were increased by 36.09% and 36.93%, respectively. Compared with that in the red yeast rice group, the LDL-C level in the high-dose selenium-enriched red yeast rice group was significantly reduced by 42.31%. Moreover, the relative abundance of Firmicutes was reduced by 26.10%, and those of Verrucomicrobia and *Akkermansia* were increased by 46.59% and 44.01%, respectively. This study showed that compared with red yeast rice, selenium-enriched red yeast rice markedly ameliorates lipid metabolism disorder and the intestinal flora imbalance induced by a high-fat diet in mice.

**Key words:** selenium-enriched red yeast rice; lipid metabolism; intestinal flora; high-fat diet

近年来,以高血脂为代表的“三高”症状已成为一种日益年轻化的疾病,据卫生部门统计结果显示,自2012年以来,我国成年人的血脂异常总体患病率超过四成,6~17岁的儿童青少年群体中血脂异常总检出率高达28.5%<sup>[1]</sup>。不合理的饮食结构是诱导血脂异常的主要因素之一,长期血脂水平过高会引发高脂血症、动脉粥样硬化等心脑血管疾病<sup>[2]</sup>。研究表明,肠道菌群可促进机体对营养物质的消化吸收,在宿主的能量代谢和免疫调节中发挥着重要作用<sup>[3]</sup>,肠道菌群结构改变、功能失调与肥胖、心脑血管疾病之间也具有关联性<sup>[4,5]</sup>。相比于药物治疗,通过饮食改善肠道菌群的结构组成以恢复能量供需平衡,具有副作用产生率低、安全可控性强等优势。

硒作为人体必需的微量元素,具有抗氧化、增强免疫、保护心脑血管等有益生理功能<sup>[6]</sup>。但自然界中分布较广的为无机形态的硒,毒理活性强、体内吸收利用率低<sup>[7,8]</sup>,使其开发利用受阻。红曲霉是一种优良的微生物富硒载体,通过微生物富集作用将亚硒酸钠等无机硒转化为硒蛋白或硒代氨基酸等有机硒<sup>[9,10]</sup>,有效降低无机硒的毒副作用,提高硒的生物利用率。同时,红曲霉在固态发酵过程中,也会产生抑制胆固醇合成的洛伐他汀<sup>[11]</sup>,相比于化学合成的他汀类降脂药物,生物合成途径获取的洛伐他汀具有更显著的降脂效果和较低的副作用产生率<sup>[12]</sup>,因此被广泛应用于高血脂人群的膳食干预研究中。研究证实,红曲米的降血脂功效与肠道菌群组成的改变有关。Dong等<sup>[13]</sup>发现高脂饮食小鼠经红曲米干预后,血脂水平降低,肠道菌群结构改变,其中与血清TC和LDL-C呈正相关的 *Alistipes* 和 *Flavonifractor* 的相对丰度显著降低。Zhou等<sup>[14]</sup>发现由红曲米分离提取的红曲色素具有改善高脂血症的功效,模型组小鼠肠道中与脂质代谢和炎症参数呈负相关的菌属的相对丰度显著增加。

此外,硒与血脂水平、肠道健康之间也存在关联性。研究证实,适量补充有机硒可恢复脂代谢和肠道内环境稳态<sup>[15-17]</sup>。Sharma等<sup>[18]</sup>研究发现,膳食中摄入足量的硒可以优化宿主的肠道菌群,保护肠道免受外界不良刺激诱导的炎症损害和有害细菌侵袭。Reid等

<sup>[19]</sup>发现膳食中补充硒会影响宿主肠道菌群的组成,而肠道菌群也会影响硒的生物利用度。富硒红曲米是将红曲霉(*Monascus*)接种于添加亚硒酸钠的大米上经固态发酵制备的一种发酵食品。然而,人们对富硒红曲米在体内的降脂和肠道健康调节功效尚不明确。因此,本研究以高脂饮食小鼠为研究对象,探究富硒红曲米对其脂代谢和肠道菌群的影响作用,旨在为一种降血脂功能性富硒食品的开发应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

表1 饲料成分表

Table 1 Feed composition table

营养素	基础饲料 含量/(g/kg)	高脂饲料 含量/(g/kg)
酪蛋白	140	175
玉米淀粉	465.7	132
糊精	155	125
蔗糖	100	202
豆油	40	30
猪油	/	196
纤维素	50	62
矿物质	35.0	61
维生素	10	12
L-胱氨酸	1.8	2
酒石酸胆碱	/	3
叔丁基对苯二酚	0.036	0.045
氯化胆碱	2.5	/
合计	1000	1000

基础对照饲料、高脂饲料(饲料成分表见表1),江苏南通特洛菲饲料科技有限公司;食品级羧甲基纤维素钠(CMC-Na),上海源叶生物科技有限公司;总甘油三酯(TG)试剂盒、总胆固醇(TC)试剂盒、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)试剂盒、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)试剂盒,武汉塞维尔生物科技有限公司;红曲米、富硒红曲米均由本实验室制备所得

(采用高效液相色谱法<sup>[20]</sup>测定洛伐他汀含量;采用紫外可见分光光度法<sup>[21]</sup>测定红曲色素含量;采用氢化物-原子荧光光谱法<sup>[22]</sup>测定总硒含量;采用柱前衍生化-

高效液相色谱法<sup>[23,24]</sup>测定有机硒含量)。红曲米和富硒红曲米的主要成分及含量见表2。

表2 不同物质中主要成分含量

Table 2 Content of main components in different products

样品名称	洛伐他汀含量/(mg/g)	红曲色素/( $\mu$ g)	总硒含量/( $\mu$ g/g)	有机硒含量/( $\mu$ g/g)
红曲米	7.07 $\pm$ 0.35 <sup>a</sup>	1521.32 $\pm$ 214.35 <sup>a</sup>	0.25 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.24 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>
富硒红曲米	7.07 $\pm$ 0.52 <sup>a</sup>	1632.45 $\pm$ 156.97 <sup>a</sup>	4.95 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>	4.54 $\pm$ 0.35 <sup>b</sup>

注: 同列肩标上的不同字母表示组间具有统计学差异,  $p < 0.05$ 。

表3 动物分组及处理方法

Table 3 Animal grouping and treatment methods

分组	给药情况	每日给药剂量 (以红曲米或富硒红曲米计)/(g/kg)
基础饮食组 (CD)	0.5% CMC-Na, 0.2 mL	0
高脂模型组 (HFD)	0.5% CMC-Na, 0.2 mL	0
红曲米组 (HFD-RYR)	红曲米添加量 9.4% 的混悬液, 0.2 mL	0.94
低剂量组 (HFD-LSRYR)	富硒红曲米添加量 2.4% 的混悬液, 0.2 mL	0.24
中剂量组 (HFD-MSRYR)	富硒红曲米添加量 4.7% 的混悬液, 0.2 mL	0.47
高剂量组 (HFD-HSRYR)	富硒红曲米添加量 9.4% 的混悬液, 0.2 mL	0.94

## 1.2 实验仪器

ABI-9700 PCR 仪, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司; KZ-II 高速组织研磨仪, 武汉塞维尔生物科技有限公司; D3024R 台式高速冷冻离心机, 大龙兴创仪器(北京)股份公司; Epoch-67 酶标检测仪, 美国伯腾仪器有限公司; Chemray-240 全自动生化分析仪, 深圳雷杜生命科学股份有限公司; BX-43 电子显微镜, 美国奥林巴斯公司。

## 1.3 红曲米及富硒红曲米混悬液的制备

(1) 红曲米混悬液的制备流程: 将红曲霉菌株 CICC41601 接种于 PDA 斜面培养基上, 28 °C 恒温培养 5 d。无菌条件下, 将生理盐水注入菌种的斜面培养基上, 用竹签将菌丝轻轻刮下, 将洗脱液转移至装有玻璃珠的锥形瓶中, 于 28 °C、120 r/min 震荡 30 min, 使孢子均匀分布(孢子悬液浓度为  $10^6 \sim 10^7$  CFU/mL)。移取 1 mL 孢子悬液接种于 100 mL PDB 培养基中, 于 28 °C、120 r/min 培养 48 h, 获得种子扩大培养液。称取 30 g 粳米于 250 mL 锥形瓶中, 加入蒸馏水将基质的初始含水量调节至 30% 左右, 自然 pH, 浸泡过夜后, 于 121 °C、高压灭菌 15 min。取 3 mL 种子扩大培养液, 接种于灭菌后的粳米上, 用竹筷充分搅拌后, 用透气封口膜将瓶口扎紧, 于 28 °C 恒温培养 15 d。发酵结束后, 将产物置于 50 °C 烘箱中烘干至恒重。将红曲米粉碎过筛(40 目)后, 以 0.5% 的 CMC-Na 制

成质量浓度为 9.4% 的红曲米混悬液, 置于 4 °C 低温、避光条件下密封储存。

(2) 富硒红曲米混悬液的制备流程: 将富硒驯化后的红曲霉菌株 CICC41601 作为发酵菌株, 用 20  $\mu$ g/mL 的亚硒酸钠溶液替代蒸馏水以调节基质的初始含水量, 其他步骤与红曲米制备过程相同。将富硒红曲米粉末与 0.5% 的 CMC-Na 充分混合, 分别制成质量浓度为 2.4%、4.7%、9.4% 的富硒红曲米混悬液, 置于 4 °C 低温、避光条件下密封储存。

## 1.4 动物分组及处理方法

48 只 6 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠(体重 18~20 g), 购于西安交通大学实验动物中心(实验动物生产许可证号: SCXK(陕)2020-001; 实验动物使用许可证号: SCXK(陕)2020-005)。所有实验流程均按照《实验动物护理与使用指南: 第八版》(ISBN-10:0-309-15396-4)执行, 该实验规程已获取西北农林科技大学批准。适应性培养 1 周后, 按体重水平随机分为 6 组( $n=8$ ), 根据不同物质中洛伐他汀含量确定各组小鼠的每日灌胃剂量: HFD-LSRYR 和 HFD-MSRYR 组分别为 0.24 g/kg·BW、0.47 g/kg·BW(相当于洛伐他汀的人体推荐剂量的 5 倍、10 倍), HFD-HSRYR 组、HFD-RYR 组均为 0.94 g/kg·BW(相当于洛伐他汀的人体推荐剂量的 20 倍)。具体分组及处理方法见表 3。

试验过程中, 除 CD 组动物喂以基础对照饲料外,

其余各组均喂以高脂饲料。试验期间, 每天对试验动物灌胃一次, 各组动物自由饮水, 正常摄食。经过 8 周的饮食干预后, 对小鼠禁食 12 h (不禁水) 后麻醉、解剖。

### 1.5 血脂水平测定

对动物进行麻醉后, 通过眼球取血法获取新鲜血液, 在 4 °C 下, 以 5000 r/min 离心 15 min 以分离出上层血清, 并将其转移至洁净的离心管中。置于液氮罐中冻存待测。采用试剂盒法通过全自动生化分析仪对小鼠血清中血脂生化指标 (甘油三酯 TG、总胆固醇 TC、高密度脂蛋白胆固醇 HDL-C 和低密度脂蛋白胆固醇 LDL-C) 含量进行测定。

### 1.6 肝脏组织的病理学观察

取出部分已去除表面血渍的新鲜肝脏组织, 将其浸没于 4% 的多聚甲醛溶液中, 进行固定处理。然后通过石蜡包埋、切片、经苏木素伊红 (HE) 工作液染色处理后, 封片。于电子显微镜下对不同组织进行病理学形态观察, 并拍照记录。

### 1.7 肝脏组织的脂肪状态观察

取出部分已去除表面血渍的新鲜肝脏组织置于液氮罐中快速冷冻, 用 OCT 包埋胶 (聚乙二醇和聚乙烯醇水溶性混合物) 在冷冻好的组织表面进行包埋、切片。切片先经水洗、异丙醇浸洗, 进行油红 O 染液染色处理, 再经异丙醇分色、水洗, 进行 HE 复染。最后, 流水清洗以进行蓝化, 蒸馏水洗后, 弃去多余水分, 封片。在电子显微镜下观察肝脏组织中脂肪堆积状态。

### 1.8 粪便的采集及送样

最后一天灌胃结束后, 在无菌操作条件下, 利用无菌离心管收集每组小鼠 ( $n=8$ ) 的新鲜粪便, 并立即放入液氮罐中冻存。将新鲜粪便样品送至上海美吉生物医药科技有限公司进行肠道菌群基因组提取及高通量测序处理。

### 1.9 动物肠道菌群分析

通过高通量测序技术<sup>[25]</sup>分析富硒红曲米对高脂饮食小鼠肠道菌群的影响: 采用试剂盒法对小鼠粪便基因组 DNA 进行提取, 紫外-可见分光光度法对 DNA 纯度及浓度进行测定, 通过粪便菌群的 16S rRNA 的 V3 和 V4 区构建 Miseq 测序文库, 使用的引物对序列为: 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和

806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')。PCR 扩增体系: 4  $\mu$ L 5 $\times$ FastPfu Buffer, 2  $\mu$ L dNTPs (2.5 mmol/L), 0.8  $\mu$ L 引物 (5  $\mu$ mol/L), 0.4  $\mu$ L FastPfu DNA 聚合酶, 0.2  $\mu$ L BSA, 10 ng 样本基因组 DNA 模板, 加入无菌的去离子水至 20  $\mu$ L。PCR 反应条件: 95 °C 反应 3 min; 95 °C 反应 30 s, 58 °C 反应 30 s, 72 °C 反应 45 s, 循环数为 29; 72 °C 反应 10 min。取 PCR 扩增后的产物 3  $\mu$ L 通过 2% 琼脂糖凝胶电泳检测。采用 Illumina 测序平台进行测序, 原始数据已存入 NCBI 序列读档案 (SRA) 数据库中, 将原始的 16S rRNA 基因测序读数经过多路分解、质量过滤和合并, 对具有 97% 相似性截止值的操作分类单位 (ASV) 进行了聚类、鉴定并去除嵌合序列, 在 Majorbio I-Sanger Cloud 在线平台上对数据进行分析。

### 1.10 数据处理及统计学分析

所有实验至少进行 3 次, 数据以均数 $\pm$ 标准差 (SD) 表示。所有统计分析均采用 GraphPad Prism 6.0 软件进行, 采用 Duncan's 检验计算统计学差异的显著性,  $p<0.05$  为显著,  $p<0.01$  为极显著。

## 2 结果与讨论

### 2.1 富硒红曲米对高脂饮食小鼠血脂水平的影响

各组小鼠的血脂水平变化如表 4 所示。与 CD 组相比, HFD 组小鼠血清中的 TG 和 TC 分别显著上升了 71.15%、66.82% ( $p<0.05$ ), LDL-C 水平显著增加了 5.65 倍 ( $p<0.05$ ), HDL-C 水平显著降低了 58.33% ( $p<0.05$ )。经口灌胃富硒红曲米混悬液可不同程度地改善高脂饮食小鼠的血脂异常症状。与 HFD 组相比, HFD-LSRYR 组的血清 TC 浓度显著下降了 13.92% ( $p<0.05$ ); HFD-MSRYR 组的血清 TC 和 LDL-C 浓度分别显著降低了 20.17%、44.66% ( $p<0.05$ ), HDL-C 浓度显著提升了 71.43% ( $p<0.05$ ); HFD-HSRYR 组的血清 TG、TC 和 LDL-C 浓度分别显著减少了 26.97%、24.43%、49.03% ( $p<0.05$ ), HDL-C 浓度显著增加了 95.71% ( $p<0.05$ )。

随着富硒红曲米剂量的增加, 小鼠血清 TG、TC 和 LDL-C 浓度下降, HDL-C 浓度上升; 与低剂量组相比, 中剂量组的 TG 水平变化不显著 ( $p>0.05$ ); 不同剂量组的 TC 水平变化无显著性差异 ( $p>0.05$ ); 与中剂量组相比, 高剂量组的 HDL-C 增加、LDL-C 下降, 但均不显著 ( $p>0.05$ ), 可能是由于干预周期过短, 不能充分凸显

其降血脂活性。此外,与HFD-RYR组相比,HFD-HSRYR组小鼠血清中LDL-C含量显著降低( $p<0.05$ ),HDL-C水平上升,但不具有显著性差异( $p>0.05$ )。结果表明,高脂饮食诱导小鼠血脂水平升高,导致脂代谢紊乱。富

硒红曲米可改善高脂饮食小鼠的血脂异常症状,主要表现为降低血清TC水平,干预效果与剂量呈正相关。与红曲米相比,富硒红曲米通过显著降低LDL-C水平调节高脂饮食小鼠的脂代谢。

表4 各处理组小鼠血脂水平 (nmol/L)

Table 4 Blood lipid levels of mice in each treatment group

组别	TG	TC	HDL-C	LDL-C
CD	0.52±0.04 <sup>a</sup>	2.11±0.19 <sup>a</sup>	1.68±0.23 <sup>c</sup>	0.31±0.07 <sup>a</sup>
HFD	0.89±0.14 <sup>c</sup>	3.52±0.16 <sup>c</sup>	0.70±0.05 <sup>a</sup>	2.06±0.12 <sup>c</sup>
HFD-RYR	0.61±0.06 <sup>b</sup>	2.98±0.12 <sup>b</sup>	1.15±0.11 <sup>b</sup>	1.82±0.14 <sup>c</sup>
HFD-LSRYR	0.83±0.19 <sup>c</sup>	3.03±0.25 <sup>b</sup>	0.89±0.24 <sup>a</sup>	1.95±0.21 <sup>c</sup>
HFD-MSRYR	0.79±0.05 <sup>c</sup>	2.81±0.19 <sup>b</sup>	1.20±0.21 <sup>b</sup>	1.14±0.05 <sup>b</sup>
HFD-HSRYR	0.65±0.11 <sup>b</sup>	2.66±0.27 <sup>ab</sup>	1.37±0.18 <sup>b</sup>	1.05±0.16 <sup>b</sup>

注: 同列肩标上的不同字母表示组间差异显著,  $p<0.05$ 。

研究表明,红曲米含有天然的降脂活性成分-洛伐他汀,其在体内与胆固醇合成反应过程的关键限速酶(HMG-CoA还原酶)形成竞争性抑制,从而抑制LDL-C的合成<sup>[26]</sup>。程慧敏<sup>[27]</sup>利用红曲对高脂饮食诱导的动脉粥样硬化模型小鼠进行膳食干预,12周后发现血清TC和LDL-C水平显著降低。除洛伐他汀外,红曲色素也是一类潜在的降脂活性物质。红曲色素中的红、黄、橙色素不仅能显著降低高脂饮食大鼠的血脂水平,而且对肝脏脂肪堆积症状也具有明显的缓解作用<sup>[14]</sup>。硒以硒代半胱氨酸的形式参与谷胱甘肽过氧化物酶的构成,能及时清除沉积于血管内壁上的自由基和脂质过氧化产物,避免血管阻塞。然而,缺硒会诱导血液中的胆固醇和甘油三酯水平上升,增加动脉粥样硬化的风险<sup>[28]</sup>。研究表明,饮食中增加有机硒蛋白的摄入可显著降低血清总胆固醇含量<sup>[29]</sup>。Zhou等<sup>[30]</sup>发现膳食生物硒可通过抑制HMG-CoA还原酶的mRNA表达降低高脂饮食小鼠血清和肝脏中脂质水平。以上文献报道与本研究结果具有相似性,表明富硒红曲米的降血脂活性可能是由于有机硒和红曲中的洛伐他汀、色素的协同作用,而微生物富硒提高了富硒红曲米的有机硒含量,使其对高脂饮食诱导的胆固醇水平上升具有显著的抑制效果。

## 2.2 富硒红曲米对高脂饮食小鼠肝脏组织病理形态学的影响

各处理组小鼠肝脏组织切片的HE染色结果如图1所示。CD组的肝脏细胞形态完整,细胞核明显且居于中央,胞间排列紧密,轮廓清晰。HFD组的肝脏细胞明显肿胀,空泡化现象严重,细胞核偏移,胞间排列松散,轮廓模糊。与HFD组相比,富硒红曲米高

剂量组的改善效果较显著,表现为空泡化细胞数量明显减少,细胞肿胀化程度下降,细胞核回归到细胞中央位置。然而,红曲米组和富硒红曲米低、中剂量组相较于HFD组,肝脏组织中空泡化细胞明显增多且空泡变大,可能是由于试验周期过短,红曲米和低、中剂量富硒红曲米对高脂饮食小鼠肝脏组织细胞结构的改善效果尚未显现。

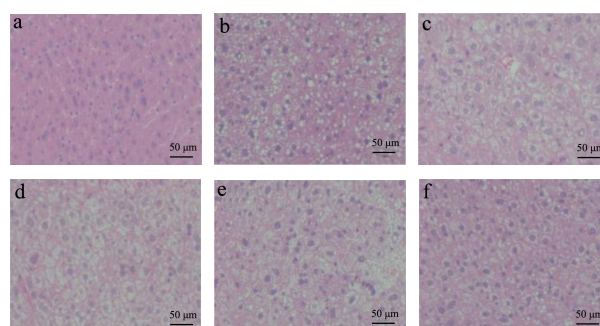


图1 小鼠肝脏组织 HE 染色结果(200x)

Fig.1 HE staining results of mouse liver tissue (200x)

注: a~f 分别代表 CD、HFD、HFD-RYR、HFD-LSRYR、HFD-MSRYR 和 HFD-HSRYR 组。图 2 同。

各处理组小鼠肝脏组织切片的油红 O 染色如图 2 所示。HFD 组小鼠肝脏组织中有大量的红色脂滴聚集,出现明显的脂肪肝症状。与 HFD 组相比,红曲米组和富硒红曲米组小鼠的肝脏组织中红色脂滴面积明显变小,脂肪堆积现象显著改善。其中,富硒红曲米中、高剂量组抑制肝脏脂肪蓄积的作用明显优于低剂量组。然而,红曲米和富硒红曲米对肝脏脂肪分布的影响无显著差异,可能是由于灌胃周期过短,红曲米和富硒红曲米抑制肝脂质蓄积的作用还未完全凸显。

本研究结果表明,高脂饮食会诱导小鼠肝脏脂肪堆积,破坏肝脏细胞结构。富硒红曲米对高脂饮食小



鼠的脂肪肝和组织损伤具有明显的改善作用。Zhou 等<sup>[14]</sup>从古田红曲米中提取分离出红曲色素 (MPs), 对高脂饮食大鼠灌胃 8 周, 观察到高脂饮食大鼠的肝脂质蓄积和脂肪变性症状有明显改善。李艳<sup>[31]</sup>探究了硒的浓度对高脂饮食大鼠脂代谢的影响, 16 周后观察肝脏病理切片, 相比于对照组, 中剂量硒组的脂滴空泡化和脂肪变性程度显著减轻。结合上述相似性文献报道及本实验结果得出, 富硒红曲米对高脂饮食诱导的肝脏脂肪堆积具有显著的改善效果。

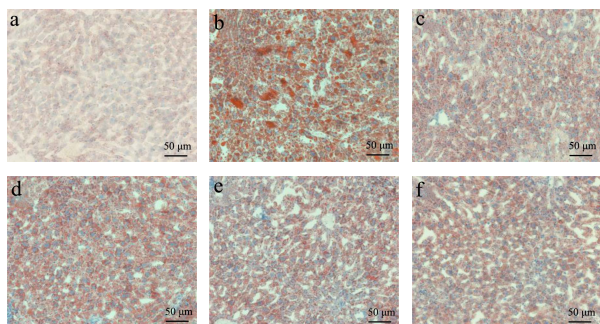


图 2 小鼠肝脏组织油红 O 染色结果 (200x)

Fig.2 Results of oil red o staining in mouse liver tissue (200x)

### 2.3 富硒红曲米对高脂饮食小鼠肠道微生物多样性的影响

Ace 指数、Sobs 指数、Chao 指数均代表样本的物种丰富度, Shannon 指数代表样本物种多样性。各处理组小鼠的肠道菌群物种多样性如图 3 所示。同 CD 组相比, HFD 组的 Ace 指数、Chao 指数和 Sobs 指数呈极显著下降 ( $p < 0.001$ ), Shannon 指数也显著降低 ( $p < 0.05$ )。与 HFD 组相比, 随着富硒红曲剂量的增加, 样本的 Ace 指数、Chao 指数和 Sobs 指数呈显著上升趋势 ( $p < 0.05$ ), 其中 HFD-HSRYR 组的 Ace 指数、Chao 指数和 Sobs 指数显著高于 HFD 组 ( $p < 0.05$ )。结果表明, 高脂饮食会降低肠道菌群的物种多样性和物种丰富度, 富硒红曲米对高脂饮食诱导的小鼠肠道菌群的物种多样性下降具有显著的改善作用。

Gao 等<sup>[32]</sup>以红曲合生元、酵母硒及其复配组合对高脂饮食动物进行 30 d 膳食干预, 与高脂对照组和单一物质组相比, 红曲合生元和酵母硒复配组的肠道菌群多样性均显著增加, Ace 指数和 Shannon 指数显著上升, 由此推测红曲和硒可能对肠道菌群物种多样性的提升起到了协同作用。联系本研究得到的相似结果, 表明富硒红曲米同样具有改善高脂饮食小鼠肠道菌群多样性的效果。

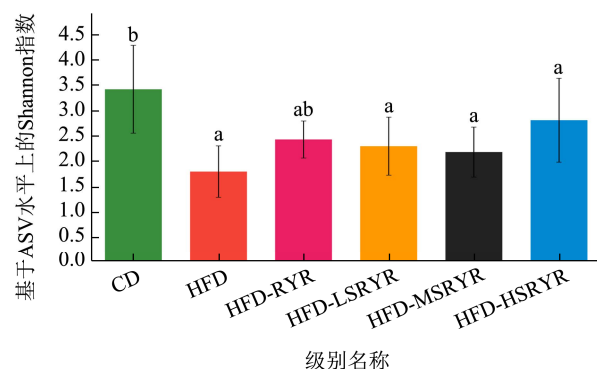
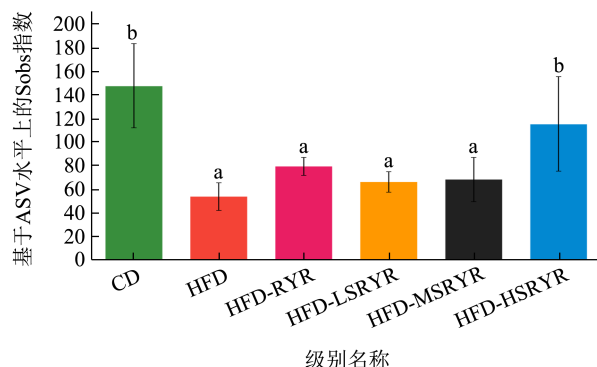
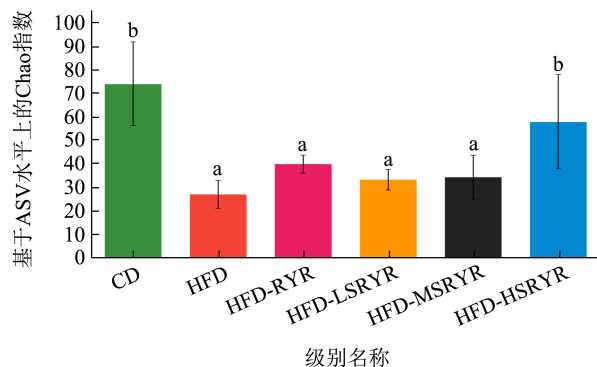
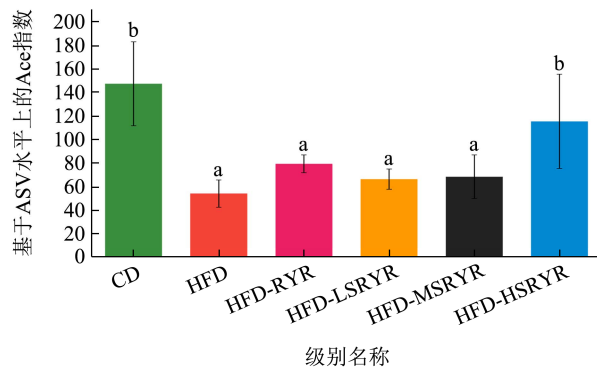


图 3 小鼠肠道菌群 α 多样性指数组间差异柱状图

Fig.3 Histogram of differences in the α diversity index of mice intestinal flora

注: 不同字母表示组间差异显著,  $p < 0.05$ 。图 6、8 同。

在 Venn 图中, 重叠区域代表各组样本的共有物种数目, 未重叠区域表示该组样本的独有物种数目。由图 4 可知, 七组共有物种数量为 62, 各组样本肠道

菌群群落的独有物种数目不同。与 CD 组相比, HFD 组独有物种数量由 256 减少至 40。与 HFD 组相比, HFD-LSRYR 组和 HFD-MSRYR 组的独有物种数目无明显变化, 可能是由于灌胃干预周期过短, 富硒红曲米对高脂饮食小鼠肠道菌群物种丰富度的改善效果还未凸显。HFD-HSRYR 组的独有物种数目为 105, 相较于 HFD 组, 增加了 1.63 倍。与 HFD-RYR 组相比, HFD-HSRYR 组的独有物种数目由 57 上升至 105, 增加了 84.21%。由此可见, 高脂饮食通过减少肠道菌群群落中的独有物种数目以降低小鼠肠道菌群的物种丰富度。与红曲米相比, 富硒红曲米通过增加高脂饮食小鼠肠道菌群的独有物种数目以提高肠道菌群的物种丰富度。

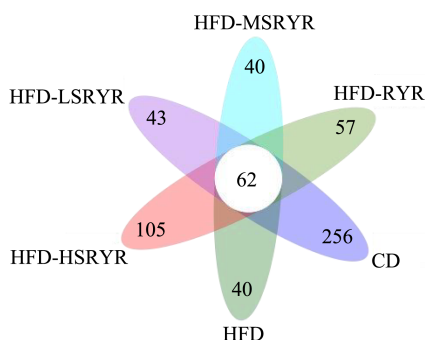


图 4 小鼠肠道菌群群落物种 Venn 图

Fig.4 Venn diagram of mouse intestinal flora community species

### 2.4 富硒红曲米对小鼠肠道菌群组成的影响

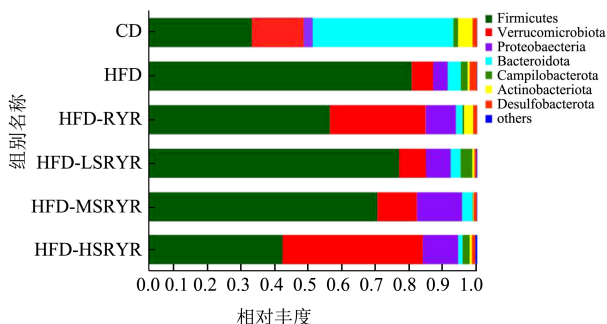


图 5 小鼠肠道菌群基于门水平上的相对丰度

Fig.5 Relative abundance of mouse intestinal flora based on phylum level

基于门水平上, 各组小鼠肠道菌群组成基本相同, 如图 5 所示, 按相对丰度大小排在前四位的优势菌门为厚壁菌门 (Firmicutes)、疣微菌门 (Verrumcomicrobiota)、变形菌门 (Proteobacteria)、拟杆菌门 (Bacteroidota)。在 CD 组小鼠肠道菌群中, Firmicutes 和 Bacteroidota 作为主要的优势菌门, 两者的相对丰度之和达到 70% 以上。与 CD 组相比, HFD

组小鼠肠道中 Firmicutes 和 Bacteroidota 丰度明显改变, 其中 Firmicutes 由 30.84% 增至 80.09%, Bacteroidota 由 40.21% 下降至 3.91%, Firmicutes/Bacteroidota 的比值显著上升。与 HFD 组相比, 各膳食干预组的 Bacteroidota 丰度无明显变化。Dong 等<sup>[13]</sup> 基于 IlluminaHiSeq 16S rRNA 基因测序技术研究了红曲米对高脂饮食小鼠肠道微生物群组成的影响, 结果表明, 在门水平上, 红曲米干预后, 小鼠肠道中 Firmicutes 丰度显著降低, 而 Bacteroidota 丰度的变化无显著差异, 这与本研究结果一致。以上研究结果表明, 长期高脂饮食会对小鼠肠道菌群结构组成产生显著影响。

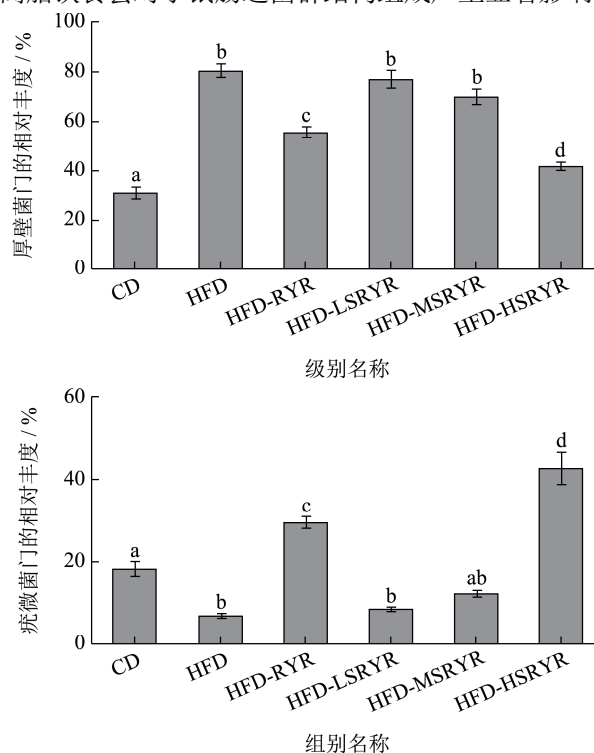


图 6 各组小鼠肠道中厚壁菌门 (Firmicutes)、疣微菌门 (Verrumcomicrobiota) 的相对丰度

Fig.6 Relative abundance of Firmicutes and

Verrumcomicrobiota in the intestines of mice in each group

与高脂饮食组相比, 富硒红曲米各剂量组和红曲米组的 Firmicutes 丰度均降低, Verrumcomicrobiota 丰度均增加。对各处理组 Firmicutes 和 Verrumcomicrobiota 丰度变化进行显著性差异分析, 如图 6 所示。与 HFD 组相比, HFD-RYR 和 HFD-HSRYR 组的 Firmicutes 丰度分别显著减少了 24.84%、39.26% ( $p < 0.05$ ), 而 Verrumcomicrobiota 丰度分别显著增加了 22.56%、36.09% ( $p < 0.05$ )。HFD-LSRYR 和 HFD-MSRYR 组无显著差异 ( $p > 0.05$ ), 可能是由于干预周期过短, 富硒红曲米对高脂饮食小鼠肠道 Firmicutes 和 Verrumcomicrobiota 的调节作用尚未凸显。与 HFD-RYR 组相比, HFD-HSRYR 组的 Firmicutes

显著减少了 26.10% ( $p < 0.05$ ), Verrumcomicrobiota 显著增加了 46.59% ( $p < 0.05$ )。Firmicutes 相对丰度的增加会促进机体吸收热量、储存脂肪<sup>[33,34]</sup>, 这可能是诱导小鼠肥胖和血脂升高的原因之一。Verrucomicrobia 相对丰度的减少会抑制机体的新陈代谢, 诱导脂肪积累和血脂水平升高<sup>[34]</sup>。

结果表明, 红曲米和富硒红曲米均有助于高脂饮食小鼠肠道中的 Verrumcomicrobiota 增加, 而对 Firmicutes 具有抑制作用。值得注意的是, 与红曲米相比, 富硒红曲米在改善高脂饮食小鼠肠道菌群结构组成方面具有更显著的效果。

在属水平上, 各组小鼠肠道菌群的组成分布如图

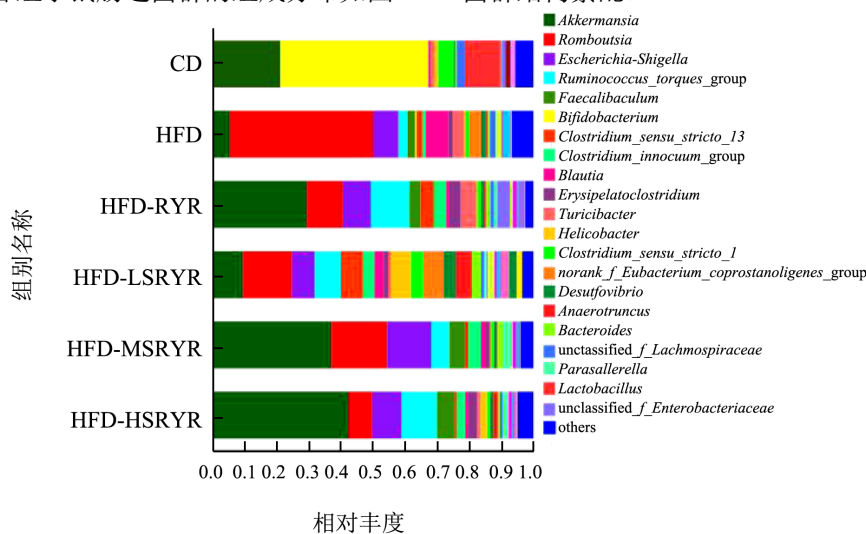


图 7 小鼠肠道菌群基于属水平上的相对丰度

Fig.7 Relative abundance of mouse intestinal flora based on the genus level

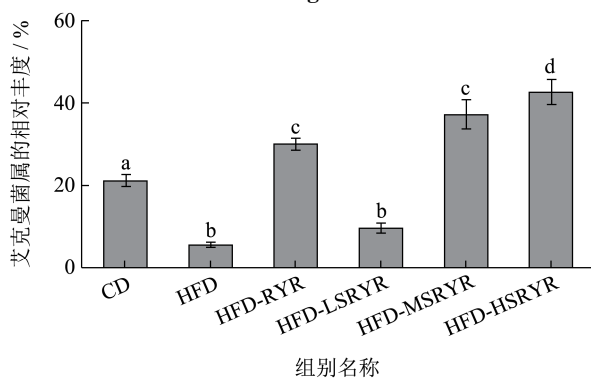


图 8 各处理组小鼠肠道中艾克曼菌属 (Akkermansia) 的相对丰度

Fig.8 Relative abundance of Akkermansia in the intestines of mice in each treatment group

与高脂饮食组相比, 富硒红曲米各剂量组和红曲米组的 Akkermansia 丰度均上升。对各处理组 Akkermansia 丰度变化进行显著性差异分析, 如图 8 所示。较 HFD 组相比, HFD-RYR、HFD-MSRYR 和 HFD-HSRYR 组的 Akkermansia 丰度分别显著增加了

7 所示。CD 组小鼠肠道中相对丰度较高的菌属包括 Akkermansia、Bifidobacterium、Lactobacillus 等, HFD 组小鼠肠道中优势菌属为 Akkermansia、Romboutsia、Escherichia-Shigella 等。已有研究证实, Bifidobacterium 和 Lactobacillus 等肠道有益菌属通过增强肠道屏障预防病原菌的感染, 维持肠道微环境稳态<sup>[35]</sup>。Escherichia-Shigella 常见于能量代谢紊乱的动物或人群的肠道环境中, 与细菌性痢疾具有一定的关联<sup>[36]</sup>。结果表明, 高脂饮食会降低 Bifidobacterium、Lactobacillus 等有益菌属丰度, 增加 Escherichia-Shigella 有害微生物, 从而诱导小鼠肠道菌群结构紊乱。

23.92%、31.57%、36.93% ( $p < 0.05$ ), HFD-LSRYR 组无显著差异 ( $p > 0.05$ ), 可能是由于剂量过小, 富硒红曲米促进高脂饮食小鼠肠道 Akkermansia 的生长作用尚未凸显。与 HFD-RYR 组相比, HFD-HSRYR 组的 Akkermansia 显著增加了 44.01% ( $p < 0.05$ )。Cicero 等<sup>[37]</sup>发现膳食中补充红曲米后, 高脂大鼠的肠道 Akkermansia 菌属显著上升, 这与本研究结果一致。综合上述研究结果, 表明富硒红曲米可通过提高 Akkermansia 菌属的相对丰度以改善高脂饮食小鼠肠道菌群的组成。

### 2.5 血脂指标与肠道菌群关联分析

采用相关性系数 Spearman 评估小鼠的肠道微生物与血脂水平之间的关联性 (蓝色代表负相关, 红色代表正相关)。基于门水平上的关联性分析结果如图 9 所示, Firmicutes 与 TG 呈极显著性负相关 ( $p < 0.01$ ), 与 LDL-C 呈极显著性正相关 ( $p < 0.01$ ); Verrumcomicrobiota 与 HDL-C 呈显著性正相关



( $p < 0.05$ ), 与 LDL-C 呈极显著性负相关 ( $p < 0.01$ ); Proteobacteria 与 TC 呈显著性正相关 ( $p < 0.05$ ), 与 HDL-C 呈极显著性负相关 ( $p < 0.01$ ); Bacteroidota 与 TG、TC 和 LDL-C 呈负相关, 但无显著差异 ( $p > 0.05$ )。

基于属水平上的关联性分析结果如图 10 所示, *Escherichia-Shigella* 与 HDL-C 呈极显著性负相关 ( $p < 0.01$ ); *Bifidobacterium* 与 HDL-C 呈显著性正相关 ( $p < 0.05$ ), 与 LDL-C 呈极显著性负相关 ( $p < 0.01$ ); *Akkermansia* 与 HDL-C 呈显著性正相关 ( $p < 0.05$ ), 与 LDL-C 呈极显著性负相关 ( $p < 0.001$ )。基于高通量测序和代谢组学技术, Cicero 等<sup>[27]</sup>发现膳食中补充红曲米后, 高脂大鼠的肠道中所增加的 *Akkermansia* 菌属与血脂和肝脂质指标呈显著性负相关, 这与本研究结果一致。

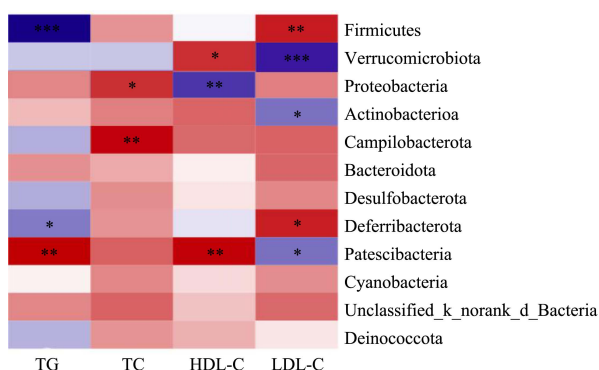


图 9 基于门水平的血脂指标与肠道菌群关联分析

Fig.9 Association analysis of blood lipid index and intestinal flora based on phylum level

注:  $p < 0.05$  标记为\*,  $p < 0.01$  标记为\*\*,  $p < 0.001$  标记为\*\*\*。图 10 同。

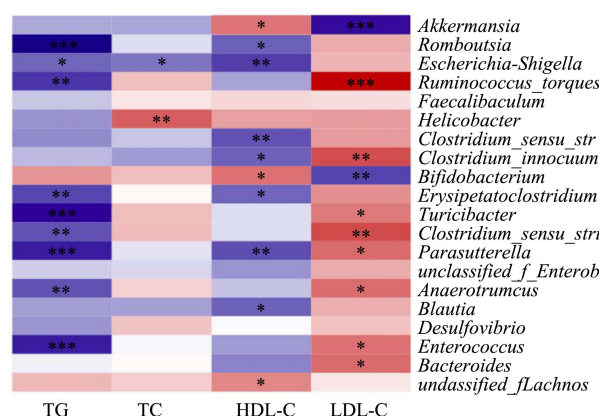


图 10 基于属水平的血脂指标与肠道菌群关联分析

Fig.10 Correlation analysis of blood lipid indexes and intestinal flora based on genus level

联系各组小鼠基于门水平和属水平上的肠道菌群丰度变化可知, 高脂饮食可通过增加 Firmicutes 诱导小鼠血脂水平上升, 富硒红曲米通过减少 Firmicutes 并增加 Verrucomicrobiota 和 *Akkermansia* 改善高脂饮

食小鼠的脂代谢。

### 3 结论

本研究结果表明, 富硒红曲米对高脂饮食诱导的血脂水平上升具有显著的抑制作用, 其效果优于红曲米, 具体表现为降低血清 LDL-C 含量。此外, 富硒红曲米可显著增加高脂饮食小鼠肠道菌群的物种多样性, 并通过显著降低 Firmicutes(与血脂水平呈正相关)含量、增加 Verrucomicrobiota 和 *Akkermansia* (与血脂水平呈负相关) 含量抑制高脂饮食诱导的血脂水平上升, 改善脂代谢紊乱症状。综上, 富硒红曲米具备红曲米和有机硒的双重功能, 发挥的作用大于两者, 具有较好的体内降血脂作用, 该结论为富硒红曲米作为降脂功能性保健食品的开发和临床应用提供了一定的理论依据。然而, 富硒红曲米中硒的释放路径以及硒增强降血脂活性的分子机制还有待后续深入探究。

### 参考文献

- [1] 中国心血管健康与疾病报告编写组.中国心血管健康与疾病报告 2020 概要[J].中国循环杂志,2021,36(6):521-545  
The Writing Committee of the Report on Cardiovascular Health and Diseases in China. Report on cardiovascular health and diseases burden in China: an updated summary of 2020 [J]. Chinese Circulation Journal, 2021, 36(6): 521-545
- [2] Leone G, Consumi M, Pepi S, et al. New formulations to enhance lovastatin release from red yeast rice (RYR) [J]. Journal of Drug Delivery Science & Technology, 2016, 36: 110-119
- [3] Rengarajan S, Vivio E E, Parkes M, et al. Dynamic immunoglobulin responses to gut bacteria during inflammatory bowel disease [J]. Gut Microbes, 2019, 16: 1-16
- [4] Khanna S, Vazquez B Y, González A, et al. Changes in microbial ecology after fecal microbiota transplantation for recurrent *C. difficile* infection affected by underlying inflammatory bowel disease [J]. Microbiome, 2017, 5: 55-61
- [5] Nogacka A M, Reyes G, Martínez F, et al. Impact of extreme obesity and diet-induced weight loss on the fecal metabolome and gut microbiota [J]. Molecular Nutrition & Food Research, 2020, 17: 23-31
- [6] Rayman P. Selenium and human health: the lancet [J]. Lancet, 2000, 356: 942-943
- [7] Roman M, Jitaru P, Barbante C. Selenium biochemistry and its role for human health [J]. Metallomics, 2013, 6: 123-135
- [8] 刘成龙,田宗仁,张克,等.硒蛋白生理功能研究综述[J].中国

- 食品学报,2021,21(2):358-366
- LIU Chenglong, TIAN Zongren, ZHANG Ke, et al. Review of physiological function of selenoprotein [J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2021, 21(2): 358-366
- [9] 殷娴,邵蕾娜,廖永红,等.微生物富集有机硒研究进展[J].食品与发酵工业,2021,47(5):259-266
- YIN Xian, SHAO Leina, LIAO Yonghong, et al. Research progress on organic selenium accumulation by microorganisms [J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(5): 259-266
- [10] 朱燕云,吴文良,赵桂慎,等.硒在动植物及微生物体中的转化规律研究进展[J].农业资源与环境学报,2018,35(3):189-198
- ZHU Yanyun, WU Wenliang, ZHAO Guishen, et al. Progress of selenium biological transformation in animals, plants, and microorganisms [J]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2018, 35(3): 189-198
- [11] Yang H, Pan R H, Wang J, et al. Modulation of the gut microbiota and liver transcriptome by red yeast rice and *Monascus* pigment fermented by purple *Monascus SHM1105* in rats fed with a high-fat diet [J]. Frontiers in Pharmacology, 2021, 12(3): 56-67
- [12] Govindarajan S, Vellingiri K. Effect of red yeast rice and coconut, rice bran or sunflower oil combination in rats on hypercholesterolemic diet [J]. Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR, 2016, 10(4): 32-43
- [13] Dong Y H, Cheng H M, Liu Y, et al. Red yeast rice ameliorates high-fat diet-induced atherosclerosis in apoe<sup>-/-</sup> mice in association with improved inflammation and altered gut microbiota composition [J]. Food & Function, 2019, 10(7): 123-135
- [14] Zhou W B, Guo R, Guo W L, et al. *Monascus* yellow, red and orange pigments from red yeast rice ameliorate lipid metabolic disorders and gut microbiota dysbiosis in wistar rats fed on a high-fat diet [J]. Food & Function, 2019, 10(1): 1073-1084
- [15] Takahashi K, Suzuki N, Ogra Y. Effect of gut microflora on nutritional availability of selenium [J]. Food Chemistry, 2020, 319(8): 12-27
- [16] Zhai Q, Xiao Y, Li P, et al. Varied doses and chemical forms of selenium supplementation differentially affect mouse intestinal physiology [J]. Food & Function, 2019, 10(3): 52-67
- [17] Nido S A, Shituleni S A, Mengistu B M, et al. Effects of selenium-enriched probiotics on lipid metabolism, antioxidative status, histopathological lesions, and related gene expression in mice fed a high-fat diet [J]. Biological Trace Element Research, 2016, 171(2): 399-417
- [18] Sharma S, Kaur N, Kaur S, et al. Selenium as a nutrient in biostimulation and biofortification of cereals [J]. Indian Journal of Plant Physiology, 2016, 22(1): 1-15
- [19] Reid M E, Duffield A J, Sunga A, et al. Selenium supplementation and colorectal adenomas: an analysis of the nutritional prevention of cancer trial [J]. International Journal of Cancer, 2006, 118(7): 1777-1781
- [20] 姜冰洁.红曲菌固态发酵高产 Monacolin K 的研究[D].无锡:江南大学,2015
- JIANG Bingjie. Study on solid-state fermentation of *Monascus* with high Monacolin K production [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2015
- [21] GB 1886.19-2015,食品安全国家标准.食品添加剂红曲米[S]
- GB 1886.19-2015, National Food Safety Standard. Food Additive Red Yeast Rice [S]
- [22] GB 5009.93-2017,食品安全国家标准.食品中硒的测定[S].
- GB 5009.93-2017, National Food Safety Standard. Determination of Selenium in Food [S]
- [23] Laura P K, Revel G D, Marchand S, et al. Automated HPLC method for the measurement of free amino acids including cysteine in musts and wines; first applications [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2001, 81(8): 731-738
- [24] 潘红阳,王树英,莫海珍.反相高效液相色谱法测定富硒脱水菜心中的硒代氨基酸[J].食品与发酵工业,2008,34(10): 141-144,148
- PAN Hongyang, WANG Shuying, MO Haizhen. Determination of seleno-amino acids in enriched-selenium dehydrated *Brassica chinensis* by RHPLC [J]. Food and Fermentation Industries, 2008, 34(10): 141-144, 148
- [25] 曲巍,张智,马建章,等.高通量测序研究益生菌对小鼠肠道菌群的影响[J].食品科学,2017,1:214-219
- QU Wei, ZHANG Zhi, MA Jianzhang, et al. Effect of probiotics on gut microbiota in mice evaluated by high-throughput sequencing [J]. Food Science, 2017, 1: 214-219
- [26] Govindarajan S, Vellingiri K. Effect of red yeast rice and coconut, rice bran or sunflower oil combination in rats on hypercholesterolemic diet [J]. Journal of Clinical and Diagnostic Research, 2016, 10(2): 67-81
- [27] 程慧敏.红曲对动脉粥样硬化小鼠肠道炎症及肠道屏障功

- 能的影响[D].青岛:青岛大学,2019
- CHENG Huimin. The effect of red yeast rice on intestinal inflammation and barrier function in atherosclerotic mice model [D]. Qingdao: Qingdao University, 2019
- [28] Hamza, Alaaeldin, Ahmed, et al. Selenium ameliorates isotretinoin-induced liver injury and dyslipidemia via antioxidant effect in rats [J]. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 2014, 24(9): 433-437
- [29] Juhás P, Mrázová J, Bučko O, et al. Influence of consumption of pork enriched by organic selenium on selenium level in blood serum and selected blood lipid parameters in consumers [J]. *Journal of Food and Nutrition Research*, 2017, 56(4): 335-340
- [30] Zhou X L, Zhang Q, Zhang D L, et al. Effects of selenium enriched yeast on lipid metabolism in hyperlipidemic rats [J]. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2017, 37(6): 361-375
- [31] 李艳.不同膳食结构下硒对大鼠脂代谢及氧化应激的影响[D].济南:山东大学,2020
- LI Yan. Effects of selenium on lipid metabolism and oxidative stress in rats with different dietary structure [D]. Jinan: Shandong University, 2020
- [32] Gao K, Wang Z W. Effects of *Monascus* synbiotics, yeast-selenium-germanium culture and their compound preparation instead of antibiotics on growth performance, immunity and intestinal flora of mice fed with high-fat diet [J]. *Food & Function*, 2020, 12(2): 52-67
- [33] Zeng H, Ishaq S L, Zhao F Q, et al. Colonic inflammation accompanies an increase of  $\beta$ -catenin signaling and *Lachnospiraceae/Streptococcaceae* bacteria in the hind gut of high-fat diet-fed mice [J]. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 2016, 11(5): 30-46
- [34] Kiran, Mazloom, Imran, et al. Probiotics: how effective are they in the fight against obesity [J]. *Nutrients*, 2019, 11(2): 258-267
- [35] Fjære E, Myrmet L S, Lützhøft D, et al. Effects of exercise and dietary protein sources on adiposity and insulin sensitivity in obese mice [J]. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 2019, 66(2): 98-109
- [36] Cao S Y, Zhao C N, Xu X Y, et al. Dietary plants, gut microbiota, and obesity: effects and mechanisms [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2019, 92(3): 194-206
- [37] Cicero A, Fogacci F, Zambon A. Red yeast rice for hypercholesterolemia [J]. *Journal of the American College of Cardiology*, 2021, 77(5): 62-78

---

(上接第 55 页)

- [27] 凌关庭.食品添加剂手册[M].北京:化学工业出版社,2013
- LING Guanting. Handbook of Food Additives [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2013
- [28] 王琳,李芳,王文杰,等.双酶酶解杏仁蛋白制备杏仁肽工艺研究[J].农产品加工,2015,18:24-26,29
- WANG Lin, LI Fang, WANG Wenjie, et al. Study on preparation of almond peptides by enzymatic hydrolysis of almond protein [J]. *Farm Products Processing*, 2015, 18: 24-26, 29
- [29] 赵换霞,张海生,黄璞,等.扁杏仁抗氧化肽的制取工艺研究[J].食品工业科技,2015,36(17):243-248,252
- ZHAO Huanxia, ZHANG Haisheng, HUANG Pu, et al. Study on the preparation and antioxidant activity of antioxidant peptides from apricot kernel [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2015, 36(17): 243-248, 252
- [30] Hu W X, Jing P W, Wang L, et al. The positive effects of ginsenoside Rg1 upon the hematopoietic microenvironment in a D-Galactose-induced aged rat model [J]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 15: 119
- [31] 王文强.小球藻酶解多肽的制备及抗氧化功能研究[D].福州:福建师范大学,2018
- WANG Wenqiang. Study on the preparation and antioxidant function of enzymatic hydrolyzed peptides of chlorella [D]. Fuzhou: Fujian Normal University, 2018
- [32] Li D D, Li W J, Kong S Z, et al. Protective effects of collagen polypeptide from tilapia skin against injuries to the liver and kidneys of mice induced by d-galactose [J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2019, 117: 109204
- [33] 田雨.羊肚菌蛋白质提取及抗氧化肽制备研究[D].太原:山西大学,2020
- TIAN Yu. Study on protein extraction and antioxidant peptide preparation of *Morchella esculenta* [D]. Taiyuan: Shanxi University, 2020