

3 种食用菌蛋白质-多糖复合物的 体内外降血脂作用

高琛^{1,2}, 李文², 陈万超², 吴迪², 张忠², 刘朋^{2,*}, 夏永军¹, 杨焱^{2,*}

(1.上海理工大学健康科学与工程学院, 上海 200093; 2.上海市农业科学院食用菌研究所,
农业农村部南方食用菌资源利用重点实验室, 国家食用菌工程技术研究中心, 上海 201403)

摘要: 本实验制备了双孢蘑菇、大球盖菇和羊肚菌蛋白质-多糖复合物, 并对蛋白质、多糖含量及其氨基酸和单糖组成等进行分析, 采用油酸诱导肝细胞株LO-2建立体外高脂血症模型, 基于高脂饮食建立高脂血症的小鼠模型, 探究双孢蘑菇、大球盖菇和羊肚菌蛋白质-多糖复合物的体内外降血脂作用。结果表明, 双孢蘑菇、大球盖菇和羊肚菌蛋白质-多糖复合物的蛋白质相对含量分别为 $(55.56 \pm 0.51)\%$ 、 $(52.41 \pm 0.31)\%$ 、 $(54.96 \pm 0.47)\%$; 多糖相对含量分别为 $(21.98 \pm 1.17)\%$ 、 $(31.95 \pm 0.52)\%$ 、 $(15.55 \pm 0.78)\%$ 。体外细胞实验结果显示, 3种食用菌蛋白质-多糖复合物可显著抑制肝细胞中的脂滴聚集; 动物实验结果表明, 双孢蘑菇、大球盖菇和羊肚菌蛋白质-多糖复合物均能明显抑制高脂饮食小鼠的体质量增长、甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇水平升高、脂肪组织细胞的肿大以及肝脏组织中脂质沉积。高剂量组的双孢蘑菇、大球盖菇和羊肚菌蛋白质-多糖复合物可将高脂血症小鼠肝脏中脂质相对含量从 $(30.59 \pm 0.38)\%$ 分别降至 $(13.74 \pm 1.57)\%$ 、 $(9.68 \pm 0.73)\%$ 、 $(7.15 \pm 0.39)\%$, 对肝脏脂滴形成的抑制程度可分别达到 $(55.09 \pm 5.12)\%$ 、 $(68.34 \pm 2.37)\%$ 、 $(76.64 \pm 1.28)\%$ 。此外, 双孢蘑菇、大球盖菇和羊肚菌蛋白质-多糖复合物对长期高脂饮食引起的肝功能损伤具有良好的改善作用。综上, 双孢蘑菇、大球盖菇和羊肚菌蛋白质-多糖复合物具有调节脂质代谢、减轻肝损伤程度、缓解高脂血症的作用, 本研究可为食用菌相关功能产品的开发提供参考。

关键词: 食用菌; 蛋白质; 多糖; 降血脂

In Vitro and in Vivo Hypolipidemic Effects of Protein-Polysaccharide Complexes from Three Species of Edible Fungi

GAO Chen^{1,2}, LI Wen², CHEN Wanchao², WU Di², ZHANG Zhong², LIU Peng^{2,*}, XIA Yongjun¹, YANG Yan^{2,*}

(1. School of Health Science and Engineering, University of Shanghai for Science and Technology, Shanghai 200093, China;
2. Key Laboratory of Edible Fungi Resources and Utilization (South), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Engineering Research Center of Edible Fungi, Institute of Edible Fungi, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China)

Abstract: Protein-polysaccharide complexes of *Agaricus bisporus*, *Stropharia rugosa* and *Morchella esculenta* were prepared and their protein and polysaccharide contents as well as amino acid and monosaccharide composition were evaluated. The *in vitro* and *in vivo* lipid-lowering effects of the complexes on oleic acid-induced liver LO-2 cells and high-fat diet fed mice were investigated. The results showed that the protein contents of the three complexes were $(55.56 \pm 0.51)\%$, $(52.41 \pm 0.31)\%$, and $(54.96 \pm 0.47)\%$, respectively, and the polysaccharide contents were $(21.98 \pm 1.17)\%$, $(31.95 \pm 0.52)\%$, and $(15.55 \pm 0.78)\%$, respectively. *In vitro* cell experiments showed that all the complexes significantly inhibited the accumulation of lipid droplets in hepatocytes. Animal experiments showed that they significantly inhibited the increase in body mass, triglyceride (TG) and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) levels, blocked the swelling of the swelling of hepatocytes, and inhibited hepatic lipid deposition in mice fed a high-fat diet. In the high-dose group, the hepatic lipid

收稿日期: 2024-05-24

基金项目: “十四五”国家重点研发计划重点专项(2023YFF1103401)

第一作者简介: 高琛(2000—)(ORCID: 0009-0000-2946-9935), 女, 硕士研究生, 研究方向为食用菌天然产物利用。

E-mail: 3276735825@qq.com

*通信作者简介: 刘朋(1992—)(ORCID: 0000-0003-2715-888X), 女, 助理研究员, 博士, 研究方向为天然产物功能活性评价。E-mail: liupeng@saas.sh.cn

杨焱(1971—)(ORCID: 0000-0003-1421-8003), 女, 研究员, 博士, 研究方向为食药菌功能营养与精深加工。E-mail: yangyan@saas.sh.cn

content of mice with hyperlipidemia was reduced from $(30.59 \pm 0.38)\%$ to $(13.74 \pm 1.57)\%$, $(9.68 \pm 0.73)\%$, and $(7.15 \pm 0.39)\%$, respectively, by the complexes from *A. bisporus*, *S. rugosa* and *M. esculenta*, and the inhibition rates of hepatic lipid droplets by these complexes were $(55.09 \pm 5.12)\%$, $(68.34 \pm 2.37)\%$ and $(76.64 \pm 1.28)\%$, respectively. In addition, the protein-polysaccharide complexes alleviated liver function damage caused by long-term high-fat diet. In summary, it can be concluded that *A. bisporus*, *S. rugosa* and *M. esculenta* protein-polysaccharide complexes can regulate lipid metabolism, alleviate liver injury and hyperlipidemia, which provides a reference for the development of functional products based on edible fungi.

Keywords: edible fungi; protein; polysaccharide; hypolipidemia

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240524-202

中图分类号: TS201.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2024) 24-0117-11

引文格式:

高琛, 李文, 陈万超, 等. 3种食用菌蛋白质-多糖复合物的体内降血脂作用[J]. 食品科学, 2024, 45(24): 117-127.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240524-202. <http://www.spkx.net.cn>

GAO Chen, LI Wen, CHEN Wanchao, et al. *In vitro* and *in vivo* hypolipidemic effects of protein-polysaccharide complexes from three species of edible fungi[J]. Food Science, 2024, 45(24): 117-127. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20240524-202. <http://www.spkx.net.cn>

高脂血症是一种威胁人类健康的慢性疾病, 临床常用药物普遍存在一定的毒副作用, 如他汀类药物作为经典有效的降脂药物, 会刺激血糖升高, 导致肝功能衰竭、肾损伤、胃肠功能障碍、恶心、失眠、皮疹等其他副作用^[1]。长期服用化学药物可能会降低机体对药物的敏感性, 进一步增加其耐药性和毒副作用。除了临床药物治疗外, 饮食干预越来越受到人们的关注重视, 现已证明肥胖、糖尿病、高脂血症等代谢性疾病与饮食密切相关^[2]。食药同源天然资源中具有多种功能活性物质, 包括大分子的多糖及糖蛋白以及多种次级代谢物, 长期食用不仅可以调节机体健康, 且具有生物安全性。目前天然产物中已发现很多具有调节血脂的活性物质, 如黑木耳多糖、山楂黄酮、茶多酚等物质已被证明具有良好的降血脂活性^[3], 是干预高脂血症的重要成分。

食用菌富含人体必需的多种氨基酸、多糖、蛋白质、维生素、生物碱等物质, 是兼具食用价值和药用价值的高蛋白、低脂肪健康食品, 颇受消费者喜爱。食用菌在生长过程中能分解农业废弃物(如秸秆、木屑、玉米芯等)中的有机物, 将其转化为可食用的菇体蛋白质等营养成分, 500 g食用菌的蛋白质含量与1 kg瘦肉、1.5 kg鸡蛋及6 kg牛奶相当^[4-5]。相比于动物蛋白质, 食用菌蛋白质的生产成本低、经济效益高, 具有较好的发展潜力^[6]。已有研究表明, 食用菌蛋白质不仅营养价值高, 一些生物活性蛋白还具有免疫调节、抗肿瘤、抗菌等功能^[7]。双孢蘑菇(*Agaricus bisporus*)、大球盖菇(*Stropharia rugosoannulata*)和羊肚菌(*Morchella esculenta*)是蛋白质含量较高的几种食用菌, 同时还含有生物活性多糖, 具有良好的调节机体生理功能作用, 如抗肿瘤^[8]、免疫调节^[9]、保肝^[10]、降血糖^[11]等生物活

性。研究表明, 食用菌中的部分蛋白会与多糖结合形成复合物, 双孢蘑菇多糖-蛋白质复合物具有一定的抗氧化及抗衰老活性^[12], 其蛋白质/肽表现出良好的抗菌活性^[13]和血管紧张素转化酶抑制活性^[14]。薛莉^[15]研究发现羊肚菌粗多糖对S180肉瘤小鼠具有一定的抑瘤作用, 而提取的羊肚菌蛋白具有较强的自由基清除能力, 表现出较好的抗氧化活性^[16]。然而, 目前关于双孢蘑菇、大球盖菇和羊肚菌蛋白质-多糖复合物的降血脂活性研究鲜有报道, 主要集中于对其多糖组分的研究。因此, 本实验对大球盖菇、双孢蘑菇和羊肚菌的蛋白质-多糖复合物进行提取制备, 并比较其降血脂功效差异, 以期具有降血脂功能的食用菌资源筛选及其蛋白质-多糖复合物的开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 动物、材料与试剂

SPF级健康雄性ICR小鼠(体质量 (20 ± 2) g)购自上海必凯科翼生物科技有限公司(生产许可证号: SCXK(沪)2023-0009), 所有实验过程严格按照国家实验动物福利伦理的相关规定, 获上海市农业科学院实验动物伦理委员会批准(批准号: SAASPZ0423090)。

双孢蘑菇、大球盖菇来源于上海联中食用菌专业合作社; 羊肚菌购自湖北随州大海菌业有限公司, 均为市售品种。

牛血清白蛋白 生工生物工程(上海)股份有限公司; 基础饲料(蛋白质质量分数19.2%、碳水化合物质量分数67.3%、脂肪质量分数4.3%)、高脂饲料(蛋白质质量分数26.2%、碳水化合物质量分数26.3%、脂肪质

量分数34.9%) 江苏省协同医药生物工程有限责任公司; 4%多聚甲醛 上海源叶生物科技有限公司; 甘油三酯(triglyceride, TG)、谷草转氨酶(glutamic oxaloacetic transaminase, AST)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)测试盒 南京建成生物工程研究所; 氢氧化钠、盐酸、浓硫酸、羧甲基纤维素钠 国药集团化学试剂有限公司; 所有化学试剂均为分析纯。

1.2 仪器与设备

804 R离心机 德国Eppendorf公司; 高速破壁调理机九阳股份有限公司; Teomax 0.5 m²膜包、Pellicon 2标准膜包夹具、Milli-Q水纯化系统 德国Merck公司; 漩涡振荡仪、Cytation 1多功能酶标仪 美国BioTek公司; Z1细胞计数仪 美国Beckman Coulter公司; Series 8000 DH二氧化碳恒温培养箱、RS 12生物安全柜 美国Thermo Fisher Scientific公司; IX 2-ILL 100显微镜 日本Olympus公司; 2695高效液相色谱仪、2414示差折光检测器 美国Waters公司; Alpha 2-4 LDplus冻干机 德国Christ公司。

1.3 方法

1.3.1 样品的制备

参考文献[17-19]的方法并略作修改。采用常温匀浆辅助超滤技术提取双孢蘑菇、大球盖菇、羊肚菌蛋白质-多糖复合物。将双孢蘑菇、大球盖菇、羊肚菌干品复水20 min后, 按料液比1:20 (kg/L, 以菌菇干品质量计) 加水置于破壁机中高速破壁5 min至匀浆状态, 在25 ℃、8 000 r/min条件下离心15 min, 取上清液过200目滤布, 再使用超滤装置超滤, 滤膜选用10 kDa, 使用旋转蒸发器将获得的蛋白质-多糖富集液在45 ℃条件下浓缩20倍, 即得双孢蘑菇、大球盖菇、羊肚菌蛋白质-多糖复合物, 分别命名为ABPP、SRPP、MEPP。

1.3.2 蛋白质及多糖含量测定

参照GB 5009.5—2016《食品中蛋白质的测定》采用凯氏定氮法测定总蛋白含量。参照NY/T 1676—2008《食用菌中粗多糖含量的测定》中的苯酚硫酸法测定多糖含量。

1.3.3 水解氨基酸含量测定

1.3.3.1 样品前处理

参考文献[20]的方法。称取0.100 g样品置于水解管中, 在水解管中加入10 mL盐酸溶液(6 mol/L), 滴入苯酚3~4滴涡旋混匀。将水解管冷冻5 min, 充入氮气3次后拧紧管盖。将盖好盖的水解管置于(110±1) ℃的电热鼓风干燥箱水解22 h, 取出冷却至室温。将水解液经滤纸过滤至50 mL容量瓶中, 少量去离子水多次冲洗水解管后, 将水解液移入同一容量瓶中摇匀定容; 准确吸取1 mL上述滤液蒸发至近干, 残留物用同体积水溶解并再

次蒸至近干, 重复3次最后蒸干; 加入1 mL柠檬酸钠缓冲溶液(pH 2.2), 涡旋混匀后过0.22 μm滤膜, 用于氨基酸分析。

1.3.3.2 氨基酸样品组成与含量分析

混合氨基酸标准工作液和样品测定液均以20 μL进样量注入氨基酸分析仪, 以外标法通过峰面积计算样品测定液中氨基酸浓度。分析条件: 分析柱柱温57 ℃, 反应柱柱温135 ℃, 缓冲液流速0.4 mL/min, 茚三酮流速0.35 mL/min, 通道1检测波长570 nm, 通道2检测波长440 nm, 进样量20 μL。

1.3.4 蛋白质氨基酸营养价值评价

通过分析3种食用菌蛋白质-多糖复合物中必需氨基酸(essential amino acid, EAA)的种类、数量及组成比例, 从而对其营养价值进行评价。参考Boye等^[21]的方法测定蛋白质校正氨基酸计分(protein digestibility corrected amino acids score, PDCAAS)。

1.3.5 蛋白质分子质量测定

按照体积比5:1将样品与上样缓冲液混合, 沸水浴加热5 min后冷却至室温。取20 μL混合液上样至10%高分辨率预制胶进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)。电泳程序: 第1阶段80 V、30 min; 第2阶段120 V、30 min。电泳结束后采用考马斯亮蓝快速染色液染色30 min, 用脱色液脱色至蛋白条带清晰可见。

1.3.6 单糖组成分析

参考楚文琪等^[22]的方法。分别称取2 mg样品置于酸水解瓶中, 加入3 mL 2 mol/L三氟乙酸溶液, 110 ℃油浴水解4 h后通入氮气吹干, 加入3 mL甲醇继续吹干, 重复3次, 加入超纯水充分溶解, 采用高效阴离子交换色谱法检测其单糖组成。

1.3.7 多糖分子质量测定

参考文献[23]的方法。采用高效凝胶尺寸排阻色谱法检测样品的重均分子质量分布。分别称取各样品4 mg, 加入1 mL超纯水, 配制成4 mg/mL样液, 使用0.22 μm滤膜过滤, 测定其重均分子质量分布。

1.3.8 体外降血脂活性评估

LO-2细胞(人正常肝细胞)在含有10%胎牛血清和1%青霉素/链霉素的RPMI 1640细胞培养基中置于5% CO₂、37 ℃条件下培养。

1.3.8.1 3种食用菌蛋白质-多糖复合物细胞毒性的测定

在96孔板中每孔加入100 μL LO-2细胞悬液(含1×10⁴个), 37 ℃培养24 h后更换含有不同质量浓度(50、100、200、400、800 μg/mL) ABPP、SRPP、MEPP的新鲜培养基, 37 ℃继续孵育24 h, 以不添加样品的培养孔为对照组, 无细胞的培养孔为空白组。采用MTT法检测细胞活力^[23]。

1.3.8.2 油酸 (oleic acid, OA) 诱导LO-2细胞高脂模型的构建

在96孔板中每孔加入100 μL LO-2细胞悬液 (含 1×10^4 个), 37℃培养24 h后更换为含有不同OA浓度 (0、0.25、0.5、0.75、1 mmol/L) 的无血清RPMI 1640培养基。37℃继续培养24 h后采用MTT法检测细胞活力^[24]。

1.3.8.3 体外高脂模型构建及3种食用菌蛋白质-多糖复合物干预

参照上述方法培养细胞。对照组 (CTL) 培养基更换为不含有OA的无血清培养基, 模型组 (OA) 更换为含1 mmol/L OA的无血清培养基, 蛋白质-多糖复合物干预组更换含有不同质量浓度的ABPP (ABPPL组: 50 μg/mL; ABPPM组: 100 μg/mL; ABPPH组: 200 μg/mL)、SRPP (SRPPL组: 50 μg/mL; SRPPM组: 100 μg/mL; SRPPH组: 200 μg/mL) 和MEPP (MEPPL组: 50 μg/mL; MEPPM组: 100 μg/mL; MEPPH组: 200 μg/mL), 37℃继续培养24 h后, 采用油红O染色法测定细胞内脂滴含量^[25]。

1.3.9 3种食用菌蛋白质-多糖复合物对高脂小鼠的干预
1.3.9.1 动物实验及分组设计

ICR小鼠随机分组 ($n=6$) 包括正常饲料喂养的空白对照组 (CTL)、高脂饲料喂养的模型对照组 (HFD)、基于高脂动物模型的阳性组 (SIM) 和3种食用菌蛋白质-多糖复合物干预组 (ABPP、SRPP、MEPP)。对照组喂食正常饲料, 其他组别喂食高脂饲料以建立高脂模型。参考文献^[26-28]及前期预实验结果, 设置阳性组, 每日灌胃0.8 mol/L辛伐他汀; ABPP、SRPP、MEPP组每日分别灌胃不同剂量的双孢蘑菇 (ABPPL组: 150 mg/kg; ABPPH组: 300 mg/kg)、大球盖菇 (SRPPL组: 150 mg/kg; SRPPH组: 300 mg/kg) 和羊肚菌 (MEPPL组: 150 mg/kg; MEPPH组: 300 mg/kg) 蛋白质-多糖复合物; 对照组和模型组灌胃同等体积的溶剂溶液, 每日1次, 灌胃6周。实验结束后, 小鼠禁食24 h, 眼眶取血, 并收集肝脏、脂肪等样本进行分析。

1.3.9.2 生理生化指标检测

血清或肝脏中TG、LDL-C、T-AOC、MDA水平测定参照试剂盒说明书进行。

1.3.9.3 组织病理学分析

用组织固定液将细胞样品固定, 石蜡包埋后切成5 μm的组织薄片, 经油红O、苏木精-伊红染色后通过显微镜观察小鼠肝脏及附睾脂肪组织的细胞形态学变化。

1.4 数据处理

数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 使用GrahPad Prism 7.00软件进行数据分析, 采用单因素方差分析比较各组间差异显著性, $P<0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 蛋白质及多糖含量分析

对3种食用菌蛋白质-多糖复合物蛋白及多糖含量进行测定, 结果如表1所示。双孢蘑菇蛋白质-多糖复合物、大球盖菇蛋白质-多糖复合物和羊肚菌蛋白质-多糖复合物的蛋白质相对含量分别为 (55.56±0.51)%、(52.41±0.31)%、(54.96±0.47)%, 均在50%以上, 多糖相对含量分别为 (21.98±1.17)%、(31.95±0.52)%、(15.55±0.78)%。ABPP、SRPP和MEPP的蛋白质和多糖总含量均达到70%以上, 因此可认为得到的样品是蛋白质-多糖复合物。

表1 3种食用菌蛋白质-多糖复合物蛋白及多糖含量
Table 1 Protein and polysaccharide contents of protein-polysaccharide complexes from three species of edible fungi

指标	ABPP	SRPP	MEPP
蛋白相对含量/%	55.56±0.51	52.41±0.31	54.96±0.47
多糖相对含量/%	21.98±1.17	31.95±0.52	15.55±0.78
总含量/%	77.54	84.36	70.51

2.2 氨基酸组成分析

由表2可知, ABPP、SRPP均检测出16种氨基酸, MEPP检测出了蛋氨酸和酪氨酸, 共检测到18种氨基酸。ABPP中主要以谷氨酸 (16.99%)、天冬氨酸 (13.05%)、丙氨酸 (8.38%) 为主; SRPP及MEPP中含量最高的氨基酸为谷氨酸, 其次为天冬氨酸和亮氨酸。MEPP所含EAA齐全, ABPP、SRPP均含有7种EAA, MEPP中的EAA含量 (39.25%) 最高, 其次为SRPP (38.19%)。在3种食用菌蛋白质-多糖复合物中, 相较于ABPP和SRPP, MEPP的PDCAAS最高, 为64.2%, 表明羊肚菌蛋白质-多糖复合物中蛋白质最益于消化吸收, 能更好地发挥生物活性。

表2 3种食用菌蛋白质-多糖复合物氨基酸的相对含量
Table 2 Contents of amino acids in protein polysaccharide complexes from three species of edible fungi

氨基酸	相对含量/%		
	ABPP	SRPP	MEPP
天冬氨酸Asp	13.05	13.01	13.03
苏氨酸Thr	6.34	5.34	5.59
丝氨酸Ser	3.87	4.31	3.63
谷氨酸Glu	16.99	15.89	13.57
甘氨酸Gly	6.24	6.73	6.32
丙氨酸Ala	8.38	8.13	7.18
半胱氨酸Cys	0.97	0.85	1.17
缬氨酸Val	7.35	8.16	7.80
蛋氨酸Met	—	—	0.54
异亮氨酸Ile	5.81	5.81	6.05
亮氨酸Leu	7.57	9.85	8.31
酪氨酸Tyr	—	—	0.44
苯丙氨酸Phe	0.49	1.25	0.80
组氨酸His	2.62	3.02	1.62
赖氨酸Lys	6.48	5.37	7.15
精氨酸Arg	6.07	3.48	8.24
脯氨酸Pro	5.56	6.90	6.28
色氨酸Trp	2.20	1.92	2.29
EAA/总氨基酸	36.20	38.19	39.25
PDCAAS/%	20.4	46.9	64.2

注: —.未检测出, 下同。

2.3 SDS-PAGE分析

如图1所示, ABPP、SRPP和MEPP中的蛋白质分子质量均主要分布于10~65 kDa之间, 其中ABPP所含蛋白质分子质量主要分布于10、24 kDa附近; SRPP中的蛋白质分子质量主要分布于17 kDa附近; MEPP中的蛋白质分子质量分布较广泛, 其主要蛋白质分子质量约为10、24、30、94 kDa。整体比较分析, ABPP和SRPP中的蛋白质分子质量较小, 以小于24 kDa的蛋白质为主, MEPP则以约94 kDa和小于30 kDa的蛋白质为主。ABPP及SRPP蛋白分子质量分布相似, 与MEPP相差较大。蛋白质分子质量结果初步表明, 3种食用菌蛋白质-多糖复合物中所含蛋白质的类型有所不同。

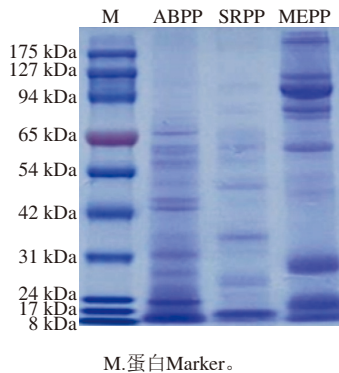


图1 3种食用菌蛋白质-多糖复合物SDS-PAGE图谱
Fig. 1 SDS-PAGE pattern of protein-polysaccharide complexes in three species of edible fungi

2.4 3种食用菌蛋白质-多糖复合物的单糖组成分析

如表3所示, ABPP中的多糖由7种单糖组成, 分别为果糖、甘露糖、葡萄糖、木糖、海藻糖、半乳糖醛酸、葡萄糖胺; SRPP中的多糖由5种单糖组成, 分别为果糖、甘露糖、葡萄糖、半乳糖醛酸、葡萄糖胺; MEPP中的多糖由果糖、葡萄糖、半乳糖、葡萄糖胺组成。3种食用菌蛋白质-多糖复合物的单糖组成中均含有果糖、葡萄糖及葡萄糖胺。其中ABPP的葡萄糖胺含量最高, 占比达到30.74%, 且在3种食用菌蛋白多糖复合物中单糖组成最为丰富, 表明其多糖部分以杂多糖为主; SRPP及MEPP均以葡萄糖占比最高, 分别为59.34%、70.92%。表明SRPP及MEPP多糖部分以葡聚糖为主。

表3 3种食用菌蛋白质-多糖复合物单糖组成			
Table 3 Monosaccharide composition of protein-polysaccharide complexes in three species of edible fungi			
单糖	浓度/($\mu\text{mol/L}$)		
	ABPP	SRPP	MEPP
果糖	1.29	1.94	16.90
甘露糖	3.68	3.91	—
葡萄糖	4.83	10.74	50.71
半乳糖	—	—	1.50
木糖	1.69	—	—
海藻糖	1.92	—	—
半乳糖醛酸	0.96	0.64	—
葡萄糖胺	6.38	0.87	2.39

2.5 多糖重均分子质量测定结果

利用高效凝胶尺寸排阻色谱法测定3种食用菌蛋白质-多糖复合物中多糖的重均分子质量, 结果如表4所示。ABPP中多糖的重均分子质量主要分布在 1.100×10^5 Da (61.4%)和 3.24×10^4 Da (38.2%); MEPP主要分布在 3.597×10^4 Da (62.6%)和 3.197×10^5 Da (37.4%); 相较于ABPP和MEPP, SRPP多糖分子质量分布较为广泛, 主要是重均分子质量为 3.795×10^4 Da (74.7%)的多糖片段。分析表明, ABPP多糖分子质量主要分布在 1.0×10^5 Da左右, 而SRPP和MEPP多糖分子质量主要集中在 3.0×10^4 Da附近。

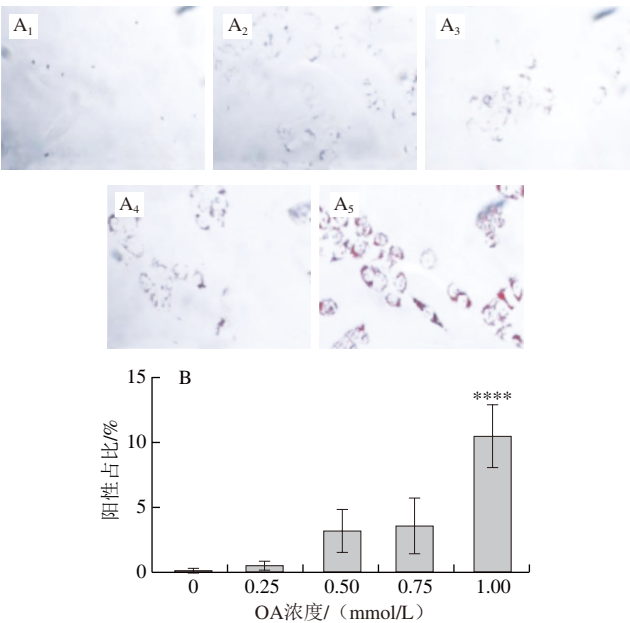
表4 3种食用菌蛋白质-多糖复合物重均分子质量分布特征
Table 4 Weight average molecular mass distribution characteristics of protein-polysaccharide complexes in three species of edible fungi

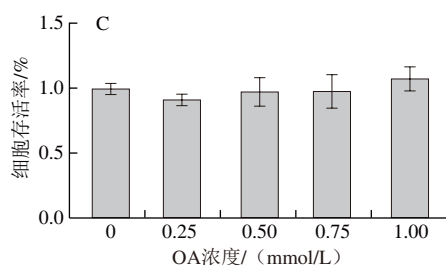
样品	峰1		峰2		峰3		峰4	
	重均分子质量/Da	峰占比/%	重均分子质量/Da	峰占比/%	重均分子质量/Da	峰占比/%	重均分子质量/Da	峰占比/%
ABPP	1.100×10^5	61.4	3.249×10^4	38.2	—	—	—	—
SRPP	5.136×10^5	2.8	8.267×10^6	3.1	3.149×10^5	19.4	3.795×10^4	74.7
MEPP	3.197×10^5	37.4	3.597×10^4	62.6	—	—	—	—

2.6 3种食用菌蛋白质-多糖复合物体外降血脂效果

2.6.1 LO-2细胞高脂血症模型构建

通过建立体外LO-2细胞高脂血症模型, 对3种食用菌蛋白质-多糖复合物进行体外降血脂活性评估。如图2A、B所示, 随着OA浓度的增加, 细胞内脂质含量逐渐增多, 且在浓度为1 mmol/L时与0 mmol/L相比具有极其显著差异 ($P < 0.0001$)。此外, 在0.25~1 mmol/L浓度范围内, OA对LO-2细胞不产生明显的细胞毒性(图2C)。综上, 选择1 mmol/L OA浓度作为建立高脂血症细胞模型的诱导条件。



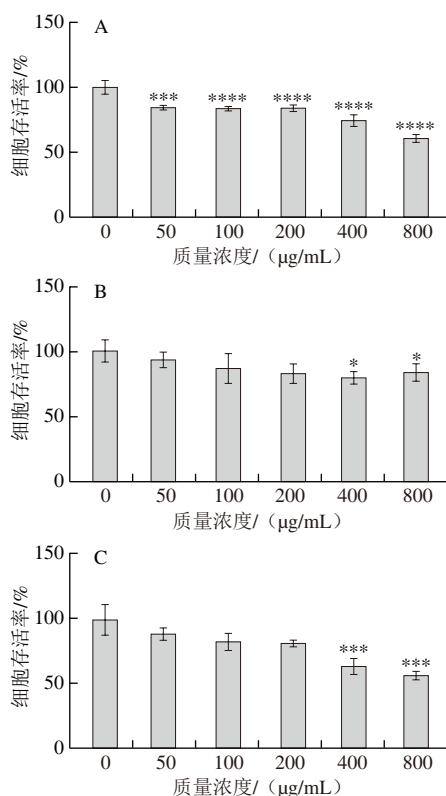


A₁~A₅分别为0、0.25、0.50、0.75、1.00 mmol/L OA作用细胞的油红O染色情况；B.油红O阳性占比；C.不同浓度OA的细胞存活率。****.与0 mmol/L组比较，差异极其显著 ($P<0.0001$)。

图2 不同浓度OA作用细胞24 h油红O染色情况及对LO-2存活率的影响
Fig. 2 Effects of different concentrations of OA on the Oil Red O staining and survival rate of LO-2 cells after 24 h incubation

2.6.2 对LO-2细胞存活率的影响

如图3所示，与正常培养的对照组相比，50~800 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度范围内的SRPP、MEPP给药24 h后，随着样品质量浓度的增加，细胞存活率出现一定程度的下降，但50、100、200 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度SRPP、MEPP对细胞不产生毒副作用；而ABPP虽然具有一定细胞毒性，但在200 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度作用下细胞存活率仍在85%以上。为了更好地进行不同样品之间的比较分析，本研究选择50、100、200 $\mu\text{g/mL}$ 样品质量浓度用于后续体外降血脂实验。

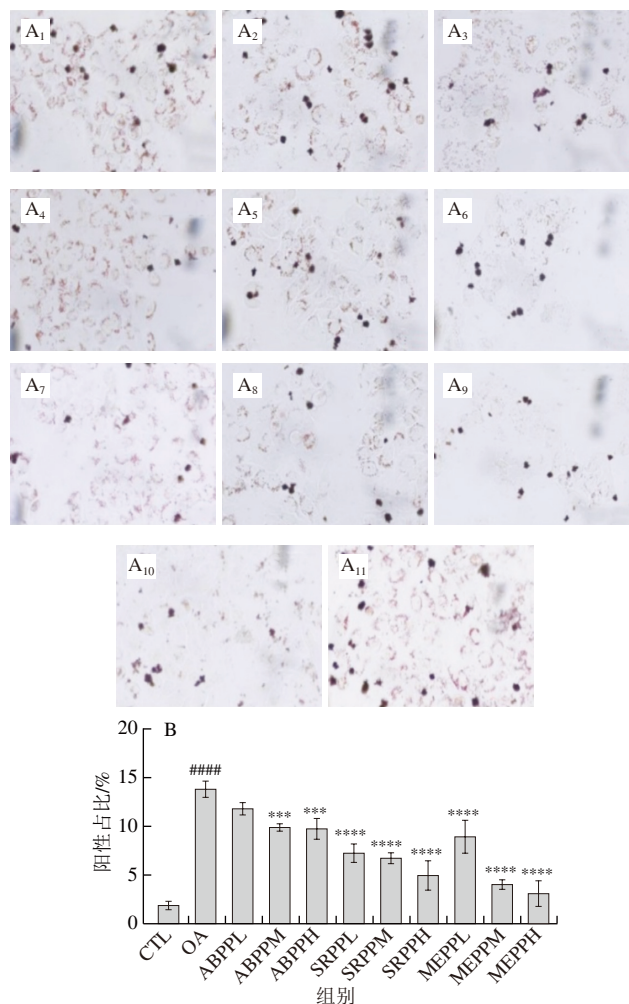


与对照组相比，*， $P<0.05$ ；**， $P<0.01$ ；***， $P<0.001$ ；****， $P<0.0001$ 。

图3 ABPP (A)、SRPP (B)、MEPP (C) 对LO-2细胞存活率的影响
Fig. 3 Effects of ABPP (A), SRPP (B) and MEPP (C) on the survival rate of LO-2 cells

2.6.3 对LO-2细胞脂质积累的影响

如图4所示，相较于CTL组，OA组中油滴含量显著增加。与OA组相比，随着ABPP、SRPP、MEPP质量浓度的增加，LO-2细胞中的染色油滴含量逐渐下降，具有一定剂量依赖效应。其中在同种剂量条件下SRPP、MEPP组体外降血脂效果均优于ABPP组；在中、高剂量下，MEPP组优于SRPP组。以上结果表明ABPP、SRPP和MEPP均具有良好的体外抑制肝细胞脂滴聚集作用，其中MEPP效果较优。



A₁~A₁₁分别为ABPPL、SRPPL、MEPPL、ABPPM、SRPPM、MEPPM、ABPPH、SRPPH、MEPPH、CTL、OA。####.与CTL组比较， $P<0.0001$ ，下同；***、****.分别为与OA组比较， $P<0.001$ 、 $P<0.0001$ 。
图4 ABPP、SRPP、MEPP的细胞油红O染色图 (A) 及油红O阳性占比 (B) ($\times 400$)

Fig. 4 Oil red O staining (A) and Oil Red O positive proportion (B) ($\times 400$) of LO-2 cells treated with ABPP, SRPP, or MEPP

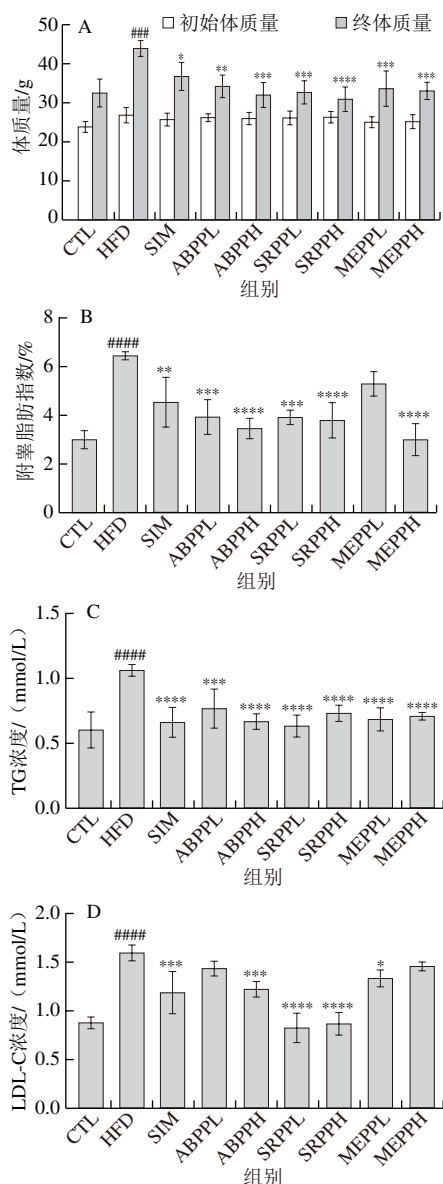
2.7 ABPP、SRPP、MEPP体内降血脂效果

2.7.1 体质量、附睾脂肪指数及血清TG、LDL-C含量分析

如图5A、B所示，干预前各组小鼠体质量无显著差异 ($P>0.05$)；实验结束时，相较于CTL组，HFD

组小鼠体质量及附睾脂肪指数明显增加 ($P<0.001$ 、 $P<0.0001$)，表现出肥胖症状。与HFD组相比，ABPP、SRPP和MEPP干预后小鼠体质量和附睾脂肪指数（除MEPPL组外）均显著下降 ($P<0.05$)。

如图5C、D所示，相较于CTL组，HFD组小鼠血清中TG和LDL-C浓度均明显上升 ($P<0.0001$)，表明高脂饮食引起小鼠血脂代谢异常。与HFD组相比，ABPP、SRPP、MEPP干预后一定程度上下调了血清TG和LDL-C水平，对于LDL-C的抑制作用上，SRPP组效果更好。结果表明，3种食用菌蛋白质-多糖复合物对高脂血症小鼠的脂质代谢紊乱症状具有一定程度的改善作用。



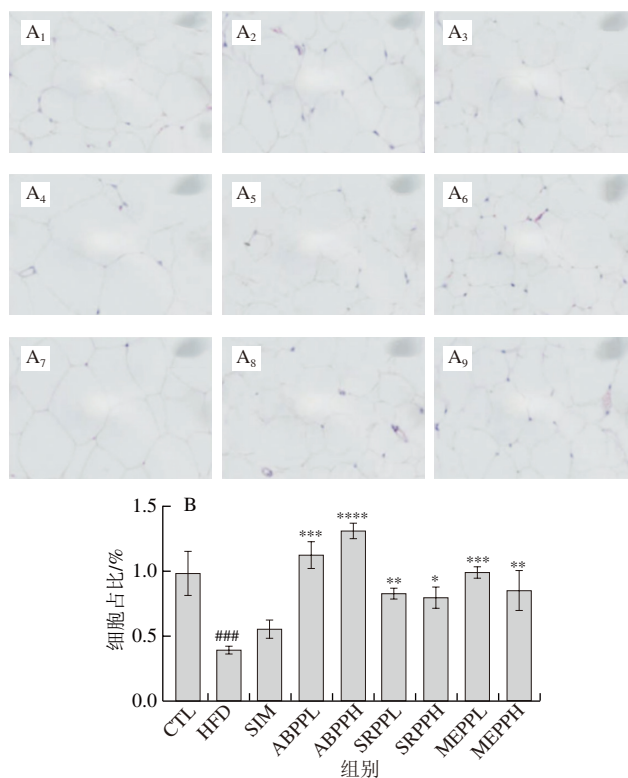
###与CTL组比较, $P<0.001$; *, **, ***, ****. 分别为与HFD组比较, $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 、 $P<0.001$ 、 $P<0.0001$; 下同。

图5 小鼠体质量 (A)、附睾脂肪指数 (B) 及血清TG (C)、LDL-C (D) 浓度

Fig. 5 Body mass (A), epididymal fat index (B), serum TG (C) and LDL-C (D) levels in mice

2.7.2 附睾脂肪细胞测定及形态分析

如图6所示，与CTL组相比，HFD组脂肪细胞体积变大，在同一视野下脂肪细胞数量减少。与HFD组相比，经ABPP、SRPP、MEPP干预后其数量增多并趋近于CTL组，ABPPH、SRPPH、MEPPH可将高脂血症小鼠肝脏中脂质相对含量从 (30.59 ± 0.38)% 分别降至 (13.74 ± 1.57)%、(9.68 ± 0.73)%、(7.15 ± 0.39)%，其中ABPPH干预组效果最显著 ($P<0.0001$)。结果表明，3种食用菌蛋白质-多糖复合物具有一定的抑制脂肪细胞增殖和肿大作用。



A₁~A₉ 分别为CTL、ABPPL、ABPPH、HFD、SRPPL、SRPPH、SIM、MEPPL、MEPPH，下同。

图6 小鼠附睾脂肪苏木精-伊红染色 (A) 及附睾脂肪细胞数统计 (B) ($\times 400$)

Fig. 6 HE staining of mouse epididymal fat (A) and epididymal fat cell counts (B) ($\times 400$)

2.7.3 肝脏组织中脂质含量分析

如图7所示，与CTL组相比，HFD组油滴明显增多，脂质沉淀严重；与HFD组相比，ABPP、SRPP、MEPP灌胃干预后降低高脂饮食诱导小鼠肝脏组织中的脂滴含量，且呈现一定的剂量依赖性，高剂量组对肝脏脂滴形成的抑制程度可分别达到 (55.09 ± 5.12)%、(68.34 ± 2.37)%、(76.64 ± 1.28)%，其中MEPP组的降低效果最优。结果进一步说明3种食用菌蛋白质-多糖复合物干预后能缓解小鼠肝脏组织中脂质聚集等高脂血症症状。

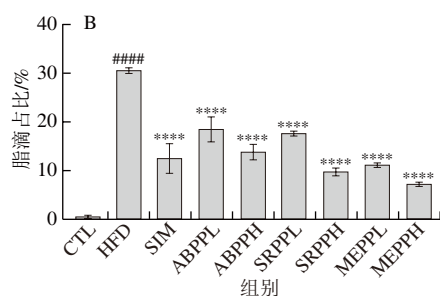
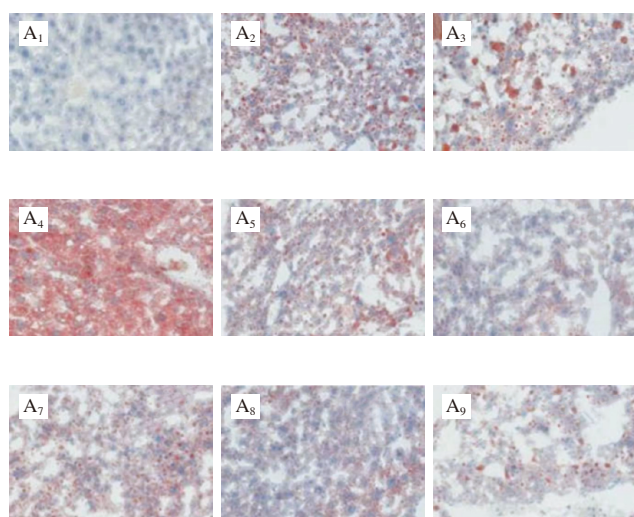
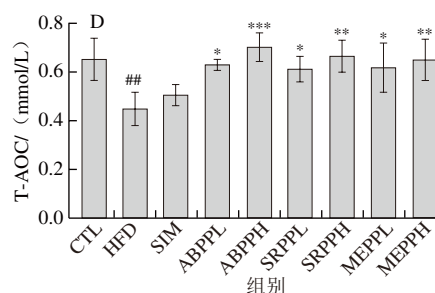
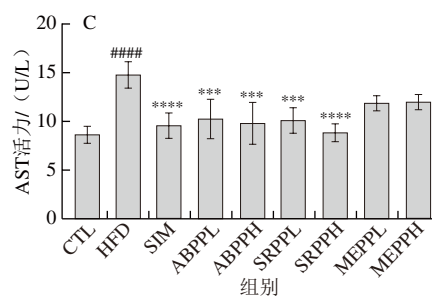
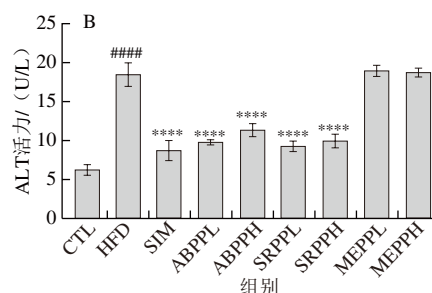
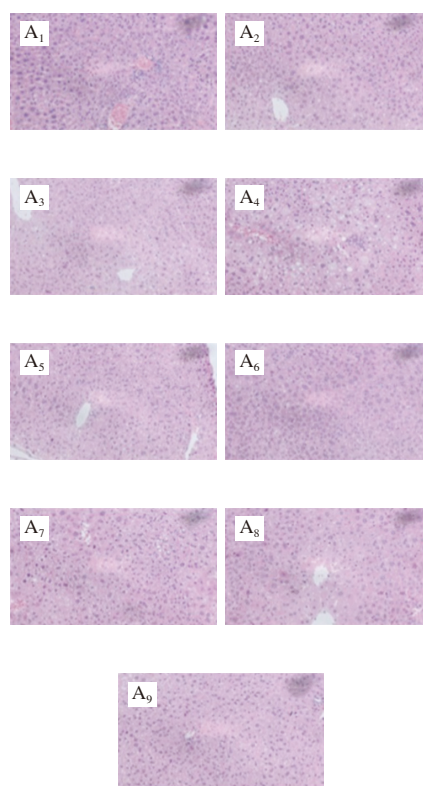


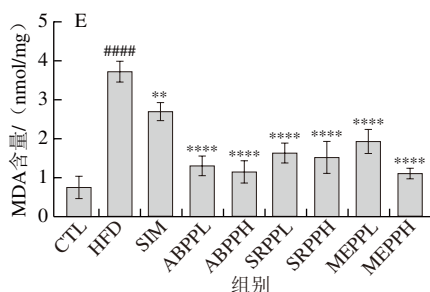
图7 小鼠肝脏切片油红O染色结果(A)及脂滴占比统计(B)(×400)

Fig. 7 Results of Oil Red O staining (A) and percentages of lipid droplets (B) in mouse liver sections (×400)

2.7.4 对肝功能的影响

如图8A所示, CTL组肝细胞大小正常, 肝索排列整齐有序, 无脂肪液泡或脂肪浸润, 而HFD组肝组织出现空泡、肝细胞水肿、肝索紊乱并出现炎性浸润现象; 经过ABPP、SRPP、MEPP干预高脂饮食诱导小鼠后, 小鼠肝脏切片显示肝细胞排列较整齐, 肝细胞泛空泡现象有明显改善, 表明3种食用菌蛋白质-多糖复合物明显抑制了高脂饮食诱导肥胖小鼠肝脏的脂肪累积。此外, 相较于CTL组, HFD组小鼠血清中ALT、AST活力显著上升, 经ABPP、SRPP干预后可明显抑制高脂血症小鼠血清中的AST和ALT活力(图8B、C)。对肝脏组织中氧化应激指标进行测定发现, 与CTL组比较, HFD组中的T-AOC显著下降, MDA含量显著上升, 说明高脂饮食引起小鼠肝脏组织出现明显的氧化应激损伤; 与HFD组比较, ABPP、SRPP、MEPP灌胃后可明显提高肝脏组织的T-AOC, 降低其MDA含量(图8D、E)。综上, ABPP、SRPP、MEPP在一定程度上可缓解长期高脂饮食诱导高脂血症小鼠的肝功能损伤。





A.小鼠肝脏苏木精-伊红染色病理切片($\times 400$); B.小鼠血清ALT活力; C.小鼠血清AST活力; D.小鼠肝脏T-AOC; E.小鼠肝脏MDA含量。##.与CTL组比较, $P < 0.01$ 。

图8 3种食用菌蛋白质-多糖复合物对小鼠肝脏组织及肝功能相关指标的影响

Fig. 8 Effects of protein-polysaccharide complexes in three edible fungi on liver histology and liver function indexes in mice

3 讨论与结论

食用菌作为一种微生物源食用资源富含多种生物活性物质,近年来受到研究者广泛关注^[29]。本研究制备了双孢蘑菇、大球盖菇和羊肚菌3种食用菌蛋白质-多糖复合物,并对其蛋白质及多糖组分进行了分析,发现不同来源食用菌的蛋白质及多糖分子质量分布、单糖及氨基酸组成均有较大的差异。

体外细胞水平研究结果表明,ABPP、SRPP、MEPP均能够有效降低油红O占比,其中高剂量SRPP、MEPP的抑制效果尤为显著;同时细胞毒性分析也表明SRPP和MEPP具有更高的生物安全性,这一结果说明3种食用菌蛋白质-多糖复合物中,MEPP具有更为突出的降脂效果,其次为大球盖菇SRPP。动物实验结果表明,尽管3种蛋白质-多糖复合物对小鼠体质量的影响相似,但在降低附睾脂肪指数和肝脏脂质含量方面,MEPP表现更优。这些数据表明,MEPP和SRPP在抑制脂肪积累方面具有潜在优势。在肝脏保护方面,3种复合物均能改善高脂饮食小鼠的肝脏泛空泡现象,在转氨酶水平上,ABPP、SRPP、MEPP均未引起其升高,表明它们对肝脏无损伤。其中,ABPP和SRPP的肝保护效果优于MEPP。此外,各干预组的T-AOC均显著提升,MDA含量均显著下降,结果显示3种复合物在调节小鼠氧化应激水平方面效果相似。

具有生物活性的蛋白质-多糖复合物已有报道,例如,从海藻和龙眼中提取的蛋白质-多糖复合物被证实具有抗氧化特性^[30-31],可作为潜在的抗氧化剂;从枸杞中提取的多糖-蛋白质复合物与硒纳米颗粒的结合,在抗肿瘤细胞增殖方面表现出协同效应^[32]。此外,有研究者对大豆中的蛋白质-多糖进行共提取,发现其在体外模拟消化过程中显示出抑制胆固醇酯酶和胰脂肪酶的活性,表明其具有降脂潜力^[33]。尽管食用菌中的蛋白质-多糖复

合物在抗氧化和抗癌方面已有研究^[34-35],但对其降血脂活性的探索相对较少。已有研究表明,长期高脂饮食会导致肝脏脂质积累,进而会引起肝脏抗氧化能力降低及功能损伤^[36]。在本研究中,3种食用菌蛋白质-多糖复合物能够改善高脂饮食引起的肥胖和肝脏脂质积累,同时对肝功能损伤具有保护作用,减轻肝脏组织的病理结构变化,并降低肝脏氧化应激反应,抑制肝酶AST和ALT水平的升高。研究发现,食用菌中蛋白质/肽及多糖组分在体内可抑制脂肪合成、提高抗氧化能力及保肝活性^[37-42]。因此,ABPP、SRPP、MEPP中的多糖、蛋白质组分可能作为主要活性物质对高脂血症小鼠肝功能损伤发挥协同保护作用。

有研究表明,胆汁酸由肝脏产生,抑制肝脏脂肪生成和TG分泌^[43]。本研究制备的蛋白质-多糖复合物与胆汁酸结合可促进其在胃肠道的清除脂肪作用,有助于增强肝胆固醇代谢和降低总血脂水平^[44]。已有研究表明,部分氨基酸及其代谢产物在体内拥有独特的生物活性^[45]。如天冬氨酸和谷氨酸对脂质代谢紊乱具有良好的调控作用^[46-47];EAA中亮氨酸可通过mTOR-SIRT1信号通路促进脂肪组织脂解^[48];苏氨酸可通过激活SIRT1/AMPK/PGC-1 α 信号通路增强高脂饮食喂养小鼠的肝脏脂质代谢,从而降低肝脏脂质水平并发挥保肝作用^[49];补充赖氨酸可以抑制炎症因子,阻止高脂血症的发展^[50]。本研究制备的3种食用菌蛋白质-多糖复合物中富含多种氨基酸,尤其是天冬氨酸、谷氨酸及苏氨酸等含量均较高,这与其发挥降血脂作用有着一定的相关性。

多糖的分子质量影响其生物活性发挥^[51]。有研究对不同分子质量玉米须多糖降血脂活性进行比较,发现分子质量为5.9 kDa的多糖组分具有最好的生物活性^[52]。本研究中SRPP及MEPP具有更好的降血脂活性,可能与其多糖分子质量相对较低有关。多糖的生物学功效与其结构特性有很大关系,不同的单糖组成和比例会形成不同的多糖结构,进而也表现出不同的生物活性^[53]。ABPP、SRPP、MEPP单糖组成中葡萄糖占主要部分,MEPP含半乳糖。而半乳糖、葡萄糖对于生物活性是必需的^[54]。研究发现褐藻淀粉及黑果枸杞果实多糖具有降血脂活性,对其单糖组成进行分析发现葡萄糖及半乳糖较多^[55-56]。并且有综述总结了部分具有抑制肥胖作用的海藻多糖单糖组成,发现具有抑制肥胖作用的岩藻糖、半乳糖和葡萄糖含量最高^[51]。Chen Jingjing等^[57]纯化了一种平均分子质量为30~38 kDa,主要由D型甘露糖、葡萄糖和半乳糖组成的杏鲍菇多糖,并发现该多糖具有降脂活性,与本研究中3种食用菌蛋白质-多糖复合物多糖分子质量分布及单糖组成相似。推测ABPP、SRPP及MEPP表现出的降血脂活性可能与多糖分子质量及单糖组成有关。

综合细胞实验和动物实验的结果,本研究制备的双孢蘑菇、大球盖菇和羊肚菌蛋白质-多糖复合物在抑制肝细胞中脂滴聚集、控制高血脂症小鼠体质量和脂肪含量、降低血清中的TG和LDL-C水平方面均显示出一定的降血脂作用。具体而言,ABPP、SRPP和MEPP在体质量及TG控制效果与阳性对照相似,但在抑制LDL-C水平方面SRPP的效果更为显著。MEPP在降脂方面表现最优,但在肝脏保护方面效果不如ABPP和SRPP显著。总体来看,ABPP、SRPP、MEPP均显示出一定的降血脂活性,但其降脂机制可能不同,本研究也为其降脂作用机制提供了线索。综上所述,双孢蘑菇、大球盖菇和羊肚菌蛋白质-多糖复合物均具有调节脂质代谢、减肥降脂的作用,是一种潜在的辅助防治高脂血症的生物活性物质,MEPP及SRPP相较于ABPP具有更好的潜在预防高脂血症效果,但其发挥降血脂作用的机制及途径还需要进一步探究。

参考文献:

- [1] HU R K, GUO W L, HUANG Z R, et al. Extracts of *Ganoderma lucidum* attenuate lipid metabolism and modulate gut microbiota in high-fat diet fed rats[J]. Journal of Functional Foods, 2018, 46: 403-412. DOI:10.1016/j.jff.2018.05.020.
- [2] 胡丽平, 蔡华, 唐璐, 等. 地中海饮食对代谢相关性疾病作用的研究进展[J]. 医学信息, 2023, 36(22): 183-188. DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2023.22.043.
- [3] 伊娟娟, 王振宇. 天然降血脂产物的研究进展[J]. 中国林副特产, 2012(5): 46-48. DOI:10.13268/j.cnki.fbsic.2012.05.008.
- [4] 李晓, 李晓博, 李玉. 真菌菌生产在农业废弃物污染防治中的作用[J]. 北方园艺, 2009(2): 120-122.
- [5] 张连合. 食用菌与人们的健康[J]. 大家, 2010(13): 224.
- [6] 张树庭, 林芳灿. 真菌遗传与育种[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997.
- [7] 陈亭菊, 刘远超, 蔡曼君, 等. 食药菌蛋白质研究现状及应用[J]. 食用菌学报, 2024, 31(2): 113-126. DOI:10.16488/j.cnki.1005-9873.2024.02.013.
- [8] ZHANG Y, ZHANG Y N, GAO W H, et al. A novel antitumor protein from the mushroom *Pholiota nameko* induces apoptosis of human breast adenocarcinoma MCF-7 cells *in vivo* and modulates cytokine secretion in mice bearing MCF-7 xenografts[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 164: 3171-3178. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2020.08.187.
- [9] ZHOU H, SUN F, LI H R, et al. Effect of recombinant *Ganoderma lucidum* immunoregulatory protein on cyclophosphamide-induced leukopenia in mice[J]. Immunopharmacology and Immunotoxicology, 2013, 35(3): 426-433. DOI:10.3109/08923973.2013.791834.
- [10] 刘朋, 王雨阳, 杜敏杰, 等. 八种食用菌提取物对不同类型肝细胞损伤保护作用[J]. 食用菌学报, 2024, 31(1): 84-93. DOI:10.16488/j.cnki.1005-9873.2024.01.009.
- [11] XIAO C. Inhibitory effects on α -glucosidase and hypoglycemic effects of the crude polysaccharides isolated from 11 edible fungi[J]. Journal of Medicinal Plants Research, 2011, 5(32): 6963-6967. DOI:10.5897/jmpr11.644.
- [12] 李上上. 双孢菇酶提子实体多糖的抗氧化和抗衰老作用[D]. 泰安: 山东农业大学, 2018: 33-48.
- [13] HOUSHDAR T M H, FAKHREHOSEINI E, KAMALI N M, et al. Search for proteins in the liquid extract of edible mushroom, *agaricusbisporus*, and studying their antibacterial effects[J]. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2012, 11(1): 145-150.
- [14] LI W, CHEN W C, MA H L, et al. Structural characterization and angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory mechanism of *Stropharia rugosoannulata* mushroom peptides prepared by ultrasound[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2022, 88: 106074. DOI:10.1016/j.ultsonch.2022.106074.
- [15] 薛莉. 羊肚菌胞外粗多糖对S180肉瘤小鼠的抑制实验[J]. 山西中医学院学报, 2014, 15(2): 27-29. DOI:10.3969/j.issn.1000-7369.2014.02.010.
- [16] 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: 17-20. DOI:10.27284/d.cnki.gsxiu.2020.000720.
- [17] 顾文芬, 曾凡逵, 程锦春. 超滤法从马铃薯淀粉加工分离汁水中回收蛋白质的研究[J]. 现代食品科技, 2018, 34(3): 131-136. DOI:10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.03.019.
- [18] 郑新雷. 杏鲍菇分离蛋白的制备、理化功能特性与抗氧化活性研究[D]. 南宁: 广西大学, 2019: 12-24.
- [19] LIU C R, CHEN J L, CHEN L, et al. Immunomodulatory activity of polysaccharide-protein complex from the mushroom *Sclerotia of Polyporus rhinocerus* in murine macrophages[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(16): 3206-3214. DOI:10.1021/acs.jafc.6b00932.
- [20] 刘兆宏. 不同品种核桃中水解氨基酸的测量与分析[J]. 农产品加工, 2023(24): 63-65; 71. DOI:10.16693/j.cnki.1671-9646(X).2023.12.045.
- [21] BOYE J, WIJESINHA-BETTONI R, BURLINGAME B. Protein quality evaluation twenty years after the introduction of the protein digestibility corrected amino acid score method[J]. British Journal of Nutrition, 2012, 108(Suppl 2): 183-211. DOI:10.1017/S0007114512002309.
- [22] 楚文琪, 吴迪, 陈万超, 等. 桑树木屑栽培的瓦尼桑黄子实体分级醇沉粗多糖组成特征与活性相关性[J]. 菌物学报, 2023, 42(4): 984-996. DOI:10.13346/j.mycosystema.220332.
- [23] 王雨阳, 李正鹏, 陈万超, 等. 栽培地域和木屑对瓦尼桑黄子实体化学成分及生物活性的影响[J]. 食用菌学报, 2023, 30(6): 76-85. DOI:10.16488/j.cnki.1005-9873.2023.06.009.
- [24] YANG Z, CHEN C H, ZHAO J, et al. Hypoglycemic mechanism of a novel proteoglycan, extracted from *Ganoderma lucidum*, in hepatocytes[J]. European Journal of Pharmacology, 2018, 820: 77-85. DOI:10.1016/j.ejphar.2017.12.020.
- [25] LUO J Y, SUN P B, WANG Y Y, et al. Dapagliflozin attenuates steatosis in livers of high-fat diet-induced mice and oleic acid-treated L02 cells via regulating AMPK/mTOR pathway[J]. European Journal of Pharmacology, 2021, 907: 174304. DOI:10.1016/j.ejphar.2021.174304.
- [26] LIU W X, SHEN W J, WENG P F, et al. Novel *Chlorella pyrenoidosa* peptides attenuate weight gain, insulin resistance, and lipid levels in mice fed a high-fat diet[J]. Journal of Functional Foods, 2024, 112: 105908. DOI:10.1016/j.jff.2023.105908.
- [27] HEO S W, CHUNG K S, HEO H S, et al. Anti-obesity effect of standardized ethanol extract from the leaves of *Adenocaulon himalaicum* Edgew. via regulation of adipogenesis and lipid accumulation in 3T3-L1 cells and high-fat diet-induced obese mice[J]. Journal of Functional Foods, 2024, 119: 106323. DOI:10.1016/j.jff.2024.106323.
- [28] YAO S W, ZHONG Y Q, CAI Y J, et al. Improvement mechanism of lipid metabolism and gut microbiota in obese mice with *Thunnus albacares* eggs yolk glycoprotein[J]. Journal of Functional Foods, 2024, 114: 106057. DOI:10.1016/j.jff.2024.106057.

- [29] MA N L, KHOO S C, PENG W X, et al. Green application and toxic risk of used diaper and food waste as growth substitute for sustainable cultivation of oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*)[J]. Journal of Cleaner Production, 2020, 268: 122272. DOI:10.1016/j.jclepro.2020.122272.
- [30] VEGA-GÓMEZ L M, MOLINA-GILARRANZ I, FONTES-CANDIA C, et al. Production of hybrid protein-polysaccharide extracts from *Ulva* spp. seaweed with potential as food ingredients[J]. Food Hydrocolloids, 2024, 153: 110046. DOI:10.1016/j.foodhyd.2024.110046.
- [31] WANG T, WANG K, ZHAO L, et al. Isolation and antioxidant activity of protein-polysaccharide complex from dried longan pulp[J]. Acta Horticulturae, 2020, 1293: 269-274. DOI:10.17660/actahortic.2020.1293.37.
- [32] 吉涛. 枸杞多糖-蛋白复合物稳定硒纳米颗粒的制备表征及抗肿瘤细胞增殖能力研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2023: 41-51. DOI:10.27441/d.cnki.gyzdu.2023.000936.
- [33] CHEN F, LIN L Z, ZHAO M M. Co-extraction of soy protein and polysaccharide with lipid-lowering activity: characterization of functional property, nutritional property and colonic fermentation property through a metabolomics approach[J]. Food Hydrocolloids, 2023, 138: 108472. DOI:10.1016/j.foodhyd.2023.108472.
- [34] CHEUNG Y C, SIU K C, LIU Y S, et al. Molecular properties and antioxidant activities of polysaccharide-protein complexes from selected mushrooms by ultrasound-assisted extraction[J]. Process Biochemistry, 2012, 47(5): 892-895. DOI:10.1016/j.procbio.2012.02.004.
- [35] CHEN C, ZHANG Y M, LI Y C, et al. *In vivo* and *in vitro* anti-tumour response of selenium-protein polysaccharide extracted from rich selenium *Agaricus blazei*[J]. Food and Agricultural Immunology, 2007, 18(2): 139-149. DOI:10.1080/09540100701616548.
- [36] LI X, DU Y, ZHANG C P, et al. Black rice regulates lipid metabolism, liver injury, oxidative stress and adipose accumulation in high-fat/cholesterol diet mice based on gut microbiota and untargeted metabolomics[J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2023, 117: 109320. DOI:10.1016/j.jnutbio.2023.109320.
- [37] 郑丹丹, 姜楠, 胡扬扬, 等. 双孢菇胞内和胞外多糖对伴刀豆凝集素A诱导免疫性肝损伤小鼠的保护作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2017, 31(4): 303-310. DOI:10.3867/j.issn.1000-3002.2017.04.002.
- [38] LI X P, CUI W J, CUI Y F, et al. *Stropharia rugoso-annulata* acetylated polysaccharides alleviate NAFLD via Nrf2/JNK1/AMPK signaling pathways[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2022, 215: 560-570. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2022.06.156.
- [39] 孙玉军, 陈彦, 周正义, 等. 羊肚菌胞内多糖对小鼠急性肝损伤的影响[J]. 中国食用菌, 2008, 27(2): 41-42; 45. DOI:10.3969/j.issn.1003-8310.2008.02.015.
- [40] 郭志远. 新疆羊肚菌酶解蛋白多肽的分离纯化及抗氧化活性研究[D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2023: 43-47.
- [41] 张景. 羊肚菌多糖的提取分离、结构表征及抗氧化研究[D]. 聊城: 聊城大学, 2023: 61-65. DOI:10.27214/d.cnki.glsu.2023.000800.
- [42] 滕杉杉. 多组学分析羊肚菌多糖MEP2对慢性酒精性肝损伤小鼠保护作用及机制的研究[D]. 长春: 长春中医药大学, 2023: 46-58. DOI:10.26980/d.cnki.gcczc.2023.000008.
- [43] WU Y W, PENG W, SHEN J Y, et al. Prognostic nomograms for HBV-related BCLC 0: a stage hepatocellular carcinoma incorporating aspartate aminotransferase to albumin ratio[J]. Scandinavian Journal of Gastroenterology, 2023, 58(7): 789-797. DOI:10.1080/00365521.2023.2165417.
- [44] LIN T T, O'KEEFE S, DUNCAN S S, et al. Manipulation of the dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.) matrix by hydrothermal and high-pressure treatments: impact on *in vitro* bile salt-binding ability[J]. Food Chemistry, 2020, 310: 125699. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.125699.
- [45] 刘迪迪. 松仁蛋白分离与生理功能分析及对糖脂代谢调节作用[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2020: 10-12. DOI:10.27061/d.cnki.ghgdu.2020.004719.
- [46] MOHANTY B, MAHANTY A, GANGULY S, et al. Amino acid compositions of 27 food fishes and their importance in clinical nutrition[J]. Journal of Amino Acids, 2014, 2014: 269797. DOI:10.1155/2014/269797.
- [47] GAO Y L, LIU P, WANG D H, et al. Isolation and characterization of a novel protein from *Momordica charantia* L. positively regulates lipid metabolism activity *in vivo* and *in vitro*[J]. Journal of Functional Foods, 2022, 96: 105218. DOI:10.1016/j.jff.2022.105218.
- [48] YIN Y J, GONG S M, HAN M M, et al. Leucine regulates lipid metabolism in adipose tissue through adipokine-mTOR-SIRT1 signaling pathway and bile acid-microbe axis in a finishing pig model[J]. Animal Nutrition, 2024, 16: 158-173. DOI:10.1016/j.aninu.2023.10.005.
- [49] CHEN J Y, QIAN D L, WANG Z S, et al. Threonine supplementation prevents the development of fat deposition in mice fed a high-fat diet[J]. Food & Function, 2022, 13(14): 7772-7780. DOI:10.1039/d2fo01201d.
- [50] LIN H Y, CHEN C C, CHEN Y J, et al. Enhanced amelioration of high-fat diet-induced fatty liver by docosahexaenoic acid and lysine supplementations[J]. BioMed Research International, 2014, 2014: 310981. DOI:10.1155/2014/310981.
- [51] 王馥仪, 于双, 董新玉, 等. 海洋多糖的结构、组成及其抑制肥胖作用机制的研究进展[J]. 食品科学, 2024, 45(17): 335-347. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20231208-070.
- [52] 赵绮, 赵则月, 关颖, 等. 不同分子量玉米须多糖降血脂比较及机制研究[J]. 中国食品添加剂, 2023, 34(5): 241-248. DOI:10.19804/j.issn1006-2513.2023.05.029.
- [53] HU Y C, ZHOU J, CAO Y N, et al. Anti-aging effects of polysaccharides from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) in improving memory and cognitive function[J]. Journal of Functional Foods, 2022, 94: 105097. DOI:10.1016/j.jff.2022.105097.
- [54] AYIMBILA F, SIRIWONG S, CHAIYAMA V, et al. Comparative study of bio-functional profile and bioactivities of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* and *Ganoderma neo-japonicum*[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2023, 53: 102875. DOI:10.1016/j.bcab.2023.102875.
- [55] 谭婉, 卫阳飞, 李枫林, 等. 黑果枸杞果实多糖的超声辅助双水相萃取工艺优化、单糖组成分析及胰脂肪酶抑制活性评价[J]. 食品工业科技, 2024, 45(22): 158-168. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2024010085.
- [56] JIN Q, YU H H, LI P C. The evaluation and utilization of marine-derived bioactive compounds with anti-obesity effect[J]. Current Medicinal Chemistry, 2018, 25(7): 861-878. DOI:10.2174/0929867324666170602082620.
- [57] CHEN J J, YONG Y Y, XING M C, et al. Characterization of polysaccharides with marked inhibitory effect on lipid accumulation in *Pleurotus eryngii*[J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 97(2): 604-613. DOI:10.1016/j.carbpol.2013.05.028.