

富锗金针菇菌丝体 对小鼠耐疲劳能力的影响

陈瑞琪, 朱蕴兰, 张 城, 陈宏伟*, 李 敬

(徐州工程学院食品(生物)工程学院/江苏省食品生物加工工程技术研究中心/
江苏省食品资源开发与质量安全重点实验室, 江苏徐州 221111)

摘要:以富锗金针菇菌丝体为材料,将50只小鼠随机分为5组:纯空白组、空白对照组、低剂量组、中剂量组、高剂量组,并喂饲不同剂量的富锗金针菇菌丝体,通过测定小鼠安静时、运动后和运动休息后的血乳酸和血尿素氮含量及负重游泳力竭时间,探讨富锗金针菇菌丝体对小鼠抗疲劳能力的影响。实验结果表明:实验各剂量组富锗金针菇菌丝体均可减少小鼠体内血乳酸和尿素氮含量,延长小鼠负重游泳力竭时间,且随着剂量的增加小鼠抗疲劳能力增强。富锗金针菇菌丝体在实验剂量范围内具有较好的抗疲劳能力。

关键词:金针菇, 锗, 抗疲劳, 乳酸, 尿素氮, 小鼠

Effect of the mycelium of *Flammulina velutipes* germanium riched to anti-fatigue ability of mice

CHEN Rui-qi, ZHU Yun-lan, ZHANG Cheng, CHEN Hong-wei*, LI Jing

(School of Food and Biology Engineering, Xuzhou Institute of Technology, Jiangsu Province Research Center of Food and Biology Process Engineering Technology, Jiangsu Key Construction Laboratory of Food Resource Development and Quality Safe, Xuzhou 221111, China)

Abstract: Using the mycelium of *Flammulina velutipes* enriched of germanium as materials, 50 mice were divided into 5 groups randomly: blank group, the blank control group, low dose group, middle dose group, high dose group, then the mice was fed with different dose of the mycelium of *F. velutipes* enriched of germanium respectively. By detecting the content of blood lactic acid and the content of blood urea nitrogen of mice on the quiet, following exercise and after rest, the effect of the mycelium of *F. velutipes* enriched of germanium on the ability of anti-fatigue ability of mice was explored. The experimental results showed that each dose experimental group of the mycelium of *F. velutipes* enriched of germanium could reduce the contents of blood lactic acid and urea nitrogen of mice, and prolong the exhaustion time of loading swimming, and with the increase of the dose of the mycelium, the anti-fatigue ability of mice was enhanced. The mycelium of *F. velutipes* enriched of germanium had good anti-fatigue ability within the tolerance range of experimental dose.

Key words: *Flammulina velutipes*; germanium; anti-fatigue; blood lactate; blood urea nitrogen; mouse

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)11-0365-04

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.11.066

金针菇(*Flammulina velutipes*)学名毛柄金钱菌,又称毛柄小火菇、构菌、朴菇、冬菇、朴菰、智力菇等,属伞菌目口蘑科金钱菌属真菌,世界各地均有分布,具有很高的药用价值。金针菇通常生长在柳、榆、白杨树等阔叶树的枯树干及树桩上。目前,金针菇已经工厂化人工栽培,并成为人们备受青睐的食用菌之一。

金针菇不仅色、香、味俱全,而且营养价值丰富,含有蛋白质、多糖、黄酮、倍半萜、核苷酸、纤维素、维

生素、微量元素等生物活性物质。每100g干菇中含蛋白质31.28g,纤维素3.34g,灰分7.58g,其氨基酸含量较高,每100g干品中氨基酸总量为17.28g,而能促进儿童生长发育的赖氨酸含量占全部氨基酸的6.3%。金针菇具有免疫调节功能、抗过敏作用和抗癌功效,金针菇在抗疲劳和消除疲劳方面有显著作用,此外还可以降低胆固醇,经常食用可以预防和治疗肝脏疾病和消化道溃疡等疾病^[1-3]。

收稿日期: 2014-08-06

作者简介: 陈瑞琪(1991-),女,本科,研究方向:食品科学与工程。

*通讯作者: 陈宏伟(1963-),男,博士,教授,研究方向:微生物资源开发利用。

基金项目: 江苏省大学生实践创新项目资助(SCX2012016)。

锗属于稀有元素,在植物、土壤中含量普遍较低,是人体必需的微量元素。人参、灵芝等的强身、滋补、抗癌作用,其中一个重要原因就是它们都含有锗。另外,锗在体内不会发生积蓄,在47d内会由肾、直肠以尿、粪形式排出^[4-5]。

锗化合物是一种结构独特的新型抗癌药,具有抗癌谱广、毒性极低的优点。此外,锗可以清除体内自由基,具有一定的抗氧化、抗衰老作用^[6-7]。

食用菌具有较好的富集锗的能力,富锗食用菌的研究已有报道^[8-12],但富锗金针菇对机体耐疲劳能力的研究还尚未见报道,对富锗金针菇菌丝体的耐疲劳功能进行研究,对进一步开发富锗金针菇产品具有重要的理论意义和实践意义。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

金针菇 (*Flammulina velutipes*) 本实验室保存;昆明小鼠 购买于徐州医学院实验动物中心,动物许可证号:SCXK(苏)20100003;富锗金针菇菌丝体 本实验制备;蛋白胨、酵母汁 天津市河东区红岩试剂厂,生物试剂;琼脂粉 上海蓝季科技发展有限公司,生物试剂;葡萄糖 天津市红岩化学试剂厂,分析纯;硝酸 国药集团化学试剂有限公司,分析纯;过氧化氢 江苏腾师化工厂,分析纯;锗标准液 国家钢铁材料测试中心钢铁研究总院,国家标准;血乳酸试剂盒,血尿素氮试剂盒 南京建成生物工程研究所。

HYG-II 回转式恒温调速摇瓶柜 上海欣蕊自动化有限公司;GZX-DH40X45-BC 电热恒温干燥箱 上海跃进医疗器械厂;HH-4 数显恒温水浴锅 国华电器有限公司;FA-210N 电子天平 上海精密仪器有限公司;YXQ-SG41-280 手提式压力蒸汽灭菌器 上海医用核子设备厂;TAS-990MFG 原子吸收分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司;XT-9900 智能微波消解仪 中国上海新拓微波溶样测试技术有限公司;XT-9700 冷却机 中国上海新拓微波溶样测试技术有限公司;XT-9800 多用预防处理加热仪 中国上海新拓微波溶样测试技术有限公司;SIGMA3-30K 台式高速冷冻离心机 德国 sigma 公司;TU-1810 紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司。

1.2 实验方法

1.2.1 培养基 斜面培养基——SDAY 培养基:葡萄糖4%、蛋白胨1%、酵母浸膏1%、琼脂2%、去离子水;液体种子培养基——SDY 培养基:葡萄糖4%、蛋白胨1%、酵母浸膏1%、锗浓度500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、去离子水;液体扩大培养基——同液体种子培养基。

1.2.2 菌种的活化及培养 活化后的菌种 \rightarrow 斜面培养(25 $^{\circ}\text{C}$,5~7d) \rightarrow 摇瓶种子培养(500mL 三角瓶装样量200mL,120r/min,25 $^{\circ}\text{C}$,5~7d) \rightarrow 扩大培养(120r/min,25 $^{\circ}\text{C}$,5~7d)

1.2.3 菌丝体干粉的准备 将发酵液进行抽滤得到菌丝体,将抽滤得到的菌丝体置于干燥箱中60~80 $^{\circ}\text{C}$ 干燥至恒重。将获得的干燥菌丝体用粉碎机粉碎至无颗粒物出现,装入密闭的小塑料袋中,贴上标签,

放入干燥器内备用。

1.2.4 生物量的测定 将发酵液抽滤得到的菌丝体经干燥后称量,即为生物量。

1.2.5 锗元素标准曲线的制作 准确吸取1mL 锗标准溶液于10mL 容量瓶内,加1% 硝酸定容。分别取1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 于1mL 容量瓶中,加5 μg 基体改进剂硝酸镍,用1% 硝酸定容,待测。

用TAS-990 型火焰原子吸收分光光度计(波长265.2nm,工作电流5mA,燃气流量2000mL/min,燃烧高度5.0mm,负高压350V,光谱带宽0.4nm)测定其吸光度,以锗浓度为横坐标,以吸光值为纵坐标,绘制标准曲线,并求回归方程。

1.2.6 菌丝体有机锗含量的测定 菌丝体粉(三个平行)用透析袋MD44(8000-14000)透析2d,每天换2~3次水,将其中的无机锗透析掉,透析后的样品浓缩后微波消化。

微波消解:将透析浓缩后的样品置入消解罐中,按1:3的比例分别加入过氧化氢和硝酸,先进行预热,再放入微波消解仪中消解(微波消解阶段设置:功率为80%,压力为10kPa 第一阶段 时间300s),得到消解液于冷却机中赶酸30min左右,再定容到10mL 容量瓶中,待测。

锗含量测定:同标准曲线锗的测定。根据锗标准回归方程计算样品中有机锗的浓度,即为有机锗含量。

1.2.7 有机锗转化率的计算方法

有机锗转化率(%) = 菌丝体中有机锗含量/培养基中总锗含量 $\times 100$

1.2.8 小鼠实验分组 将50只体重(20 \pm 2)g的雌性小鼠于实验室条件下适应2d后称重。将全部小鼠随机分为5组:纯空白组、空白对照组、低剂量组、中剂量组和高剂量组,每组10只小鼠。纯空白组自由喂养,不灌胃任何东西;空白对照组按照每天每只37.5mg/kg \cdot bw灌胃0.2mL 正常培养的金针菇菌丝体粉水溶液;低剂量组按照每天每只37.5mg/kg \cdot bw灌胃0.2mL 富锗金针菇菌丝体粉水溶液;中剂量组按照每天每只187.5mg/kg \cdot bw灌胃0.2mL 富锗金针菇菌丝体粉水溶液;高剂量组按照每天每只375mg/kg \cdot bw灌胃0.2mL 富锗金针菇菌丝体粉水溶液。各组每天灌胃一次,共灌胃15d。

1.2.9 小鼠血清乳酸(LD)和血尿素氮(BUN)含量测定 小鼠末次灌胃结束30min后,剪尾进行第一次取血,此时为安静时。处理好伤口后每只小鼠不负重,将其放入游泳缸中进行游泳。游泳30min后取出,剪尾进行第二次取血,此时为游泳后立即样品。小鼠休息30min后剪尾进行第三次取血,此为游泳休息后样品。每次取血50 μL 。将取出的小鼠血液置于冷冻离心机(12000r/min,10min)中离心以分离出血清。再按照血乳酸试剂盒和血尿素氮试剂盒说明方法测定小鼠血乳酸含量和血尿素氮含量。

1.2.10 小鼠负重游泳力竭实验 小鼠在最后一次灌胃结束30min后,对其进行称重。按照小鼠体重的5%在其尾根部缠绕铅丝,使其负重。玻璃游泳缸中要保持水温(30 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$,水深30cm。将小鼠置于

表1 小鼠的血乳酸含量
Table 1 The content of blood lactic acid in mice

血乳酸含量 (mmol/L)	纯空白组	空白对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
安静时	10.73 ± 0.45 ^{cd}	8.82 ± 0.51 ^{bc}	8.15 ± 0.33 ^{bb}	7.32 ± 0.40 ^{aa}	7.13 ± 0.53 ^{aa}
游泳后	14.47 ± 1.38 ^{bd}	11.64 ± 1.2 ^{bc}	9.69 ± 0.36 ^{bb}	8.93 ± 0.47 ^{abA}	8.89 ± 0.52 ^{aa}
游泳休息后	12.25 ± 0.39 ^{cd}	10.17 ± 0.30 ^{bc}	8.85 ± 1.24 ^{ab}	8.39 ± 0.27 ^{abB}	8.22 ± 0.81 ^{aa}

注:不同英文大,小写字母分别表示显著性差异程度($p < 0.05$, $p < 0.01$);表2同。

表2 小鼠的血尿素氮含量
Table 2 Blood urea nitrogen levels in mice

血尿素氮含量 (mmol/L)	纯空白组	空白对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
安静时	20.35 ± 0.84 ^{bc}	16.95 ± 0.20 ^{ab}	15.95 ± 0.61 ^{abB}	15.30 ± 0.34 ^{aa}	15.15 ± 0.51 ^{aa}
游泳后	89.47 ± 0.63 ^{bd}	20.53 ± 0.80 ^{bc}	18.93 ± 0.23 ^{bb}	17.29 ± 0.47 ^{abA}	16.52 ± 0.42 ^{aa}
游泳休息后	25.62 ± 0.51 ^{bc}	17.15 ± 0.73 ^{ab}	16.44 ± 0.33 ^{abB}	15.57 ± 0.47 ^{aa}	15.03 ± 0.89 ^{aa}

玻璃游泳缸中游泳,记录小鼠从开始到沉入水面下5s不能上浮的时间。

1.2.11 数据处理 用SPSS 13进行数据处理,采用LSD最小极差方法和Duncan新复极差进行多重比较分析。

2 结果与分析

2.1 富锗金针菇菌丝体有机锗含量

经测定和计算,锗标准回归方程为 $y = 0.487x - 0.001$, $R^2 = 0.996$ 。根据标准回归方程测得富锗金针菇菌丝体有机锗含量为 $452.8 \mu\text{g/g}$ 。

2.2 富锗金针菇菌丝体对小鼠血乳酸含量的影响

喂饲小鼠不同的金针菇菌丝体后,测定小鼠不同运动时期的血乳酸含量,结果如表1所示。

从表1可以看出,安静时纯空白组和空白对照组与富锗各剂量组之间均存在显著差异($p < 0.05$),纯空白组与其它各剂量组之间存在极显著差异($p < 0.01$),富锗低剂量组与中、高剂量组之间存在极显著差异($p < 0.01$),中高剂量组之间没有显著差异($p > 0.05$)。游泳后纯空白组和空白对照组与其它各组都存在极显著差异($p < 0.01$),纯空白组与空白对照组之间也存在极显著差异($p < 0.01$),富锗低剂量组与高剂量组之间差异极显著($p < 0.01$),低剂量组与中剂量组差异显著($p < 0.05$),中剂量组与高剂量组差异不显著($p > 0.05$)。游泳休息后纯空白组和空白对照组与各剂量组都存在极显著差异($p < 0.01$),富锗低剂量组与高剂量组差异显著($p < 0.05$),中剂量组与低、高剂量组均没有显著差异($p > 0.05$)。

金针菇菌丝体无论是富锗还是不富锗都具有减少小鼠血乳酸含量的能力,但富锗金针菇菌丝体降低血乳酸含量的能力更强,且在实验浓度范围内有随着锗剂量增加而小鼠血乳酸含量减少的趋势。

乳酸是机体糖无氧代谢产物之一,机体剧烈活动时氧消耗过快,机体处于相对缺氧状态,糖酵解反应加强,产生大量乳酸,最终导致疲劳。乳酸在体内的积累取决于乳酸的产生与消除速度。因此,减少乳酸的产生或加快乳酸的消除,都可延缓疲劳发生和加速疲劳的消除。

有机锗对机体血液系统的作用可表现在增加红

细胞和血红蛋白数量,有机锗参与体内氧的代谢,具有很强的氧化脱氢能力,锗进入机体后与血红蛋白结合,保证细胞的有氧代谢。由实验数据可知,富锗金针菇菌丝体在实验用量范围内均可以使小鼠在安静时、游泳后和游泳休息后血乳酸含量降低,这可能是由于锗的增氧作用使小鼠肌肉在大强度运动后不至于严重缺氧而产生糖酵解作用,从而减少乳酸产生。此外,也可能是富锗金针菇菌丝体可以加快乳酸的分解或转化,使乳酸含量快速降低。

2.3 富锗金针菇菌丝体对小鼠血尿素氮含量的影响

喂饲小鼠不同金针菇菌丝体后,测定小鼠不同运动时期的血尿素氮含量,结果如表2所示。

从表2可以看出,小鼠在各种状态时纯空白组的血尿素氮含量与其它各剂量组均有极显著差异($p < 0.01$),小鼠安静时和游泳休息后空白对照组与中剂量组和高剂量组均有显著差异($p < 0.05$),小鼠游泳后空白对照组与各剂量组均有显著差异($p < 0.05$)。

由此可见,金针菇菌丝体无论是富锗还是不富锗都具有减少小鼠血尿素氮含量的能力,但富锗金针菇菌丝体减少小鼠血尿素氮的能力更强,且在实验浓度范围内有随着锗剂量增加而小鼠血尿素氮含量减少的趋势。尤其在小鼠激烈运动后富锗金针菇菌丝体降低血尿素氮的能力显得更强。

血尿素氮是机体在代谢中分解蛋白所产生的,较长时间运动后,当机体长时间不能通过糖、脂肪分解代谢而获取足够的能量时,蛋白质分解代谢加强,在供能的同时脱氨转变为尿素,最终血液尿素含量增加^[13-14]。

锗具有增加血氧含量,清除自由基的能力。本实验的富锗金针菇菌丝体能够显著减少血尿素氮含量,可能是由于锗的增氧作用使机体更多的进行有氧代谢而产生能力,从而使蛋白分解减少,血尿素氮含量降低。

2.4 富锗金针菇菌丝体对小鼠负重游泳力竭时间的影响

喂饲小鼠不同的金针菇菌丝体后,测定小鼠负重游泳力竭时间,结果如表3所示。

表3 小鼠负重游泳力竭时间
Table 3 Exhaustive loaded-swimming time in mice

项目	纯空白组	空白对照组	低剂量组	中剂量组	高剂量组
力竭时间	22'23" ± 1'12" ^{aA}	21'44" ± 1'32" ^{aA}	41'15" ± 57" ^{nbB}	43'08" ± 44" ^{nbcC}	44'51" ± 55" ^{ncD}

注:力竭时间为分,秒。a,A 分别代表 0.01 和 0.05 显著性水平下的多重比较分析差异。

从表 3 中可以看出,纯空白组与空白对照组之间没有显著差异($p > 0.05$),但是这两组与富锗各剂量组之间都存在极显著差异($p < 0.01$),富锗各剂量组之间也存在显著差异($p < 0.05$)。实验结果显示富锗金针菇菌丝体能够显著延长小鼠的负重游泳力竭时间,增强小鼠的耐疲劳能力。在实验剂量范围内随着剂量的增加小鼠力竭游泳时间延长。已有研究表明,锗是人体需要的微量元素之一,具有多种重要的生理功能,具有抗氧化、增强免疫力和富集氧以及增强造血系统的功能^[15]。富锗金针菇菌丝体能够增加小鼠的负重游泳力竭时间,可能是与锗增加了小鼠机体的含氧量和血液循环能力有关,这个问题有待进一步研究。

3 结论

富锗金针菇菌丝体在实验剂量范围内可以减少小鼠血乳酸含量、血尿素氮含量、增加负重游泳力竭时间,且随着剂量的增加抗疲劳能力增强。富锗金针菇菌丝体具有较好的抗疲劳能力。

参考文献

- [1]王振河,武英霞.金针菇标准化生产[M].郑州:河南科学技术出版社,2012,3:18-25.
- [2]吴希哲,高向东.金针菇提取物的保肝及抗肿瘤作用[J].中国生化药物杂志,2002,23(4):176-178.
- [3]文镜,陈文,王津,等.金针菇抗疲劳的实验研究[J].营养

学报,1993,15(1):79-81.

- [4]孔涛,曲韵笙,朱连勤.微量元素锗的生物学功能[J].微量元素与健康研究,2007,24(1):59-60.
- [5]朱庆义,李连青.芝菌锗研制及其免疫药理作用实验研究[J].实用医技杂志,2003,10(6):567-568.
- [6]刘国湘,胡文祥.有机锗抗癌药物研究进展[J].中国药物化学杂志,1993,3(3):216-221.
- [7]胡明月,李义军,陈芳.有机锗化合物的抗癌活性与机理研究[J].黑龙江医药,2010,23(1):44-47.
- [8]刘冬,姚文兵,张健,等.富锗金针菇多糖对小鼠肝脏的保护作用[J].中国药科大学学报,2006,37(6):565-568.
- [9]陈石良,许正宏,陶文沂,等.灰树花富锗培养研究[J].无锡轻工大学学报,2000,19(3):248-251.
- [10]莫宝庆,马凤楼.富锗金针菇中锌生物利用的研究[J].营养学报,1990,12(4):378-382.
- [11]陈娟,宋海燕,张城,等.富锗金针菇菌丝体不同溶剂提取物对体外抗氧化活性[J].农业工程,2013,3(6):91-94.
- [12]陈广旭,陈宏伟.富锗蛹虫草对运动小鼠抗疲劳能力的影响[J].食品工业科技,2011,32(9):387-388.
- [13]凌关庭.抗疲劳物质,保健食品原料手册[M].北京:化学工业出版社,2002:429-4301.
- [14]钟耀光.缓解体力疲劳的功能性食品[M].北京:化学工业出版社,2004:157-1631.
- [15]王永霞.有机锗的研究概况和进展[J].江西医学检验,2006,24(3):252-254,234.

(上接第 364 页)

- 用的研究[J].现代食品科技,2013,29(8):1898-1901,1905.
- [2]励建荣,周李婷.中国虫茶现状及其研究开发思路[J].农产品加工·学刊,2005,34(3):4-7.
- [3]王在贵,王磊,高丽萍,等.茶叶总黄酮的提取工艺研究[J].饲料工业,2009,30(24):42-44.
- [4]田琳,龚其海.鸭儿芹总黄酮对四氯化碳致急性肝损伤小鼠的保护作用[J].遵义医学院学报,2008,31(1):8-10.
- [5]张玲,李俊,王建青,等.野菊花总黄酮对四氯化碳致急性肝损伤小鼠的保护作用[J].安徽医科大学学报,2007,42(8):412-415.
- [6]毛莉娟,刘学文,冉旭.苦丁茶中黄酮的提取工艺[J].食品科技,2002,27(11):18-24.
- [7]Li GJ, Sun P, Wang Q, et al. *Dendrobium candidum* Wall. ex Lindl. attenuates CCl_4 -induced hepatic damage in imprinting

- control region mice[J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2014, 8(4):1015-1021.
- [8]杨牧祥,田元祥,姚树坤,等.解酒护肝饮对酒精性肝损伤大鼠血清和肝组织 ALT、AST 的影响[J].河北中医,2000,22(10):793-796.
- [9]童英,闫向东,高珊,等.四氯化碳急性肝损伤敏感指标的研究[J].中国食品卫生杂志,2000,12(6):10-12.
- [10]段荟,付成效,邹瑾.黄芪对酒精性肝损伤小鼠 MDA、GSH 和 TG 的影响及肝脏保护作用的研究[J].陕西医学杂志,2010,39(3):271-273.
- [11]Zhao X. Hawk tea (*Litsea coreana* Levl. var. *lanuginose*) attenuates CCl_4 -induced hepatic damage in Sprague-Dawley rats [J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2013, 5(2):555-560.