

蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片的调节血脂作用

黄文, 周兴苗, 张长禹, 雷朝亮*

(华中农业大学昆虫资源研究所, 武汉 430070)

摘要: 研究和评价了蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片的调节血脂作用及其安全性。将 50 只实验动物(大鼠)随机分为普通饲料对照组、高脂饲料对照组和 3 个实验组, 实验组分别喂以不同剂量蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片和高脂饲料。饲养 28 天后, 分别测定大鼠血清总胆固醇(total cholesterol, TC)、血清总甘油三酯(triglyceride, TG)、血清高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)的含量。用 Horn's 法对蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片的急性毒性进行研究, 连续观察 7 天, 记录各组动物的中毒反应情况和死亡只数, 计算咀嚼片对小鼠的半数致死剂量。同时对几丁低聚糖咀嚼片作了调节血脂的动物试验, 研究结果表明, 蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片对大鼠血清总胆固醇、总甘油三酯有明显降低和对血清高密度脂蛋白胆固醇有明显稳定作用, 具有辅助降血脂作用; 对咀嚼片进行急性毒性实验表明, 蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片对小鼠的半数致死剂量大于 10 g/kg·bw, 提示其基本无毒。

关键词: 蝇蛆; 几丁低聚糖; 调节血脂; 半数致死剂量

中图分类号: Q962 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2005)02-0314-05

Effects of the chewing tablets of oligochitosan from housefly larvae in lowering hyperlipemia

HUANG Wen, ZHOU Xing-Miao, ZHANG Chang-Yu, LEI Chao-Liang* (Institute of Insect Resources, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: To evaluate the effects of lowering hyperlipemia of the chewing tablets of oligochitosan from housefly larvae and assess its security, 50 rats were divided into 5 experimental groups. One control group was fed with common feed, another control group was fed with high fattiness feed, and three treatment groups were fed with different dosage of tablets of oligochitosan from housefly larvae and high fattiness feed, respectively. After 28 days, the content of total cholesterol (TC), triglyceride (TG) and high density lipoprotein cholesterol (HDLC) in the serum of rats were measured. The acute toxicity of the chewing tablets of oligochitosan was studied according to the guidelines of Chinese Traditional Medicine Pre-clinical Trial. The toxicosis reaction and death number of the mouse were recorded successively for 7 days, and then its LD₅₀ were calculated accordingly. The results showed that when rats were treated with the chewing tablets of oligochitosan, the contents of TC, TG in rat serum decreased remarkably but HDLC increased significantly. The results suggest that the chewing tablets of oligochitosan from housefly larvae may assist in lowering hyperlipemia. The result of acute toxicity study showed its LD₅₀ exceeded 10 g/kg·bw, which indicated that the chewing tablets was a safe product.

Key words: Housefly larvae; oligochitosan; lowering hyperlipemia; LD₅₀

几丁质脱乙酰基后的产物被称为几丁糖, 广泛存在于海洋节肢动物(如虾、蟹)的甲壳中, 也存在于低等动物、菌类、昆虫、藻类细胞膜和高等植物的细胞壁中, 是迄今为止发现的自然界中唯一存在的阳离子型可食用纤维, 被誉为继蛋白质、脂肪、糖、维生素和矿物质之后, 人体必需的第六生命要素(Jean *et*

al., 1993; 雷朝亮和钟昌珍, 1998)。而且它完全不同于一般营养保健品, 对人体还具有强化免疫、抑制老化、预防疾病、促进疾病痊愈和调节生理机能等五大功能。几丁糖水解为水溶性几丁低聚糖后其性质得到改变, 具有独特的更具魅力的生理活性和功能性质, 在医药、功能食品和化妆品研制等方面具有更

作者简介: 黄文, 1968 年生, 博士, 华中农业大学食品科技学院副教授, 从事昆虫功能性食品和昆虫免疫学研究, E-mail: huangwen@mail.hzau.edu.cn

* 通讯作者 Author for correspondence, Tel.: 027-87287207; E-mail: ioir@mail.hzau.edu.cn

收稿日期 Received: 2004-08-23; 接受日期 Accepted: 2004-12-09

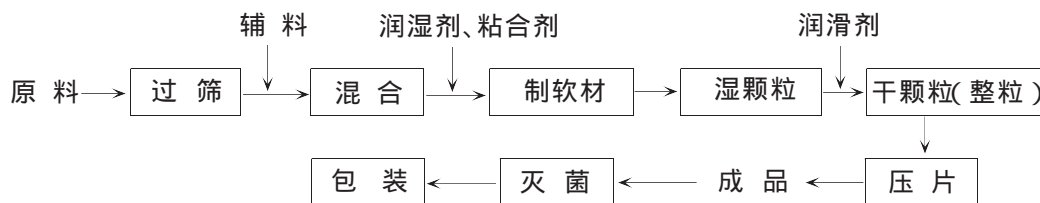
为广泛的用途(魏新林和夏文水,2003)。

当前市场上的几丁质与几丁糖均来自于虾、蟹壳,原料的供应受到地域和季节的影响,而且由于虾、蟹壳含钙量高,给提取造成困难。昆虫资源丰富,几丁质的储备量巨大,目前许多昆虫已经人工养殖,并且克服了季节的影响,可以全年供应。本文所采用的几丁低聚糖取自于蝇蛆,具有钙盐和色素含量低、脱乙酰容易、较虾、蟹壳来源的几丁糖质量好、活性高的特点(赖凡等,1999)。

本文将蝇蛆几丁低聚糖开发为咀嚼片,重点探讨了经加工后制得蝇蛆几丁低聚糖产品调节血脂的作用及其安全性。

1 材料和方法

1.1 材料



1.4 蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片急性毒性实验

根据朱黎霞等(2003)的急性毒性实验方法,选用华中科技大学同济医学院实验动物中心提供的昆明种小鼠(Kunming mouse),雌雄各20只,体重18~22g,按体重随机分为4组,每组5雄5雌,剂量分别为1.00 g/kg·bw、2.15 g/kg·bw、4.64 g/kg·bw、10.00 g/kg·bw。各组动物经停食16h后,灌胃给药,连续观察7天,记录各组动物的中毒反应情况和死亡只数,以确定咀嚼片对小鼠的半数致死剂量(LD₅₀)。

1.5 蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片调节血脂实验(金宗濂,1995)

1.5.1 动物分组 选择华中科技大学同济医学院实验动物中心提供的健康成年雄性SD大鼠(Sprague-Dawley rat)50只,体重150~200g。按体重随机分为阴性对照组、阳性对照组,和低、中、高不同剂量组,剂量分别为咀嚼片1.5 g/kg·bw、3.0 g/kg·bw、4.5 g/kg·bw,并喂饲高脂饲料。

1.5.2 饲料及给药 除阴性对照组喂饲普通饲料

以外,阳性对照组和剂量组均喂饲高脂饲料,高脂饲料采用本研究所配制的基础饲料79.0%,另加猪油10.0%、胆固醇1.0%、蛋黄粉10.0%。实验时动物自由进食和饮水,每周称体重一次。剂量组采用灌胃方式给药,28天后,采尾血分别测定各鼠空腹12h血清TC、TG和HDLC的含量。

胆固醇、胆盐、大鼠血清总胆固醇(TC)、血清甘油三酯(TG)、血清高密度脂蛋白胆固醇(HDLC)试剂盒均由北京中生生物工程高技术公司提供。

1.2 蝇蛆几丁低聚糖制备

根据赖凡等(1999)的研究方法提取制备蝇蛆几丁质及几丁糖,然后采用过氧化氢水解法和酶法水解法制备蝇蛆几丁低聚糖备用。

1.3 蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片制备

1.3.1 蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片配方 蝇蛆几丁低聚糖20%、蔗糖20%、葡萄糖8%、麦芽糊精15.6%、天然食用色素0.1%、粉末食用香精0.1%、食用淀粉36%、硬脂酸镁0.2%。

1.3.2 生产蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片工艺流程:

外,阳性对照组和剂量组均喂饲高脂饲料,高脂饲料采用本研究所配制的基础饲料79.0%,另加猪油10.0%、胆固醇1.0%、蛋黄粉10.0%。实验时动物自由进食和饮水,每周称体重一次。剂量组采用灌胃方式给药,28天后,采尾血分别测定各鼠空腹12h血清TC、TG和HDLC的含量。

1.5.3 降血脂实验方法 :TC测定采用CHOD-TAT法,TG测定采用GPO-PAP法,HDLC采用磷钨酸酶沉淀法。

1.6 实验数据统计分析

方差分析采用SAS软件进行数据统计。

2 结果与分析

2.1 蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片急性毒性研究

采用1.3的方法制备的蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片为淡黄色片剂,味甜,略带微涩。咀嚼片灌胃后,各组动物连续观察7天,结果见表1。

表 1 蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片对昆明种小鼠的急性毒性

Table 1 Acute toxicity of the chewing tablets of oligochitosan on Kunming mice

组别与剂量 Group and dosage (g/kg·bw)	性别 Sex	小鼠数量 Mice number	动物反应 Animal reaction	死亡数(只) Death number	LD ₅₀ (g/kg·bw)
1.00	雌 Female	5	正常 Natural	0	> 10.00
2.15		5	正常 Natural	0	
4.64		5	正常 Natural	0	
10.00		5	正常 Natural	0	
1.00	雄 Male	5	正常 Natural	0	
2.15		5	正常 Natural	0	
4.64		5	正常 Natural	0	
10.00		5	正常 Natural	0	

观察期间,各组动物均未发现有明显中毒反应,也无一例死亡,说明蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片对雌、雄性小鼠的半数致死剂量(急性毒性)均为 LD₅₀ > 10.00 g/kg·bw。按照急性毒性分级,蝇蛆几丁低聚

糖咀嚼片应属实际无毒物质。

2.2 实验期间大鼠的体重变化及行为观察

实验期间每周称大鼠体重一次,结果记录见表

2。

表 2 蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片对 SD 大鼠体重的影响($\bar{x} \pm SD$)Table 2 The effect of chewing tablets on the weight of the Sprague-Dawley rats ($\bar{x} \pm SD$)

组别与剂量 Group and dosage (g/kg·bw)	大鼠数量 Rat number	体重 Weight (g)		增量 Increment* (g)
		实验前 Before experiment	实验后 After experiment	
对照 Common control	10	160 ± 6	296 ± 16	136 ± 16
高脂对照 High-level fatty control	10	161 ± 6	295 ± 17	134 ± 20
低剂量 Low dosage	1.5	158 ± 6	298 ± 13	140 ± 16
中剂量 Middle dosage	3.0	157 ± 5	290 ± 16	134 ± 13
高剂量 High dosage	4.5	158 ± 7	305 ± 14	147 ± 13

* 增量经方差分析,与阳性对照组比较,各组动物差异不显著, $P = 0.3061$, $P > 0.05$ The difference wasn't significant compared with high-level fatty control by one-way analysis of variance, $P = 0.3061$, $P > 0.05$.

由表 2 结果可知,试验 28 天后,各组大鼠由于正处于旺盛的生长期,故体重明显增加,但各剂量组的体重与对照组之间无显著性差异,表明蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片对大鼠的体重无明显影响;实验组大鼠的外观、行为活动、精神状态、食欲、大小便及皮毛、肤色等均未见异常现象,表明蝇蛆几丁低聚糖咀

嚼片不影响大鼠的正常生长。

2.3 蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片对大鼠血脂水平的影响

2.3.1 蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片对大鼠血清 TC 水平的影响:各组灌胃给药 28 天后,测定大鼠血清中胆固醇含量,结果见表 3。

表 3 蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片对 SD 大鼠血清 TC 水平的影响($\bar{x} \pm SD$)Table 3 The effect of chewing tablets on TC in serum of the Sprague-Dawley rats ($\bar{x} \pm SD$)

组别与剂量 Group and dosage (g/kg·bw)	大鼠数量 Rat number	血清 TC TC in serum (mmol/L)		TC 增加百分比 Increment (%)
		实验前 Before experiment (0 d)	实验后 After experiment (28 d)	
对照 Common control	10	1.92 ± 0.29	1.63 ± 0.30	-16.1
高脂对照 High-level fatty control	10	1.90 ± 0.24	3.49 ± 0.48	83.7
低剂量 Low dosage	1.5	1.91 ± 0.22	3.25 ± 0.38	70.2
中剂量 Middle dosage	3.0	1.90 ± 0.26	3.05 ± 0.41*	60.5
高剂量 High dosage	4.5	1.88 ± 0.25	2.85 ± 0.46**	51.6

* 表示与阳性对照组比较,差异有显著性 The difference was significant compared with high-level fatty control, $P < 0.05$; ** 表示与阳性对照组比较,差异有极显著性 The difference was extremely significant compared with high-level fatty control, $P < 0.01$.

由表 3 可知,用高脂饲料饲养的各组大鼠的血清 TC 较阴性对照组均有大幅度上升,但上升幅度有显著差异。服食蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片的各组大

鼠血清 TC 随着剂量的增加幅度较阳性对照组呈下降趋势,下降幅度大于 10%。高剂量组 TC 明显低于阳性组,有极显著性差异;中剂量组 TC 也明显低

于阳性组,有显著性差异。表明实验大鼠摄入一定剂量的蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片能有效地抑制血清 TC 升高。

2.3.2 蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片对大鼠血清 TG 水平的影响:各组灌胃给药 28 天后,测定大鼠血清中甘油三酯的含量,结果见表 4。

表 4 蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片对 SD 大鼠血清 TG 水平的影响($\bar{x} \pm SD$)

Table 4 The effect of chewing tablets on TC in serum of the Sprague-Dawley rats($\bar{x} \pm SD$)

组别与剂量 Group and dosage(g/kg·bw)	大鼠数量 Rat number	血清 TG TG in serum(mmol/L)		TG 增加百分比 Increment(%)
		实验前 Before experiment(0 d)	实验后 After experiment(28 d)	
对照 Common control	10	0.83 ± 0.21	0.74 ± 0.18	-10.8
高脂对照 High-level fatty control	10	0.88 ± 0.20	1.58 ± 0.33	79.5
低剂量 Low dosage 1.5	10	0.81 ± 0.19	1.18 ± 0.25**	45.6
中剂量 Middle dosage 3.0	10	0.78 ± 0.23	1.00 ± 0.22**	28.2
高剂量 High dosage 4.5	10	0.85 ± 0.26	0.99 ± 0.20**	16.5

** 表示与阳性对照组比较,差异极显著 The difference was extremely significant compared with high-level fatty control, $P < 0.01$.

由表 4 可知,用高脂饲料饲养的各组大鼠的血清 TG 较阴性对照组均有上升,但上升幅度有显著差异。服食蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片的各组大鼠血清 TG 随着剂量的增加幅度较阳性对照组呈下降趋势,下降幅度大于 15%。高、中、低剂量组 TG 均明显低于阳性组,有极显著性差异。表明实验大鼠摄入一

定剂量的蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片能有效地抑制血清 TG 升高。

2.3.3 蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片对大鼠血清 HDLC 水平的影响:各组灌胃给药 28 天后,测定大鼠血清中高密度脂蛋白胆固醇含量,结果见表 5。

表 5 蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片对 SD 大鼠血清 HDLC 水平的影响($\bar{x} \pm SD$)

Table 5 The effect of chewing tablets on HDLC in serum of the Sprague-Dawley rats($\bar{x} \pm SD$)

组别与剂量 Group and dosage(g/kg·bw)	大鼠数量 Rat number	血清 HDLC HDLC in serum(mmol/L)		下降值 Decrease
		实验前 Before experiment(0 d)	实验后 After experiment(28 d)	
对照 Common control	10	0.56 ± 0.09	0.60 ± 0.06	-0.04
高脂对照 High-level fatty control	10	0.56 ± 0.06	0.42 ± 0.07	0.14
低剂量 Low dosage 1.5	10	0.57 ± 0.08	0.47 ± 0.04*	0.10
中剂量 Middle dosage 3.0	10	0.56 ± 0.08	0.50 ± 0.04*	0.06
高剂量 High dosage 4.5	10	0.53 ± 0.06	0.53 ± 0.07**	0.00

* 表示与阳性对照组比较,差异显著 The difference was significant compared with high-level fatty control, $P < 0.05$ ** 表示与阳性对照组比较,差异极显著 The difference was most significant compared with high-level fatty control, $P < 0.01$.

由表 5 可知,除高剂量实验组外用高脂饲料饲养的各组大鼠的血清 HDLC 较阴性对照组均有下降,但下降幅度有显著差异。服食蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片的各组大鼠血清 HDLC 随着剂量的增加其下降值呈减小趋势。高、中、低剂量组的血清 HDLC 下降值均明显低于阳性对照组,中、低剂量组有显著性差异,高剂量组有极显著性差异。这表明蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片对 HDLC 有明显稳定作用。

正电荷的壳聚糖与负电荷的胆汁酸结合后被排出体外,使得重吸收入肝脏中的胆汁减少,使胆囊排空。而胆囊中必须有一定量的胆汁酸储备,这就促进肝脏将胆固醇转化成胆汁酸,使血中胆固醇降低。此外,壳聚糖为动物性膳食纤维,能吸附胆固醇,减少它的吸收(杨铭铎等 2002)。

食物中脂类的消化除需胰脂肪酶还要胆汁酸盐作乳化剂。正电性的壳聚糖和负电性的胆汁酸相结合而排出体外,使得脂肪不被乳化,影响脂肪的消化吸收,从而降低血清甘油三酯含量(吴加罗等, 1994)。

高密度脂蛋白可将外周组织的胆固醇运向肝脏,进而排出体外,故高密度脂蛋白有“胆固醇的清道夫”之称。因此高密度脂蛋白含量升高,有利于胆固醇清除,降低血胆固醇含量(田德峰等 2000)。

3 讨论

胆固醇主要在肝脏中转化成胆汁酸,胆汁酸在胆囊中有一定储量,大约 95% 的胆汁酸在完成脂肪消化后由小肠再吸收到肝脏,胆汁酸进入肝脏后会促进肝胆汁的分泌,这即是胆汁酸的肠肝循环。

综合分析蝇蛆几丁低聚糖咀嚼片对大鼠血脂水平的影响,可以看到将蝇蛆几丁低聚糖制作为咀嚼片不会影响其功效。其降低血脂的作用不仅体现在可以明显降低血清中胆固醇和甘油三酯的含量,而且对血清中高密度脂蛋白胆固醇有明显稳定作用,这对防治高血脂症和心血管病有重要意义。

参 考 文 献 (References)

- Jean GL, Franeina G, 1993. Some effects of chitosan on liver function in the rat. *Endocrinology*, 132(3): 1 078.
- Jin ZL, Wen J, Tang FF, 1995. The Principles and Methods of Evaluating Function Food. Beijing: Peking University Press. 86 - 95. [金宗濂, 文镜, 唐粉芬, 1995. 功能食品评价原理及方法. 第1版. 北京: 北京大学出版社. 86 - 95]
- Lai F, Lei CL, Zhong CG, 1999. Studies on the preparation and physical-chemical properties of chitosan from housefly larvae. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 29(Suppl.): 89 - 95. [赖凡, 雷朝亮, 钟昌珍, 1999. 蝇蛆几丁糖的制备及理化性质研究. 华中农业大学学报, 29(增刊): 89 - 95]
- Lei CL, Zhong CG, 1998. Health function of fly-maggot chitin. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 17(2): 117 - 121. [雷朝亮, 钟昌珍, 1998. 蝇蛆几丁糖保健功能的评价. 华中农业大学学报, 17(2): 117 - 121]
- Tian DF, Wang YH, Zhang JY, Ren HX, 2000. Study on inhibition of fat-absorption by chitosan. *Chinese Journal of Marine Drugs*, 6(78): 37 - 41. [田德峰, 王彦辉, 张景英, 任慧霞, 2000. 壳聚糖调血脂活性研究概况. 中国海洋药物, 6(78): 37 - 41]
- Wei XL, Xia WS, 2003. Research development of chitooligosaccharides physiological activities. *Chinese Pharmacological Bulletin*, 19(6): 614 - 617. [魏新林, 夏文水, 2003. 甲壳低聚糖的生理活性研究进展. 中国药理学通报, 19(6): 614 - 617]
- Wu JL, Lai WQ, Wang Y, Chen SL, 1994. Effect of chitosan on serum lipids in experimental hypercholeolemic rats. *Acta Nutrimenta Sinica*, 16(2): 197 - 199. [吴加罗, 来伟旗, 王茵, 陈似兰, 1994. 壳聚糖对大鼠血脂水平的影响. 营养学报, 16(2): 197 - 199]
- Yang MD, Liu HY, Wang H, Li YD, 2002. Study on inhibition of fat-absorption by chitosan. *Acta Nutrimenta Sinica*, 1: 53 - 55. [杨铭铎, 刘浩宇, 王禾, 李元端, 2002. 壳聚糖抑脂作用的研究. 营养学报, 1: 53 - 55]
- Zhu LX, Du H, Cai XY, Meng LY, Gu CS, 2003. Research on the experiment of acute poisoning about *Potentilla discolor* Bunge. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 31(5): 35 - 35. [朱黎霞, 杜慧, 才秀颖, 孟令云, 谷春山, 2003. 翻白草的急性毒性实验. 中医药学报, 31(5): 35 - 35]

(责任编辑: 袁德成)