

长白山红松籽油对小鼠血清及肝脏、肾脏脂质的影响

刘静波¹, 吴丽英¹, 董红竹¹, 张 燕^{1,*}, 刘桃彦²

(1. 吉林大学军需科技学院, 营养与功能食品研究室, 吉林 长春 130062; 2. 山西省左权中学, 山西 晋中 032600)

摘 要: 对长白山红松籽油调节血脂作用进行研究。建立昆明小白鼠高脂血症模型后, 观察红松籽油调节血脂功能。通过测定血清总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglycerides, TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、葡萄糖 (glucose, Glu) 含量以及肝脏和肾脏的TC、TG水平来检测长白山红松籽油的降血脂效应。结果表明: 不同剂量的红松籽油均不同程度地降低高脂饲料对受试小白鼠高脂血症的诱导作用, 显著改善肝脏及肾脏脂质的积累, 红松籽油具有显著的降血脂效应。

关键词: 长白山红松籽油; 降血脂作用; 血清脂质; 肝脏脂质; 肾脏脂质

Effect of Nut Oil of Korean Pine from the Changbai Mountain on Serum and Visceral Lipids in Mice

LIU Jing-bo¹, WU Li-ying¹, DONG Hong-zhu¹, ZHANG Yan^{1,*}, LIU Tao-yan²

(1. Laboratory of Nutrition and Functional Food, College of Quartermaster Technology, Jilin University, Changchun 130062, China;

2. Zuoquan NO.1 Senior High School of Shanxi Province, Jinzhong 032600, China)

Abstract: In this study, we investigated the hypolipidemic effect of nut oil of Korean pine from the Changbai Mountain on mice. When compared to negative control group (HF), the mice from the groups administrated with Korean pine nut oil exhibited significant decreases in serum and visceral total cholesterol (TC) and triacylglycerol (TG), and serum low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and a noticeable increase in serum high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C). These results showed that Korean pine nut oil could be potentially used as a valuable source of natural hypolipidemic agents.

Key words: nut oil of Korean pine from the Changbai Mountain; anti-hyperlipidemia effect; serum lipid; liver lipid; kidney lipid

中图分类号: TS209

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2014) 23-0257-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201423050

红松 (*Pinus koraiensis* Sieb. et Zucc或Korean pine) 又名海松、高丽松, 属于松科、松属植物, 主要分布在我国东北长白山到小兴安岭一带。红松籽是红松的果实, 又名海松籽、新罗 (朝鲜) 松籽, 年产量高达7.48万 t^[1]。已有研究表明^[2]红松籽中含18种氨基酸, 且其含有的8种必需氨基酸的含量比值与联合国粮农组织 (Food and Agriculture Organization, FAO) 及世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 推荐的人体摄入量标准十分接近, 且其苯丙氨酸及异亮氨酸的含量略高于国际标准; 红松籽含油量高达65%~78%, 且油品质极佳^[3]。Acheampong等^[4]通过液相色谱-质谱法 (liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS) 对红松籽油进行研究, 结果表明: 红松籽油含48.4%的亚油酸、

24%的油酸、14.9%的皮诺敛酸、4.2%的棕榈酸、1.8%的硬脂酸和紫杉油酸以及1%的顺式十八碳烯酸及顺式二十碳-11-烯酸等脂肪酸, 其中不饱和脂肪酸含量高达91.1%, 多不饱和脂肪酸含量高达65.1%。

高血脂症是导致世界上致死率最高的冠心病的主要病因^[5]。流行病学调查表明饮食习惯主导着高血脂症的形成, 特别是多不饱和脂肪酸的摄入量。研究表明许多植物性油脂 (如黑加仑籽油、复合红花油、紫苏油及亚麻籽油等) 富含不饱和脂肪酸而具有降血脂作用^[7-16]。目前对红松籽的研究主要包括红松籽油的提取、蛋白质的分离纯化等。对红松籽油的研究主要集中在开发初级油产品, 如红松籽油调和油、软胶囊的制作, 以及理化分析、脂肪酸成分测定等。为深入了解红松籽油的功效

收稿日期: 2014-06-30

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划项目 (2012BAD33B03); 吉林大学农学部青年科研基金项目

作者简介: 刘静波 (1962—), 女, 教授, 博士, 主要从事营养与功能食品研究。E-mail: lib168@sohu.com

*通信作者: 张燕 (1983—), 女, 实验师, 硕士, 主要从事功能食品研究与开发。E-mail: zhangy.1983@163.com

机理, 本实验将对长白山红松籽油调节血脂作用进行研究, 为红松籽油的开发与应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 动物、材料与试剂

雄性昆明小白鼠, 体质量(22 ± 2) g, 由长春亿司实验动物技术有限责任公司提供(合格证号: SCXK(吉)-2011-0004)。高脂饲料^[17], 本实验室自制, 由质量分数为76.0%的基础饲料在90℃恒温水浴条件下加入质量分数分别为10%蛋黄粉、12.5%猪油、1%胆固醇以及0.5%胆盐均匀混合, 再经成型制成(在使用完之前, 储存于0~4℃冰箱)。蛋黄粉、猪油、胆固醇及胆盐为市售。

红松籽油, 由吉林大学军需科技学院提供。

总胆固醇(total cholesterol, TC)试剂盒、甘油三酯(triglycerides, TG)试剂盒、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)试剂盒、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)试剂盒、葡萄糖(glucose, Glu)试剂盒中国南京建成生物有限公司。

1.2 仪器与设备

1-15K台式离心机 英国Sigma公司; Synergy HT酶标仪 美国伯腾仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 动物分组及模型建立

将50只雄性昆明小白鼠在室温(23 ± 2)℃, 相对湿度(55 ± 10)%的环境下喂食普通饲料, 群居喂食一周, 使其适应环境。一周后, 选取皮毛光滑, 健康的小白鼠进行编号, 称量并记录其体质量, 随后对小白鼠进行随机分组, 分为5组, 每组10只。第1组为空白对照组(NC), 在整个实验阶段均自由摄食普通饲料; 第2~5组依次为阳性对照组(HF)、红松籽油低剂量组(LD)、红松籽油中剂量组(MD)、红松籽油高剂量组(HD)。实验第1周单独自由摄食高脂饲料, 诱导小白鼠高脂血症模型^[18]。从第8天开始, 高脂组喂食高脂饲料, 红松籽油低、中、高剂量组分别喂食含5%、10%、15%红松籽油的高脂饲料。每周定时称量小白鼠体质量并记录, 饲养30 d。在第30天禁食12 h后, 称量其体质量, 眼球取血。所得血液常温放置30 min, 随后在4℃的条件下3 500 r/min离心15 min, 取上清液, -20℃保存, 待用^[19]。取血清后, 立即引颈处死小白鼠, 解剖, 取其肝脏与肾脏, 分别称量其湿质量并计算其脏器指数。所得的肝脏及肾脏置于洁净的培养皿中, 保存于一80℃超低温冰箱, 待用^[13]。

1.3.2 血清指标的测定

血清总胆固醇(c_1 , mmol/L)、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇(c_2 , mmol/L)、低密度脂蛋白胆固醇及葡萄糖浓度分别使用南京建成生物有限公司的相应试剂盒来测定, 按照说明书要求进行测量。动脉粥样硬化指数(arteriosclerosis index, AI)按公式(1)计算^[20]。

$$AI = \frac{c_1 - c_2}{c_2} \quad (1)$$

1.3.3 脏器指数的测定

肝脏及肾脏先用生理盐水清洗, 除去表面杂物, 随后按试剂盒要求处理得到组织匀浆。匀浆经低速离心后取上清液测其TC及TG含量。测量方法与血清TC及TG的测量方法一样。肝脏系数按公式(2)计算, 肾脏系数按公式(3)计算。

$$\text{肝脏系数}/\% = \frac{\text{肝脏湿质量}/\text{g}}{\text{末体质量}/\text{g}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{肾脏系数}/\% = \frac{\text{肾脏湿质量}/\text{g}}{\text{末体质量}/\text{g}} \times 100 \quad (3)$$

1.4 数据分析方法

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 来表示。实验数据使用数据处理软件SPSS 10.0版处理。组内数据差异性检验使用 t 检验法检验, 组间差异通过单因素方差分析(ANOVA)来分析。

2 结果与分析

2.1 小白鼠健康状况及摄食量

在时长30 d的实验阶段, 小鼠健康成长, 皮毛光华, 生长状况无明显恶向变化。各组间日摄食量无显著性差异。

2.2 体质量、脏器质量及体质量增量

在实验中, 购买来的昆明小白鼠在适应环境一周后体质量由购买初期的(22 ± 2) g上升至(27 ± 2) g。由表1可知, 各组实验小白鼠的始体质量和末体质量均无显著性差异($P < 0.05$)。与空白对照组(NC)相比, 阳性对照组(HF)除肾脏系数外, 体质量增量、肝脏湿质量、肝脏系数及肾脏湿质量均显著高于空白对照组($P < 0.05$), 故喂食高脂饲料30 d的实验小白鼠其身体机能发生了改变。与阳性对照组相比, 红松籽油高剂量组(HD)小白鼠的体质量增量显著低于阳性对照组, 肝脏湿质量及肝脏系数与阳性对照组相比无显著性差异($P > 0.05$), 而肾脏湿质量及肾脏系数则显著小于阳性对照组($P < 0.05$)。红松籽油中剂量组(MD)体质量增量显著少于其他两个剂量组以及HF组, 但是仍显著高于NC组; 肝脏湿质量与HF组无显著差异($P > 0.05$), 肝脏系数显著低于HF组; 肾脏湿质量与肾脏系数均显

著低于HF组,但与HD组相比无显著性差异且均低于NC组。红松籽低剂量组(LD)的体质量增量虽低于HF组,但无显著性差异($P>0.05$);肝脏湿质量和其他两个剂量组一样与HF组无显著性差异,但显著大于NC组;肝脏系数及肾脏湿质量与HF组无显著性差异($P>0.05$);肾脏系数与NC组相比无显著差异,仍为正常值。

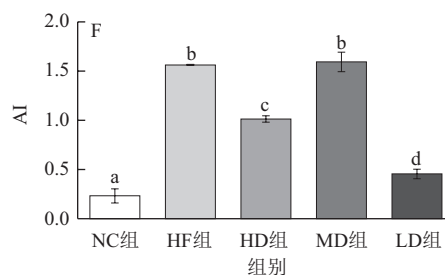
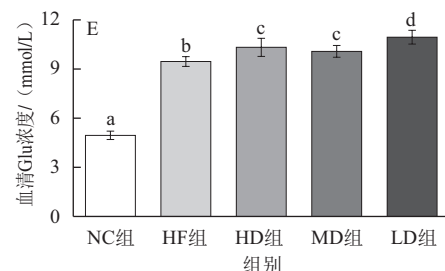
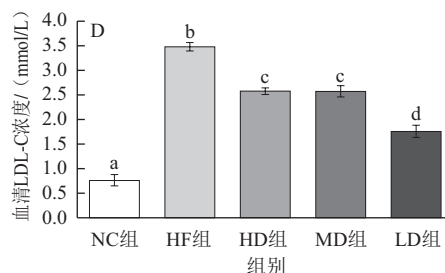
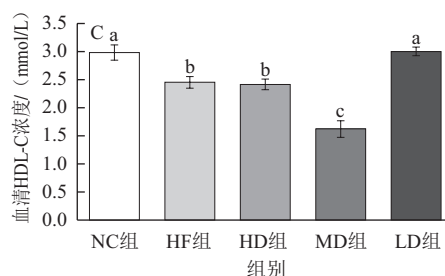
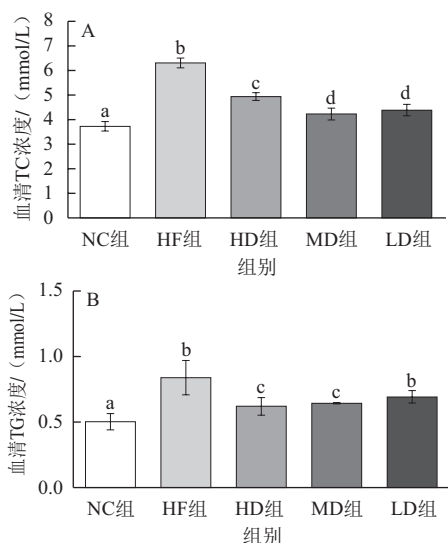
表1 昆明小白鼠的体质量、脏器湿质量及体质量增量
Table 1 Body weight, visceral weight and body weight gain of Kunming mice

组别	NC组	HF组	HD组	MD组	LD组
始体质量/g	27.54±0.98 ^a	26.10±0.99 ^a	27.88±0.85 ^a	27.22±0.55 ^a	26.88±0.64 ^a
末体质量/g	33.77±3.20 ^a	37.26±1.28 ^a	36.27±0.77 ^a	35.44±0.50 ^a	37.93±1.06 ^a
体质量增量/g	5.89±1.47 ^a	12.86±0.99 ^b	10.67±0.86 ^c	9.19±0.83 ^d	10.50±2.07 ^b
肝脏湿质量/g	1.70±0.4 ^a	2.00±0.07 ^b	1.90±0.06 ^b	1.83±0.11 ^b	2.08±0.11 ^b
肝脏系数/%	4.64±0.14 ^a	5.35±0.09 ^b	5.47±0.15 ^b	5.15±0.10 ^c	5.29±0.04 ^b
肾脏湿质量/g	0.59±0.03 ^a	0.62±0.03 ^b	0.50±0.01 ^c	0.50±0.01 ^c	0.62±0.02 ^b
肾脏系数/%	1.75±0.13 ^a	1.65±0.16 ^a	1.46±0.15 ^b	1.42±0.08 ^b	1.64±0.10 ^a

注:同行不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),表2同;始体质量由小鼠正式给予受试物时计。

2.3 血清脂质变化

总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇通常被选为高血脂的判定指标^[21]。高浓度的TC及TG水平被认为是引起心血管疾病的两大独立因素。HDL-C是机体内的有利胆固醇形式,它可以通过将储存胆固醇的细胞内的胆固醇运走,从而有效阻止高血脂的发生^[22]。而LDL-C则是促进机体形成高血脂,对高血脂症有害的一个因素,它可以通过使血液变得黏稠而增加胆固醇在血管壁上的吸附率,从而提高血脂水平。高血糖通常是高血脂症的一个并发症,在本实验中将其作为指标之一。由图1可知,与空白对照组(NC)相比,阳性对照组(HF)血清脂质指标TC、TG、LDL-C及血糖(Glu)浓度与动脉粥样硬化指数(AI)均显著升高,而血清HDL-C浓度降低,表明喂食高脂饲料诱导建立小白鼠高脂模型成功。



不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

图1 红松籽油对小白鼠血清指标变化的影响

Fig.1 Serum lipid parameters in mice from each group

由图1可知,给予长白山红松籽油的3个受试剂量组小白鼠血清TC水平均显著低于HF组,其中MD与LD组水平显著低于HD组,但是未能降低至NC组的水平($P<0.05$)。HF组的TG水平显著高于NC组,而3个红松籽油剂量组的相应值则进一步降低,其中HD及MD组显著低于HF及LD组($P<0.05$)。HF组HDL-C水平显著低于NC组($P<0.05$),HD组HDL-C水平仍停留在HF组水平,无显著性差异($P>0.05$),MD组的HDL-C水平最低($P<0.05$),而LD组则显著高于HF组,升至正常水平。在5个组别中,HF组的LDL-C水平显著高于其他4个组别($P<0.05$),而对于红松籽油3个剂量组中,LD组的LDL-C水平最低但未调节至NC水平,MD和LD组无显著性差异。由图1C、1D可知,LD组是3个剂量组

间维持血清HDL-C及LDL-C水平最佳的剂量组。由图1E可知, HF组以及3个受试剂量组的血清Glu水平均显著($P<0.05$)高于NC组, 同时3个剂量组Glu水平显著高于HF组($P<0.05$), 说明长白山红松籽油未能有效降低年轻的雄性昆明小白鼠的血糖水平, 同时可能是由于更多油脂的摄入, 还在一定程度上升高了高血脂小鼠的血糖水平。王振宇等^[23]在用老龄大鼠研究红松籽油时结果显示红松籽油可降低老龄大鼠的血糖水平, 这说明红松籽油对年轻昆明小白鼠及老龄Wistar大鼠血糖的作用效果不一致。由图1F可知, HF组的AI值远远高于NC组, 而MD组与HF组相比无显著性差异($P>0.05$), 而HD及LD组的AI值显著低于HF及MD组, LD组AI值为3个剂量组中最小。已有文献及实验报道不饱和脂肪酸能够对心血管产生保护作用, 降低血清TG含量^[23-25]。

2.4 脏器脂质变化

有研究表明, 膳食中 ω -3不饱和脂肪酸的增加可以降低肝脏和血清TG水平, 通过促进脂肪酸的氧化而阻断肝脏中TG的产生^[26-28]。由表2可知, HF组的肝脏TC、TG水平, 肾脏TC、TG水平均显著高于NC组, 表明在长期摄食高脂饲料的情况下, 小鼠的肝脏及肾脏脂质含量发生了显著变化($P<0.05$)。3个受试剂量组的所有实验指标均显著低于HF组的相应指标。在3个受试剂量组中HD组肝脏TC含量最低, 且已经降至正常水平, LD组肝脏TC含量最高, 但与HF组相比, 已显著降低($P<0.05$)。各组的肝脏TG水平差异较大, 与NC组相比, HF、HD、MD以及LD组的肝脏TG含量显著提高($P<0.05$); 与HF组相比, HD、MD和LD组的肝脏TG含量均有所降低, HD组降低最多。相对HF组, HD组肾脏TC含量降低最多, 且降至正常水平, 与NC组的肾脏TC含量相比无显著性差异; MD组次之, 但未降至正常水平; LD组降低水平最少, 但显著低于HF组。与HF组相比, 各组肾脏TG水平均存在不同程度降低, LD组降低最多, MD组次之, HD组降低量最少, 各剂量组对于降低肾脏TG的作用效果程度与剂量关系效应不一致, 有待下一步实验继续研究。

表2 红松籽油对小白鼠脏器脂质的影响
Table 2 Liver and kidney lipid parameters of mice

组别	NC组	HF组	HD组	MD组	LD组
肝脏TC含量	1.68±0.05 ^a	3.65±0.09 ^b	1.68±0.14 ^a	1.98±0.13 ^c	3.46±0.11 ^d
肝脏TG含量	4.36±0.20 ^a	14.51±0.69 ^b	6.94±0.32 ^c	10.56±0.15 ^d	11.62±0.12 ^e
肾脏TC含量	2.38±0.0 ^a	3.25±0.04 ^b	2.30±0.12 ^a	2.57±0.04 ^c	2.75±0.07 ^d
肾脏TG含量	3.42±0.16 ^a	8.49±0.09 ^b	5.98±0.18 ^c	3.94±0.14 ^d	3.63±0.07 ^e

3 结论

红松籽油可明显降低高脂饲料对受试小白鼠高血脂症的诱导作用。摄食不同剂量红松籽油均能不同程度地

降低血清TC、TG、LDL-C浓度, 提高HDL-C的浓度, 同时还能调节肝脏、肾脏的TC、TG含量, 可有效改善高血脂症状。但是红松子油对于高脂饲料诱导高血脂模型小鼠的血清脂质水平以及肝脏肾脏脂质水平的作用效果程度与剂量不完全成正比。

参考文献:

- [1] 王振宇, 杨立宾, 魏殿文. 红松松仁中天然产物的研究进展[J]. 国土与自然资源研究, 2008(2): 90-91.
- [2] 于海伟, 王立平, 李小波. 红松仁营养成分分析及松仁油制取方法的探讨[J]. 防护林科技, 2007(3): 115-118.
- [3] 刘国刚. 坚果林树种——红松[J]. 中国林副特产, 2004(4): 47-48.
- [4] ACHEAMPONG A, LEVEQUE N, TCHAPL A, et al. Simple complementary liquid chromatography and mass spectrometry approaches for the characterization of triacylglycerols in *Pinus koraiensis* seed oil[J]. Journal of Chromatography A, 2011, 1218(31): 5087-5100.
- [5] ENNOURI M, FETOUI H, HAMMAMI M, et al. Effects of diet supplementation with cactus pear seeds and oil on serum and liver lipid parameters in rats[J]. Food Chemistry, 2007, 101(1): 248-253.
- [6] SPEIJERS G J, DEDEREN L H, KEIZER H. A sub-chronic (13 weeks) oral toxicity study in rats and an *in vitro* genotoxicity study with Korean pine nut oil (PinnoThin TG™)[J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2009, 55(2): 158-165.
- [7] CHANG H H, CHEN C S, LIN J Y. Dietary perilla oil lowers serum cholesterol and ovalbumin-specific IgG1, but increases total IgE levels in ovalbumin-challenged mice[J]. Food and Chemical Toxicology, 2009, 47(4): 848-854.
- [8] TAHVONEN R L, SCHWAB U S, LINDERBORG K M, et al. Black currant seed oil and fish oil supplements differ in their effects on fatty acid profiles of plasma lipids, and concentrations of serum total and lipoprotein lipids, plasma glucose and insulin[J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2005, 16(6): 353-359.
- [9] TZANG B S, YANG S F, FU S G, et al. Effects of dietary flaxseed oil on cholesterol metabolism of hamsters[J]. Food Chemistry, 2009, 114(4): 1450-1455.
- [10] 赵伟民, 侯天德, 张继, 等. 杏仁油对实验性高血脂大鼠肝脏中脂酶活性及脂肪含量的影响[J]. 西北师范大学学报: 自然科学版, 2007, 43(1): 76-81.
- [11] 丁晶晶, 徐婧, 霍天瑶, 等. 紫苏油对大鼠降血脂的量效时效研究[J]. 中国油脂, 2004, 29(10): 61-66.
- [12] 杨栓平, 常学锋, 王志平, 等. 核桃油和核桃油复合维生素E对大鼠血浆脂质的影响[J]. 营养学报, 2001, 23(3): 267-272.
- [13] 张纯萍, 刘雪萍, 黄兴振, 等. 茶籽油降血脂及抗动脉粥样硬化的药效学[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(5): 596-600.
- [14] 郭美丽, 周燕平, 冯瑾. 杜仲籽油辅助降血脂作用实验研究[J]. 中国预防医学杂志, 2008, 9(7): 677-679.
- [15] OARADA M, TSUZUKI T, GONOI T, et al. Effects of dietary fish oil on lipid peroxidation and serum triacylglycerol levels in psychologically stressed mice[J]. Nutrition, 2008, 24(1): 67-75.
- [16] TIAN Jun, ZENG Xiaobin, ZHANG Shu, et al. Regional variation in components and antioxidant and antifungal activities of *Perilla frutescens* essential oils in China[J]. Industrial Crops and Products, 2014, 59: 69-79.
- [17] HU Yebi, FU Xiangjin, ZHANG Fengxiang, et al. Hypolipidemic study of xylanase-modified corn bran fibre in rats[J]. Food Chemistry, 2010, 123(3): 563-567.

- [18] PENGZHAN Y, NING L, XIGUANG L, et al. Antihyperlipidemic effects of different molecular weight sulfated polysaccharides from *Ulva pertuse* (Chlorophyta)[J]. Pharmacology Research, 2003, 48(6): 543-549.
- [19] LEUDEU C B, TCHIÉGANG C, BARBÉ F, et al. *Ricinodendron heudelotii*(Bail.) or *Tetracarpidium conophorum* Müll. oils fed to male rats lower blood lipids[J]. Nutrition Research, 2009, 29(7): 503-509.
- [20] VILLANUEVAA M J, YOKOYAMA W H, HONG Y J, et al. Effect of high-fat diets supplemented with okara soybean by-product on lipid profiles of plasma, liver and faeces in Syrian hamsters[J]. Food Chemistry, 2011, 124(1): 72-79.
- [21] DEGUCHI Y, OGATA A. Relationship between serum selenium concentration and atherogenic index in Japanese adults[J]. Tohoku Journal Experimental Medicine, 1991, 165(4): 247-251.
- [22] BARTER P J, RYE K A. High density lipoproteins and coronary heart disease[J]. Atherosclerosis, 1996, 121(1): 1-12.
- [23] 王振宇, 陈小强. 红松籽油调节血脂作用研究[J]. 特产研究, 2004, 35(1): 7-10.
- [24] BALK E M, LICHTENSTEIN A H, CHUNG M, et al. Effects of omega-3 fatty acids on serum markers of cardiovascular disease risk: a systematic review[J]. Atherosclerosis, 2006, 189(1): 19-30.
- [25] ROBINSON J G, STONE N J. Antiatherosclerotic and antithrombotic effects of omega-3 fatty acids[J]. American Journal of Cardiology, 2006, 98(Suppl 1): 39-49.
- [26] SONG J H, FUJIMOTO K, MIYAZAWA T. Polyunsaturated (*n*-3) fatty acids susceptible to peroxidation are increased in plasma and tissue lipids of rats fed docosahexaenoic acid-containing oils[J]. Journal of Nutrition, 2000, 130(12): 3028-3033.
- [27] GEELLEN M J, SCHOOTS W J, BIJLEVELD C, et al. Dietary medium-chain fatty acids raise and (*n*-3) polyunsaturated fatty acids lower hepatic triacylglycerol synthesis in rats[J]. Journal of Nutrition, 1995, 125(10): 2449-2456.
- [28] MURATA M, SANO Y, ISHIHARA K, et al. Dietary fish oil and *Undaria pinnatifida* (wakame) synergistically decrease rat serum and liver triacylglycerol[J]. Journal of Nutrition, 2002, 132(4): 742-747.