

美拉德反应对金带细鲷鱼肉蛋白酶解物体内抗氧化性的影响

王军¹, 王忠合¹, 傅力¹, 卢彬²

(1. 韩山师范学院生命科学与食品科技学院, 广东潮州 521041)

(2. 新疆农业大学食品科学与药学院, 新疆乌鲁木齐 830052)

摘要: 本文研究了金带细鲷鱼肉蛋白酶解物及其美拉德反应修饰物在动物体内的抗氧化性, 通过检测灌胃 30 d 的对照组和各剂量组小鼠血清和肝脏中丙二醛 (MDA) 含量、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、谷胱甘肽 (GSH) 含量等指标的变化来研究修饰产物在动物体内的抗氧化活性。结果表明: 酶解物及其美拉德反应修饰产物均能降低小鼠血清和肝脏中 MDA 的形成, 增加小鼠血清及肝脏中 SOD、GSH-Px 的活力和 GSH 的含量, 尤其是高剂量组的抗氧化效果明显, 抗氧化活性随剂量的增加而增强, 美拉德反应修饰产物能够显著增强小鼠血清及肝脏中 SOD、GSH-Px 的活力和 GSH 的含量 ($p < 0.05$)。这表明, 美拉德修饰反应可提高金带细鲷鱼肉蛋白酶解物在小鼠体内的抗氧化活性, 修饰产物在小鼠体内的抗氧化性可能与其清除自由基能力有关。

关键词: 金带细鲷; 美拉德反应; 脂质过氧化; 肝脏; 小鼠

文章编号: 1673-9078(2017)4-38-45

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.4.007

Effect of Maillard Reaction on *In Vivo* Antioxidant Activity of Enzymatic Hydrolysates Derived from *Selaroides leptolepis* Fish Muscle Protein

WANG Jun¹, WANG Zhong-he¹, FU Li¹, LU Bin²

(1. School of Life Science and Food Technology, Hanshan Normal University, Chaozhou 521041, China)

(2. College of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

Abstract: The antioxidant activity of the enzymatic hydrolysates of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) fish muscle protein and the corresponding Maillard reaction products (MRPs) in mice were investigated in this study. The *in vivo* antioxidant activities of MRPs in mice were studied by measuring the changes in the superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA) and other indicators in the serum or liver of control group and each dose group, which were fed by gavage for 30 days. The results showed that enzymatic hydrolysates and their MRPs could decrease MDA formation in serum or liver of mice and increase the activities of SOD and GSH-Px and the content of GSH in serum or liver of mice. In particularly, strong antioxidant effect was observed in the high-dose group, and the antioxidant activity was increased with increasing dose. The MRPs could significantly increase the activities of SOD and GSH-Px and the content of GSH in serum or liver of mice when compared with hydrolysates ($p < 0.05$). In conclusion, Maillard reaction could enhance the *in vivo* antioxidant activity of enzymatic hydrolysates of yellow stripe trevally fish muscle protein in mice, and the *in vivo* antioxidant activity of the MRPs in mice might be associated with their free radical-scavenging ability.

Key words: *Selaroides leptolepis*; Maillard reaction; lipid peroxidation; liver; mouse

金带细鲷 (*Selaroides leptolepis*) 为鲷科细鲷属的鱼类, 俗名木叶鲷, 为近海暖水性鱼类, 我国产于南

收稿日期: 2015-12-04

基金项目: 广东省教育厅特色创新项目 (2015KTSCX088); 广东省高校优秀青年创新人才培养计划项目 (2013LYM0056); 广东省科技发展专项资金项目 (2016A020210135); 韩山师范学院博士启动项目 (QD20140324)

作者简介: 王军 (1981-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品加工与安全控制技术

通讯作者: 王忠合 (1980-), 男, 博士, 讲师, 研究方向: 食品安全检测

海、台湾海峡, 富含蛋白质、氨基酸和维生素, 营养价值较高, 但是未得到充分利用, 相关的研究报道较少。由于缺乏深加工和精加工技术, 目前作为低值鱼类主要用于生产鱼糜制品、鱼粉和鱼肉干等低附加值产品, 经济效益较低, 部分甚至作为废物直接丢弃, 不但造成优质蛋白质资源浪费, 更加重了环境的污染。低值鱼中蛋白质含量约为 18%, 含有丰富的氨基酸、维生素和矿物质, 且胆固醇含量很低, 是开发功能性食品的优质蛋白质来源^[1,2], 因此深度开发低值鱼类、

增强其综合加工利用程度等方面是提高其利用率和附加值的重要途径之一。

糖基化修饰是近年来食品蛋白质改性中的一种很有前途的方法,可以充分利用蛋白质的表面性能(空气/水或油/水界面的吸附能力)与还原糖具有的较好持水、增稠性能,已在改善蛋白质或多肽的抗氧化性、溶解性、乳化性和质构等方面的改性应用显现优势^[3,4]。美拉德反应产物具有一定的抗氧化性能,类黑精可有效地清除羟自由基、超氧阴离子和 DPPH 自由基等,这可能是由于其中含有类黑精、还原酮以及一系列含 N、S 的杂环化合物,抗氧化机制一直在不断的研究中,可能包括自由基清除机制、提供氢离子和螯合促氧化的金属离子等^[5-7],其中某些物质的抗氧化强度可以与食品中常用的抗氧化剂相媲美^[5]。美拉德反应产物的抗氧化活性评价方法主要有体外化学法、体内动物实验法及细胞模型法等三种,体外化学法操作简单、实验周期短,但是较难反应化合物在生理条件下的抗氧化性;后两种方法代表了生物体在正常生理条件下的作用,可较好的反应生物体内的抗氧化性^[8,9]。本文旨在探究美拉德修饰反应对金带细鲷鱼肉蛋白酶解物在动物体内抗氧化性的影响,以期为低值鱼类的开发利用及鱼肉蛋白酶解物的修饰与安全控制提供一定的参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

金带细鲷:购于当地市场,去除鱼头和内脏,洗净沥干后用搅碎机搅成肉糜,用保鲜袋分装(每袋 100 g)后,贮存于-20℃冰箱备用;昆明种小鼠:SPF 级,体重 31.42±2.67 g,雄鼠,由广东中山医科大学动物实验中心提供;超氧化物歧化酶(SOD)测定试剂盒:南京建成生物工程研究所;亚硝基铁氰化钠、十二烷基硫酸钠(SDS):生工生物工程(上海)有限公司;四乙氧基丙烷、硫代巴比妥酸(TBA)、叠氮化钠、考马斯亮蓝、牛血清蛋白、乙二胺四乙酸二钠盐(EDTA-Na₂)、谷胱甘肽、5,5'-二硫代双(2-硝基苯甲酸)(DTNB)和磺基水杨酸:上海晶纯生化科技股份有限公司;乙酸、乙酸钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钾、柠檬酸三钠和偏磷酸等均为分析纯。

1.2 主要仪器和设备

JY99-2D 型超声波细胞粉碎机,宁波新芝生物科技股份有限公司;TU-1901 型紫外可见分光光度计,北京普析通用仪器有限责任公司;FD-1D-50 型冷冻干

燥机,北京博医康实验仪器有限公司;2-16P 型离心机,美国 Sigma 公司;PHSJ-4A 型 pH 计,上海仪电科学仪器股份有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 鱼肉蛋白酶解物的制备

取鱼糜按质量比 1:3 的比例与水混合后,调节溶液 pH 和温度至胰蛋白酶的最适条件(pH 为 7.0,温度为 50℃),加入 1%的胰蛋白酶(E/S=1:100)酶解 30 min 后取样,在 100℃灭酶 10 min,将酶解液于 10000 r/min 下离心 10 min,取上清液冷冻干燥,备用。采用 TNBS 法^[10]测得鱼肉蛋白酶解物的水解度为 10.8%。

1.3.2 美拉德反应产物的制备

将酶解物用蒸馏水配制成浓度为 25 mg/mL 的溶液,按酶解物与葡萄糖质量比 1:2 加入葡萄糖,再用 1 mol/L NaOH 调节 pH 至 9.0,取 30 mL 置于烧杯中,超声探头插入液面 0.5 cm 处,选择超声输出功率为 300 W 下处理 108 min,温度设定在 60±2℃,采用循环的冰乙醇(0~4℃)控温。反应完毕后,取出立即置于冰水浴中冷却,测定 pH 值,经冷冻干燥(冷阱温度-50℃,真空度 10 Pa~150 Pa,20 h)后,作为小鼠受试物置于密封袋中置于-18℃保存备用。同时按上述相同试验条件处理酶解物,以不加葡萄糖的作为空白对照,以 60℃水浴处理作为水浴对照。

1.3.3 体内抗氧化试验

将 63 只试验小鼠在清洁级实验室适应 1 周后,随机分为 7 组,每组 9 只小鼠。设置空白对照组(0.9%生理盐水)、酶解物低剂量组、酶解物高剂量组、酶解物阳性对照组(谷胱甘肽)、美拉德反应产物低剂量组、美拉德反应产物高剂量组、美拉德反应产物阳性对照组(谷胱甘肽与葡萄糖相同条件下制备的产物),具体如表 1 所示。每日定时灌胃 1 次,自由饮水饮食,每喂养 7 d 对小鼠称重。连续喂养 30 d,末次灌胃后使小鼠禁食不禁水,16 h(过夜)后将所有小鼠摘眼球取血,处死后迅速解剖取出肝脏,用预冷的生理盐水洗去血渍,滤纸吸干,称重、剪碎后贮存于液氮中,待匀浆用。

将小鼠眼球取血后,室温静置 1.5 h 后,3000 r/min 离心 15 min,取上清液(即为血液),测定 MDA、SOD、GSH-Px 和 GSH 的含量。取出一定量的小鼠肝脏,进行 4℃解冻后并置匀浆器中,加入 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液,以 20000 r/min 匀浆 10 s,间歇 30 s,反复进行 3 次,制成 10%组织匀浆(m/V),3000 r/min 离心 10 min,取上清液测定 MDA、SOD、GSH-Px 和 GSH 的含量。

表1 各组小鼠基本给药情况

Table 1 Substances administered to each mice group

组别	药物类型	简称	剂量/[mg/(kg·d)]	浓度	灌胃量/(mL/次)
空白组	生理盐水	空白组	0	0.90%	0.3
酶解物低剂量组	鱼肉蛋白酶解物	酶解物-L	50	5 mg/mL	0.3
酶解物高高剂量组	鱼肉蛋白酶解物	酶解物-H	250	25 mg/mL	0.3
酶解物阳性对照组	还原型谷胱甘肽	GSH	50	5 mg/mL	0.3
美拉德反应产物低剂量组	美拉德反应产物	MRPs-L	50	5 mg/mL	0.3
美拉德反应产物高剂量组	美拉德反应产物	MRPs-H	250	25 mg/mL	0.3
美拉德反应阳性对照组	还原型谷胱甘肽美拉德反应产物	GSH-MRPs	50	5 mg/mL	0.3

1.3.4 丙二醛 (MDA) 含量的测定

取 0.2 mL 样液，加入 8.1% 的 SDS 溶液 0.2 mL、0.2 mol/L 乙酸盐缓冲液 1.5 mL、0.8% 的 TBA 溶液 1.5 mL、蒸馏水 0.6 mL，混匀后避光沸水浴中反应 60 min，流水冷却，于 532 nm 比色测定吸光度 A_S ；标准管中以 0.2 mL 浓度为 100 nmol/mL 的四乙氧基丙烷替代样品液反应后测定吸光度 A_C ；以 0.2 mL 蒸馏水替代样品液反应后测定吸光度 A_B ，分别按照下式^[11]计算血液中和肝脏中 MDA 的含量：

$$\text{血液中MDA含量(nmol/mL)} = \frac{A_S - A_B}{A_C - A_B} \times C \times K$$

$$\text{肝脏中MDA的含量(nmol/mg蛋白)} = \frac{A_S - A_B}{A_C - A_B} \times \frac{C \times K}{P}$$

式中，C 为四氧基丙烷浓度，100 nmol/mL；K 为稀释倍数；P 为组织中蛋白质的含量，mg/mL。

1.3.5 GSH-Px 活力测定

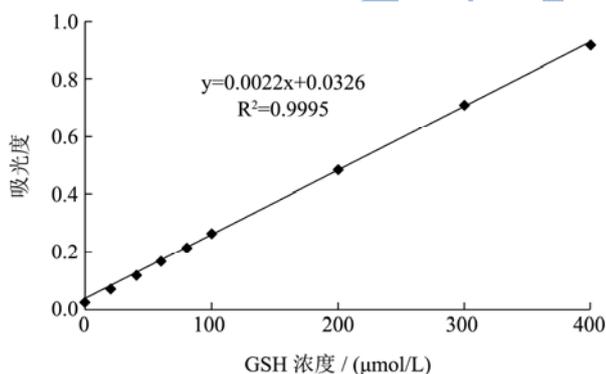


图1 GSH-Px 活力测定标准曲线

Fig.1 Standard curve for determination of GSH-Px activity

采用文献^[12]中的方法测定小鼠血清和肝脏组织中的 GSH-Px 活力，分别取 1.0 mmol/L 的 GSH 溶液 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、2.0、3.0、4.0 mL，各加入偏磷酸沉淀剂 8 mL，用双蒸水稀释至 10 mL 刻度，即得到浓度为 0、20、40、60、80、100、200、300、400 μmol/L 的 GSH 标准液。取上述不同浓度标准液各 2 mL，放入试管中，加入 0.32 mol/L Na_2HPO_4 溶液 2.5

mL，比色前加入 DTNB 显色液 0.5 mL 用光径 1 cm 比色皿，5 min 内在可见光 423 nm 波长测 Abs，以双蒸水调零点。以 GSH 含量 (μmol/L) 为横坐标，Abs 值为纵坐标，绘制标准曲线，如图 1 所示。

鼠血清 GSH-Px 活力单位：规定每 1 mL 血清、每分钟，扣除非酶反应的 $\log[\text{GSH}]$ 降低后，使 $\log[\text{GSH}]$ 降低 1 为一个酶活力单位。

$$R_1 = \frac{A - B}{3 \text{ min} \times 0.004 \text{ mL}}$$

式中， R_1 为血清中 GSH-Px 活力，U/mL；A 为非酶管 $\log[\text{GSH}]$ ；B 为样品管 $\log[\text{GSH}]$ 。

GSH-Px 比活力单位：规定每毫克蛋白质、每分钟，扣除非酶反应，使 GSH 浓度降低 1 μmol/L 为一个酶活力单位。

$$R_2 = \frac{(A - B) \times K \times 5}{3 \times P}$$

式中， R_2 为肝脏中 GSH-Px 活力，U/mg 蛋白；A 为非酶管 Abs；B 为样品管 Abs；K 为标准曲线斜率；P 为组织中蛋白质的含量，mg。

1.3.6 GSH 含量的测定

采用文献^[12]中的方法测定小鼠血清和肝脏中还原型谷胱甘肽的含量，分别按照下式计算 GSH 的含量：

$$R_1 = A \times K$$

$$R_2 = A \times K / P$$

式中， R_1 为血清中 GSH 含量，μmol/L； R_2 为肝脏中 GSH 含量，μmol/g 蛋白；K 为上清液稀释倍数；A 为吸光度值对应的 GSH 含量，μmol/L；P 为样液中蛋白质的含量，mg/mL。

取 1 mmol/L GSH 标准溶液 0、12.5、25、50、100、150、200、250 μL，分别加入生理盐水至 0.5 mL，即得到 0、25、50、100、200、300、400、500 μmol/L 的标准系列溶液，各管加入 DTNB 溶液 4.5 mL，混匀，室温放置 10 min 后，空白管调零，420 nm 处测定吸光度。以浓度为横坐标，吸光度为纵坐标，绘制标准曲线，如图 2 所示。

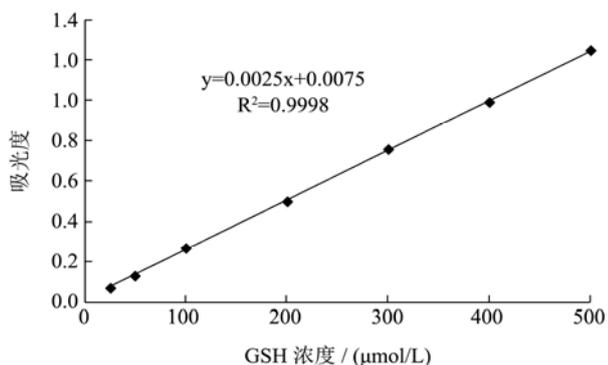


图2 GSH 含量测定标准曲线

Fig.2 Standard curve for determination of GSH

1.3.7 SOD 活力测定

按照 SOD 试剂盒说明操作。

1.3.8 蛋白质含量的测定

采用考马斯亮蓝法^[12]，以牛血清蛋白为标准品绘制标准曲线，如图 3 所示。

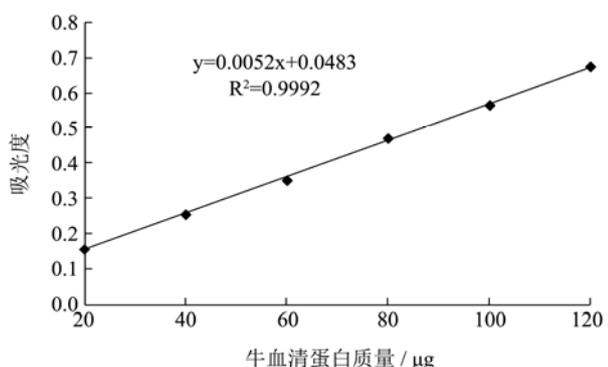


图3 考马斯亮蓝法测定蛋白质的标准曲线

Fig.3 Standard curve for determination of protein by Coomassie blue staining

1.4 数据处理

试验重复测定 3 次，结果表示为平均值±标准偏差 SD。数据统计分析采用 SPSS 17.0 软件进行一维方差分析(one-way ANOVA)，差异显著性采用 Duncan (邓肯) 检验，检验水平 $p < 0.05$ 。

2 结果与讨论

2.1 对小鼠体重的影响

灌胃 30 d 后，各组样品对小鼠体重变化的影响如图 4 所示，在灌胃前，所有小鼠体重平均值为 31.42 ± 2.67 g；在灌喂 14 d 内，小鼠的体重增加较快，平均增重 10 g 左右；而在灌胃 14~30 d 内，小鼠的体重增加较慢，平均增加了 2 g 左右；在灌胃 30 d 后，灌胃美拉德反应修饰产物组的小鼠体重较大，但各组小鼠的体重没有显著性差异 ($p > 0.05$)。上述分析表明，

金带细鲑鱼肉蛋白酶解物的修饰产物不会影响小鼠体重的增加，且可能还会促进小鼠对食物的摄入量或吸收率，这与其他相关的研究结果一致^[11,13]，可能是由于修饰产物影响体内消化酶的活性或者影响适口性，从而促进小鼠体重的增加。然而，Patrignani 等^[14]研究发现，小鼠膳食中强化饼干或高分子量的类黑精组分后其体重增加缓慢，可能是由于蛋白质侧链上赖氨酸的 ϵ -氨基与还原糖缩合而降低了蛋白质的消化性，进而影响小鼠体重变化，这些差异性可能与蛋白质种类、样品修饰程度、实验动物年龄及适应性等因素有关。

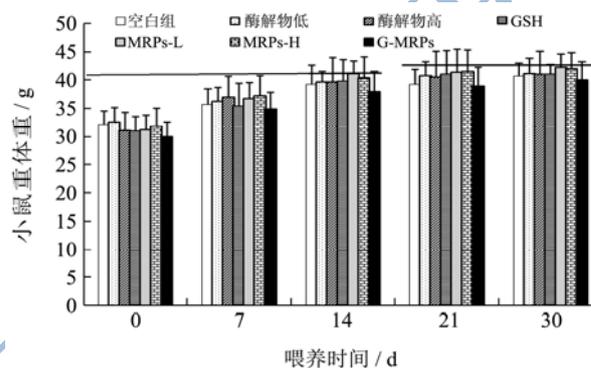


图4 不同受试样品对小鼠体重的影响

Fig.4 Effect of different test samples on body weight of mice

2.2 对小鼠血清及肝组织中 MDA 含量的影响

MDA 是氧自由基与细胞膜表面脂质过氧化反应(不饱和脂肪酸反应)的产物，其含量反应了机体细胞受自由基攻击时组织的脂质过氧化损伤程度^[15]。各受试物对小鼠血清和肝脏中 GSH-Px 活力的影响如图 5 和图 6 所示。

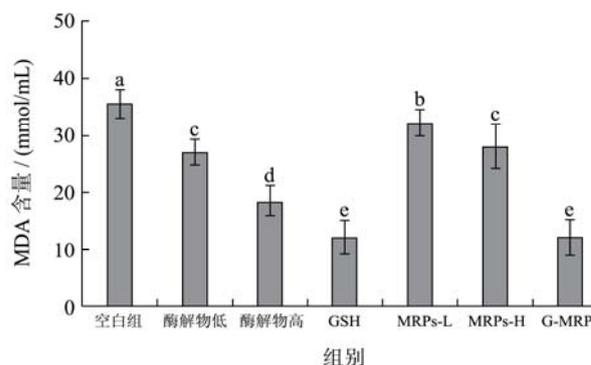


图5 不同受试样品对小鼠血清中的 MDA 含量的影响

Fig.5 Effect of different test samples on the serum MDA content in mice

注：标记不同的小写字母表示差异显著 ($p < 0.05$)，下同。

由图 5 可知，空白组小鼠血清中 MDA 的含量均高于其它组，且差异显著 ($p < 0.05$)，这说明其他组的受试物能够抑制小鼠血清中 MDA 的生成，其中灌胃酶解物高剂量组的小鼠血清中 MDA 含量仅为

18.27±3.02 nmol/mL, 对比空白组下降 48%, 但下降幅度仍不及阳性对照 GSH 组 (65%)。灌胃酶解物及美拉德反应修饰产物的高剂量组小鼠血清中 MDA 的含量要低于酶解物低剂量组小鼠血清中 MDA 的含量 ($p<0.05$), 这表明受试物在小鼠体内的抗氧化性具有一定的浓度依赖性。美拉德修饰反应影响金带细鲐酶解物对小鼠血清中 MDA 形成的影响, 这不同于谷胱甘肽 GSH 及其修饰物的阳性对照组之间没有显著差异 ($p>0.05$), 这主要与抗氧化性物质在小鼠体内的吸收、代谢及其清除自由基能力等方面有关^[11,16], 前期研究^[17]证明修饰产物的羟自由基清除力和亚铁螯合力等体外抗氧化性明显下降, 因而其抑制小鼠血清中 MDA 形成的能力也相应地降低。

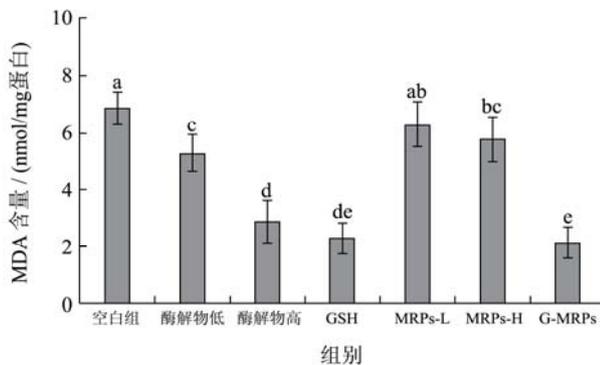


图 6 不同受试样品对小鼠肝脏中 MDA 含量的影响

Fig.6 Effect of different test samples on the hepatic MDA content in mice

由图 6 可知, 灌胃酶解物高剂量组的小鼠肝脏中 MDA 的含量要低于灌胃酶解物低剂量组的小鼠肝脏中 MDA 的含量 ($p<0.05$), 且与阳性对照灌胃还原性谷胱甘肽 GSH 组无显著差异 ($p>0.05$), 其中灌胃酶解物高剂量组和低剂量组的小鼠肝脏中 MDA 的含量比空白组下降 58%和 24%; 灌胃美拉德反应修饰产物的低剂量 MRPs-L 组小鼠肝脏中 MDA 的含量与空白组及 MRPs-H 组没有显著差异 ($p>0.05$), 其他差异性与小鼠血清中 MDA 含量的变化结果一致, 这表明美拉德修饰反应在一定程度上影响金带细鲐酶解物对小鼠肝脏组织中 MDA 的形成。美拉德修饰反应影响金带细鲐酶解物在小鼠体内的抗氧化作用, 可能与修饰产物或体内代谢产物的清除自由基能力和螯合作用有关, 前期研究^[17]证明修饰产物的羟自由基清除力和亚铁螯合力等体外抗氧化性明显下降, 因而其阻止细胞或组织中脂质过氧化性能也下降。

2.3 对小鼠血清及肝组织中 SOD 含量的影响

根据 Harman 自由基理论, 肝脏是最易遭受攻击引发病变的脏器, 因此检测肝脏中 SOD 的活力可反

映小鼠脏器受氧化损伤情况和自身的抵抗性^[18]。各受试物对小鼠血清和肝脏中 SOD 活力的影响如图 7 和图 8 所示。

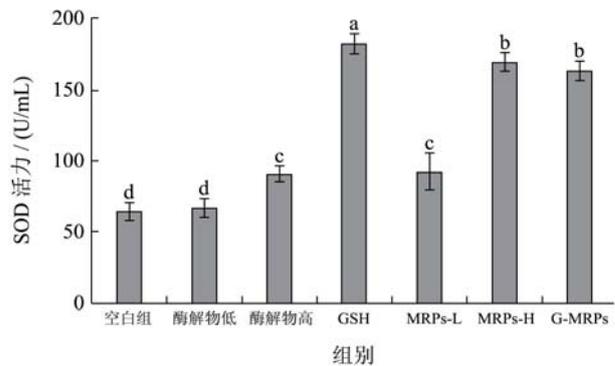


图 7 不同受试样品对小鼠血清中 SOD 活力的影响

Fig.7 Effect of different test samples on the serum SOD activity in mice

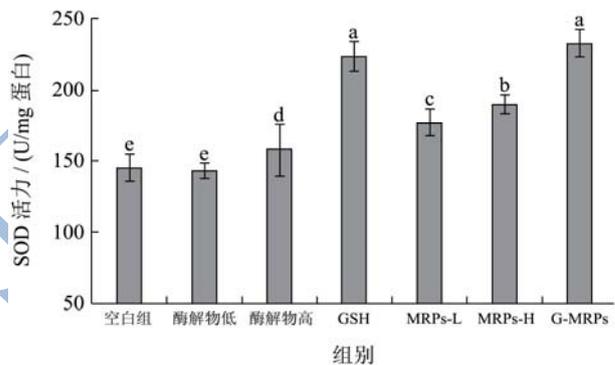


图 8 不同受试样品对小鼠肝脏中 SOD 活力的影响

Fig.8 Effect of different test samples on the hepatic SOD activity in mice

如图 7 所示, 灌胃酶解物低剂量组的小鼠血清中 SOD 的活力与空白组无差异 ($p>0.05$), 而灌胃酶解物高剂量组的小鼠血清中 SOD 的活力有一定程度的增加 ($p<0.05$), 比空白组增加 41%, 但是远低于阳性对照 GSH 组小鼠血清中 SOD 的活力 ($p<0.05$)。灌胃同浓度的美拉德修饰产物的小鼠血清中 SOD 活力显著高于灌胃酶解物组小鼠血清中 SOD 的活力 ($p<0.05$), 其中灌胃高剂量组的小鼠血清中 SOD 活力由 89.65±6.27 U/mL 变为 169.19±13.67 U/mL, 上升幅度高达 89%, 且灌胃修饰产物的高剂量 MRPs-H 组与阳性对照 G-MRPs 组无显著差异 ($p>0.05$), 这表明美拉德修饰反应在一定程度上可提高金带细鲐酶解物对小鼠血清中 SOD 活力的影响, 这不同于已研究报道的小鼠膳食中增加面包类黑精等组分可降低肝脏等组织中 SOD 的活力, 主要是由于类黑精组分中的丙酮醛可抑制 SOD 的活力^[19], 而金带细鲐酶解物及其修饰物中这些组分的含量较少, 因而对小鼠血清中 SOD 活力的抑制作用也非常低。

由图 8 可知, 灌胃酶解物高剂量组、美拉德反应修饰物低剂量 MRP_s-L 组和高剂量 MRP_s-H 组的小鼠肝脏中 SOD 活力显著高于空白组 ($p < 0.05$), 比空白组分别增加 9%、22% 和 30%, 而低于阳性对照 GSH 组与 G-MRP_s 组 ($p < 0.05$)。美拉德修饰反应产物对小鼠肝脏中 SOD 活力的影响显著高于相同浓度下酶解物对小鼠肝脏中 SOD 活力的影响, 其中灌胃高剂量组的小鼠肝脏中 SOD 活力由 157.65 ± 17.49 U/mg 蛋白变为 188.76 ± 7.30 U/mg 蛋白, 上升幅度达 20%。SOD 是细胞和组织中可有效分解氧自由基而保护机体的主要酶类, 是生物体内重要的抗氧化酶, 可阻断氧自由基对细胞造成的损害, 其活力下降将会增加超氧阴离子的含量而抑制过氧化氢酶的活力^[11], 因而 SOD 水平的高低是机体抗氧化能力的直观指标, 酶解物及其修饰产物可增加小鼠血清和肝脏组织中 SOD 活力而加快活性氧自由基的清除, 从而增强小鼠体内抗氧化活性。

2.4 对小鼠血清及肝组织中 GSH-Px 活力的影响

GSH-Px 是催化过氧化氢分解的酶, 还能阻断体内脂质过氧化的进程, 使脂质过氧化物还原成无害的羟基化合物, 通过测定 GSH-Px 的活力能反应机体的受损情况, 各受试物对小鼠血清和肝脏中 GSH-Px 活力的影响如图 9 和图 10 所示。

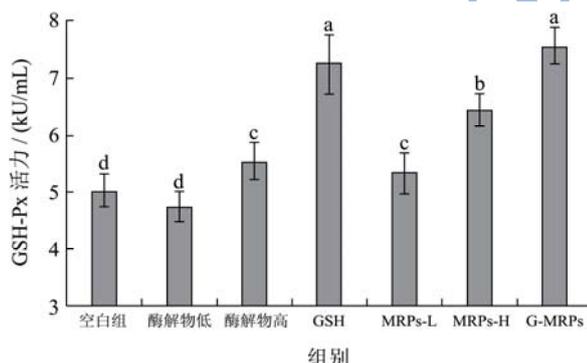


图 9 不同受试样品对小鼠血清中 GSH-Px 活力的影响

Fig.9 Effect of different test samples on the serum GSH-Px activity in mice

由图 9 可知, 除了灌胃酶解物低剂量组的小鼠外, 灌胃其他样品的小鼠血清中 GSH-Px 活力均显著高于空白组小鼠血清中 GSH-Px 活力 ($p < 0.05$), 其中灌胃酶解物高剂量组、美拉德反应修饰物低剂量 MRP_s-L 组和高剂量 MRP_s-H 组的小鼠血清中 GSH-Px 活力比空白组分别增加 10%、7% 和 28%。灌胃美拉德反应修饰产物高剂量 MRP_s-H 组的小鼠血清中 GSH-Px 活

力显著高于灌胃酶解物高剂量组, 其活力值由 5.52 ± 0.34 ku/mL 变为 6.42 ± 0.31 ku/mL, GSH-Px 活力增加 16%, 而且其 GSH-Px 活力仅次于阳性对照 GSH 组和 G-MRP_s 组 ($p < 0.05$), 与 Patrignani 等^[14] 研究报道的美拉德反应产物可增加小鼠血清中 GSH-Px 等抗氧化酶活力的结论一致。

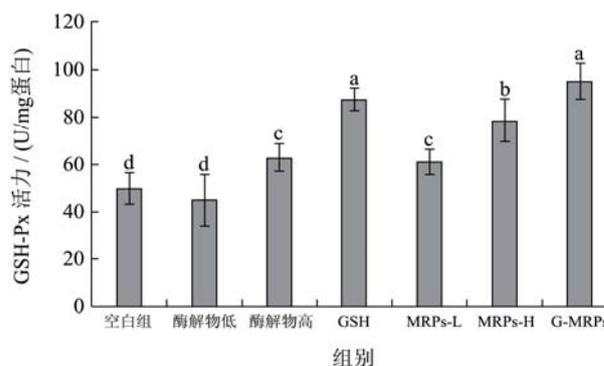


图 10 不同受试样品对小鼠肝脏中 GSH-Px 活力的影响

Fig.10 Effect of different test samples on the hepatic GSH-Px activity in mice

由图 10 可知, 灌胃酶解物高剂量组、美拉德反应修饰物低剂量 MRP_s-L 组和高剂量 MRP_s-H 组的小鼠肝脏中 GSH-Px 活力均显著高于空白组 ($p < 0.05$), 分别比对照组增加 26%、22% 和 57%, 但是低于阳性对照 GSH 组和 G-MRP_s 组 ($p < 0.05$); 而灌胃酶解物低剂量组的小鼠肝脏中 GSH-Px 活力与空白组的 GSH-Px 活力之间无显著差异 ($p > 0.05$)。灌胃美拉德反应修饰产物的小鼠肝脏中 GSH-Px 的活力显著高于相同浓度下灌胃酶解物的小鼠肝脏中 GSH-Px 的活力, 其中灌胃美拉德反应修饰产物高剂量 MRP_s-H 组和酶解物高剂量组的小鼠肝脏中 GSH-Px 活力值分别为 62.45 ± 6.40 U/mg 蛋白、 77.97 ± 9.79 U/mg 蛋白, GSH-Px 活力增加 25%, 这表明美拉德修饰反应可提高金带细鲈酶解物对小鼠肝脏中 GSH-Px 活力的影响。

GSH-Px 也是细胞和组织中可有效分解氧自由基而保护机体的主要酶类, GSH-Px 负责催化细胞内有毒的过氧化物还原为无毒的羟基化合物, 主要负责转化 SOD 催化形成的 H_2O_2 而保护细胞膜的结构和功能不受过氧化物的干扰和损害, 因而组织中 SOD 与 GSH-Px 酶的比例不平衡也会导致 H_2O_2 的过渡累积^[19], 美拉德反应修饰产物及其在小鼠体内的降解产物可能是通过提高谷胱甘肽的含量进而增加 SOD 和 GSH-Px 酶的含量和活力。这表明, 金带细鲈酶解物及其修饰产物可增加肝脏中抗氧化酶的活力, 降低活性氧自由基的含量, 从而对小鼠的肝脏等组织具有一定的保护作用, 且随剂量增加效果增强。

2.5 对小鼠血清及肝组织中还原型谷胱甘肽

(GSH) 含量的影响

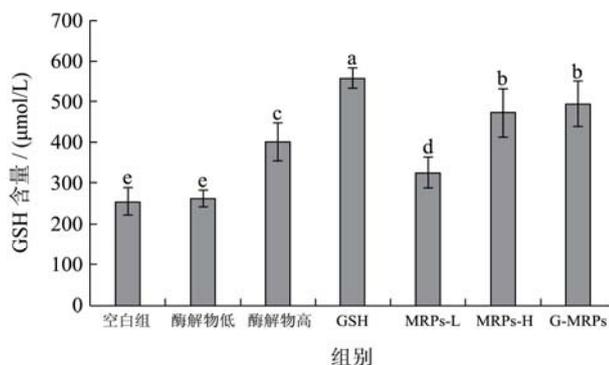


图 11 不同受试样品对小鼠血清中 GSH 含量的影响

Fig.11 Effect of different test samples on the serum GSH content in mice

由图 11 可知,除灌胃酶解物低剂量组的小鼠血清中 GSH 的含量与空白组无显著差异外 ($p>0.05$),灌胃其他受试物的小鼠血清中 GSH 的含量均高于空白组小鼠血清中 GSH 的含量 ($p<0.05$),其中灌胃酶解物高剂量组、美拉德反应修饰物低剂量 MRPs-L 组和高剂量 MRPs-H 组的小鼠血清中 GSH 含量比空白组分别增加 59%、28%和 88%,但是低于阳性对照 GSH 组和 G-MRPs 组 ($p<0.05$)。灌胃美拉德修饰产物的低剂量 MRPs-L 组和高剂量 MRPs-H 组的小鼠血清中 GSH 的含量显著高于灌胃相同剂量酶解物组的小鼠血清中 GSH 的含量 ($p<0.05$),其中灌胃美拉德反应修饰产物高剂量 MRPs-H 组和酶解物高剂量组的小鼠血清中 GSH 含量分别为 $397.00\pm 49.65 \mu\text{mol/L}$ 、 $471.56\pm 60.47 \mu\text{mol/L}$, GSH 含量增加 19%,这表明美拉德修饰反应可提高金带细鲈鱼肉蛋白酶解物对小鼠血清中 GSH 含量的影响。

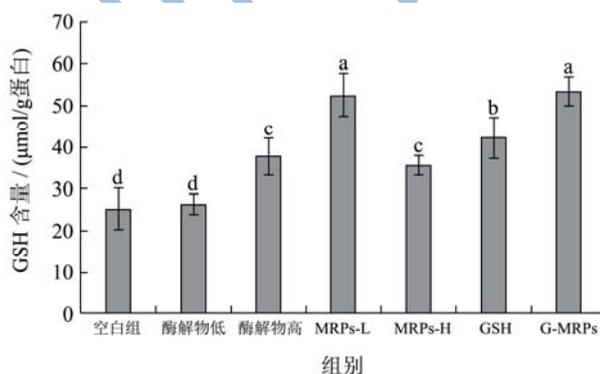


图 12 不同受试样品对小鼠肝脏中 GSH 含量的影响

Fig.12 Effect of different test samples on the hepatic GSH content in mice

由图 12 可知,不同受试物对小鼠肝脏中 GSH 含量的影响结果与血清中 GSH 含量的影响结果一致,除了灌胃酶解物低剂量组外,灌胃其他受试物的小鼠肝脏中 GSH 含量均显著高于空白组 ($p<0.05$),其中灌胃酶解物高剂量组、美拉德反应修饰物低剂量 MRPs-L 组和高剂量 MRPs-H 组的小鼠肝脏中 GSH 含量比空白组分别增加 49%、40%和 67%。灌胃 MRPs-H 组的小鼠肝脏中 GSH 含量 ($37.51\pm 4.53 \mu\text{mol/g}$ 蛋白)显著高于灌胃酶解物高剂量组小鼠血清中 GSH 的含量 ($42.11\pm 5.03 \mu\text{mol/g}$ 蛋白), GSH 含量增加 12%,但是低于阳性对照 GSH 组和 G-MRPs 组 ($p<0.05$),这表明美拉德修饰反应可提高金带细鲈鱼肉蛋白酶解物对小鼠肝脏中 GSH 含量的影响,美拉德反应修饰产物及其代谢产物在体内具有一定的抗氧化作用,可能与其清除自由基有关,进而阻止细胞脂质过氧化,这与其他研究报道^[20]的面包、麦芽或咖啡中的美拉德反应产物可增加血液的抗氧化性和还原型 GSH 的含量,提高肝脏或肾脏中 SOD、CAT 和 GSH-Px 等抗氧化酶活力的结论一致。

3 结论

在灌胃 30 d 后各试验组小鼠均未出现死亡,说明各组受试物对小鼠没有毒副作用,且小鼠体重的变化没有显著差异 ($p>0.05$)。金带细鲈鱼肉蛋白酶解物及其美拉德反应修饰产物能显著提高小鼠血清或肝脏中 SOD 活力和 GSH-Px 活力及 GSH 的含量 ($p<0.05$),且酶解物及其修饰产物均能降低小鼠血清和肝脏中 MDA 的形成,这表明金带细鲈酶解物及其美拉德反应修饰产物均具有良好的体内抗氧化活性,对小鼠的氧化损伤具有一定的保护作用。

参考文献

- [1] Olsen R L, Toppe J, Karunasagar I. Challenges and realistic opportunities in the use of by-products from processing of fish and shellfish [J]. Trends in Food Science & Technology, 2014, 36(2): 144-151
- [2] Hamedy P A, FitzGerald R J. Bioactive peptides from marine processing waste and shellfish: A review [J]. Journal of Functional Foods, 2012, 4(1): 6-24
- [3] Oliver C M, Melton L D, Stanley R A. Creating proteins with novel functionality via the Maillard reaction: A review [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2006, 46(4): 337-350
- [4] Foegeding E A, Davis J P. Food protein functionality: A comprehensive approach [J]. Food Hydrocolloids, 2011,

- 25(8): 1853-1864
- [5] Papetti A, Daglia M, Aceti C, et al. Isolation of an *in vitro* and *ex vivo* antiradical melanoidin from roasted barley [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(4): 1209-1216
- [6] Amarowicz R. Antioxidant activity of Maillard reaction products [J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2009, 111(2): 109-111
- [7] Jing H, Kitts D D. Chemical characterization of different sugar-casein Maillard reaction products and protective effects on chemical-induced cytotoxicity of Caco-2 cells [J]. Food and Chemical Toxicology, 2004, 42(11): 1833-1844
- [8] Wolfe K L, Liu R H. Cellular antioxidant activity (CAA) assay for assessing antioxidants, foods, and dietary supplements [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2007, 55(22): 8896-8907
- [9] Yilmaz Y, Toledo R. Antioxidant activity of water-soluble Maillard reaction products [J]. Food Chemistry, 2005, 93(2): 273-278
- [10] 王军,王忠合,宋凤艳,等.糖基化反应对鸡蛋清蛋白与低聚麦芽糖交联物活性和功能性的影响[J].现代食品科技, 2014,30(10):22-29,95
WANG Jun, WANG Zhong-he, SONG Feng-yan, et al. Influence of glycation on biological activity and functional properties of egg white protein-maltooligosaccharide conjugation [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(10): 22-29, 95
- [11] Pastoriza S, Rufián-Henares J Á, Delgado-Andrade C. Effects of long-term consumption of standard diets including glucose-lysine model glycated compounds on the antioxidant status of adult rats [J]. Food Chemistry, 2015, 183(9): 283-290
- [12] 国家食品药品监督管理局.抗氧化功能评价方法[Z].北京:2012
State Food and Drug Administration. Evaluation methodology of antioxidant function [Z]. Beijing: 2012
- [13] Birlouez-Aragon I, Saavedra G, Tessier F J, et al. A diet based on high-heat-treated foods promotes risk factors for diabetes mellitus and cardiovascular diseases [J]. American Journal of Clinical Nutrition, 2010, 91(5): 1220-1226
- [14] Patrignani M, Rinaldi G J, Lupano C E. *In vivo* effects of Maillard reaction products derived from biscuits [J]. Food Chemistry, 2016, 196(4): 204-210
- [15] Moon J K, Shibamoto T. Antioxidant assays for plant and food components [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(5): 1655-1666
- [16] Korir M W, Wachira F N, Wanyoko J K, et al. The fortification of tea with sweeteners and milk and its effect on *in vitro* antioxidant potential of tea product and glutathione levels in an animal model [J]. Food Chemistry, 2014, 145(2): 145-153
- [17] 卢彬,王忠合,王军,等.温度对金带细鲈鱼肉水解物美拉德反应及其产物抗氧化性的影响[J].食品与机械,2015,31(1): 25-29
LU Bin, WANG Zhong-he, WANG Jun, et al. Effect of temperature on maillard reaction and antioxidant activity of the maillard reaction products derived from yellow stripe trevally (*Selaroides Leptolepis*) fish hydrolysates [J]. Food & Machinery, 2015, 31(1): 25-29
- [18] Mohd Esa N, Abdul Kadir K K, Amom Z, et al. Antioxidant activity of white rice, brown rice and germinated brown rice (*in vivo* and *in vitro*) and the effects on lipid peroxidation and liver enzymes in hyperlipidaemic rabbits [J]. Food Chemistry 2013, 141(2): 1306-1312
- [19] Pastoriza S, Roncero-Ramos I, Rufián-Henares J Á, et al. Antioxidant balance after long-term consumption of standard diets including bread crust glycated compounds by adult rats [J]. Food Research International, 2014, 64(10): 106-113
- [20] Somoza V. Five years of research on health risk and benefits of Maillard reaction products: An update [J]. Molecular Nutrition and Food Research, 2005, 49(7): 663-672