

鸡肉酶解物提高小鼠的抗疲劳及抗氧化活性

郑华¹, 莫妮妹¹, 戴妍¹, 林捷^{1,2}, 李航宇¹, 郑夏彤¹, 吴伟彬¹

(1. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510642)

(2. 畜禽产品精准加工和安全控制技术国家地方联合工程研究中心, 广东广州 510642)

摘要: 论文研究了鸡肉酶解物 EP1 和 EP2 的抗疲劳及抗氧化效果。以生理盐水及鸡肉匀浆[蛋白质剂量 200 mg/(kg·bw·d)]作为对照组, 以 40 mg/(kg·bw·d)和 200 mg/(kg·bw·d)两个剂量的鸡肉酶解物 EP1 和 EP2 对实验小鼠进行灌胃实验 28 d 后, 测定小鼠的力竭游泳时间、游泳 30 min 后的血清尿素氮含量、血清乳酸含量及肝糖原含量, 并分析了小鼠血清中 SOD (超氧化物歧化酶)、GSH-Px (谷胱甘肽过氧化物酶) 和 CAT (过氧化氢酶) 等主要抗氧化酶的活性。结果显示, 鸡肉酶解物能够有效延长小鼠的力竭游泳时间 (SC 组为 766 s, 而 H-EP1 组可达到 2307 s); 显著降低游泳 30 min 后小鼠的血清乳酸含量 (SC 组为 10.06 mmol/L, H-EP1 组和 H-EP2 均为 6.66 mmol/L) 及血清尿素氮含量 (SC 组为 19.72 mmol/L, H-EP1 组仅为 13.34 mmol/L), 提高肝糖原含量 (SC 组为 5.11 mg/g, H-EP2 组可达到 8.35 mg/g); 显著提高游泳 30 min 后小鼠的血清中 SOD (从 89.08 U/mL 提高到 160.13 U/mL)、CAT (从 0.25 U/mL 提高到 0.29 U/mL) 和 GSH-Px (从 257.36 U/mL 提高到 597.08 U/mL) 等抗氧化酶的活性。研究结果提示, 鸡肉酶解物 EP1 和 EP2 能够显著延长实验小鼠的力竭游泳时间, 减少实验小鼠激烈运动时肝糖原的消耗和乳酸的产生与沉积, 促进实验小鼠体内蛋白质的代谢及有效清除血清尿素氮, 提高实验小鼠机体的血清 SOD、CAT 及 GSH-Px 等抗氧化酶的活性, 增强机体清除自由基的能力, 改善小鼠的运动状况, 确保小鼠在激烈运动状态下机体处于有氧运动模式, 从而降低激烈运动后机体的疲劳程度, 具有显著的抗疲劳和抗氧化效果。

关键词: 鸡肉酶解物; 抗疲劳; 抗氧化活性

文章编号: 1673-9078(2020)06-9-16

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.6.1079

Chicken Enzymatic Hydrolysates Improved Anti-fatigue and Antioxidant Activities in Mice

ZHENG Hua¹, MO Ni-mei¹, DAI Yan¹, LIN Jie^{1,2}, LI Hang-yu¹, ZHENG Xia-tong¹, WU Wei-bin¹

(1. College of Food Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

(2. National and Local Joint Engineering Research Center of Precision Processing and Safety Control Technology for Livestock and Poultry Products, Guangzhou 510642, China)

Abstract: This study investigated the anti-fatigue and anti-oxidation effects of chicken enzymatic hydrolysates EP1 and EP2. Normal saline and chicken homogenate [protein dose 200 mg/(kg·bw·d)] were used as the control group, and two doses of EP1 and EP2, 40 mg/(kg·bw·d) and 200 mg/(kg·bw·d), were administered by gavage into the mice. After 28 days of administration, the exhausted swimming time, and the serum urea nitrogen content, serum lactic acid content and liver glycogen content in the mice after 30 min of swimming were measured. The activities of SOD (superoxide dismutase), GSH-Px (glutathione peroxidase) and CAT (catalase) in mouse serum were also analyzed. The results showed that chicken hydrolysates could effectively prolong the exhausted swimming time of mice (the SC group 766 s; the H-EP1 group 2307 s). After 30 min of swimming, the contents of serum lactic acid (the SC group 10.06 mmol/L; both the H-EP1 and H-EP2 groups 6.66 mmol/L) and serum urea nitrogen (the SC group 19.72 mmol/L; the H-EP1 group 13.34 mmol/L) decreased significantly, whilst the

引文格式:

郑华,莫妮妹,戴妍,等.鸡肉酶解物提高小鼠的抗疲劳及抗氧化活性[J].现代食品科技,2020,36(6):9-16

ZHENG Hua, MO Ni-mei, DAI Yan, et al. Chicken enzymatic hydrolysates improved anti-fatigue and antioxidant activities in mice [J].

Modern Food Science and Technology, 2020, 36(6): 9-16

收稿日期: 2019-11-06

基金项目: 国家肉鸡产业体系 (CARS-41-G16); 广东省畜禽肉类农产品精深加工项目[粤财农(2017)100号]; 广东省家禽产业技术体系创新团队建设项目 (2019KJ128); 广东省大学生创新创业训练计划项目 (201810564121)

作者简介: 郑华 (1966-), 男, 副教授, 硕士, 研究方向: 畜禽产品加工

content of liver glycogen (the SC group 5.11 mg/g; the H-EP2 group 8.35 mg/g) as well as the activities of serum SOD, GSH-Px. and CAT antioxidant enzymes increased significantly. The research results suggest that chicken enzymatic hydrolysates EP1 and EP2 could significantly extend the exhaustion swimming time of mice, reduced the consumption of liver glycogen and the production and deposition of lactic acid in mice after intense exercise, promoted protein metabolism, removed effectively the serum urea nitrogen in mice, increased the antioxidant activities of serum SOD (from 89.08 to 160.13 U/mL), CAT (from 0.25 to 0.29 U/mL) and GSH-Px. (from 257.36 to 597.08 U/mL) in mice, enhance the free radical scavenging ability of mice, and improved the exercise status of mice. These changes ensure that the mice subjected to intense exercise remained in the mode of aerobic exercise, so as to reduce the body's fatigue after intense exercise, with significant anti-fatigue and anti-oxidation effects.

Key word: chicken enzymatic hydrolysates; anti-fatigue; antioxidant enzyme activity

生物活性肽(Bio-logically Active Peptide, BAP)简称为活性肽(A.P),又称功能肽,是对生命体的生命活动具有积极作用、并最终影响机体健康的特殊蛋白片段^[1]。食物蛋白经酶解后获得的活性肽通常包含2~20个氨基酸残基,而其功能活性取决于蛋白质本身的理化特性、水解肽的分子质量、氨基酸含量、氨基酸组成、氨基酸序列等因素^[2]。1982年第5届国际运动生物化学会议上,对运动性疲劳定义为:机体的生理过程不能持续其机能在一特定水平或不能维持预定的运动强度^[3]。关于疲劳产生的机理,主要分为六大学说,分别是能源物质耗竭学说、代谢产物积累学说、自由基学说、保护性抑制学说、内环境失调学说和突变学说^[4]。从目前的理论研究上来看,肽的抗疲劳能力主要是:①作为疲劳机体的能量来源(如高F值寡肽)^[5];②消除疲劳代谢产物^[6];③清除疲劳机体内过多的自由基^[7]。鸡肉是优质的蛋白质来源,每100g鸡肉中含有蛋白质21.73g^[8],鸡肉蛋白的氨基酸组成比例平衡,抗氧化性氨基酸含量较高^[9],鸡肉酶解物具有较强的清除自由基的抗氧化活性^[10]。在动物体内,蛋白质经消化变为肽和游离氨基酸等产物,并主要是以小肽形式被吸收^[11];寡肽可通过细胞旁途径、被动扩散、内吞作用或载体转运后被小肠上皮细胞吸收^[12]。蛋白质酶解是有效的生物活性肽和氨基酸制备方法,酶解条件温和、安全性高、可控性强、可以规模化生产。在实际生产中,被称为活性肽的酶解产物一般是各种肽段的混合物,活性效果也往往是多种肽段活性协作的结果,其中某些活性甚至来自游离氨基酸^[13]。论文以鸡肉酶解物EP1和EP2为样本,分析其对实验小鼠体内抗氧化酶活力和抗疲劳活性,探讨鸡肉酶解物的体内抗氧化性与抗疲劳能力的关联性。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

鸡肉酶解物(Chicken Enzymatic Hydrolysates,

CEH):以鸡胸肉为原料,经特定工艺提取获得的鸡肉盐溶蛋白及鸡肉肌纤维蛋白,通过酸性蛋白酶深度酶解制备获得的两种鸡肉酶解物EP1和EP2。

鸡肉酶解物的制备与分析。EP1的制备:以鸡肉盐溶蛋白为底物,底物浓度蛋白质含量7.0%(W/V)、E:S=1ku/g蛋白质、温度45℃、pH值4.0、酶解8h,获得EP1,EP1中肽(含氮物)含量27.33mg/mL。EP2的制备:以鸡肉肌纤维蛋白为底物,底物浓度蛋白质含量7.0%(W/V)、E:S=3ku/g蛋白质、温度45℃、pH值4.5、酶解8h,获得EP2,EP2中肽(含氮物)含量32.31mg/mL。采用高效凝胶色谱法(色谱柱:TSKgel 2000 SWXL 300mm×7.8mm)对EP1及EP2进行分子量分布检测,EP1分子量分布:分子量>1000u占3.02%,1000~500u占8.53%,500~180u占57.79%,<180u占30.66%;EP2分子量分布:分子量>1000u占1.82%,1000~500u占7.04%,500~180u占47.7%,<180u占43.45%。

实验小鼠:昆明种雄性小白鼠(Specific Pathogen Free, SPF级),购于广东省医学动物实验中心[实验动物生产许可证号:SCXK(粤)2013-0002]。小鼠饲料:舒克贝塔实验鼠维持饲料[全价颗粒饲料,生产许可证:苏饲证(2014)01008,营养成分执行标准:GB 14924.3-2010,其中,饲料中的粗蛋白含量≥180g/kg],江苏省协同医药生物工程有限责任公司。

肝糖原试剂盒(货号:A043)、乳酸试剂盒(货号:A019-2)、尿素氮试剂盒(货号:C013-2)、过氧化氢酶试剂盒(货号:A007-1-1)、超氧化物歧化酶试剂盒(货号:A001-3)、谷胱甘肽过氧化物酶试剂盒(货号:A005)均购于南京建成生物工程研究所。

1.2 仪器与设备

多功能酶标仪,美国PerkinElmer公司;96孔酶标板,美国康宁(Corning)公司;Dragonlab移液枪,大龙医疗设备有限公司;分光光度计UV1240,岛津仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 抗疲劳功能性验证实验小鼠准备、分组及喂养

实验方法参照《保健食品检验与评价技术规范实施手册-2003版》^[14]。

实验小鼠准备:选用4周龄雄性成年昆明种小鼠,适应性喂养(温度保持 22 ± 2 ℃,相对湿度保持 $50\%\pm 10\%$,噪音 <60 dB,模拟白天和晚上的时间间隔为12h,自由进食和饮水);一周后,体重达 27 ± 0.6 g,开始实验。

实验小鼠分组:120只小鼠随机分为6组,每组20只,实验前逐只称重,使组间初重差异不显著($p>0.05$)。设置生理盐水对照组(Saline Control, SC)和鸡肉匀浆对照组(Homogenate Control, HC);实验组为EP1和EP2,分别设置 40 mg/kg·bw·d和 200 mg/kg·bw·d两个剂量,每只胃饲(灌胃喂饲)容量均 0.2 mL/d^[15]。

小鼠饲养:实验小鼠集中饲养于华南农业大学动物实验中心[许可证编号:SYXK(粤)2014-0136],温度为 22 ± 2 ℃,相对湿度 $50\%\pm 10\%$,噪音 <60 dB,模拟白天和晚上的时间间隔为12h,自由进食和饮水,垫料保持干燥卫生,隔天更换垫料。每天上午10:00~11:00按时喂饲,定期称重,实验为期28d;每组10只小鼠用于力竭游泳实验,另10只用于游泳30min后的生化指标检测。

1.3.2 小鼠体重变化

小鼠按照体重随机分组,确保组间t检验无差异。共分为6大组,每组20只,分别进行组别和小鼠染色编号。每4d灌胃前称重实验小鼠。

1.3.3 小鼠力竭游泳时间检测^[16]

末次小鼠胃饲30min后,于小鼠尾端负载5%体重的铅皮,放入水深30cm,水温 25 ± 0.5 ℃的实验水箱中,以小鼠沉入水中超过7s不能把头伸出水面呼吸为力竭状态,记录自开始游泳至出现力竭状态的时

间,作为小鼠力竭游泳时间。

1.3.4 小鼠生化指标测定

末次小鼠胃饲后经30min休息,将小鼠放入放于水深为30cm,水温为 (25 ± 1) ℃的实验水箱中游泳30min后取出,目内眦静脉采血,血液经3000r/min离心10min,收集上层血清,采用分光光度法测定血清尿素氮(Serum Urea Nitrogen, SUN)、血清乳酸(Serum Lactic Acid, SLA),分别参照相应试剂盒说明书测定。将采血后的小鼠以颈椎脱臼法处死,取肝脏,采用分光光度法测定肝糖原含量,参照肝糖原试剂盒说明书测定。

1.3.5 小鼠体内抗氧化酶的测定

末次小鼠胃饲后经30min休息,将小鼠放入放于水深为30cm,水温为 (25 ± 1) ℃的实验水箱中游泳30min后取出,目内眦静脉采血,血液经3000r/min离心10min,收集上层血清,用于测定各项抗氧化酶。

谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione Peroxidase, GSH Px)、超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)的活性测定:采用分光光度法,分别参照相应试剂盒说明书测定。其中,GSH-Px酶活定义为扣除非酶促反应作用,使反应体系中GSH浓度降低 1 μmol/L为一个酶活力单位(U);SOD酶活,以SOD抑制率达50%时所对应的酶量为一个SOD活力单位(U);CAT酶活为反应体系中每毫升血清或血浆每秒钟分解 1 μmol/L的 H_2O_2 的量为一个活力单位(U)。

1.4 据分析方法

采用SPSS 19、统计软件进行单因素方差分析ANOVA,组间比较用LSD法,采用Origin 8进行面积积分计算,用Excel进行实验数据做图。

2 结果与讨论

2.1 鸡肉酶解物对实验小鼠各阶段体重的影响

表1 鸡肉酶解物对实验小鼠各阶段体重的影响(g)

Table 1 Effects of chicken enzymatic hydrolysates on body weight of mice in different stages

实验分组	实验时间/d							
	0	4	8	12	16	20	24	28
SC	27.41±2.95	32.17±2.19	37.67±2.29	39.78±2.64	41.37±2.84	42.36±3.39	43.53±3.46	45.47±4.10
HC	27.41±2.19	32.13±1.48	36.37±1.68	39.06±1.75	41.02±1.68	41.88±1.59	43.23±1.74	45.51±1.96
L-EP1	27.28±2.67	31.82±2.68	35.91±3.12	38.42±3.41	39.90±3.42	41.22±3.58	42.33±3.82	43.59±3.53
H-EP1	27.67±2.06	31.77±2.07	36.25±2.46	39.15±2.94	41.09±3.24	42.68±3.40	44.11±3.60	45.26±3.69
L-EP2	27.08±3.29	31.45±3.29	35.97±4.02	38.81±4.62	40.48±4.84	42.00±5.44	43.71±5.92	45.81±6.22
H-EP2	27.50±2.44	31.33±1.99	35.81±2.34	38.27±2.54	39.45±2.69	40.86±3.02	42.01±3.69	42.85±5.05

实验每天按时胃饲, 每4 d 称重, 实验为时 28 d, 实验小鼠各阶段的体重结果如表 1 所示。

表 1 结果显示, 在为时 28 d 的小鼠实验过程中, 小鼠各阶段的平均体重在各实验组与生理盐水对照组及鸡肉匀浆组间均不存在显著性差异 ($p>0.05$)。实验结果表明, 在正常营养饲料喂养基础上, 增加胃饲鸡肉匀浆或鸡肉酶解物, 并不会导致实验小鼠体重过于增加而出现肥胖现象。

2.2 鸡肉酶解物对小鼠力竭游泳时间的影响

力竭游泳作为抗疲劳能力评价的主要实验模型, 能够有效评价小鼠的耐受能力^[17]。鸡肉酶解物对小鼠力竭游泳时间的影响结果如图 1 所示。

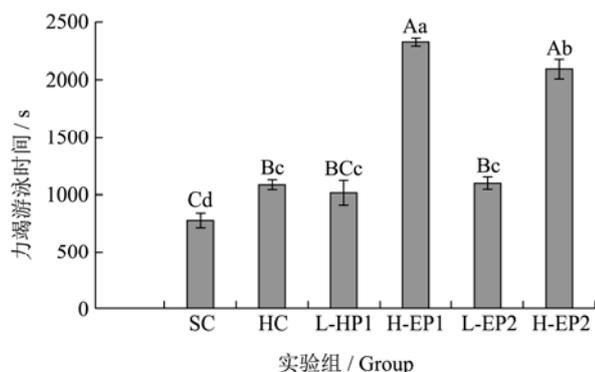


图 1 鸡肉酶解物对小鼠力竭游泳时间的影响

Fig.1 Effects of chicken enzymatic hydrolysates on the exhausted swimming time in mice

注: 不同大写字母表示极差异显著 ($p<0.01$); 不同小写字母表示差异显著 ($p<0.05$), 图 1~7 同。

图 1 结果显示, 鸡肉酶解物各实验组小鼠的力竭游泳时间比鸡肉匀浆 (HC) 组及生理盐水对照 (SC) 组均显著长 ($p<0.01$ 或 $p<0.05$), 其中高剂量 H-EP1 组小鼠力竭游泳时间 2307 s, 比 SC 组 (766 s) 延长 1541 s, 比 HC 组 (1078 s) 延长 1229 s; H-EP2 组小鼠力竭游泳时间 2067 s, 比 SC 组延长 1301 s, 比 HC 组延长 989 s; H-EP1、H-EP2 分别与 L-EP1 (1002 s) 和 L-EP2 (1081 s) 的组间差异均呈极显著 ($p<0.01$), 其中 H-EP1 比 L-EP1 延长 1306 s, 比 L-EP2 延长 1227 s, H-EP2 比 L-EP1 延长 1065 s, 比 L-EP2 延长 986 s; L-EP1、L-EP2 分别与 SC 组间的差异为显著 ($p<0.05$), 与 HC 组间差异为不显著 ($p>0.05$)。结果表明, 鸡肉酶解物对延长小鼠力竭游泳时间具有显著的效果, 且与小鼠的胃饲剂量存在着量效关系, 高剂量组的抗疲劳效果更明显。

2.3 鸡肉酶解物对小鼠血清生化指标的影响

胃饲鸡肉酶解物 28 d 的实验小鼠, 游泳 30 min

后, 以目内眦静脉采血, 经离心收集血清, 分析血清乳酸及血清尿素氮含量; 采血后小鼠以颈椎脱臼法处死, 取肝脏, 测定肝糖原含量。

2.3.1 鸡肉酶解物对小鼠血清乳酸含量的影响

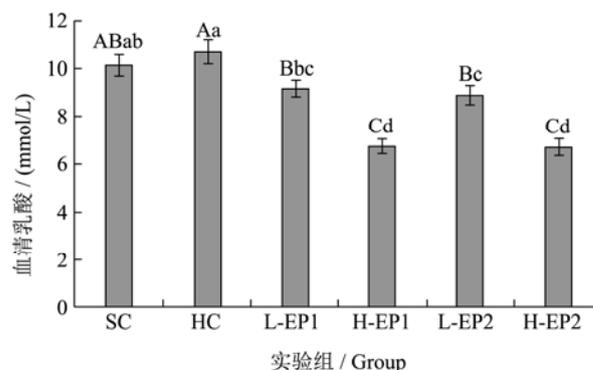


图 2 鸡肉酶解物对小鼠血清乳酸含量的影响

Fig.2 Effects of chicken enzymatic hydrolysates on the serum lactic acid content in mice

小鼠血清乳酸含量如图 2 所示。图 2 结果显示, 鸡肉酶解物实验组小鼠的血清乳酸含量显著低于 ($p<0.01$ 或 $p<0.05$) SC 和 HC 对照组, 其中, 高剂量组的 H-EP1 (6.66 mmol/L) 与 H-EP2 (6.66 mmol/L) 组间差异不显著; H-EP1 与 H-EP2 均极显著低于 ($p<0.01$) 对照组 SC (10.06 mmol/L, 均降低了 33.8%) 和对照组 HC (10.63 mmol/L, 均降低了 37.3%), 也显著低于 ($p<0.05$) 低剂量组的 L-EP1 (9.04 mmol/L, 降低了 26.3%) 和 L-EP2 (8.80 mmol/L, 降低了 24.3%); 低剂量组 L-EP1 与 L-EP2 组间差异不显著 ($p>0.05$); L-EP1 与 SC 组间差异不显著 ($p=0.058$, >0.05), 但极显著低于 ($p=0.005$, <0.01) HC 组 (降低了 10.1%); L-EP2 显著低于 ($p<0.05$) SC 组 (降低了 12.5%), 极显著低于 ($p<0.01$) HC 组 (降低了 17.0%)。刘钧^[18]研究发现麻虾多肽能有效降低乳酸含量, 其高剂量组 (10.31 ± 0.67 mmol/L) 和低剂量组 (12.08 ± 0.67 mmol/L) 的小鼠乳酸含量分别比空白组降低了 21.4% 和 7.9%, 剂量与乳酸含量呈负相关, 本实验结果相对较优。结果表明, 鸡肉酶解物 EP1 与 EP2 均能有效降低激烈运动 (游泳 30 min) 小鼠的血清乳酸含量, 且存在着量效关系, 高剂量组的降低血清乳酸含量效果更明显。

2.3.2 鸡肉酶解物对小鼠肝糖原含量的影响

小鼠肝糖原含量如图 3 所示。图 3 结果显示, 小鼠在激烈运动 (游泳 30 min) 后, 体内肝糖原含量高剂量组 H-EP1 (8.13 mg/g) 与 H-EP2 (8.35 mg/g) 组间差异不显著, 两组均极显著高于 ($p<0.01$) 对照组 SC (5.11 mg/g) (分别提高了 59.1% 和 63.4%) 及 HC (5.53 mg/g) (分别提高了 47.0% 和 51.0%); H-EP1

显著高于 ($p<0.05$) 低剂量组 L-EP1 (6.23 mg/g) (提高了 30.5%), 但与 L-EP2 (6.60 mg/g) 组间差异不显著 ($p=0.059, >0.05$); H-EP2 均显著高于 ($p<0.05$) L-EP1 (提高了 34.0%) 和 L-EP2 (提高了 26.5%); 低剂量组 L-EP1 与 L-EP2 组间差异不显著; 两个低剂量组与两个对照组间差异均不显著; 对照组 HC 与 SC 组间差异不显著。游丽君^[19]研究发现泥鳅多肽高剂量组和低剂量组的小鼠肝糖原的含量, 比空白组分别高 300%和 230%, 而且高低剂量组之间的肝糖原含量差异显著 ($p<0.05$), 其量效关系更加明显。糖原是动物机体能量储备的主要方式, 包括肝糖原和肌糖原。动物机体在激烈运动过程中将肌糖原被消耗殆尽时, 为维持体内血糖的恒定, 会加速对肝糖原的消耗。实验结果揭示, 鸡肉酶解物 EP1 与 EP2 均能有效提高激烈运动 (游泳 30 min) 小鼠的肝糖原含量, 且存在着量效关系, 高剂量组对提高实验小鼠的肝糖原含量效果更明显。

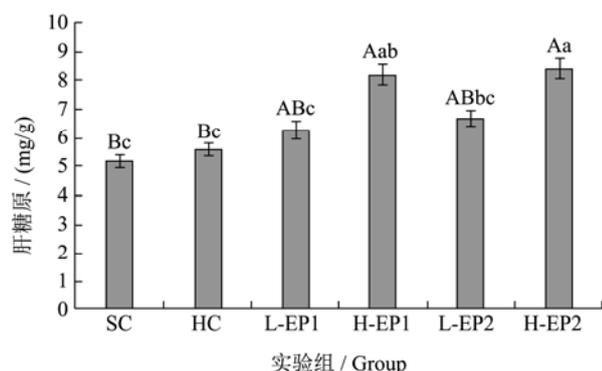


图3 鸡肉酶解物对小鼠肝糖原含量的影响

Fig.3 Effects of chicken enzymatic hydrolysates on the liver glycogen content in mice

2.3.3 鸡肉酶解物对小鼠血清尿素氮含量的影响

小鼠血清尿素氮含量如图4所示。图4结果显示, 小鼠在激烈运动 (游泳 30 min) 后, 血清尿素氮含量高剂量组 H-EP1 (13.34 mmol/L) 与 H-EP2 (13.70 mmol/L) 组间差异不显著, 两组均极显著低于 ($p<0.01$) SC 对照组 (19.72 mmol/L) (分别降低 32.4% 和 30.5%) 及 HC 对照组 (22.56 mmol/L) (分别降低 40.9% 和 39.3%); 两个高剂量组与两个低剂量组组间差异均不显著; 低剂量实验组 L-EP1 (16.08 mmol/L) 与 L-EP2 (14.86 mmol/L) 组间差异不显著; L-EP1 显著低于 ($p<0.05$) SC (降低 18.5%), 极显著低于 ($p<0.01$) HC (降低 28.7%); L-EP2 均极显著低于 ($p<0.01$) SC (降低 24.6%) 和 HC (降低 34.1%) 两个对照组。丁树慧^[20]研究低值海洋鱼低聚肽发现高中低剂量组的小鼠游泳后血清尿素氮的含量分别为比空白组低 22.61%、19.65%和 9.39%, 剂量对小鼠游泳后

血清尿素氮的含量影响大, 本实验结果显示鸡肉酶解物剂量对小鼠血清尿素氮含量影响较大, 但高剂量组与低剂量组差异均不显著。尿素氮是动物机体蛋白质代谢的主要终末产物, 肾脏为排泄尿素的主要器官, 尿素从肾小球滤过后在各段小管均可重吸收, 但肾小管内尿流速越快重吸收越少, 也即达到了最大清除率。在肾功能受损情况下, 肾小球滤过率下降到正常的 50%以下时, 血尿素氮的浓度会迅速升高, 其中高蛋白饮食、蛋白质高分解代谢状态均会导致尿素氮含量升高。

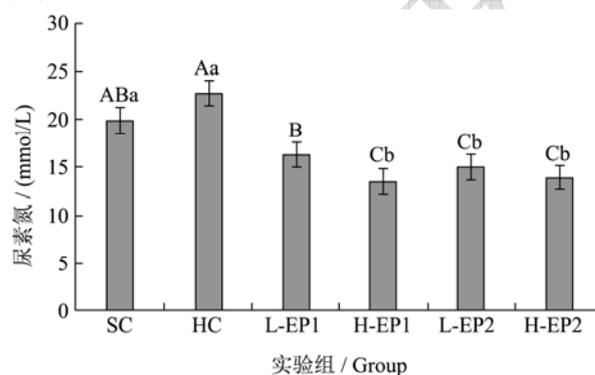


图4 鸡肉酶解物对小鼠血清尿素氮含量的影响

Fig.4 Effects of chicken enzymatic hydrolysates on the serum urea nitrogen content in mice

实验结果表明, 鸡肉匀浆 (HC) 对照组, 即高蛋白组实验小鼠的血清尿素氮明显偏高, 甚至高于空白对照组, 表明高蛋白饮食导致了小鼠血清尿素氮升高, 而鸡肉酶解物 EP1 与 EP2 均能有效降低激烈运动 (游泳 30 min) 小鼠的血清尿素氮含量, 且存在着量效关系, 高剂量组的降低血清尿素氮含量效果更明显, 结果揭示, 鸡肉酶解物对清除动物机体内的尿素氮是有效的。

运动性疲劳是集休生理过程不能维持其机能在特定水平上和/或不能维持预定的运动强度, 其中包括能源耗竭和代谢产物堆积等方面原因。糖原作为动物机体储备的能量物质, 在动物运动过程中被氧化分解产生 ATP, 为运动提供充足的能量; 而在无氧条件下糖原通过无氧酵解仅能产生少量 ATP, 并伴随乳酸的产生, 造成血清中乳酸的沉积, 导致机体 pH 值降低, 从而阻碍神经-肌肉接头的兴奋传递, 损害内质网功能, 抑制血红蛋白与氧的结合, 抑制激素敏感酯酶活性, 进而对多种生化过程产生影响, 使机体发生疲劳^[21], 这是无氧运动 (激烈运动) 容易造成机体疲劳的原因。血清尿素氮是哺乳动物将蛋白质分解后的代谢终产物, 其含量体现了机体对运动后代谢产物的分解能力^[22]。正常生理状态下, 血尿素的生成与排泄处于平衡状态, 剧烈运动过程中, 机体因不能通过糖和脂

肪氧化分解获得足够能量时，而需通过代谢分解蛋白质获得运动所需能量，从而导致血尿素氮水平显著增加，体内血尿素氮水平和运动耐受力呈显著负相关，即血尿素氮水平越低，其运动耐受力越好^[23]。研究结果显示，鸡肉酶解物 EP1 和 EP2 对提高实验小鼠肝糖原含量，降低血清乳酸、血清尿素氮含量，延长小鼠力竭游泳时间具有良好的效果，揭示鸡肉酶解物具有良好的抗疲劳效果。

2.4 鸡肉酶解物对小鼠血清抗氧化酶活性的影响

灌胃鸡肉酶解物 28 d 的实验小鼠，游泳 30 min 后，以目内眦静脉采血，经离心收集血清，分析血清 SOD、CAT 及 GSH-Px 等酶的抗氧化活性。

2.4.1 鸡肉酶解物对小鼠血清 SOD 酶活性的影响

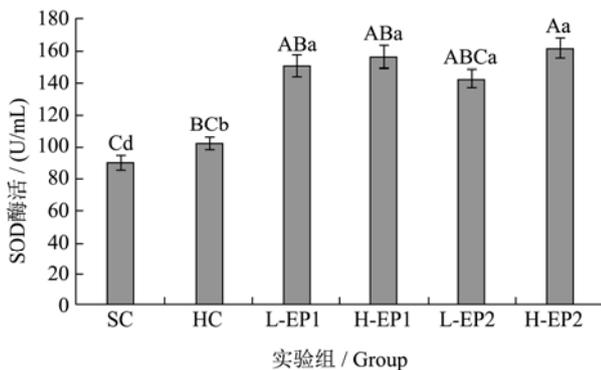


图5 鸡肉酶解物对小鼠血清 SOD 酶活性的影响

Fig.5 Effects of chicken enzymatic hydrolysates on the serum SOD enzyme activity in mice

小鼠血清 SOD 酶活性结果如图 5 所示。图 5 结果显示，小鼠在激烈运动（游泳 30 min）后，体内血清 SOD 酶活性高剂量组 H-EP1（155.76 U/mL）与 H-EP2（160.13 U/mL）组间差异不显著，两组酶活均极显著高于（ $p < 0.01$ ）SC 对照组（89.08 U/mL）（酶活分别提高了 74.9%和 79.8%）及 HC 对照组（100.73 U/mL）（分别提高了 54.6%和 59.0%），与两个低剂量组 L-EP1 组（149.58 U/mL）与 L-EP2 组（141.34 U/mL）组间均差异不显著（ $p > 0.05$ ）；低剂量组 L-EP1 与 L-EP2 组间差异不显著；L-EP1 与 SC 组间差异极显著（ $p < 0.01$ ）（提高了 67.9%），与 HC 组间差异显著（ $p < 0.05$ ）（提高了 48.5%）；L-EP2 与 SC、HC 组间差异均为显著（ $p < 0.05$ ）（分别提高了 58.7%和 40.3%）。实验结果表明，鸡肉酶解物 EP1 和 EP2 对提高实验小鼠体内血清 SOD 酶活性具有明显的效果，且存在剂量效应关系，与符群^[24]对鸡骨胶原蛋白肽的

研究结果相似。

2.4.2 鸡肉酶解物对小鼠血清 CAT 酶活性的影响

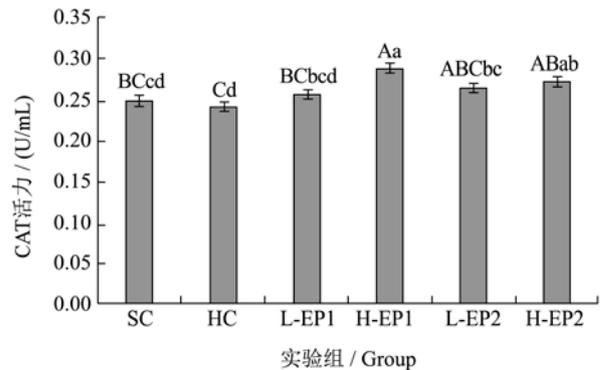


图6 鸡肉酶解物对小鼠血清 CAT 酶活性的影响

Fig.6 Effects of chicken enzymatic hydrolysates on the serum CAT enzyme activity in mice

小鼠血清 CAT 酶活性结果如图 6 所示。图 6 结果显示，小鼠在激烈运动（游泳 30 min）后，体内血清 CAT 酶活性高剂量组 H-EP1（0.29 U/mL）与 H-EP2（0.27 U/mL）组间差异不显著；高剂量 H-EP1 均极显著高于（ $p < 0.01$ ）SC 对照组（0.25 U/mL）（酶活提高了 15.7%）、HC 对照组（0.24 U/mL）（提高了 19.1%）和低剂量 L-EP1 组（0.26 U/mL）（提高了 12.5%），也显著高于（ $p < 0.05$ ）低剂量 L-EP2 组（0.26 U/mL）（提高了 9.1%）；高剂量 H-EP2 组极显著高于（ $p < 0.01$ ）HC 对照组（提高了 12.9%），显著高于（ $p < 0.05$ ）SC 对照组（提高了 9.7%），与低剂量组组间差异不显著；L-EP1 除与 H-EP1 存在极显著差异外，与其它组间差异均不显著；L-EP2 除与 H-EP1 及 HC 存在显著差异外，与其它组间差异均不显著。实验结果表明，一定剂量的鸡肉酶解物对提高小鼠 CAT 酶活是良好效果的，且 EP1 效果明显优于 EP2。丁树慧^[20]研究显示，当胃饲低值海洋鱼低聚肽剂量达 0.5 mg/(g·d)即 500mg/(kg·d)（低剂量组）时，小鼠血清 CAT 酶活仅比空白组提高 4.8%，而本实验高剂量 200 mg/(kg·d)组小鼠血清 CAT 酶活比空白组分别提高 15.7%和 9.7%，表明鸡肉酶解物对提高小鼠 CAT 活性效果优于低值海洋鱼低聚肽。

2.4.3 鸡肉酶解物对小鼠血清 GSH-Px 酶活性的影响

小鼠血清 GSH-Px 酶活性结果如图 7 所示。图 7 结果显示，小鼠在激烈运动（游泳 30 min）后，体内血清 GSH-Px 酶活性高剂量组 H-EP1（597.08 U/mL）与 H-EP2（596.42 U/mL）组间差异不显著，两组酶活均极显著高于（ $p < 0.01$ ）SC 对照组（257.36 U/mL），分别提高了 132.0%和 131.7%；H-EP1 组显著高于 HC

对照组 (359.05 U/mL) (提高了 66.3%), 但与两个低剂量组 L-EP1 (474.33 U/mL) 及 L-EP2 (526.85 U/mL) 组间差异均不显著 ($p>0.05$); H-EP2 显著高于 ($p<0.05$) HC 对照组, 提高了 66.1%, 与 L-EP1 及 L-EP2 组间差异不显著; 两个低剂量组 L-EP1 与 L-EP2 组间差异不显著 ($p>0.05$); L-EP1 与 SC 组间差异显著 ($p<0.05$), 提高了 84.3%, 与 HC 组间差异不显著。

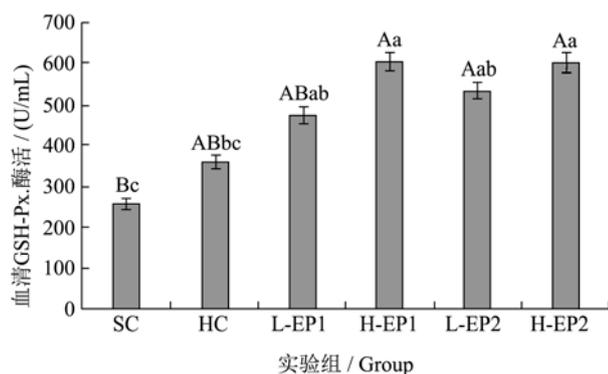


图7 鸡肉酶解物对小鼠血清 GSH-Px 酶活性的影响

Fig.7 Effects of chicken enzymatic hydrolysates on the serum GSH-Px enzyme activity in mice

结果表明, 鸡肉酶解物 EP1 和 EP2 对提高实验小鼠体内血清 GSH-Px 酶活性具有明显的效果, 通过对剂量的比较, 鸡肉酶解物对提高实验小鼠血清 GSH-Px 酶活性效果明显优于游丽君^[19]研究的泥鳅多肽[高剂量组 5 mg/(g·d)和低剂量组 1 mg/(g·d)]。

生物体代谢过程中或一定强度的运动会导致机体内自由基的生成^[25], 它们会损伤蛋白质、核酸, 加速机体的衰老和死亡。生物体在长期的进化过程中形成了一套完善的抗氧化酶系统, 使自由基的产生与消除处于动态平衡, 是生物体的一种适应性机制。生物抗氧化酶系统的主要成员包括: 超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、过氧化氢酶(CAT)等^[26]。动物源蛋白酶解物具有较强的抗氧化活性, 表现为提高小鼠或大鼠血液中 SOD、CAT 和 GSH-Px 的活力^[27,28]; 乳蛋白水解物中纯化的 F3 肽可减轻小鼠身体疲劳且具有抗氧化活性^[29]; 蛋清酶解肽可显著延长小鼠力竭游泳时间, 增加血糖、肝糖原和肌糖原含量, 显著降低尿素氮中及乳酸水平^[5]。泥鳅多肽可增加 SOD、CAT 和 GSH-Px 的活性来改善小鼠内源性细胞抗氧化酶, 延长游泳时间, 降低乳酸和血尿素氮水平, 达到抗疲劳功效^[30]。实验结果表明, 鸡肉酶解物 EP1 与 EP2 对实验小鼠具有延长小鼠力竭游泳时间, 提高肝糖原含量 (或减少肝糖原消耗)、降低血清乳酸和血清尿素氮含量, 提高体内生物抗氧化酶 SOD、CAT 和 GSH-Px 酶活性的效果, 从而达到提高小鼠抗疲劳

和抗氧化效果。

3 结论

鸡肉是优质的蛋白质来源, 在正常营养饲料喂养前提下, 增加胃饲鸡肉匀浆或鸡肉酶解物, 并不会导致实验小鼠体重过于增加 (肥胖)。鸡肉酶解物 EP1 和 EP2 能够显著延长实验小鼠的力竭游泳时间, 减少实验小鼠激烈运动时肝糖原的消耗和乳酸的产生与沉积, 促进实验小鼠体内蛋白质的代谢及有效清除血清尿素氮, 提高实验小鼠机体的血清 SOD、CAT 及 GSH-Px 等抗氧化酶的活性, 增强机体清除自由基的能力, 改善小鼠的运动状况, 确保小鼠在激烈运动状态下机体处于有氧运动模式, 从而降低激烈运动后机体的疲劳程度, 具有显著的抗疲劳和抗氧化效果。

参考文献

- [1] 杜林, 李亚娜. 生物活性肽的功能与制备研究进展[J]. 中国食物与营养, 2005, 8: 18-21
DU Lin, LI Ya-na. Research progress on function and preparation of bioactive peptides [J]. Food and Nutrition in China, 2005, 8: 18-21
- [2] 王春艳, 田金强, 王强. 改善心血管健康的食源性生物活性肽构效关系研究进展[J]. 食品科学, 2010, 31(13): 307-311
WANG Chun-yan, TIAN Jin-qiang, WANG Qiang. Research progress in structure-activity relationship of food-derived bioactive peptides with functions to improve cardiovascular health [J]. Food Science, 2010, 31(13): 307-311
- [3] 殷劲, 杨范昌, 程旭光. 运动性疲劳及其判断[J]. 成都体育学院学报, 1999, 3: 77-81
YIN Jing, YANG Fan-chang, CHENG Xu-guang. Exercise fatigue and its judgment [J]. Journal of Chengdu Sport University, 1999, 3: 77-81
- [4] 王培鑫, 陈悦宇, 王睿, 等. 抗疲劳肽的研究进展[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2019, 48(3): 273-284
WANG Pei-xin, CHEN Yue-yu, WANG Rui, et al. The research progress of anti-fatigue peptides [J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2019, 48(3): 273-284
- [5] Sun S, Niu H, Yang T, et al. Antioxidant and anti-fatigue activities of egg white peptides prepared by pepsin digestion [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2014, 94(15): 3195-3200
- [6] 布冠好, 杨国宇, 李宏基. 肌肽对小鼠氧化损伤的保护作用[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2010, 31(4): 22-25
BU Guan-hao, YANG Guo-yu, LI Hong-ji. Protective effects of carnosine on mice oxidative lesion [J]. Journal of Henan

- University of Technology (Natural Science Edition), 2010, 31(4): 22-25
- [7] Nozaki S, Tanaka M, Mizuno K, et al. Mental and physical fatigue-related biochemical alterations [J]. Nutrition, 2009, 25(1): 51-57
- [8] 徐国波,林捷,郑华,等.冰鲜分割三黄鸡肉保质期品质变化研究[J].中国家禽,2013,35(23):32-35
XU Guo-bo, LIN Jie, ZHENG Hua, et al. Meat quality of iced fresh sanhuang chicken parts during shelf life [J]. China Poultry, 2013, 35(23): 32-35
- [9] 思雨.分割制品市场潜力大肉鸡行业应加大加工和研发力度[J].中国食品,2017,5:92-93
SI Yu. The market potential of segmented products is great and poultry industry should increase processing and development efforts [J]. China Food, 2017, 5: 92-93
- [10] 林捷,郑华,田秀秀,等.2种鸡肉蛋白源酶解产物抗氧化活性研究[J].现代食品科技,2019,35(3):111-117
LIN Jie, ZHENG Hua, TIAN Xiu-xiu, et al. Antioxidant activities of two types of enzymatic hydrolysates sourced from chicken meat [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(3): 111-117
- [11] 贺光祖,谭碧娥,肖昊,等.肠道小肽吸收利用机制及其营养功能[J].动物营养学报,2015,27(4):1047-1054
HE Guang-zu, TAN Bi-e, XIAO Hao, et al. Peptide absorption and utilization and its nutritional functions in intestine [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2015, 27(4): 1047-1054
- [12] 王宁,令狐恩强.寡肽吸收的研究进展[J].中华胃肠内镜电子杂志,2018,5(4):167-173
WANG Ning, LINGHU En-qiang. Advances in oligopeptides absorption [J]. Chinese Journal of Gastrointestinal Endoscopy (Electronic Edition), 2018, 5(4): 167-173
- [13] 刘政,刘莹,王丽威,等.生物活性肽的酶法制备[J].化学与生物工程,2005,3:7-9
LIU Zheng, LIU Ying, WANG Li-wei, et al. The preparation of active peptide [J]. Chemistry & Bioengineering, 2005, 3: 7-9
- [14] 黄雨三.保健食品检验与评价技术规范实施手册[M].北京:清华同方电子出版社,2003
HUANG Yu-san. Implementation Handbook of Technical Specification for Inspection and Evaluation of Health Food [M]. Beijing: Tsinghua Tongfang Electronic Publishing House, 2003
- [15] 郑华,傅伟龙.酪蛋白水解物对小鼠生长及免疫功能的影响[J].华南农业大学学报,2000,3:71-74
ZHENG Hua, FU Wei-long. The Effects of casein hydrolysates on growth and immune function of mouse [J]. Journal of South China Agricultural University, 2000, 3: 71-74
- [16] Lijun You, Mouming Zhao, Joe M, et al. *In vitro* Antioxidant activity and *in vivo* anti-fatigue effect of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) peptides prepared by papain digestion [J]. Food Chemistry, 2011, 124(1): 188-194
- [17] Zhang Y, Yao X, Bao B, et al. Anti-fatigue activity of a triterpenoid-rich extract from Chinese bamboo shavings (*Caulis Bamfusae in Taeniam*) [J]. Phytotherapy Research, 2006, 20(10): 872-876
- [18] 刘钧发.麻虾多肽制备及其抗氧化、抗疲劳的活性研究[D].广州:华南理工大学,2015
LIU Jun-fa. Study on the preparation of shrimp peptide (*Metapenaeus affinis*) and its antioxidant and anti-fatigue activities [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2015
- [19] 游丽君.泥鳅蛋白抗氧化肽的分离纯化及抗疲劳、抗癌功效研究[D].广州:华南理工大学,2010
YOU Li-jun. Study on the purification of antioxidant peptide from loach protein and its antifatigue and anticancer activities [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2010
- [20] 丁树慧,齐曼婷,齐斌,等.低值海洋鱼低聚肽抗氧化和抗疲劳活性[J].食品科学,2019,40(1):155-161
DING Shu-hui, QI Man-ting, QI Bin, et al. Antioxidant and anti-fatigue activity of marine trash fish-derived oligopeptide [J]. Food Science, 2019, 40(1): 155-161
- [21] Qin Yang, Wenwen Jin, Xueyuan Lv et al. Effects of macamides on endurance capacity and antifatigue property in prolonged swimming mice [J]. Pharmaceutical Biology, 2016, 54(5): 827-834
- [22] Zheng Y, Zhang W C, Wu Z Y, et al. Two macamide extracts relieve physical fatigue by attenuating muscle damage in mice [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(3): 1405-1412

(下转第 39 页)