

大豆肽与牛磺酸复合粉的抗疲劳作用

Effects of soybean peptide and taurine compound powder on anti fatigue ability in mice

杨 晓¹ 王 畋^{1,2} 刘 畅¹ 黄 莹¹

YANG Xiao¹ WANG Tian^{1,2} LIU Chang¹ HUANG Ying¹

(1. 武汉跃莱健康产业有限公司研究院, 湖北 武汉 430090; 2. 中国保健协会, 北京 100142)

(1. Wuhan Twinkliffe Health Industry Co., Ltd., Research Institute, Wuhan, Hubei 430090, China;
2. China Health Care Association, Beijing 100142, China)

摘要:为了评价大豆肽和牛磺酸复合粉(Soybean Peptide and Taurine Compound Powder, SPT 复合粉)是否具有缓解体力疲劳的功能以及两者之间的相互作用,以 SPF 级 KM 小鼠为试验对象, SPT 复合粉为受试样品, 设置低、中、高剂量组和蒸馏水空白对照组, 采用经口灌胃给样的方式, 连续灌胃 30 d 后进行负重游泳、血乳酸测定、血清尿素测定、肝糖原测定试验。结果表明:随着 SPT 复合粉剂量的增加, 小鼠负重游泳时间延长, 其中高剂量组与对照组比较, 差异性显著; 小鼠血乳酸含量降低, 其中高剂量组与对照组比较, 差异性显著; 小鼠血清尿素含量降低, 但各剂量组与对照组相比无统计学意义; 小鼠肝糖原含量增加, 其中高剂量组与对照组比较, 差异性显著。根据《保健食品检验与评价技术规范》(卫生部 2003 年版)中“缓解体力疲劳功能”试验的结果判定原则, 表明样品 SPT 复合粉具有缓解体力疲劳的功能。

关键词:大豆肽; 牛磺酸; 抗疲劳; 负重游泳; 血乳酸; 血清尿素; 肝糖原

Abstract: It showed that soybean peptides and taurine had good anti-fatigue effects. In order to explore the function of soybean peptide and taurine compound powder (SPT) on relieving fatigue and the interaction between them, the SPT Compound powder was used to test the SPF KM mice, and groups high, medium and low doses and a distilled water blank control fed for continuous 30 days were set. The experiments of loaded swimming, blood lactic acid, serum urea, liver glycogen determinations were then detected. The results showed that with the increase of the dosage, the loaded swimming time increased significantly. However, the area of blood lactic acid was decreased significantly. The serum urea was also decreased without statistical

significance between the dose groups and the control. The content of liver glycogen increased significantly as well. According to “Technical Standards for Testing & Assessment of Health Food (2003)”, SPT Compound powder was deemed to have the function of relieving physical fatigue.

Keywords: soybean peptide; taurine; ant-fatigue; weight swimming; blood lactate; serum urea; liver glycogen

大豆肽是一种比大豆蛋白更具有营养价值的植物蛋白^[1], 由大豆蛋白通过酶解法^[2]或者微生物发酵法^[3]得到, 主要成分为 3~6 个氨基酸组成的肽, 且相对分子质量为 300~700^[4]。研究表明大豆肽具有优良的生物活性^[5-7], 解酒^[8]、降血脂^[9]、提高免疫力^[10-12]、抗氧化^[13-15]、降低胆固醇^[16]、促进脂肪代谢^[17]、促进钙和微量元素的吸收^[18-19]以及抗疲劳^[20]等。其中大豆肽的抗疲劳作用十分显著, 例如: 电裂解制备的大豆肽能够显著延长小鼠的爬杆时间和负重游泳时间, 极显著地提高大鼠运动过程中肝糖原和肌糖原的含量, 以及降低运动后血清中乳酸的含量, 表明大豆肽具有明显的抗疲劳作用^[22]; 大豆寡肽能够提高乳酸脱氢酶的活性, 从而降低血液中乳酸的含量, 以缓解疲劳^[23]。

牛磺酸, 也称为牛胆碱、牛胆素, 最早是从牛的胆汁中分离得到^[24]。牛磺酸作为一种含硫的必需氨基酸, 对人体的各个脏器、内分泌系统都起着一定的作用, 促进人体细胞代谢, 能调节生理功能、治疗疾病等^[25]。大量研究表明, 牛磺酸具有较好的抗疲劳效果, 魏源等^[26]研究发现大鼠食用牛磺酸后力竭运动时间比未食用牛磺酸的长, 具有缓解大鼠疲劳的作用; 余杰等^[27]研究发现同对照组比较, 添加牛磺酸能使小鼠力竭游泳时间明显延长, 延长趋势与牛磺酸的添加量有明显的相关性; 魏智清等^[28]经动物试验证明, 牛磺酸具有显著的抗疲劳($P<0.01$)和抗缺氧效应($P<0.01$), 同时对异

作者简介: 杨晓, 女, 硕士。

通信作者: 黄莹(1992—), 女, 硕士。E-mail: 1970838354@qq.com

收稿日期: 2017-09-28

丙肾上腺素增加的小鼠心肌耗氧有明显的抑制作用,可显著延长小鼠的游泳时间($P<0.01$)和存活时间($P<0.01$);刘华荣等^[29]发现牛磺酸可延长小鼠负重游泳存活时间,可使小鼠血清尿素含量和血乳酸曲线下面积减少,增加小鼠肝糖原的含量。

本试验拟将一定量的大豆肽和牛磺酸混合均匀形成大豆肽和牛磺酸复合粉(SPT 复合粉),通过测定 SPT 复合粉对小鼠的负重游泳时间、血乳酸含量、血清尿素含量、肝糖原含量的影响,研究 SPT 复合粉是否具有缓解疲劳的作用,并明确两者缓解疲劳的作用机制,为其后续的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品

大豆肽粉:武汉天天好生物制品有限公司;
牛磺酸:潜江永安药业股份有限公司;
动物饲料:登记证号沪饲证(2014)04002,上海福贝宠物用品有限公司。

1.2 试验对象

KM 小鼠:SPF 级,18~22 g,生产许可证号 SCXK(沪)2013-0006,上海杰思捷实验动物有限责任公司。饲养室温度 20~22 ℃,相对湿度 58%~68%,试验动物使用许可证号:SYXK(沪)2013-0008。

1.3 主要仪器

电子天平:ACS-3A 型,上海友声衡器厂;
电子天平:ME3002 型,塞多利亚(中国)有限公司;
全自动生化分析仪:AU680 型,美国贝克曼库尔特有限公司;
血乳酸仪:Lactate Scout+型,济南天舜生物技术有限公司。

1.4 试验方法

1.4.1 受试物剂量设计 设低、中、高 3 个剂量组,即 0.25, 0.50,1.50 g/kg,相当于样品人体推荐剂量的 5,10,30 倍,另设蒸馏水作空白对照组。
1.4.2 配制受试物 分别称取样品 0.25,0.50,1.50 g,加蒸馏水至 20 mL,按此比例均匀混合配制成为低、中、高剂量组。
1.4.3 受试物给予方法 取小鼠 160 只,逐只称重,按体重分层随机分为 16 组,每组 10 只,分别用于负重游泳试验、血乳酸测定试验、血清尿素测定试验和肝糖原测定试验 4 项试验,每项试验设 3 个剂量组、1 个空白对照组。所有动物按剂量设计连续喂养 30 d,每周称重。
1.4.4 负重游泳试验 将各组小鼠于末次给样 30 min 后,放入水中游泳,水深 30 cm,水温(25.0±1.0) ℃,鼠尾根部负荷 5%体重的铅皮,记录小鼠自游泳开始至死亡的时间。
1.4.5 血乳酸测定 将各组小鼠于末次给样 30 min 后,眼眶毛细血管内眦采血,测游泳前血乳酸;动物在温度 30 ℃水中不负重游泳 10 min 后,立即采血测游泳后 0 min 血乳酸;然后休息 20 min,再次采血测游泳后 20 min 血乳酸。以 3

个时间点血乳酸曲线下面积来判断试验结果:任一试验组的面积小于对照组,且差异有显著性,可判定该试验结果为阳性,血乳酸曲线下面积按式(1)计算:

$$C = 5 \times (m_1 + 3 \times m_2 + 2 \times m_3), \tag{1}$$

式中:

C——血乳酸曲线下的面积,mmol/L;
 m_1 ——游泳前血乳酸值,mmol/L;
 m_2 ——游泳后 0 min 血乳酸值,mmol/L;
 m_3 ——游泳后休息 20 min 血乳酸值,mmol/L。

1.4.6 血清尿素测定 将各组小鼠于末次给样 30 min 后,放入 30 ℃水中不负重游泳 90 min,取出擦干,休息 60 min 后采血,离心,取血清测尿素。

1.4.7 肝糖原测定 将各组小鼠于末次给样 30 min 后处死,立刻取肝脏,用生理盐水漂洗,滤纸吸干水分,精确称取 1 g 肝组织,加生理盐水至 10 mL,用匀浆机制成 10%肝组织匀浆,3 000 r/min 离心 15 min 后,取上清液,测定肝糖原。

1.5 数据处理和统计

应用 SPSS 13.0 软件进行方差分析统计。先对数据进行正态性和方差齐性检查,若方差齐,采用单因素方差分析进行总体比较,发现差异再用 Dunnett 法进行多个剂量组与一个对照组均数间的两两比较。若方差不齐则进行适当的变量转换,仍不齐则改用秩和检验进行统计,若总体比较有差异,则采用不要求方差齐性的 Dunnett T3 检验进行两两比较。

2 结果与分析

2.1 负重游泳

由表 1 可知,各剂量组间动物体重在试验初和试验末基本一致,生理状态正常,并未出现任何异常。与空白对照组相比,SPT 复合粉的低、中、高剂量组小鼠负重游泳时间分别为(487.0±16.6),(492.0±12.9),(624.0±18.1) s,比空白对照组(437.0±15.8) s 均有所增加,说明在本试验条件下 SPT 复合粉能够延长小鼠负重游泳时间。
低、中剂量组的小鼠负重游泳时间与空白对照组相比无统计学意义;高剂量组(1.5 g/kg)的小鼠负重游泳时间为(624.0±18.1) s,与空白对照组相比,负重游泳时间增加

表 1 SPT 复合粉对小鼠负重游泳时间的影响[†]
Table 1 The effect of Soybean Peptide and Taurine Compound Powder on mice of loaded swimming time (n=10)

组别	体重/g		负重游泳时间/s
	试验初	试验末	
空白对照组	21.0±1.2	42.7±2.6	437.0±15.8
低剂量组	21.1±1.1	41.0±2.2	487.0±16.6
中剂量组	20.6±1.3	42.1±3.2	492.0±12.9
高剂量组	20.9±1.3	41.6±2.5	624.0±18.1 *

[†] * 表示与空白对照组相比有显著性差异,P<0.05。

3.12 min,具有显著性差异($P<0.05$)。文献[20]³⁴⁻⁵⁵报道,采用 2.5 g/kg 的大豆肽喂食的小鼠负重游泳时间比空白对照组的增加 1.32 min。因此 SPT 复合粉比大豆肽能明显地延长小鼠负重游泳时间。

2.2 血乳酸测定

由表 2 可知,各剂量组间动物体重在试验初和试验末基本一致,生理状态正常,并未出现任何异常。与空白对照组相比,SPT 复合粉的低、中、高剂量组小鼠血乳酸曲线下面积分别为(95.0 ± 21.0),(91.4 ± 14.3),(71.0 ± 8.3) mmol/L,比空白对照组[(98.1 ± 24.4) mmol/L]均有所降低,说明在本试验条件下 SPT 复合粉能够降低小鼠血乳酸含量。

表 2 SPT 复合粉对小鼠运动前后血乳酸的影响[†]

Table 2 The effect of Soybean Peptide and Taurine Compound Powder on mice of blood lactic acid ($n=10$)

组别	体重/g		血乳酸曲线下面积/ (mmol·L ⁻¹)
	试验初	试验末	
空白对照组	21.0±1.2	42.8±2.7	98.1±24.4
低剂量组	20.9±1.3	42.1±2.8	95.0±21.0
中剂量组	21.3±0.9	41.1±2.6	91.4±14.3
高剂量组	20.8±1.3	42.0±3.2	71.0±8.3 *

† * 表示与空白对照组相比有显著性差异, $P<0.05$ 。

低、中剂量组的小鼠血乳酸曲线下面积与空白对照组相比无统计学意义;高剂量组(1.5 g/kg)的小鼠血乳酸曲线下面积为(71.0 ± 8.3) mmol/L,与空白对照组相比,小鼠血乳酸曲线下面积降低了 27.1 mmol/L,具有显著性差异($P<0.05$)。文献[20]³⁴⁻⁵⁵报道采用 2.5 g/kg 的大豆肽喂食的小鼠血乳酸曲线下面积比空白对照组的降低了 22.94 mmol/L。因此,SPT 复合粉比大豆肽能明显地降低小鼠血乳酸含量。

2.3 血清尿素测定

由表 3 可知,各剂量组间动物体重在试验初和试验末基本一致,生理状态正常,并未出现任何异常。与空白对照组相比,SPT 复合粉的低、中、高剂量组小鼠血清尿素含量分别为(9.08 ± 0.86),(8.63 ± 0.59),(8.35 ± 1.25) mmol/L,比空白对照组[(9.26 ± 1.95) mmol/L]均有所降低,但各剂量组与空白对照组相比无显著性差异($P>0.05$)。

表 3 SPT 复合粉对小鼠运动前后血清尿素含量的影响

Table 3 The effect of Soybean Peptide and Taurine Compound Powder on mice of blood urea nitrogen ($n=10$)

组别	体重/g		尿素氮/ (mmol·L ⁻¹)
	试验初	试验末	
空白对照组	21.1±1.1	42.6±2.5	9.26±1.95
低剂量组	20.9±1.4	41.5±2.8	9.08±0.86
中剂量组	21.2±1.2	42.7±3.1	8.63±0.59
高剂量组	20.7±1.4	41.9±2.6	8.35±1.25

2.4 肝糖原测定

由表 4 可知,各剂量组间动物体重在试验初和试验末基本一致,生理状态正常,并未出现任何异常。与空白对照组相比,SPT 复合粉的低、中、高剂量组小鼠肝糖原含量分别为(19.34 ± 2.52),(22.21 ± 3.51),(22.82 ± 3.89) mg/g,比空白对照组[(19.24 ± 2.49) mg/g]均有所增加,说明在本试验条件下 SPT 复合粉能够增加小鼠肝糖原的含量。

低、中剂量组的小鼠肝糖原含量与空白对照组相比无统计学意义;高剂量组(1.5 g/kg)的小鼠肝糖原含量为(22.82 ± 3.89) mg/g,与空白对照组相比,小鼠肝糖原含量增加了 3.58 mg/g,且差异显著($P<0.05$)。文献[20]³⁴⁻⁵⁵报道采用 2.5 g/kg 的大豆肽喂食的小鼠肝糖原含量比空白对照组的增加了 2.61 mg/g。因此,SPT 复合粉比大豆肽能明显地增加小鼠肝糖原含量。

表 4 SPT 复合粉对小鼠运动前后肝糖原含量的影响[†]

Table 4 The effect of Soybean Peptide and Taurine Compound Powder on mice of hepatic glycogen ($n=10$)

组别	体重/g		肝糖原/ (mg·g ⁻¹)
	试验初	试验末	
空白对照组	20.7±1.3	41.5±2.6	19.24±2.49
低剂量组	21.2±1.1	42.5±2.5	19.34±2.52
中剂量组	21.0±1.2	42.8±2.7	22.21±3.51
高剂量组	20.8±1.2	42.1±2.8	22.82±3.89 *

† * 表示与空白对照组相比有显著性差异, $P<0.05$ 。

3 结论

通过研究 SPT 复合粉对小鼠负重游泳时间、血乳酸含量、血清尿素含量、肝糖原含量的影响。结果发现,SPT 复合粉能使小鼠负重游泳时间增加、血乳酸含量降低、尿素含量降低、肝糖原含量增加,说明 SPT 复合粉具有较好的缓解体力疲劳功能。

前期大量研究报道大豆肽具有很好的抗疲劳作用,例如:采用 2.5 g/kg 的大豆肽喂食的小鼠负重游泳,与空白对照组相比,负重游泳时间增加了 1.32 min、血乳酸含量降低了 22.94 mmol/L、血乳酸含量增加了 2.61 mg/g^{[20]34-55}。SPT 复合粉对小鼠的抗疲劳试验中,高剂量组(1.5 g/kg)与空白对照组相比,小鼠负重游泳时间增加了 3.12 min、血乳酸含量降低了 27.1 mmol/L、血乳酸含量增加了 3.58 mg/g,均比大豆肽的各项指标要高,大豆肽和牛磺酸复合粉的缓解疲劳作用要优于大豆肽,因此在大豆肽中加入适量的牛磺酸能提高抗疲劳的能力,两者缓解疲劳的作用为协同作用。

本研究发现大豆肽和牛磺酸混合之后对小鼠的抗疲劳效果优于大豆肽的,为开发抗疲劳保健食品提供一种新的开发思路,不再局限于使用单一原料开发产品,可以将相同功效的产品搭配食用能起到协同的效果。后续还需对 SPT 复

合粉进行安全性毒理学试验评价,以及通过人群试验研究其对人体的功效作用,为相关产品的开发提供更为科学的理论依据。

参考文献

- [1] 李文, 陈复生, 丁长河, 等. 大豆肽生理功能的研究进展[J]. 食品工业科技, 2013, 34(4): 360-362.
- [2] 王莉娟, 陶文沂. 脱脂豆粕制备高水解度大豆肽酶解条件的优化[J]. 食品与机械, 2008, 24(1): 20-24.
- [3] 王层飞, 李忠海, 龚吉军, 等. 生物活性肽的保健功能及其在食品工业中的应用研究[J]. 食品与机械, 2008, 24(3): 27-31.
- [4] 中华人民共和国国家发展和改革委员会. QB/T2653—2004 大豆肽粉[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004: 1-2.
- [5] 陶红丽, 朱志伟, 江津津. 大豆多肽生理活性研究进展[J]. 食品与机械, 2007, 23(6): 133-136.
- [6] 王立博, 陈复生. 大豆活性肽生理保健功能研究进展[J]. 食品与机械, 2016, 32(2): 198-201.
- [7] 贾芳, 陈复生, 徐卫河. 大豆肽的制备方法及其生理活性研究进展[J]. 粮食与油脂, 2015, 28(4): 12-14.
- [8] 周勇, 陈烨, 王权, 等. 大豆肽的解酒作用及其机制研究[J]. 中药材, 2014, 37(6): 1 033-1 036.
- [9] 钟芳, 张晓梅, 麻建国. 具有 ACE 抑制活性的大豆肽的 RP-HPLC 分离和结构鉴定[J]. 食品与机械, 2006, 22(6): 8-11.
- [10] YIMIT D, HOXUR P, AMAT N, et al. Effects of soybean peptide on immune function, brain function, and neurochemistry in healthy volunteers[J]. Nutrition, 2012, 28(2): 154-159.
- [11] 富校轶, 孙茂成, 高永欣, 等. 大豆肽免疫调节作用的研究进展[J]. 大豆科技, 2014, 1(1): 38-42.
- [12] 卢连华, 周连奎, 谢玮, 等. 大豆肽粉对低白细胞大鼠白细胞及 NK 细胞的影响[J]. 食品与药品, 2014, 16(4): 262-265.
- [13] 焦宝利. 大豆肽抗氧化性及其协同作用研究[D]. 郑州: 河南工业大学, 2015: 2-6.
- [14] 田少君, 焦宝利, 毛小平, 等. 大豆肽的超滤分离及其清除自由基活性研究[J]. 中国油脂, 2015, 40(4): 18-21.
- [15] TAKENAKA A, ANNAKA H, KIMURA Y, et al. Reduction of paraquat-induced oxidative stress in rats by dietary soy peptide[J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 2003, 67(2): 278-283.
- [16] FRIEDMAN M. Food Chemistry Nutritional value of proteins from different food sources: A review[J]. Journal of Agricultural, 1996, 44(1): 6-29.
- [17] NAGASAWA A, FUKUI K, KOJIMA M, et al. Divergent effects of soy protein diet on the expression of adipocytokines[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2003, 311(4): 909-914.
- [18] 李迪, 吕莹, 郭顺堂. 大豆肽钙复合物的溶解稳定性研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(4): 94-96.
- [19] 卢建国, 孙强, 孙洁心. 富硒(Se)大豆肽胶囊的制备及其溶出度测定的研究[J]. 中国农学通报, 2011, 27(7): 447-451.
- [20] 高绿莎. 大豆肽缓解体力疲劳活性研究与产品研制[D]. 长春: 吉林大学, 2015.
- [21] 尹军杰. 大豆肽分子量与缓解疲劳作用关系的研究[J]. 粮食与油脂, 2017, 30(7): 42-44.
- [22] 张玉萍, 罗艳玲, 曹柏营. 电裂解大豆肽抗疲劳作用的实验研究[J]. 食品安全导刊, 2012, 1(6): 76-78.
- [23] 刘娜, 李湘浓, 吴翱. 大豆寡肽抗疲劳作用的实验研究[J]. 中国实验诊断学, 2010, 14(2): 201-203.
- [24] 柯杰兵. 牛磺酸代谢及其抗疲劳机理(综述)[J]. 解放军体育学院学报, 1999, 18(3): 43-47.
- [25] 李秀娟, 鲁曾, 黄贤刚. 牡蛎中牛磺酸含量测定方法的建立[J]. 食品与机械, 2010, 26(5): 81-83.
- [26] 魏源, 罗桂珍, 林石梅, 等. 牛磺酸对力竭运动大鼠抗疲劳的作用[J]. 体育学刊, 2001, 8(6): 59-61.
- [27] 余杰, 唐武. 牛磺酸对力竭运动小鼠抗疲劳效果及其机理研究[J]. 汕头大学学报: 自然科学版, 2008, 23(4): 30-34.
- [28] 魏智清, 张振汉, 于洪川, 等. 牛磺酸对小鼠耐力影响的研究[J]. 氨基酸和生物资源, 2003, 25(1): 65-66.
- [29] 刘华荣, 陈润生, 陈玉兰, 等. 牛磺酸对小鼠体力影响的实验研究[J]. 福建医药杂志, 2009, 31(4): 87-88.

信息窗

美国拟修订有机法规中“国家允许和禁止物质清单”

2018年1月17日,美国联邦公报消息,美国农业部市场服务局发布2017-28172文件,拟修订“国家有机计划;允许和禁止物质国家列表(农作物、家畜和加工)”,修订内容为:

(1) 拟修订允许用于有机生产或加工物质清单上的微量营养素(Micronutrients)、双氯苯双胍己烷(chlorhexidine)等十七种物质使用限量。

(2) 建议在清单上增加次氯酸(Hypochlorous acid)、氧

化镁(magnesium oxide)等16种允许用于有机生产或加工的新物质。

(3) 将植物源杀虫剂鱼藤酮(rotenone)列为有机作物生产中的禁用物质。

(4) 将伊维菌素(ivermectin)从有机畜牧生产中允许使用的杀寄生虫剂列表中删除。

(来源: <http://news.foodmate.net>)