

发酵对金丝小枣多糖缓解体力疲劳功效的影响

Effect of fermentation on alleviating physical fatigue of Ziziphus jujuba polysaccharide

王洪杰¹ 张平平^{1,2} 欧可可¹ 冯 聪¹ 揣东华¹

WANG Hong-jie¹ ZHANG Ping-ping^{1,2} OU Ke-ke¹ FENG Cong¹ CHUAI Dong-hua¹

(1. 天津农学院食品科学与生物工程学院, 天津 300384; 2. 天津市农副产品深加工技术工程中心, 天津 300384)

(1. College of Food Science and Biological Engineering, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China;

2. Tianjin Agricultural and Sideline Products Deep Processing Technology Engineering Center, Tianjin 300384, China)

摘要:研究发酵前后金丝小枣多糖对缓解小鼠体力疲劳的影响。取 56 只雄性 SPF 级昆明小鼠, 连续灌胃不同剂量的枣多糖, 4 周后分别测定小鼠体重、力竭游泳时间以及相关抗疲劳评价指标。结果表明, 与对照组相比, 发酵前后的金丝小枣多糖均能延长小鼠力竭游泳时间(发酵前的高剂量组和发酵后的中剂量组的延长率分别为 32.01%, 47.98%), 提高肝糖原和肌糖原含量、谷胱甘肽过氧化物酶和超氧化物歧化酶活力, 降低尿素氮和血乳酸含量、肌酸激酶活力, 发酵多糖中剂量组小鼠各项指标的测定结果均有极显著差异。发酵前后的金丝小枣多糖均具有缓解小鼠体力疲劳的作用, 而且发酵后中剂量对小鼠体力疲劳的缓解作用更加明显。

关键词: 金丝小枣; 发酵; 多糖; 体力疲劳

Abstract: The effects of fermented and unfermented Ziziphus jujuba polysaccharide on the physical fatigue alleviation in mice was investigated in this study. 56 male SPF class Kunming mice were fed with different doses of polysaccharides, and their body weight, exhaustive swimming time and related anti-fatigue evaluating indexes were measured after treated for 4 weeks. Tests showed that, compared with the normal control group, the mice fed with the polysaccharides from fermented and unfermented Ziziphus jujuba had a prolonged exhaustive swimming time. The percentage elongation was 32.01% for the high-dose unfermented jujuba polysaccharide treated group, and the percentage elongation was 47.98% for the medium dose of the fermented one. The effect of the medium-dose fermented jujuba polysaccharide on alleviating physical fatigue was remarkable, and the

content of hepatic glycogen and muscle glycogen, and the activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase increased. Moreover, the content of urea nitrogen, lactic acid and the activity of creatine kinase decreased. The polysaccharides from both fermented and unfermented Ziziphus jujuba had the effect of relieving the physical fatigue in mice, and the effect of medium-dose of the fermented group on alleviating physical fatigue was more remarkable.

Keywords: ziziphus jujuba; fermentation; polysaccharide; physical fatigue

体力疲劳又叫躯体性疲劳, 当机体长时间从事繁重紧张的体力劳动时, 会有大量的代谢物在体内积聚, 刺激人体组织细胞和神经系统, 使人产生疲劳感^[1]。缓解体力疲劳就是通过一些方法来缓解这种疲劳的感觉, 从而使人感觉轻松。金丝小枣(*Ziziphus jujuba*) 隶属于鼠李科枣属植物, 至今已有 3 000 多年的栽培历史, 风味甘美, 营养丰富, 含有多糖、环磷酸腺苷、生物碱类、皂苷类、黄酮类等^[2], 是传统的药食兼用佳品。枣多糖有抗氧化、抗肿瘤、降低血糖和血脂、延缓机体衰老、增强免疫力、保肝等药理功效^[3]。虽然目前中国对枣多糖的生物活性研究较多^[4-5], 但对缓解小鼠体力疲劳方面的研究不多^[6-7], 且未见发酵对枣多糖缓解体力疲劳功效影响的报道。

本研究以金丝小枣为原料, 利用酵母菌发酵枣浆, 提取发酵多糖进行缓解小鼠体力疲劳方面的研究, 以期对发酵枣粉、发酵多糖在功能食品中的应用及产品开发提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

金丝小枣: 产自山东乐陵;
安琪高活性干酵母: 安琪酵母股份有限公司;
SPF 级雄性昆明小鼠: 中国食品药品检定研究院;
无水乙醇: 分析纯, 南京化学试剂一厂;

基金项目: 天津市科技计划项目(编号: 16YFZN00020); 天津农学院高校教师教育改革创新引导发展项目(编号: 20170205); 天津农学院研究生培养质量提升项目(编号: 2017YAL013)

作者简介: 王洪杰, 女, 天津农学院在读硕士研究生。

通信作者: 张平平(1970—), 女, 博士, 天津农学院教授。

E-mail: zpp613@163.com

收稿日期: 2017-10-09

三氯甲烷、苯酚:分析纯,利安隆博华(天津)医药化学有限公司;

正丁醇:分析纯,天津市北方天医化学试剂厂;

硫酸:分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司;

苦味酸:天津市科密欧化学试剂有限公司;

尿素氮(BUN)、血乳酸(LD)、肝糖原(HG)、肌糖原(MG)、肌酸激酶(CK)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)等试剂盒:南京建成生物工程研究所。

1.2 仪器与设备

电子天平:JA2003 型,上海舜宇恒平科学仪器有限公司;

冷冻干燥机:LJG-18S 型,北京松源华兴科技发展有限公司;

台式高速冷冻离心机:LGR20-W 型,北京京立离心机有限公司;

水浴锅:HWS-28 型,上海恒科学仪器有限公司;

紫外-可见分光光度计:722 型,上海菁华科技仪器有限公司;

酶标仪:ELx800 型,美国 MD 公司;

全自动生化分析仪:GLAMOUR3000 型,美国 MD 公司。

1.3 方法

1.3.1 金丝小枣多糖的制备

(1) 发酵前的枣多糖:参照吉爽爽^[8]提取枣多糖的方法并作改进。金丝小枣去核打浆后按料液比 1:3(质量比)的比例加入蒸馏水,于 80℃水浴锅中浸提 2 h,4 000 r/min 离心 10 min,收集下层滤渣加入蒸馏水再水浴 2 h,合并 2 次滤液,旋转蒸发浓缩至原体积的 1/3,加 95%乙醇,4℃放置 24 h,取沉淀加蒸馏水溶解,过 8 kD 的超滤膜,截留液用 Sevage 法除蛋白质,冷冻干燥(参数设置:冷阱盘管温度-66℃,真空度 1 Pa,捕水能力 6 kg/24 h,冻干面积 0.18~0.27 m²)得到枣多糖。经硫酸苯酚法^[9]测定枣多糖含量为 65%。

(2) 发酵后的枣多糖:金丝小枣去核打浆,经灭菌处理后接种 1%的酵母菌,37℃发酵 8 h,发酵结束后放入冰箱冷冻室终止发酵。提取发酵多糖的过程同 1.3.1(1)。经硫酸苯酚法测定枣多糖含量为 59%。

1.3.2 试验动物条件和分组 选取 6 周龄、体重(19±1) g 的 SPF 级雄性昆明小鼠 56 只,适应性喂养 5 d 后,按体重随机分为 7 组并灌胃不同浓度的多糖液。正常对照组 ZD(蒸馏水),发酵前的枣多糖高剂量组 WG[0.2 g/(kg·d)],中剂量组 WZ[0.15 g/(kg·d)],低剂量组 WD[0.1 g/(kg·d)],发酵后的枣多糖高剂量组 FG[0.2 g/(kg·d)],中剂量组 FZ[0.15 g/(kg·d)],低剂量组 FD[0.1 g/(kg·d)],规定每只小鼠每天灌胃量为 0.1 mL/10 g·BW。每日下午 5:00 进行一次灌胃,连续灌胃 4 周。

1.3.3 缓解小鼠体力疲劳的试验方法 末次灌胃相应剂量的多糖后,将尾根部负荷自身体重 6%铁丝的小鼠置于游泳

箱(尺寸约 60 cm×60 cm×50 cm)中游泳,水深约 30 cm,水温 25℃左右,记录小鼠从游泳到其头部沉入温水中 8 s 后,不能再露出水面的时间,即为小鼠的负重游泳时间^{[10][11]}。负重方法^{[10][12]}:用等长的棉线在距小鼠尾巴根部 2~3 cm 处系上负重铁丝环。根据中华人民共和国卫生部颁布的《保健食品检验与评价技术规范》^[11]的要求记录小鼠每日体重及力竭游泳时间,按 BUN、LD、HG、MG、CK、GSH-Px、SOD 等试剂盒说明测定各指标。

1.3.4 小鼠力竭游泳时间延长率的计算

$$P = \frac{t_1 - t_0}{t_0} \times 100\%, \tag{1}$$

式中:

P——延长率,%;

t₁——试验组小鼠存活时间,min;

t₀——正常对照组小鼠存活时间,min。

1.4 统计方法

采用 SPSS 22.0 软件进行数据处理及统计学分析。

2 结果与分析

2.1 多糖剂量对各组小鼠体重的影响

体重变化是小鼠生长发育受到影响最直接的体现,即反映小鼠在饲养期间,多糖对其生长发育的影响。表 1 为不同剂量多糖对各组小鼠体重的影响。

表 1 各组小鼠体重的增量

Table 1 Weight increment of mice in each group g

组别	第 1 天	第 14 天	第 28 天	增量
ZD	26.29±1.23	36.50±2.38	44.50±3.61	18.21±2.49
WG	25.84±1.08	35.16±2.46	43.20±3.12	17.36±2.46
WZ	25.30±1.35	36.08±2.28	45.09±3.08	19.79±2.58
WD	23.29±1.19	33.67±2.09	42.42±3.27	19.13±2.31
FG	23.57±1.58	33.42±2.48	41.75±3.57	18.18±2.09
FZ	23.30±1.42	33.32±2.67	42.44±3.29	19.14±2.51
FD	25.08±1.62	34.59±2.26	43.44±3.43	18.36±2.14

由表 1 可知,与 ZD 相比,各试验组小鼠每 2 周内体重的增量有差别,但用统计学方法对其分析,均无显著性差异,即在饲养期间,灌胃发酵前后的枣多糖不会对小鼠的生长及发育造成不良影响。

2.2 多糖剂量对小鼠力竭游泳时间的影响

运动耐力的提高是抗疲劳能力加强最直接的表现,游泳时间的长短可以反映动物运动疲劳的程度。表 2 为不同剂量的多糖对各组小鼠力竭游泳时间的影响。

由表 2 可知,与 ZD 相比,各试验组小鼠的力竭游泳时间都有所延长,WG、FG、FZ 与 ZD 相比差异极显著,WZ、FD 与 ZD 相比差异显著。说明发酵前后的枣多糖能不同程度地缓解小鼠的体力疲劳。虽然 WG、FG、FZ 与 ZD 相比差异都极显著,但 FZ 的延长率更高,更能缓解小鼠的体力疲劳。

表 2 多糖剂量对小鼠力竭游泳时间的影响[†]

Table 2 Effects of different doses of jujube polysaccharide on the exhaustive swimming time of mice

组别	力竭游泳时间/min	延长率/%
ZD	8.33±0.89	
WG	11.00±1.59 * *	32.01
WZ	9.97±1.12 *	19.69
WD	8.93±0.54	7.20
FG	10.43±0.88 * *	25.17
FZ	12.33±0.81 * *	47.98
FD	10.06±0.37 *	20.77

† * 表示与 ZD 相比有显著性差异(P<0.05), * * 表示与 ZD 相比有极显著性差异(P<0.01)。

2.3 多糖剂量对小鼠血清中 BUN、LD 含量的影响

能源物质的消耗、代谢物质的堆积是产生疲劳的重要原因^[12]。表 3 为不同剂量多糖对各组小鼠 BUN、LD 的影响结果。

表 3 多糖剂量对小鼠 BUN、LD 的影响[†]

Table 3 Effects of different doses of jujube polysaccharide on the BUN, LD of mice mmol/L

组别	BUN 含量	LD 含量
ZD	30.77±0.98	6.38±0.36
WG	26.22±6.56 *	5.04±0.92 * *
WZ	28.15±3.24	5.45±0.62 *
WD	30.99±5.52	5.82±0.48
FG	25.79±2.76 *	5.37±0.78 *
FZ	22.73±0.56 * *	4.59±0.36 * *
FD	25.18±1.54 *	5.58±0.36

† * 表示与 ZD 相比有显著性差异(P<0.05), * * 表示与 ZD 相比有极显著性差异(P<0.01)。

机体剧烈运动时,氧供应相对不足,BUN、LD 等代谢产物增多,会引起肌肉收缩效率下降^[13],因此,BUN、LD 是检测疲劳程度最主要的指标^[14]。由表 3 可知,与 ZD 相比,各试验组小鼠血清中 BUN 和 LD 含量均有所降低。FZ 小鼠血清中 BUN 含量与 ZD 相比,差异极显著,WG、FG、FD 小鼠血清中 BUN 含量与 ZD 相比,差异显著。WG、FZ 小鼠血清中 LD 含量与 ZD 相比,差异极显著,WZ、FG 小鼠血清中 LD 含量与 ZD 相比,差异显著,且发酵多糖组的 BUN 含量都比枣多糖组的低,FZ 小鼠血清中 BUN、LD 含量都是最低的。说明发酵前后的枣多糖可不同程度地减少机体蛋白质和含氮物质的分解代谢,以提高肌肉的运动能力,缓解小鼠的体力疲劳,其中 FZ 的缓解效果最好。

2.4 多糖剂量对小鼠 HG、MG 含量的影响

HG 和 MG 是机体运动时重要的供能物质^[15]。表 4 为不同剂量的多糖对各组小鼠 HG、MG 的影响结果。

剧烈运动时,机体的 HG、MG 被大量消耗以维持血糖恒定,当 HG、MG 耗竭,血糖含量明显下降,则运动不能持续^[16]。

表 4 多糖剂量对小鼠 HG、MG 的影响[†]

Table 4 Effects of different doses of jujube polysaccharide on the HG, MG of mice mg/g

组别	HG 含量	MG 含量
ZD	2.03±0.34	0.17±0.03
WG	2.31±0.29	0.29±0.05 * *
WZ	2.28±0.64	0.28±0.08 *
WD	2.25±0.30	0.27±0.02 *
FG	2.57±0.60	0.23±0.05
FZ	3.02±0.94 *	0.30±0.06 * *
FD	2.52±0.23	0.26±0.05

† * 表示与 ZD 相比有显著性差异(P<0.05), * * 表示与 ZD 相比有极显著性差异(P<0.01)。

因此 HG、MG 的储备量直接影响小鼠负重游泳的能力,是反映疲劳程度的主要指标^[17]。由表 4 可知,与 ZD 比,各试验组小鼠体内的 HG 和 MG 含量均有所增加。其中,FZ 的 HG 含量与 ZD 相比,差异显著,其它各组均无统计学意义。WG、FZ 的 MG 含量与 ZD 相比,差异极显著,WZ、WD 的 MG 含量与 ZD 相比,差异显著。说明发酵前后的枣多糖可通过改善机体糖代谢系统来达到缓解小鼠体力疲劳的作用。而且发酵后的 HG 含量比发酵前的高,其中 FZ 小鼠的 HG、MG 含量都是最高的,表明 FZ 更能缓解小鼠的体力疲劳。

2.5 多糖剂量对小鼠 CK、GSH-Px、SOD 含量的影响

自由基理论认为,抗氧化与缓解体力疲劳具有一定的关系,GSH-Px 活力、SOD 活力、CK 活力 3 项指标能直接反映机体的抗氧化状态和脂质过氧化水平^[18]。表 5 为不同剂量的多糖对各组小鼠 GSH-Px、SOD、CK 活力的影响结果。

表 5 多糖剂量对小鼠 GSH-Px、SOD、CK 活力的影响[†]

Table 5 Effects of different doses of jujube polysaccharide on the GSH-Px, SOD, CK of mice U/mL

组别	GSH-Px 活力	SOD 活力	CK 活力
ZD	92.67±1.28	77.95±4.09	7.91±0.35
WG	128.90±16.26 * *	95.61±6.78 * *	3.62±0.12 * *
WZ	111.11±10.71 *	85.96±6.78 *	5.60±0.40 * *
WD	105.04±7.96	80.98±12.39	6.18±0.79 *
FG	115.67±6.41 *	88.76±2.69 *	4.62±0.70 * *
FZ	130.36±9.39 * *	90.54±3.72 * *	3.86±0.18 * *
FD	108.25±6.14 *	80.20±3.52	6.07±0.51 *

† * 表示与 ZD 相比有显著性差异(P<0.05), * * 表示与 ZD 相比有极显著性差异(P<0.01)。

GSH-Px、SOD 是机体抗氧化系统中 2 个重要的酶,而 CK 活性的变化与机体脂质过氧化程度密切相关,是评定骨骼肌微细损伤的一个重要生理指标^[19]。由表 5 可知,与 ZD 相比,各剂量组多糖均能提高 GSH-Px、SOD 活力,降低了 CK 活力。WZ 显著增加了 GSH-Px、SOD 活力,显著降低了 CK 活力,FG 显著增加了 GSH-Px、SOD 活力,极显著降

低了CK活力,说明发酵前后枣多糖均具有良好的体内抗氧化活性,不仅能显著提高体内酶系统的抗氧化活力,而且能够有效清除体内自由基并防止细胞膜脂质过氧化,减少血管壁及一些组织的损伤,进而缓解小鼠的体力疲劳,其中WG和FZ缓解小鼠体力疲劳的效果最佳。

3 结论

运动耐力的提高是抗疲劳能力加强最直接的表现,力竭游泳时间的长短可以直接反映动物运动的疲劳程度,BLA、BUN、HG及MG是反映机体疲劳程度的重要生化指标。机体通过糖酵解的方式提供能量,维持正常生活,当机体处于长时间的运动状态时,会加快糖酵解速度,氧供应会相对不足,机体启动无氧糖酵解过程,HG、MG大量消耗,提供能量的同时会产生大量的LD和BUN等蛋白质代谢的最终产物,其在体内堆积会直接或间接引起运动能力的下降,产生疲劳。因此,BLA、BUN含量越低,HG、MG含量越高,机体的抗疲劳能力越强。自由基理论认为,抗氧化与缓解体力疲劳有一定的关系,在对机体抗氧化系统中2个重要的酶GSH-Px、SOD及CK活力进行测定时,证实了发酵前后枣多糖不仅能显著提高体内酶系统的抗氧化活力,而且能够有效清除体内自由基并防止细胞膜脂质过氧化,进而缓解机体的体力疲劳。与对照组相比,随着枣多糖剂量的增加,各试验组小鼠的力竭游泳时间都有延长,体内HG、MG含量都有不同程度的增加,BLA、BUN含量都有不同程度的降低,证明发酵前后枣多糖均具有缓解体力疲劳的作用,且发酵前的枣多糖缓解体力疲劳的功效是随着多糖剂量的增加而增强的,发酵后多糖的抗疲劳功效是先增强再减弱的,其中发酵后枣多糖中剂量对小鼠体力疲劳的缓解效果更为明显。

参考文献

- [1] 宋伟峰,苏俊芳,罗淑媛.荔枝多糖抗疲劳作用的实验研究[J].中药材,2012,35(9):1485-1487.
- [2] 姬玉洁,张平平,王娜,等.发酵冬枣粉与普通冬枣粉成分分析及不同处理对枣中cAMP含量变化的影响[J].食品工业科技,2014(24):123-127,131.
- [3] 刘晓庆.沙枣多糖纯化、结构表征及其生物活性研究[D].天津:天津科技大学,2015:6-9.
- [4] 朱虎虎,康金森,玉苏甫·吐尔逊,等.新疆大枣汁抗小鼠一次性力竭运动疲劳作用的研究[J].中国实验方剂学杂志,2013,19(11):232-234.
- [5] 姬玉洁.发酵冬枣粉成分分析及其对小鼠免疫功能的影响[D].晋中:山西农业大学,2014:8-11.
- [6] 池爱平,陈锦屏,熊正英.木枣多糖抗疲劳组分对力竭游泳小鼠糖代谢的影响[J].中国运动医学杂志,2007,26(4):411-415.
- [7] 丁玉松,王忠,马儒林,等.沙枣多糖抗疲劳作用及其机制的研究[J].食品科学,2010,31(11):255-257.
- [8] 吉爽爽.枣中功能性糖的研究[D].保定:河北农业大学,2012:19.
- [9] 魏然.圆铃大枣多糖提取、纯化及生物活性研究[D].泰安:山东农业大学,2014:12-13.
- [10] 陈慧婵.香菇对小鼠抗疲劳、耐缺氧及抗氧化作用的研究[D].南京:南京农业大学,2014.
- [11] 中华人民共和国卫生部.保健食品检验与评价技术规范[S].北京:清华同方电子出版社,2003:87-93.
- [12] 曹彝.木枣多糖抗小鼠运动疲劳的实验研究[J].食品科学,2008,29(9):571-574.
- [13] 刘庆春,毕珣,刘爱兵,等.枣环磷酸腺苷提取液对小鼠抗疲劳作用的药效学研究[J].肠外与肠内营养,2015(1):46-48.
- [14] CHI Ai-ping, TANG Liang, ZHANG Jing, et al. Chemical composition of three polysaccharides from gynostemma pentaphyllum and their antioxidant activity in skeletal muscle of exercised mice[J]. International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism, 2012, 22(6): 479-485.
- [15] ANDREW D Ray, SUPRIYA Udhoji, TERRY L Mashtare. A combined inspiratory and expiratory muscle training program improves respiratory muscle strength and fatigue in multiple sclerosis[J]. Archives of Physical Medicine and Rehabilitation, 2013, 94(10): 1964-1970.
- [16] 郑飞.蓝莓多糖对衰老小鼠运动耐力及抗疲劳效果研究[J].食品科学,2014,35(21):249-252.
- [17] 池爱平,陈锦屏,熊正英.木枣多糖抗疲劳组分对力竭游泳小鼠糖代谢的影响[J].中国运动医学杂志,2007,26(4):411-415.
- [18] SEN S, WINLAW D S, SHOLLER G F. Partial anomalous left pulmonary artery: report of two cases and review of literature[J]. Cardiol Young, 2014, 25(5): 1-3.
- [19] 池爱平,康琛喆,郭欢欢,等.败酱草多糖的组成及抗疲劳与耐缺氧作用[J].食品科学,2014,35(21):212-215.

信息窗

生物学家:啤酒花有助对抗肥胖和高血压

美国俄勒冈大学生物学家发现,啤酒花(啤酒主要成分)中的黄腐酚或可用于对抗肥胖、高血压和糖尿病。相关学术论文发表在《科学报告》杂志上。

研究采用喂食高脂肪食物的超重小鼠,以模拟“西方饮食”。滥用这种饮食会导致一系列健康问题,包括肥胖和高血压。

科学家发现,注射黄腐酚衍生物的小鼠对2型糖尿病的易感性降低。此外,小鼠对瘦素(可引起饥饿感)的敏感性也受到抑制。

研究人员指出,这使得小鼠更早出现饱腹感,吃得更少,相当于食用油腻食物。

(来源: <http://news.foodmate.net>)