

牡蛎肽制备工艺优化及抗运动疲劳活性评价

邓朝友¹ 唐丽萍¹ 李建民² 隋明³

(1. 河池学院体育学院, 广西 河池 546300; 2. 邯郸学院太极文化学院, 河北 邯郸 056005;

3. 四川工商职业技术学院轻工工程学院, 四川 成都 611830)

摘要: [目的] 以牡蛎为原料, 采用复合蛋白酶(木瓜蛋白酶、碱性蛋白酶、氨基肽酶)水解制备具有抗氧化活性的牡蛎肽, 并评价其抗运动疲劳活性。[方法] 以水解度和 DPPH 自由基清除率为考察指标, 采用响应面法优化牡蛎肽制备工艺, 并探究牡蛎肽对运动小鼠的疲劳改善作用。[结果] 牡蛎肽最佳提取工艺为复合蛋白酶添加量 4%, 酶解 pH 7.5, 料液比 1:7.5 (g/mL), 酶解温度 57 °C, 酶解时间 7 h, 该工艺下牡蛎肽酶解水解度为 48.3%, DPPH 自由基清除率为 60.42%; 牡蛎肽中疏水性氨基酸含量为 33.18 g/100 g, 占氨基酸总量的 48.28%, 相对分子质量主要集中在 5 000 以下, 低相对分子质量组分(<1 000)占比达 71.45%, 表明牡蛎肽主要为小分子肽并具有良好的抗氧化能力。小鼠抗运动疲劳试验证明, 与空白对照组相比, 给予牡蛎肽高剂量干预, 小鼠转棒疲劳时间及负重游泳时间分别增加了 10.93, 13.34 min, 运动能力得到显著性提高($P<0.05$); 同时, 牡蛎肽可显著性降低运动后小鼠体内 BLA 和 BUN 含量($P<0.05$), 提高小鼠抗氧化水平, MDA 和 SOD 水平均有显著性改善($P<0.05$)。[结论] 试验制备的牡蛎肽具有较好的抗氧化活性, 有助于增强小鼠运动耐力, 缓解运动疲劳。

关键词: 牡蛎肽; 响应面; 酶解; 抗氧化; 运动疲劳

Optimization of preparation technology and evaluation of anti-exercise fatigue activity of oyster peptide

DENG Chaoyou¹ TANG Liping¹ LI Jianmin² SUI Ming³

(1. School of Physical Education, Hechi University, Hechi, Guangxi 546300, China; 2. School of Tai Chi Culture, Handan University, Handan, Hebei 056005, China; 3. College of Light Industry and Engineering, Sichuan Technology & Business College, Chengdu, Sichuan 611830, China)

Abstract: [Objective] Oyster was used as the raw material to prepare antioxidant oyster peptides by hydrolysis with complex proteases (papain, alkaline protease, and aminopeptidase), and their anti-exercise fatigue activity was evaluated. [Methods] Using degree of hydrolysis and DPPH radical scavenging rate as evaluation indicators, response surface methodology was applied to optimize the preparation process of oyster peptides, and the fatigue-alleviating effects of oyster peptides were investigated in exercise-induced mice. [Results] The optimal extraction conditions for oyster peptides were as follows: 4% complex protease addition, hydrolysis pH 7.5, material-to-liquid ratio 1:7.5 (g/mL), hydrolysis temperature 57 °C, and hydrolysis time 7 h. Under these conditions, the degree of hydrolysis was 48.3%, and the DPPH radical scavenging rate was 60.42%. The hydrophobic amino acid content in oyster peptides was 33.18 g/100 g, accounting for 48.28% of total amino acids. The molecular weight was mainly concentrated below 5 000, with low molecular weight components (<1 000) accounting for 71.45%, indicating that oyster peptides were mainly small peptides with good antioxidant capacity. In the anti-fatigue test in mice, compared with the blank control group, high-dose oyster peptide intervention significantly increased the fatigue time on the rotating rod and the weighted swimming time by 10.93 min and 13.34 min, respectively, indicating significantly improved

基金项目: 河北省体育局科技研究项目(编号: 2024QT22)

通信作者: 邓朝友(1984—), 男, 河池学院讲师, 硕士。E-mail: chaoyou19848@163.com

收稿日期: 2025-01-22 改回日期: 2025-07-31

引用格式: 邓朝友, 唐丽萍, 李建民, 等. 牡蛎肽制备工艺优化及抗运动疲劳活性评价[J]. 食品与机械, 2025, 41(10): 141-149.

Citation: DENG Chaoyou, TANG Liping, LI Jianmin, et al. Optimization of preparation technology and evaluation of anti-exercise fatigue activity of oyster peptide[J]. Food & Machinery, 2025, 41(10): 141-149.

exercise capacity ($P<0.05$). Meanwhile, oyster peptides significantly reduced blood lactate (BLA) and blood urea nitrogen (BUN) levels after exercise ($P<0.05$), and enhanced antioxidant levels in mice, with significant improvements in malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) levels ($P<0.05$). [Conclusion] The oyster peptides prepared in this study exhibit good antioxidant activity, which helps enhance exercise endurance and alleviate exercise-induced fatigue in mice.

Keywords: oyster peptide; response surface; enzymatic hydrolysis; antioxidant; exercise fatigue

牡蛎营养丰富,富含蛋白质、多糖、维生素以及矿物质等多种营养物质,其蛋白质具有完整的必需氨基酸组成,质量和完整性优于人乳和牛奶中的氨基酸^[1-2],是一种营养价值较高的食品。同时,牡蛎也是活性肽的潜在来源,其具有多种生理活性,如壮骨、抗氧化、抗菌、降压、抗炎和抗癌等^[3-8]。

机体在长时间或高强度运动后会促进氧化应激反应,体内活性自由基会大量产生并积累,从而表现出运动性疲劳状态。Zhu 等^[5]提取的牡蛎蛋白经胃肠道模拟消化后,其消化水解物主要为游离氨基酸短肽,其 DPPH 自由基和 ABTS 自由基清除活性显著增加($P<0.05$),牡蛎蛋白可作为天然的抗氧化剂来源。Lin 等^[9]研究表明,ADDIN 牡蛎肽可以降低小鼠运动后的氧化应激反应,通过激活 AMPK 和 HO-1 等靶蛋白发挥生物活性。郑玉婷等^[10]证明富含 DHMBA 的牡蛎肽可以提高机体运动负荷能力。

目前,牡蛎肽的抗氧化活性机制已明确,但以抗氧化活性进一步挖掘牡蛎肽缓解运动疲劳、增强运动耐力的研究较少;市售牡蛎肽产品多为抗衰老、降血糖、壮骨等功效,抗运动疲劳类产品的开发有助于牡蛎肽市场的开拓和发展。试验拟以牡蛎肽生产的工艺优化及功能开发为目的,通过响应面法优化牡蛎肽酶解条件,并以牡蛎肽具有抗氧化活性为基础,探究牡蛎肽的抗疲劳活性,为牡蛎肽相关功能性产品开发提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

牡蛎、西洋参粉:市售;

ICR 雄性小鼠:6~8 周龄,试验动物许可证号 SCXK(川)2020-030,成都达硕实验动物有限公司;

复合蛋白酶(木瓜蛋白酶 10 万 U/g、碱性蛋白酶 20 万 U/g、氨基肽酶 5 000 U/g):夏盛(北京)生物科技开发有限公司;

L-乳酸测试盒、血尿素氮测试盒、丙二醛测试盒、超氧化物歧化酶测试盒、DPPH 自由基清除试剂盒:南京建成生物工程研究所。

1.1.2 仪器

电子天平:ME203 型,瑞士梅特勒托利多仪器有限公司;

pH 计:FE28-CN 型,瑞士梅特勒托利多仪器有限公司;

高速冷冻离心机:J-26SXP 型,美国贝克曼库尔特有限公司;

紫外可见分光光度计:SPECORD 250 型,德国耶拿分析仪器股份有限公司;

全自动凯氏定氮仪:K9840 型,济南海能仪器股份有限公司;

冻干机:SCIENTZ-10N/A 型,宁波新芝生物科技股份有限公司;

恒温水浴锅:HHS-7 型,上海博讯实业有限公司;

氨基酸分析仪:L-8900 型,日本日立公司;

高效液相色谱仪:LC-20AT 型,日本岛津公司。

1.2 试验方法

1.2.1 牡蛎基本成分测定

(1) 水分含量:参照 GB 5009.3—2016。

(2) 灰分含量:参照 GB 5009.4—2016。

(3) 蛋白质含量:参照 GB 5009.5—2016。

(4) 脂肪含量:参照 GB 5009.6—2016。

1.2.2 牡蛎肽制备方法 清洗新鲜牡蛎肉中杂质,沥干水分,称取 150 g 牡蛎肉进行匀浆,加入 750 mL 蒸馏水搅拌均匀,加入 2% 复合蛋白酶($m_{\text{木瓜蛋白酶}}:m_{\text{碱性蛋白酶}}:m_{\text{氨基肽酶}}=1:0.5:0.08$),调节 pH 值至 7.0,50 ℃水浴酶解 5 h,迅速升温至 85 ℃保持 15 min,5 500 r/min 离心 15 min,取上清液进行冻干处理得到牡蛎肽。

1.2.3 单因素试验 固定料液比 1:15 (g/mL),酶添加量 2%、酶解温度 50 ℃,酶解时间 6 h,酶解 pH 值 7,分别考察酶添加量(1%,2%,3%,4%,5%)、酶解温度(40,45,50,55,60 ℃)、酶解 pH 值(6.0,6.5,7.0,7.5,8.0)、酶解时间(3,4,5,6,7,8 h)、料液比[1:5,1:10,1:15,1:20,1:25 (g/mL)]对水解度和 DPPH 自由基清除率的影响。

1.2.4 响应面试验 以单因素试验为基础,选取酶添加量、酶解 pH 值、料液比、酶解温度 4 个因素,以水解度为评价指标,通过响应面法优化制备工艺。

1.2.5 水解度测定 参照张慧莹等^[11]的方法并修改,按式(1)计算水解度。

$$d = \frac{m_1}{m_2} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

d ——水解度,%;

m_1 ——氨基液态氮质量, g;

m_2 ——总氮质量, g。

1.2.6 DPPH 自由基清除率测定 根据试剂盒说明进行测定。

1.2.7 牡蛎肽氨基酸组成分析 参照 GB 5009.124—2016。

1.2.8 牡蛎肽相对分子质量分布测定 配制质量浓度为 5 mg/mL 的牡蛎肽溶液, 过 0.22 μm 滤膜后备用。液相色谱条件: 进样量 10 μL , 流动相为乙腈—水—三氟乙酸 ($V_{\text{乙腈}}:V_{\text{水}}:V_{\text{三氟乙酸}}=800:1\ 200:1$), 流速 0.5 mL/min, 柱温 35 $^{\circ}\text{C}$, 检测波长 220 nm, TSK-gel G2000 SWXL 凝胶色谱柱。

1.2.9 小鼠运动耐力测定 试验动物选择 ICR 雄性小鼠, 小鼠适应性喂养 7 d, 按照体重分为空白对照组, 西洋参组, 牡蛎肽低、中、高剂量组, 每组 10 只。空白对照组灌胃生理盐水; 西洋参组灌胃剂量为 500 mg/(kg·d); 牡蛎肽低、中、高剂量组灌胃剂量分别为 250, 750, 1 250 mg/(kg·d), 连续灌胃 30 d。

灌胃第 20 天, 将小鼠置于转棒上, 1 min 内加速至 18 r/min, 小鼠从转棒上跌落 3 次即视为疲劳, 记录小鼠因肌肉疲劳而跌落装置的时间。灌胃第 25 天, 在小鼠尾部悬挂自身体重 5% 的铅块, 于 27 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水池中进行负重游泳测试, 记录小鼠入水后至头部沉入水中 10 s 无法浮起的时间。

1.2.10 小鼠生化指标检测 末次灌胃 30 min 后, 小鼠进行等时游泳 30 min, 擦干小鼠身上水分, 休息 15 min 后眼眶取血, 4 000 r/min 离心 15 min, 取血清, -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。根据相关试剂盒说明书测定血清中 BUN、BLA、MDA 和 SOD 水平。

1.3 数据分析

数据结果均采用平均值 $\pm$ 标准差表示。采用 SPSS 25.0 软件进行数据统计分析, $P<0.05$ 代表差异显著, $P<0.01$ 代表差异极显著。采用 Origin 2024 软件作图, 采用 Design-Expert 10.0 软件进行响应面试验设计及结果分析。

2 结果与分析

2.1 牡蛎基本成分

由表 1 可知, 新鲜牡蛎中蛋白质含量为 12.47%, 脂质含量仅为 0.85%, 属于高蛋白低脂肪的优质食品原料。脂肪含量较低, 在酶解制备过程中可较好地避免因脂质氧化带来的品质、风味问题。

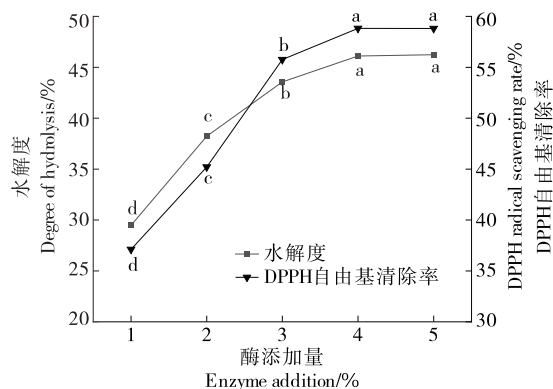
2.2 单因素试验

2.2.1 酶添加量对水解度和 DPPH 自由基清除率的影响 由图 1 可知, 当酶添加量 $<3\%$ 时, 水解度和 DPPH 自由基清除率上升速率较快, 当酶添加量为 4% 时, 水解度

表 1 牡蛎基本组成成分

Table 1 Basic components of oyster				%
水分	蛋白质	脂质	灰分	
73.47	13.47	1.05	1.43	

为 44.11%, DPPH 自由基清除率为 56.82%。继续增加酶添加量, 水解度与 DPPH 自由基清除率变化不显著。酶解过程中, 增加酶制剂会提供更多的酶位点与底物结合, 提高酶解效率与酶解得率, 水解度得到提高, 并进一步释放更多的短肽, 增加氨基酸残基暴露位点, 提高酶解液的抗氧化活性; 当反应底物与酶位点结合达到饱和时, 过量的酶制剂无法起到酶解作用, 水解度和 DPPH 自由基清除率到达平衡点。



字母不同表示差异显著 ($P<0.05$)

图 1 酶添加量对水解度和 DPPH 自由基清除率的影响
Figure 1 Effect of enzyme addition on hydrolysis degree and DPPH radical scavenging rate

2.2.2 酶解温度对水解度和 DPPH 自由基清除率的影响 由图 2 可知, 当酶解温度从 40 $^{\circ}\text{C}$ 持续上升到 55 $^{\circ}\text{C}$ 时, 牡蛎酶解液具有最佳的水解度和 DPPH 自由基清除率, 在该温度下, 酶制剂可发挥最大活力; 当酶解温度为 60 $^{\circ}\text{C}$ 时, 水解度和 DPPH 自由基清除率显著下降。酶解过程中适当升高温度, 可以加快酶解体系内分子热运动, 提高分子运动速率, 加快底物与酶制剂结合速率, 进而促进酶解反应效果。酶制剂通常有最佳反应温度, 酶解温度过高会改变酶制剂结构, 酶解温度过低会使酶活力下降, 导致酶解效果不佳^[12], 进而影响 DPPH 自由基清除能力。综合考虑, 酶解温度选择 55 $^{\circ}\text{C}$ 。

2.2.3 酶解 pH 值对水解度和 DPPH 自由基清除率的影响 由图 3 可知, 当酶解 pH 值为 7.5 时, 牡蛎肽水解度为 42.55%, DPPH 自由基清除率为 57.84%, 均达到最高值。当 pH 值 >7.5 或 <7.5 时, 水解度和 DPPH 自由基清除率均显著低于 pH 7.5 时的 ($P<0.05$)。酶制剂属于蛋白质, 过酸或过碱的条件均会改变酶结构, 抑制酶制剂活性, 影

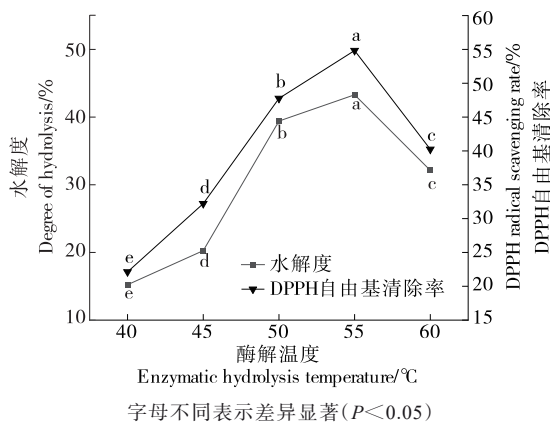


图2 酶解温度对水解度和DPPH自由基清除率的影响
Figure 2 Effect of enzymatic hydrolysis temperature on hydrolysis degree and DPPH radical scavenging rate

响酶解反应。酶解 pH 值会影响牡蛎肽的抗氧化效果,适宜的 pH 值条件下,酶制剂会酶切更多的抗氧化肽段^[13],也会影响酶解产物所带电荷数量,促进清除 DPPH 自由基,表现出更好的抗氧化能力。

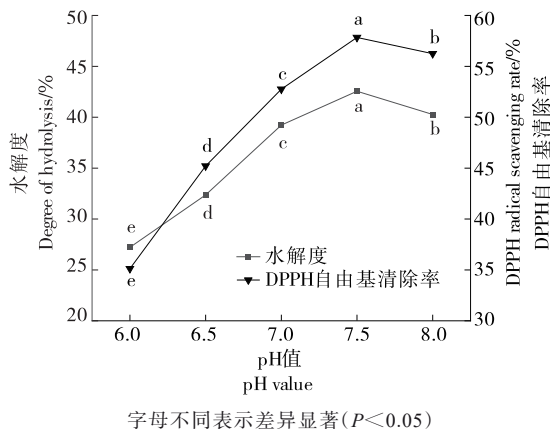


图3 酶解 pH 值对水解度和DPPH自由基清除率的影响
Figure 3 Effect of pH in enzymatic hydrolysis on hydrolysis degree and DPPH radical scavenging rate

2.2.4 酶解时间对水解度和DPPH自由基清除率的影响 由图4可知,随着酶解时间的延长,水解度和DPPH自由基清除率逐渐增加,在酶解7 h后趋于平稳。酶解反应开始时,由于底物浓度较高,此时酶解反应剧烈,酶解底物反应彻底^[14],水解度和DPPH自由基清除率呈快速增长趋势。随着酶解时间的延长,底物基本酶解完全,酶解反应基本结束,水解度保持稳定,酶解液中无更多的短肽暴露,因此DPPH自由基清除率也趋于稳定,故酶解时间选择7 h。

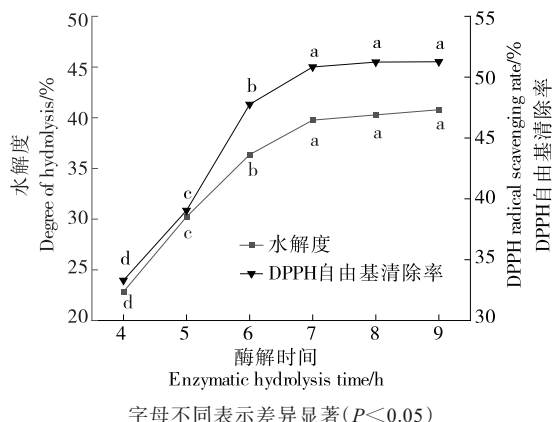


图4 酶解时间对水解度和DPPH自由基清除率的影响
Figure 4 Effect of enzymatic hydrolysis time on hydrolysis degree and DPPH radical scavenging rate

2.2.5 料液比对水解度和DPPH自由基清除率的影响

由图5可知,随着料液比的减小,水解度和DPPH自由基清除率逐渐升高。当料液比为1:6 (g/mL)时,继续减小料液比,水解度和DPPH自由基清除率升高趋势不显著。酶解溶液浓度过高,酶解底物与酶的随机结合面积不足,酶制剂结合位点不饱和,影响酶解反应速率与效果^[15]。随着酶解溶液浓度的降低,溶液中底物溶解更彻底,酶制剂与底物可自由结合,酶解更充分。当酶解溶液浓度达到一定程度后,继续降低浓度,酶解效果并不会显著性提升,故选择料液比1:7 (g/mL)。

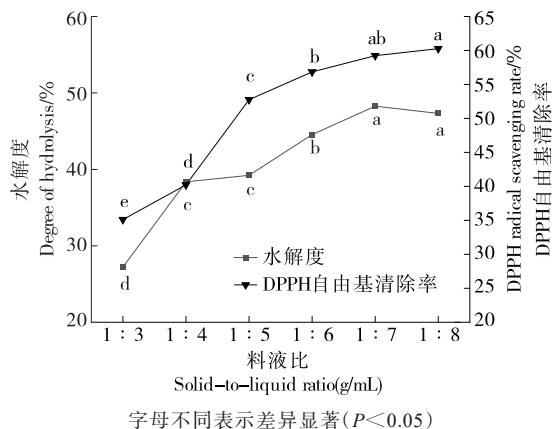


图5 料液比对水解度和DPPH自由基清除率的影响
Figure 5 Effect of solid-to-liquid ratio on hydrolysis degree and DPPH radical scavenging rate

2.3 响应面试验

2.3.1 响应面试验设计及结果分析 在单因素试验基础上,以水解率为评价指标,以酶添加量、酶解 pH 值、料液比和酶解温度为考察因素,响应面试验因素水平编码见

表2,响应面试验设计与结果见表3,响应面回归模型方差分析见表4。

利用响应面软件进行回归拟合,得到牡蛎肽制备水解度与各因素间的回归方程:

表2 响应面试验因素与水平表

Table 2 Factors and levels of response surface test

水平	A 酶添加 量/%	B 酶解 pH 值	C 料液比 (g/mL)	D 酶解温 度/℃
-1	2	7.0	1:6	50
0	3	7.5	1:7	55
1	4	8.0	1:8	60

表3 响应面试验设计及结果

Table 3 Response surface test design and results

试验号	A	B	C	D	水解率/%
1	1	0	1	0	46.56
2	1	0	0	-1	35.26
3	1	0	0	1	44.73
4	-1	0	0	-1	31.96
5	0	0	0	0	47.23
6	-1	0	0	1	35.99
7	0	0	1	-1	33.15
8	1	0	-1	0	39.91
9	0	1	-1	0	39.92
10	0	0	-1	1	36.16
11	-1	1	0	0	37.11
12	0	0	0	0	46.34
13	1	1	0	0	42.53
14	0	-1	0	-1	30.88
15	0	-1	-1	0	37.06
16	0	-1	1	0	38.87
17	1	-1	0	0	42.53
18	0	-1	0	1	39.66
19	0	0	-1	-1	35.14
20	0	0	0	0	44.27
21	-1	-1	0	0	31.19
22	0	1	0	1	41.33
23	-1	0	1	0	34.95
24	0	0	0	0	46.48
25	0	1	0	-1	34.22
26	0	0	0	0	46.09
27	-1	0	-1	0	37.69
28	0	1	1	0	39.64
29	0	0	1	1	41.94

表4 回归模型方差分析[†]

Table 4 Analysis of variance of the regression model

来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值	显著性
模型	674.20	14	48.16	42.53	<0.000 1	**
A	151.44	1	151.44	133.75	<0.000 1	**
B	17.67	1	17.67	15.60	0.001 5	**
C	7.10	1	7.10	6.27	0.025 3	*
D	128.05	1	128.05	113.09	<0.000 1	**
AB	8.76	1	8.76	7.74	0.014 7	*
AC	22.04	1	22.04	19.47	0.000 6	**
AD	7.40	1	7.40	6.53	0.022 8	*
BC	1.09	1	1.09	0.96	0.342 7	
BD	0.70	1	0.70	0.62	0.445 7	
CD	15.09	1	15.09	13.33	0.002 6	**
A ²	72.31	1	72.31	63.86	<0.000 1	**
B ²	104.96	1	104.96	92.70	<0.000 1	**
C ²	69.21	1	69.21	61.12	<0.000 1	**
D ²	221.05	1	221.05	195.22	<0.000 1	**
残差	15.85	14	1.13			
失拟项	11.03	10	1.10	0.91	0.589 4	不显著
净误差	4.83	4	1.21			
总和	690.05	28				

[†] *表示差异显著($P<0.05$),**表示差异极显著($P<0.01$)。

$$Y=46.08+3.55A+1.21B+0.77C+3.27D-1.48AB+2.35AC+1.36AD-0.52BC-0.42BD+1.94CD-3.34A^2-4.02B^2-3.27C^2-5.84D^2。(2)$$

由表4可知,模型 $P<0.01$,极显著,失拟项 $P>0.05$,该模型拟合性较好;相关系数 $R^2=0.977\ 0$,该模型可拟合牡蛎肽酶解过程,可用于预测牡蛎酶解液的水解度。由 F 值可知,各因素对水解率影响程度为酶添加量 $>$ 酶解温度 $>$ 酶解pH值 $>$ 料液比。

2.3.2 各因素间响应面交互作用 由图6可知,AC、AB、AD、CD的交互作用显著,响应面图较为陡峭,等高线图接近椭圆,表明酶添加量与料液比、酶添加量与酶解pH值、酶添加量与酶解温度、酶解温度与料液比的交互作用对水解率影响较大,其中酶添加量与料液比的响应面图最为陡峭且等高线图近似椭圆,影响程度最大;酶解pH值与酶解温度、酶解pH值与料液比等高线接近于圆形,交互作用弱,与响应面方差分析一致。

2.3.3 响应面模型结果验证 经软件预测,响应面模型优化最佳酶解条件为复合蛋白酶添加量4%,酶解pH值7.466,料液比1:7.620(g/mL),酶解温度57.215℃,此时水解度为48.44%。按照试验可操作性,将酶解条件调整为复合蛋白酶添加量4%,酶解pH值7.5,料液比1:7.5(g/mL),酶解温度57℃,酶解时间7h。经验证,水解

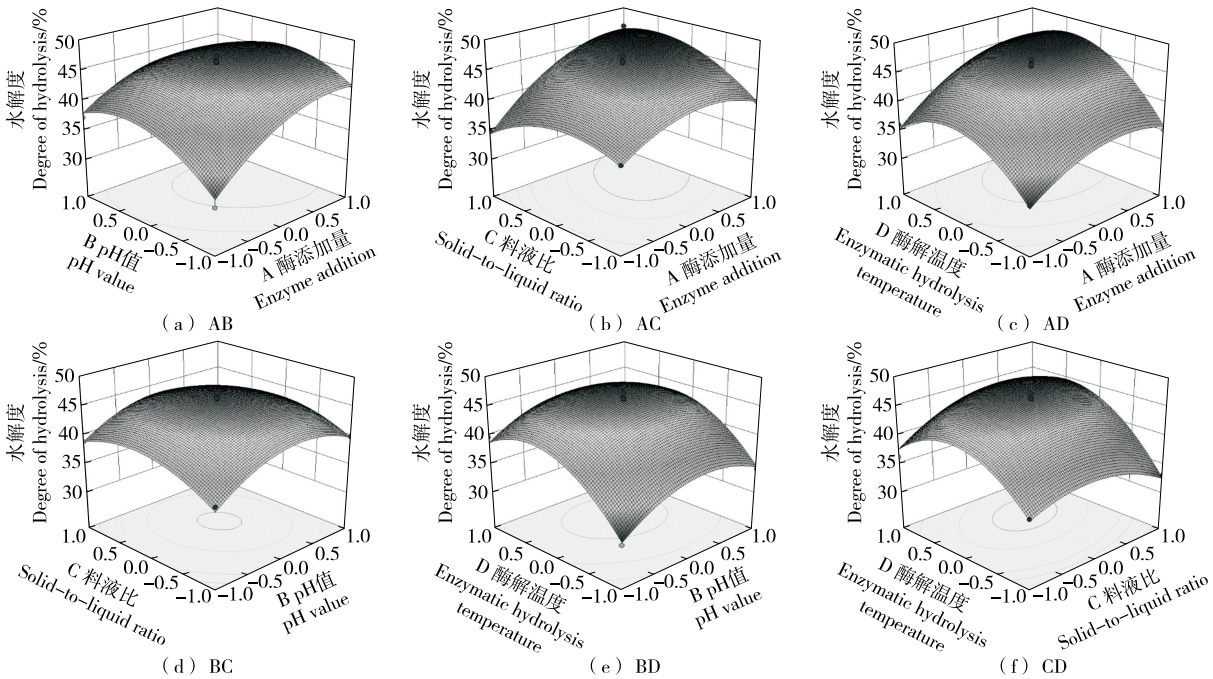


图 6 各因素交互作用对水解度影响的响应面图

Figure 6 Response surface plot of interaction effects on hydrolysis degree

度为 48.3%,与模型预测值接近。最佳工艺条件下制备的牡蛎肽 DPPH 自由基清除率为 60.42%,说明该模型能较好地牡蛎肽酶解工艺进行优化。

2.4 牡蛎肽氨基酸组成

氨基酸的组成与序列通常决定生物活性肽是否具有抗氧化活性^[16-17]。研究表明,疏水性氨基酸具有很强的抗氧化活性^[18],如甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、色氨酸和甲硫氨酸等^[19-20]。这类氨基酸可通过提高生物活性肽在油—水两相溶液中的溶解度,促进肽与脂质衍生自由基的结合,从而向脂质衍生自由基递送质子或电子,达到抑制自由基的过量产生的作用,使其具备抗氧化活性^[20-21]。由表 5 可知,试验制备的牡蛎肽中疏水性氨基酸总含量为 33.18 g/100 g,占氨基酸总量的 48.28%,表明牡蛎肽具有较好的抗氧化活性。

2.5 牡蛎肽的相对分子质量分布

肽的相对分子质量会影响抗氧化活性^[22],抗氧化肽的相对分子质量通常<6 000,肽的相对分子质量越小,其抗氧化活性越强。含有 2~10 个氨基酸的短肽(<1 000)比大多数其他肽或蛋白质具有更高的抗氧化活性^[23],这是由于小相对分子质量肽的空间位阻效应较低,其氨基酸残基更易与自由基接触,如组氨酸的咪唑基、酪氨酸的酚羟基和半胱氨酸的巯基,可通过向自由基提供电子中断自由基链式反应,或与金属离子进行螯合,抑制芬顿反应等方式起到抗氧化作用^[24]。由表 6 可知,试验制备的牡

表 5 牡蛎肽氨基酸组成

Table 5 Amino acid composition of oyster peptides

氨基酸种类	含量/(10 ⁻² g·g ⁻¹)	占氨基酸总量/%
天冬氨酸	6.34	9.23
苏氨酸	2.13	3.10
丝氨酸	5.44	5.01
谷氨酸	7.21	10.49
甘氨酸	5.85	8.51
丙氨酸	6.42	9.34
半胱氨酸	0.11	0.16
缬氨酸	3.66	5.33
甲硫氨酸	2.12	3.08
异亮氨酸	2.97	4.32
亮氨酸	4.14	6.02
酪氨酸	1.32	1.92
苯丙氨酸	2.01	2.92
赖氨酸	3.42	4.98
组氨酸	5.55	8.08
精氨酸	6.02	8.76
脯氨酸	2.46	3.58
色氨酸	3.55	5.17

蛎肽相对分子质量<5 000 的组分占比 95.62%,低相对分子质量(<1 000)组分占比达 71.45%,说明牡蛎肽大部分成分为小分子肽。结合氨基酸组成分析,试验制备的牡蛎肽具有较好的抗氧化活性。

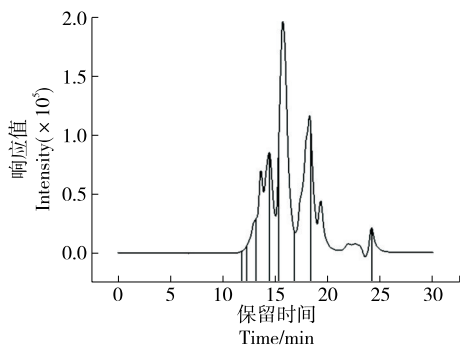


图7 牡蛎肽相对分子质量分布液相色谱图
Figure 7 Molecular weight distribution of oyster peptides determined by HPLC

表6 牡蛎肽相对分子质量分布

Table 6 Molecular weight distribution of oyster peptides

相对分子质量	保留时间/min	峰面积百分比/%
>10 000	11.79	0.01
8 000~10 000	12.27	0.32
5 000~8 000	13.31	4.14
3 000~5 000	14.41	14.23
3 000~2 000	15.32	9.80
2 000~1 000	16.81	33.23
500~1 000	18.32	19.25
<500	24.14	18.98

2.6 牡蛎肽的抗小鼠运动疲劳试验

2.6.1 小鼠运动耐力测试 由表7可知,与空白对照组相比,西洋参和牡蛎肽的干预能够显著提高小鼠在转棒上的运动时间($P<0.05$);其中,牡蛎肽高剂量组对小鼠的转棒疲劳平均时间增加了10.93 min。负重游泳测试主要考察机体在长时间、高强度的运动负荷下的耐力表现,并反映药物对小鼠运动能力的改善情况。相比空白组,各剂量组小鼠负重游泳时间得到显著提升($P<0.05$)。随着牡蛎肽灌胃剂量的增加,负重游泳时间随之延长,与空白对照组相比,低、中、高剂量组负重游泳平均时间分别提高了6.21,9.17,13.34 min。综上,牡蛎肽能够提高小鼠运动能力,具有显著性抗疲劳作用。

2.6.2 对小鼠代谢产物的影响 机体肌肉受高强度运动的影响,从无氧糖酵解中获取能量的同时会产生大量的乳酸,体内血乳酸(BLA)水平越高,通常代表机体越疲劳^[25]。由表8可知,游泳结束后,相比空白对照组,西洋参和牡蛎肽各剂量组小鼠BLA水平均显著下降($P<0.05$),表明牡蛎肽能够有效降低小鼠运动后体内BLA含量,起到缓解疲劳的作用。在机体运动过程中,蛋白质和氨基酸会参与代谢并产生血尿素氮(BUN),BUN水平越高表明机体越疲劳^[26]。小鼠游泳结束后,空白对照组小鼠体

表7 牡蛎肽对小鼠运动耐力的影响[†]
Table 7 Effect of oyster peptides on exercise endurance of mice

组别	转棒疲劳时间/min	负重游泳时间/min
空白对照组	18.24±0.81	20.63±1.23
西洋参组	27.93±1.26**	30.75±1.11**
低剂量组	22.25±0.87**	26.84±1.52
中剂量组	24.94±1.19**	29.80±1.32**
高剂量组	29.17±0.82**	33.97±1.05**

[†] 与空白对照比较,**表示差异极显著($P<0.01$)。

内BUN水平显著高于其他组,说明西洋参与牡蛎肽均可显著降低BUN含量($P<0.05$)。其中,西洋参组和牡蛎肽高剂量组小鼠的BUN水平分别降低了37.76%和36.94%。牡蛎肽的补充,可有效改善小鼠因运动导致的体内蛋白质和氨基酸的快速分解代谢,减轻小鼠机体疲劳感。综上,牡蛎肽能够有效改善机体运动后的代谢产物堆积,达到缓解运动疲劳的功效。

表8 牡蛎肽对小鼠血清中BLA和BUN含量的影响[†]
Table 8 Effect of oyster peptides on serum BLA and BUN content in mice

组别	BLA	BUN
空白对照组	11.64±0.52	10.99±0.66
西洋参组	6.09±0.46**	6.84±0.29**
低剂量组	7.15±0.28**	8.52±0.39**
中剂量组	6.82±0.20**	7.44±0.35**
高剂量组	6.48±0.36**	6.93±0.18**

[†] 与空白对照比较,**表示差异极显著($P<0.01$)。

2.6.3 对小鼠运动后抗氧化能力的影响 机体在短时间、高强度运动状态下易产生氧化应激反应,其中肌肉的过氧化反应会产生大量丙二醛(MDA),MDA的累积会损伤细胞的正常膜结构,影响正常的生理功能^[27]。由表9可知,对比空白对照组,牡蛎肽各剂量组小鼠血清中MDA水平显著降低($P<0.05$),高剂量组MDA水平下降了35.85%。超氧化物歧化酶(SOD)是机体对抗氧化应激中最重要的酶^[28],广泛存在于细胞质与线粒体中,可以催化活性氧生成过氧化氢和氧气,机体内的SOD水平可反映机体抗氧化能力。抗氧化与抗疲劳功效之间密切联系,可通过测定运动后小鼠血清中SOD活力反映机体的抗疲劳能力。牡蛎肽各剂量组对小鼠运动后的SOD活力均有显著性提升($P<0.05$),随着剂量的提高酶活力随之升高,呈剂量依赖性,其中高剂量组酶活力达到163 U/mL。综上,牡蛎肽的干预能够提高小鼠体内SOD活性并降低MDA水平,降低运动后带来的氧化损伤,有效抵抗疲劳。

表 9 牡蛎肽对小鼠血清中 MDA 和 SOD 含量的影响[†]
Table 9 Effect of oyster peptides on MDA and SOD content in serum of mice

组别	MDA/(nmol·L ⁻¹)	SOD/(U·mL ⁻¹)
空白对照组	7.95±0.55	84.33±5.68
西洋参组	5.00±0.30**	128.31±6.96**
低剂量组	6.69±0.45**	105.27±6.31**
中剂量组	5.41±0.51**	136.68±6.29**
高剂量组	4.10±0.28**	163.30±4.87**

[†] 与空白对照比较,**表示差异极显著($P<0.01$)。

3 结论

采用复合蛋白酶水解牡蛎肉制备具有抗氧化活性的牡蛎肽,经优化后得到最佳牡蛎肽酶解制备工艺为酶添加量 4%,酶解 pH 值 7.5,料液比 1:7.5 (g/mL),酶解温度 57℃,酶解时间 7 h。在此工艺条件下,牡蛎肽酶解水解率为 48.3%,DPPH 自由基清除率为 60.42%。牡蛎肽中具有抗氧化活性的疏水性氨基酸含量为 33.18 g/100 g,占氨基酸总量的 48.28%,同时,牡蛎肽的相对分子质量主要集中在 5 000 以下,其中低相对分子质量(<1 000)组分占比达 71.45%,说明牡蛎肽具有较好的抗氧化活性。动物抗疲劳试验结果表明,与空白对照组相比,给予牡蛎肽干预后,小鼠的转棒疲劳平均时间和负重游泳时间得到显著性提高($P<0.05$),小鼠的运动耐力得到增强;同时,牡蛎肽能够减少运动后小鼠的血乳酸和血尿素氮水平,缓解因过度疲劳导致的代谢产物堆积现象,有助于缓解小鼠的运动疲劳;通过牡蛎肽的干预,小鼠血清中丙二醛和超氧化物歧化酶水平相对于空白对照组均有显著性改善($P<0.05$),小鼠运动后的抗氧化能力明显提升,运动带来的应激性氧化损伤得到抑制。试验基于小鼠模型证明牡蛎肽具有抗疲劳活性,但其抗疲劳机制尚未进行深入研究,后续可结合转录组学筛选关键基因,并在分子水平进行验证,挖掘牡蛎肽抗疲劳活性信号通路。

参考文献

[1] 曾静,方伟,周天琼.牡蛎肽生物活性最新研究进展[J].药学实践与服务,2023,41(7):403-407.
ZENG J, FANG W, ZHOU T Q. Research advances in bioactivity of oyster peptides[J]. Journal of Pharmaceutical Practice and Service, 2023, 41(7): 403-407.
[2] 施恬,李东萍.牡蛎的营养价值及加工利用[J].中国水产,2023(6):95-96.
SHI T, LI D P. Nutritional value and processing utilization of oyster[J]. China Fisheries, 2023(6): 95-96.
[3] QUAN Z Z, WANG Z H, WANG Z X, et al. Study on the

antioxidant and antiosteoporotic activities of the oyster peptides prepared by ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis[J]. Ultrasonics Sonochemistry, 2025, 112: 107211.
[4] CHEN H, ZHENG H Z, LI T J, et al. Protective effect of oyster peptides derived from *Crassostrea gigas* on intestinal oxidative damage induced by cyclophosphamide in mice mediated through Nrf2-Keap1 signaling pathway[J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 9: 888960.
[5] ZHU D Y, YUAN Z, WU D, et al. The dual-function of bioactive peptides derived from oyster (*Crassostrea gigas*) proteins hydrolysates[J]. Food Science and Human Wellness, 2023, 12(5): 1 609-1 617.
[6] 韩璐,谢超,李娜,等.抗菌肽复合保鲜抑制剂对秘鲁鲑鱼生物胺的控制及品质的影响[J].食品研究与开发,2023,44(20):17-24.
HAN L, XIE C, LI N, et al. Effects of antimicrobial peptide composite preservative on the control of biogenic amines and quality of dosidicus gigas[J]. Food Research and Development, 2023, 44(20): 17-24.
[7] DUSABIMANA T, KAREKEZI J, NUGROHO T A, et al. Oyster hydrolysate ameliorates UVB-induced skin dehydration and barrier dysfunction[J]. Life Sciences, 2024, 358: 123149.
[8] WU Q H, LIN H S, SHEN W Q, et al. The preventive effect of low-molecular weight oyster peptides on lipopolysaccharide-induced acute colitis in mice by modulating intestinal microbiota communities[J]. Foods, 2024, 13(15): 2 391.
[9] LIN S T, ZHANG Y N, YE P, et al. Oyster (*Ostrea plicatula* Gmelin) peptides improve exercise endurance capacity via activating AMPK and HO-1[J]. Journal of the American Nutrition Association, 2024, 43(5): 437-451.
[10] 郑玉婷,于雁飞,刘晔,等.富含 3,5-二羟基-4-甲氧基苯甲醇牡蛎肽制备及其抗疲劳功效研究[J].食品安全质量检测学报,2023,14(21):173-182.
ZHENG Y T, YU Y F, LIU Y, et al. Study on the preparation and anti-fatigue effect of oyster peptide rich in 3,5-dihydroxy-4-methoxybenzyl alcohol[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2023, 14(21): 173-182.
[11] 张慧莹,杨为乔,陈瑶,等.鸡内金酶解物制备工艺优化及抗氧化活性研究[J].食品与机械,2022,38(4):169-174.
ZHANG H Y, YANG W Q, CHEN Y, et al. Optimization of preparation technology and antioxidant activity of enzymatic hydrolysates from corneum gigerii galli endothelium[J]. Food & Machinery, 2022, 38(4): 169-174.
[12] 颜凤,张家萍,崔亚雪,等.西洋参汁酶解法制备工艺研究[J].食品科技,2024,49(11):98-106.
YAN F, ZHANG J P, CUI Y X, et al. Enzymatic hydrolysis preparation process of American ginseng juice[J]. Food Science and Technology, 2024, 49(11): 98-106.
[13] 洪燕婷,颜阿娜,汪少芸,等.马鲛鱼骨抗氧化肽的酶解工艺及性质研究[J].青海大学学报,2024,42(6):58-66,82.

- HONG Y T, YAN A N, WANG S Y, et al. Enzymolysis technology and property research of *Scomberomorus niphonius* bones antioxidant peptide[J]. Journal of Qinghai University, 2024, 42(6): 58-66, 82.
- [14] 刘璐, 李晶峰, 兰梦, 等. 牡蛎蛋白酶解肽制备工艺优化及其对小鼠睾丸间质细胞睾酮分泌和氧化应激的影响[J]. 食品工业科技, 2024, 45(9): 168-176.
- LIU L, LI J F, LAN M, et al. Optimization of the preparation process of oyster peptide by enzymatic hydrolysis and its effects on testosterone secretion and oxidative stress in mouse testicular interstitial cells[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(9): 168-176.
- [15] 杨元英. 牡蛎多肽的提取工艺及抗氧化活性研究[J]. 中国调味品, 2023, 48(1): 18-21.
- YANG Y Y. Study on extraction technology and antioxidant activity of oyster polypeptides[J]. China Condiment, 2023, 48(1): 18-21.
- [16] FAN L H, MAO X Y, WU Q Z. Purification, identification and molecular docking of novel antioxidant peptides from walnut (*Juglans regia* L.) protein hydrolysates[J]. Molecules, 2022, 27(23): 8 423.
- [17] 张晓颀, 戴志远. 不同鱼皮肽抗氧化活性及结构特性的比较[J]. 中国食品学报, 2023, 23(10): 335-344.
- ZHANG X D, DAI Z Y. Comparison of antioxidant activity and structural properties of different fish skin peptides[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology, 2023, 23(10): 335-344.
- [18] KARAMI Z, BUTKINAREE C, YINGCHUTRAKUL Y, et al. Comparative study on structural, biological and functional activities of hydrolysates from Adzuki bean (*Vigna angularis*) and mung bean (*Vigna radiata*) protein concentrates using Alcalase and Flavourzyme[J]. Food Research International, 2022, 161: 111797.
- [19] AGRAWAL H, JOSHI R, GUPTA M. Isolation, purification and characterization of antioxidative peptide of pearl millet (*Pennisetum glaucum*) protein hydrolysate[J]. Food Chemistry, 2016, 204: 365-372.
- [20] 罕璐, 肖富权, 郝刚, 等. 乳清蛋白抗氧化肽的分离纯化及构效关系研究[J]. 中国乳品工业, 2025, 53(8): 32-38.
- HAN L, XIAO F Q, HAO G, et al. Study on isolation, purification, and structure-activity relationship of antioxidant peptides from whey protein[J]. China Dairy Industry, 2025, 53(8): 32-38.
- [21] 李捧, 刘晓兰. 乳酸菌发酵对米糠蛋白抗氧化活性和溶解性的影响[J]. 食品工业科技, 2025, 46(7): 207-216.
- LI P, LIU X L. Effects of lactic acid bacteria fermentation on antioxidant activity and solubility of rice bran protein[J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(7): 207-216.
- [22] HAN J J, HUANG Z B, TANG S S, et al. The novel peptides ICRD and LCGEC screened from tuna roe show antioxidative activity via Keap1/Nrf2-ARE pathway regulation and gut microbiota modulation[J]. Food Chemistry, 2020, 327: 127094.
- [23] MA Y Y, XIONG Y L, ZHAI J J, et al. Fractionation and evaluation of radical scavenging peptides from *in vitro* digests of buckwheat protein[J]. Food Chemistry, 2010, 118(3): 582-588.
- [24] LIU X R, HU Q Y, SHEN Y F, et al. Research progress on antioxidant peptides from fish by-products: purification, identification, and structure-activity relationship[J]. Metabolites, 2024, 14(10): 561.
- [25] 周毅, 张沛尧, 袁俊, 等. 文蛤多肽对运动疲劳性大鼠骨骼肌能量代谢影响及其机制研究[J]. 粮食与油脂, 2024, 37(11): 148-152.
- ZHOU Y, ZHANG P Y, YUAN J, et al. Effect of clam polypeptides on energy metabolism of skeletal muscle in rats with exercise fatigue and analysis of its mechanism[J]. Cereals & Oils, 2024, 37(11): 148-152.
- [26] LIAO A M, LI X X, WANG Y B, et al. Wheat embryo albumin and its peptide alleviate acute exercise fatigue as energy supplement[J]. Foods, 2024, 13(23): 3 866.
- [27] LI C, WU Z X, YANG X F. Ozone treatment regulated the anti-exercise fatigue effect of fresh-cut pitaya polyphenol extracts[J]. Frontiers in Nutrition, 2024, 11: 1500681.
- [28] 江慧琼, 刘雅婷, 陈清华. 超氧化物歧化酶的生理功能及其在动物生产中的应用前景[J]. 中国畜牧兽医, 2024, 51(3): 945-954.
- JIANG H Q, LIU Y T, CHEN Q H. Physiological function of superoxide dismutase and its application prospect in animal production[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 51(3): 945-954.