

低胆固醇多糖鸭肝酱的研制

王秋艳, 黄馨阅, 丁慧敏, 陶明煊

(南京师范大学食品与制药工程学院, 江苏 南京 210023)

[摘要] 以普通鸭肝为原料,通过添加一定浓度具有显著降胆固醇功效的金针菇多糖,并结合小鼠血脂相关指标,研发出一种营养健康的功能性鸭肝酱。50只小鼠随机分为空白对照组、普通鸭肝酱组、5%多糖鸭肝酱组、10%多糖鸭肝酱组、20%多糖鸭肝酱组,每组10只。连续灌胃4周,取眼球血用于检测血清TG(triglyceride, TG)、TC(total cholesterol, TC)、LDL-C(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)和HDL-C(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)水平,处死小鼠后,解剖取小鼠肝脏,测定肝组织TG和TC含量。喂饲普通鸭肝酱会造成机体胆固醇含量的升高,而添加金针菇多糖的鸭肝酱相较于普通鸭肝酱具有一定降低机体吸收胆固醇的效果,且随着金针菇多糖添加量的增加,降胆固醇越显著,其中添加20%多糖的鸭肝酱相较于普通鸭肝酱不易造成机体胆固醇含量的异常升高,但结合鸭肝酱的风味和成本,选择10%金针菇多糖添加量的鸭肝酱,能够在保证风味味的同时,降低食用高胆固醇鸭肝酱产生的危害。

[关键词] 金针菇多糖, 多糖鸭肝酱, 小鼠, 降胆固醇效果

[中图分类号] TS201.4 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1672-1292(2022)04-0064-05

Preparation of Low Cholesterol Polysaccharide Duck Liver Sauce

Wang Qiuyan, Huang Xinyue, Ding Huimin, Tao Mingxuan

(School of Food Science and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China)

Abstract: A nutritious and healthy functional duck liver sauce is developed with common duck liver as raw material, by adding a certain concentration of *Flammulina velutipes* polysaccharide with significant cholesterol lowering effect, and combined with the related indexes of blood lipid in mice. Fifty mice are randomly divided into blank control group, common duck liver sauce group, 5% polysaccharide duck liver sauce group, 10% polysaccharide duck liver sauce group and 20% polysaccharide duck liver sauce group. After continuous gavage for 4 weeks, eyeball blood is taken to detect the levels of serum TG (triglyceride, TG), TC (total cholesterol, TC), HDL-C (high density lipoprotein cholesterol, HDL-C) and LDL-C (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C). Having killed the mice, the mouse liver is dissected to determine the contents of TG and TC in liver tissue. Feeding ordinary duck liver sauce will cause the increase of cholesterol content in the body. Compared with ordinary duck liver sauce, duck liver sauce with *Flammulina velutipes* polysaccharide can reduce the absorption of cholesterol, and has a certain dose-response relationship with the amount of polysaccharide. Duck liver sauce with 20% polysaccharide is not easy to cause the abnormal increase of cholesterol content compared with ordinary duck liver sauce. However, combined with the flavor and cost of duck liver sauce, choosing the duck liver sauce with 10% *Flammulina velutipes* polysaccharide can not only ensure the flavor, but also reduce the harm caused by eating high cholesterol duck liver sauce.

Key words: *Flammulina velutipes* polysaccharide, polysaccharide duck liver sauce, mice, cholesterol lowering effect

鸭肝“味甘、性温”,蛋白质含量高,并富含 V_A 、铁、 V_{B2} 和一些微量元素等,其含有的 V_A 成分更是远超过蛋、肉等一般食品原料,是一种天然营养的食材^[1-2]。但鸭肝中脂肪含量较高,且胆固醇含量高达341 mg/100 g,而胆固醇的过多摄入则会导致高胆固醇血症,对机体产生一系列的不良影响^[3]。现阶段,鸭

收稿日期:2021-09-04.

基金项目:宁波市公益类科技计划项目(2019C10096)、浙江省动物蛋白食品精深加工技术重点实验室开放基金项目低胆固醇鸭肝酱产品的开发。

通讯作者:陶明煊,硕士,副教授,研究方向:生物活性物质与保健功能因子. E-mail:45017@njnu.edu.cn

肝较高的营养和较低的成本没有被合理重视,相关产品单一且无创新,因此对鸭肝进行产品开发研究有重要意义。

金针菇多糖是由 Glc(葡萄糖)、Gal(半乳糖)、Man(甘露糖)和 Ara(阿拉伯糖)等 10 多种单糖依靠糖苷键相互连接而成的生物大分子,具有抗氧化、免疫调节、调节血糖血脂、护肝等多种功效^[4-7]。有研究表明,金针菇多糖能够通过抑制外源性脂质吸收并影响内源性脂质的合成与代谢来减少体内胆固醇含量,从而降低血清中 TC、TG、LDL-C 值及升高 HDL-C 值,进而降低高脂饮食给人体带来的危害^[8-9]。

本实验以普通鸭肝为原料,通过添加具有明显降低胆固醇功效的金针菇多糖,研发出营养健康的功能型鸭肝酱新产品。

1 材料与方法

1.1 动物、材料与试剂

雄性 ICR 小鼠(5 周龄)50 只,体重 25-30 g,实验地点为南京师范大学动物饲养中心,动物饲养许可证号(SYXK(苏)2015-0028)。饲养温度保持在 $(23\pm 2)^{\circ}\text{C}$,湿度保持在 $(50\pm 5)\%$,每日 12 h 照明,昼夜交替。

鸭肝,购于南京真鲜冷冻批发店。食用盐、生姜、五香粉、胡椒粉、棕榈油:市售食品级。采用水提醇沉法^[10]得到纯度^[11]为 36.75%的金针菇多糖。总胆固醇(total cholesterol,TC)试剂盒,货号:A111-1-1、甘油三酯(triglyceride,TG)试剂盒,货号:A110-1-1、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol,HDL-C)试剂盒,货号:A112-1-1,南京建成生物工程研究所。

1.2 仪器与设备

FM100 高速万能粉碎机天津市泰斯特仪器有限公司。BioTek ELX80 酶标仪上海东风电讯仪器厂。HH-6 数显恒温水浴锅常州国华电器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 鸭肝酱的制作

鸭肝经解冻后,于流动水下边清洗边去筋膜等杂质。沸水热烫 4-5 min,沥干水分按原料的 4%添加腌制剂,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下腌制 12 h(腌制剂包括食盐、姜丝、胡椒粉、五香粉)。腌制完毕的鸭肝加入 2%棕榈油,混合打浆 4 min 均质后得到普通鸭肝酱^[12]。另取腌制鸭肝加入 2%棕榈油及 5%、10%、20%金针菇多糖,混合打浆,均质后得到不同多糖添加量的鸭肝酱。

1.3.2 小鼠试验

适应性喂养小鼠 3 d,50 只小鼠随机分为 5 组,每组 10 只,分别为空白对照组、普通鸭肝酱组、5%多糖鸭肝酱组、10%多糖鸭肝酱组、20%多糖鸭肝酱组^[13]。5 组小鼠均自由饮食饮水,每组小鼠按照表 1 方式喂养。实验过程中,需保证小鼠每只每天的鸭肝酱食用量为 0.333 g/20 g,其中喂食多糖鸭肝酱的小鼠也必须保证每只鼠每天食用未加多糖的鸭肝酱达到 0.333 g/20 g。每日上午 9:00 对小鼠进行灌胃,并记录体重,实验周期 4 周。4 周结束后禁食 16h,称体重,取眼球血用于检测血清 TG、TC、HDL-C 和 LDL-C 水平。处死小鼠后,解剖取小鼠肝脏,测定肝组织 TG 和 TC 含量。

1.3.3 血液指标测定

取眼球血并分离血清,按照试剂盒说明进行小鼠血清中的 TG、TC 和 HDL-C 水平的测定。

1.3.4 肝脏组织指标测定

取处死小鼠肝脏,漂洗并吸干水分,称重并计算肝脏指数(肝脏指数(mg/g)=肝脏质量/体质量)。取 10%肝脏匀浆液参照试剂盒说明进行小鼠肝脏 TG、TC 指标的测定。

1.4 数据处理

采用 SPSS 19.0 统计系统处理分析实验数据,并通过单因素方差分析各组数据间是否存在显著性差异,结果以 $\bar{X}\pm S$ 表示,其中 \bar{X} 为平均值, S 为样本标准偏差。

表 1 小鼠试验

Table 1 Mouse test

试验小鼠组别	数量/只	饲料及灌胃量
空白对照组	10	普通饲料
普通鸭肝酱组	10	普通饲料+普通鸭肝酱
5%多糖鸭肝酱组	10	普通饲料+5%多糖鸭肝酱
10%多糖鸭肝酱组	10	普通饲料+10%多糖鸭肝酱
20%多糖鸭肝酱组	10	普通饲料+20%多糖鸭肝酱

2 结果与分析

2.1 金针菇多糖鸭肝酱对小鼠体重的影响

小鼠喂饲添加不同剂量的多糖鸭肝酱 4 周,每周对其称重记录,表 2 为相应体重增长情况. 实验至第 28 天,金针菇多糖鸭肝酱低、中、高剂量组小鼠体重分别增长了 7.5%、10.45%、11.32%,与空白组(11.54%)相比无显著性差异. 28 天实验期间,所有小鼠饮食、饮水、精神状态等方面均无异常,均未出现中毒或死亡现象,初步判断添加不同剂量金针菇多糖的鸭肝酱对小鼠无毒害作用.

表 2 金针菇多糖鸭肝酱对小鼠体重的影响($n=10$)

Table 2 Effect of <i>Flammulina velutipes</i> polysaccharide duck liver sauce on body weight of mice($n=10$)						g
	0 周	1 周	2 周	3 周	4 周	
空白组	30.75±1.83 ^{aA}	31.97±2.12 ^{aA}	33.43±2.92 ^{aA}	33.92±3.08 ^{aA}	34.30±3.44 ^{aA}	
普通对照组	33.23±2.85 ^{aA}	34.07±3.11 ^{aA}	34.85±3.74 ^{aA}	35.93±4.06 ^{aA}	36.44±4.06 ^{aA}	
低剂量组	33.20±3.73 ^{aA}	34.34±4.02 ^{aA}	34.88±4.32 ^{aA}	35.33±4.43 ^{aA}	35.69±4.13 ^{aA}	
中剂量组	32.34±2.15 ^{aA}	33.31±2.40 ^{aA}	34.24±2.45 ^{aA}	34.91±2.37 ^{aA}	35.72±2.63 ^{aA}	
高剂量组	31.17±4.40 ^{aA}	32.11±3.85 ^{aA}	33.09±3.30 ^{aA}	33.61±3.02 ^{aA}	34.70±3.14 ^{aA}	

注:同列数据尾标相同字母表示不存在显著性差异($P>0.05$ 或 $P>0.01$). 尾标不同小写字母表示在 5%水平上差异显著($P<0.05$). 尾标不同大写字母表示在 1%水平上差异显著($P<0.01$),下同.

2.2 金针菇多糖鸭肝酱对小鼠血清指数的影响

血脂异常与高脂血症、动脉粥样硬化、脂肪肝等多种疾病密切相关,现已成为了全球密切关注的重大安全问题之一,严重威胁人类生命健康^[14]. 而其中的高脂血症是由于脂质代谢异常造成的,表现为体内胆固醇含量的异常,即血清中总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)的异常升高和高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)异常降低等表现^[15].

由表 3 可知,28 天试验结束,普通鸭肝酱组血清 TG、TC 和 LDL-C 值相较于空白组显著升高,HDL-C 值显著降低($P<0.01$). 普通鸭肝酱组小鼠血清中 TG、TC 值与低、中剂量组比较,无显著性差异($P>0.05$). 高剂量组小鼠相较于普通鸭肝酱组,TC 值降低了 24.59%,TG 值降低了 47.91%,LDL-C 值降低了 62.07%,HDL-C 值升高了 52.03%. 结果表明,通过对小鼠喂饲普通未加多糖的鸭肝酱可使血清中胆固醇相关指标异常,而喂饲添加不同剂量的多糖鸭肝酱对小鼠血清胆固醇指标异常有一定的抑制作用,其高剂量组即多糖添加量为 20%的鸭肝酱效果最佳.

表 3 金针菇多糖鸭肝酱对小鼠血清指标的影响($n=10$)

Table 3 Effect of <i>Flammulina velutipes</i> polysaccharide duck liver sauce on serum indexes in mice($n=10$)					mmol/L
	TC	TG	HDL-C	LDL-C	
空白组	5.73±0.67 ^{aA}	1.35±0.60 ^{aA}	4.84±0.66 ^{aA}	0.61±0.11 ^{aA}	
普通对照组	8.46±1.73 ^{cC}	2.63±0.97 ^{cA}	2.71±0.56 ^{dC}	5.22±1.03 ^{cC}	
低剂量组	7.97±0.60 ^{bC}	2.27±0.94 ^{bC}	3.11±0.36 ^{cC}	4.41±0.86 ^{bC}	
中剂量组	7.22±0.95 ^{cbABC}	1.92±0.51 ^{bC}	3.43±0.53 ^{cBC}	3.41±0.62 ^{bBC}	
高剂量组	6.38±0.50 ^{abAB}	1.37±0.59 ^{bA}	4.12±0.08 ^{baB}	1.98±0.34 ^{aAB}	

2.3 金针菇多糖鸭肝酱对小鼠肝脏指标的影响

高脂食物的过多摄入会造成机体脂质代谢紊乱,当肝脏代谢能力无法分解消耗过多脂肪酸时,多余脂肪酸会重新转化为甘油三酯储存于肝脏中,同时肝脏整体总胆固醇含量也会有所增加,进而造成肝功能障碍^[16-18]. 由表 4 可知,各组小鼠体重与肝脏指数均无明显差异,且都在正常范围内. 普通鸭肝酱组小鼠肝脏 TG、TC 值最高,高剂量多糖鸭肝酱组小鼠肝脏 TG、TC 值与空白组相近,且相较于普通鸭肝酱组,小鼠肝脏 TC 值下降了 33.74%,TG 值下降了 39.53%. 对解剖的肝脏进行观察,空白组及高剂量多糖鸭肝酱组小鼠肝脏颜色鲜红,表面光滑,大小、质地形状表现正常,普通对照组及低剂量组肝脏颜

表 4 金针菇多糖鸭肝酱对小鼠肝脏指标的影响($n=10$)

Table 4 Effect of <i>Flammulina velutipes</i> polysaccharide duck liver sauce on liver indexes in mice($n=10$)			
	肝脏指数	TC/(mmol/L)	TG/(mmol/L)
空白组	5.01±0.32	1.46±0.17 ^{aA}	0.68±0.16 ^{aA}
普通对照组	4.92±0.48	2.46±0.21 ^{cB}	1.29±0.21 ^{bB}
低剂量组	4.76±0.32	2.27±0.15 ^{cB}	1.15±0.30 ^{bAB}
中剂量组	4.68±0.39	2.03±0.20 ^{baB}	1.02±0.07 ^{abAB}
高剂量组	4.65±0.29	1.63±0.38 ^{abA}	0.78±0.15 ^{aAB}

色稍显暗沉,但质地、形状等也无明显异常。

表明对小鼠喂饲普通鸭肝酱可显著升高小鼠肝脏和肝组织中的 TG、TC 值,而喂饲添加多糖的鸭肝酱会对肝组织 TG、TC 值的升高有显著抑制作用,即 20% 多糖添加量的鸭肝酱不易受到鸭肝高胆固醇的影响。

2.4 金针菇多糖添加量对鸭肝酱风味的影响

如表 5 所示,多糖添加量的不断增加,也导致了鸭肝酱本身质地风味产生了变化,其中当金针菇多糖添加量为 10% 时,鸭肝酱风味较好,即有鸭肝酱本身的风味,又有了更加细腻丝滑的口感。

表 5 金针菇多糖添加量对鸭肝酱风味的影响

Table 5 Effect of *Flammulina velutipes* polysaccharide on flavor of duck liver sauce

多糖添加量	感官评价
5%	酱体颜色较浅,香味正常,与普通鸭肝酱相比,风味相似,味道清爽。
10%	颜色呈现有食欲的棕色,香味无明显改变,与普通鸭肝酱相比,酱体更加细腻丝滑,口感风味接受度高
20%	酱体颜色呈深棕色,发暗,且粘稠度太高,鸭肝本身风味较小,且伴有过度添加多糖放入异味出现

3 结论

本实验以具有显著降胆固醇功效的金针菇多糖为添加剂,普通鸭肝为原料制成多糖鸭肝酱。通过对小鼠喂饲添加不同剂量多糖的鸭肝酱发现:每组小鼠体重增长趋势正常,且毛发、饮食等均无异常,无明显中毒迹象。空白组和添加高剂量多糖鸭肝酱组小鼠肝脏鲜红,有光泽,普通鸭肝酱组和添加低、中剂量鸭肝酱组颜色稍暗,但均无明显异常。喂饲添加不同剂量多糖鸭肝酱能够有效抑制小鼠血清中 TG、TC、LDL-C 值的升高,还可以有效降低小鼠血清 HDL-C 值。小鼠血清中 TG、TC、LDL-C 值升高幅度随着鸭肝酱中多糖添加量的增多而呈下降趋势。HDL-C 值下降幅度则随着多糖添加量的增多呈上升趋势。高剂量组 TG、TC 值与空白组相比,无显著性差异 ($P>0.05$), HDL-C 和 LDL-C 值两组与空白组显著性差异较小 ($0.01<P<0.05$)。对各组小鼠肝脏中 TG、TC 值进行检测,发现喂饲普通鸭肝酱会造成 TG、TC 值的升高,而喂饲添加不同剂量多糖的鸭肝酱则会降低肝脏 TG、TC 值,且高剂量组小鼠肝脏 TG、TC 值与空白组无显著性差异 ($P<0.01$)。由实验结果可知,喂饲普通鸭肝酱会引起小鼠体内胆固醇含量的升高,而添加金针菇多糖的鸭肝酱则具有一定降低体内吸收胆固醇的功效,且当多糖添加量为 20% 时相对于食用普通鸭肝酱不易造成胆固醇的过量吸收,能够做到享受鸭肝酱本身的味道以及营养的同时,不担心身体对胆固醇的过量吸收。但多糖添加量达到 20% 会造成鸭肝酱风味口感上的异变。考虑到试剂生产应用,结合成本等问题,选择添加 10% 金针菇多糖的鸭肝酱在既能保证风味的同时,也保证了机体食用过程中不会显著引起胆固醇含量的异常升高。

近年来由于饮食结构的改变以及食品营养素需求量的提高,使得人们越来越青睐有益元素的加入^[19]。随着市场对功能型食品的需求逐渐旺盛,开发一些健康的含有活性元素的食物具有广阔的市场应用前景^[20-21]。将具有降胆固醇功效的金针菇多糖添加到高胆固醇的鸭肝酱中,在满足大众对饮食健康需求的同时,促进功能型食品的开发。

[参考文献] (References)

- [1] 范志红. 内脏怎么吃最安全[J]. 江苏卫生保健, 2017(9): 46.
- [2] 姜英杰, 贡汉坤, 东方, 等. 新型鸭肝酱的研制[J]. 中国调味品, 2016, 41(12): 81-83, 87.
- [3] 秦鹏飞, 王宝维, 张福君, 等. 鸭肥肝和鹅肥肝的氨基酸、脂肪酸营养价值及质构特性比较[J]. 动物营养学报, 2018, 30(12): 4954-4963.
- [4] ZHAO R Q, FANG D L, JI Y, et al. *In vitro* and *in vivo* functional characterization of an immune activation *Flammulina velutipes* polysaccharide based on gut microbiota regulation[J]. Food and Agricultural Immunology, 2020, 31(1): 667-686.
- [5] 马升, 沈城, 徐建雄. 发酵金针菇根多糖提取、结构及抗氧化活性[J]. 食品科技, 2021, 46(3): 147-154.
- [6] 张爱龙, 赵飞, 金周雨, 等. 金针菇多糖抑制肝癌 HepG2 细胞增殖并诱导细胞凋亡[J]. 吉林农业大学学报, 2019, 41(5): 521-525.

- [7] CHEN X, FANG D L, ZHAO R Q, et al. Effects of ultrasound-assisted extraction on antioxidant activity and bidirectional immunomodulatory activity of *Flammulina velutipes* polysaccharide[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 140: 505–514.
- [8] 张圣杰, 王文亮, 石贤权, 等. 金针菇多糖生物活性及功能性食品开发[J]. 中国食物与营养, 2013, 19(10): 62–64.
- [9] 刘肖肖. 金针菇子实体多糖 FVP60 调节肠道菌群发挥降血脂功能研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2020.
- [10] XIAO H, CHEN C, LI C, et al. Physicochemical characterization, antioxidant and hypoglycemic activities of selenized polysaccharides from *Sargassum pallidum*[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 132: 308–315.
- [11] LIANA I D J, FHERNANDA R S, LUCIMARA M C C, et al. Simple and effective purification approach to dissociate mixed water-insoluble α - and β -D-glucans and its application on the medicinal mushroom *Fomitopsis betulina*[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 200: 353–360.
- [12] 谢章斌. 鹅肥肝营养、风味物质及鹅肥肝酱的开发研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2012.
- [13] 张娜. 低胆固醇发酵香肠的制备及功能性评价[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2015.
- [14] HUANG F J, ZHENG X J, MA X H, et al. Theabrownin from Pu-erh tea attenuates hypercholesterolemia via modulation of gut microbiota and bile acid metabolism[J]. Nature Communications, 2019, 10(1): 2222–2228.
- [15] 贾玉莉. 高血脂患者心血管危险性分层与治疗的研究[J]. 山西医药杂志, 2019, 48(5): 582–584.
- [16] QIAN W B, HASEGAWA J C, CAI X R, et al. Components of boiogito suppress the progression of hypercholesterolemia and fatty liver induced by high-cholesterol diet in rats[J]. Yonago Acta Medica, 2016, 59(1): 67–80.
- [17] 王灵慧, 吴霜, 堵晶晶, 等. 甜菜碱对肥胖小鼠肝脏脂质沉积的影响[J]. 四川农业大学学报, 2020, 38(6): 742–748.
- [18] 李淑珍, 杨巍巍, 康爱娟, 等. 柑橘多甲氧基黄酮饼干对高血脂症小鼠的降脂效应[J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(1): 63–70.
- [19] SADIA H, NAZIR A, TANVIR A, et al. Microwave processing impact on the phytochemicals of sorghum seeds as food ingredient[J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2019, 43(5): e13924.
- [20] 袁铭, 押辉远, 牛江秀. 功能性食品素材来源研究进展[J]. 洛阳师范学院学报, 2020, 39(8): 26–30.
- [21] 何国庆, 苏忠锐. 功能性食品的研制与开发[J]. 生物产业技术, 2009(6): 34–42.

[责任编辑: 陈 庆]