

梅花鹿茸血冻干粉的安全性评价 及缓解体力疲劳功能研究

Safety evaluation of freeze-dried powder of sika deer antler blood and its effect on alleviating physical fatigue in mice

秦 珩^{1,2} 李世芬^{1,2} 胡 奇^{1,2} 环 飞^{1,2}

QIN Heng^{1,2} LI Shi-fen^{1,2} HU Qi^{1,2} HUAN Fei^{1,2}

(1. 南京医科大学公共卫生学院, 江苏 南京 211166; 2. 江苏省医药农药兽药安全性评价与研究中心,
江苏 南京 211166)

(1. School of Public Health of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 211166, China;
2. Safety Assessment and Research Center for Drug, Pesticide, and Veterinary Drug of Jiangsu, Nanjing,
Jiangsu 211166, China)

摘要:通过小鼠急性毒性试验,大鼠 30 d 喂养试验,三项遗传毒性试验,小鼠尾部铅皮负重游泳,小鼠血清中尿素水平检测,小鼠肝脏中糖原储备量测定以及小鼠运动前后血清中乳酸水平的测定对梅花鹿茸血冻干粉的食品安全性及对小鼠的缓解体力疲劳作用进行探讨。结果表明:小鼠急性经口毒性 >15 g/kg·BW,属无毒级;鹿茸血冻干粉 0.6, 1.3, 2.0 g/(kg·BW·d) 剂量在 30 d 喂养试验中未对大鼠的体重、摄食量、血液常规和血液生化指标产生影响,且三项遗传毒性试验结果均为阴性。0.6 g/(kg·BW·d) 组小鼠负重游泳时间长于阴性对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$); 0.1, 0.2, 0.6 g/(kg·BW·d) 组肝糖原储备量高于阴性对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$); 0.6 g/(kg·BW·d) 组小鼠游泳前后血乳酸变化的曲线下面积值低于阴性对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。梅花鹿茸血冻干粉食用安全,且具有缓解小鼠体力疲劳功能。

关键词:鹿茸血;安全性;小鼠;缓解体力疲劳

Abstract: To evaluate the food safety of sika deer antler blood freeze-dried powder, the acute toxicity test in mice, and the 30-day feeding and three genotoxicity tests in rats were conducted. The effects of sika deer antler blood freeze-dried powder on alleviating physical fatigue in mice were studied by weight-bearing

swimming in the tails, determination of the urea level in serum, the glycogen reserve in liver and the lactic acid level in serum before and after the exercises. Results: the freeze-dried powder of sika deer antler blood was a substance without toxicity according to the acute toxicity test ($MTD > 15$ g/kg·BW). The dosage 0.6, 1.3, and 2.0 g/(kg·BW·d) of freeze-dried powder of sika deer antler blood did not affect the body weight, food intake, blood routine and blood biochemical indexes of rats in 30 days feeding test. The results of three genotoxicity tests were negative. The time of weight-bearing swimming of 0.6 g/(kg·BW·d) group was longer than that of the negative control group. The hepatic glycogen reserve of 0.1, 0.2, and 0.6 g/(kg·BW·d) groups was higher than that of the negative control group. The area under the curve of blood lactate change in 0.6 g/(kg·BW·d) group was lower than that in the negative control group. These differences have a statistical significance ($P < 0.05$). Conclusion: The freeze-dried powder of sika deer antler blood was safe to eat and had the function of alleviating physical fatigue.

Keywords: antler blood; safety; mice; relieving physical fatigue

鹿茸为梅花鹿或马鹿的雄鹿未骨化而带茸毛的幼角,为传统中药材,富含多肽、脂肪酸、氨基酸、多糖等营养物质,其中氨基酸成分占总成分的 50% 以上^[1]。研究者^[2]在鹿茸中发现了多种细胞生长因子,诸如胰岛素样生长因子、神经生长因子、鹿茸多肽等。其中鹿茸多肽可明显加速骨组织的再生以及创面的愈合^[3],能够促进神经细胞损伤修复^[4],改善认知功能障碍^[5]。鹿茸不同部位的水提液对细胞的增殖有促进作用,并且呈现明显的浓度依赖效应^[6]。鹿茸血为采割马鹿或梅花鹿茸后用真

基金项目:江苏省优势学科资助项目(PAPD)(编号:苏政办发〔2011〕6号)

作者简介:秦珩,女,南京医科大学实验师,硕士。

通信作者:李世芬(1976—),女,南京医科大学研究员,硕士。

E-mail: 635043418@qq.com

收稿日期:2019-03-01

空泵或者分离机从鹿茸中提取出来的血液,其营养成分较多,尤其是钾、钙、镁、铁、锌含量较高,其中钙、铁、锌含量明显高于鹿茸中的含量^[7],因此鹿茸血的营养要高于鹿茸。鹿茸血中营养成分高主要是由于血液是供给机体营养的运送源,血液含有 22 种无机元素,18 种氨基酸^[8],因此鹿茸血同样含有多样营养元素^[9],且具有缓解骨质疏松^[10],减轻免疫耐受性,限制移植瘤增长速度的功效^[11]。但关于鹿茸血安全性的评价未见报道。试验拟通过小鼠急性毒性试验、30 d 喂养试验、小鼠三项遗传毒性试验等对梅花鹿茸血冻干粉的安全性进行评价,并依据卫生部《保健食品检验与评价技术规范》^[12]的规定对梅花鹿茸血缓解小鼠体力疲劳功能进行研究,以期对鹿茸血的安全性及缓解体力疲劳作用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 受试样品

梅花鹿茸血冻干粉:南京中科药业有限公司。

1.1.2 主要试剂

鼠伤寒沙门氏菌突变型菌株 TA97、TA98、TA100、TA102;Molecular Toxicology, Inc.;

S-9(大鼠肝匀浆 S-9):江苏齐民生物科技有限公司;

血浆尿素测定试剂盒、肝糖原测定试剂盒:南京建成生物工程研究所。

1.1.3 试验动物

急性毒性试验选用的小鼠:生产许可证号 SCXK(苏)2016-0002,合格证编号 201603830,南京医科大学医药实验动物中心;

30 d 喂养试验与缓解体力疲劳试验选用 SPF 级健康离乳 SD 大鼠及 SPF 级 CI/F1 代健康雄性小鼠:生产许可证号 SCXK(沪)2013-0016,合格证编号 2008001662204、2008001664130,上海西普尔一必凯实验动物有限公司;

小鼠微核试验及精子畸形试验的小鼠:生产许可证号 SCXK(苏)2012-0004,合格证编号 201605533、201604137,扬州大学比较医学中心。

1.1.4 仪器与设备

电子天平:T-1000 型,常熟市双杰测试厂;

电热培养箱:DNP-9162BS 型,上海新苗医疗器械制造有限公司;

多功能酶标仪:Spectra Max M2e 型,美国 Molecular Devices 公司;

全自动生化分析仪:7100 型,日立高新技术(上海)国际贸易有限公司;

血液分析仪:ADVIA 2120i 型,德国 Siemens 公司。

1.2 方法

1.2.1 小鼠急性经口毒性试验(最大耐受量法) 20 只

SPF 级 ICR 健康成年小鼠,雌雄各半,体重为 18.9~21.8 g。给样前禁食 16 h。直接用无菌水配制梅花鹿茸血冻干粉,最大可配制浓度为 0.375 g/mL,按最大灌胃量 20 mL/(kg·BW)分两次给样,每次间隔 4 h,剂量为 15.000 g/(kg·BW)。给样后观察并记录是否有中毒表现及死亡情况,连续 14 d。

1.2.2 Ames 试验 在有代谢活化和无代谢活化条件下采用平板掺入法。选取经鉴定合格的鼠伤寒沙门氏菌突变型菌株 TA97、TA98、TA100 和 TA102。 β -萘黄酮和苯巴比妥钠诱导的大鼠肝 S-9 作为活化系统,其蛋白含量为 30 mg/mL。设自发回变组(阴性对照),溶剂对照组(溶剂为二甲亚砜,0.1 mL/皿),阳性对照组:不加 S-9 的活化系统中所用的阳性物为 2,4,7-三硝基苄铜 0.2 μ g/皿(TA97、TA98)和甲基磺酸甲酯 1.0 μ L/皿(TA100、TA102),加 S-9 的活化系统中所用的阳性物为 2-氨基苄 10 μ g/皿(TA97、TA98、TA100)和 1,8-二羟基萘醌 50 μ g/皿(TA102)。梅花鹿茸血冻干粉 5 000,1 000,200,40,8 μ g/皿剂量进行试验,分别在加与不加 S-9 的情况下每个剂量组做 3 个平行。如果受试样品组的回变菌落数达到阴性对照组回变菌落数 2 倍及以上,并有剂量-反应关系则该试验结果为阳性。

1.2.3 小鼠骨髓细胞微核试验 梅花鹿茸血冻干粉试验组为 1 875,3 750,7 500 mg/(kg·BW) 3 个剂量,阴性对照组以无菌水代替,以 20 mL/(kg·BW)进行灌胃,阳性对照组腹腔注射环磷酰胺[40 mg/(kg·BW)]。采用 30 h 进样法,两次进样间隔 24 h。第 2 次给样 6 h 后,处死动物制片。显微镜下计数含微核的嗜多染红细胞数,并计算微核率。每只大鼠计数 200 个嗜多染红细胞时所观察到的成熟红细胞数(NCE),并计算嗜多染红细胞与成熟红细胞的比例(PCE/NCE)。

1.2.4 小鼠精子畸形试验 梅花鹿茸血冻干粉试验组为 1 875,3 750,7 500 mg/(kg·BW) 3 个剂量,阴性对照组以无菌水代替,以 20 mL/(kg·BW)进行灌胃,阳性对照组腹腔注射环磷酰胺[40 mg/(kg·BW)]。每天给样 1 次,连续进行 5 d。动物在第一次给样后的第 35 天被处死,取两侧附睾的精子滤液进行制片。显微镜下计数 1 000 个结构完整的精子,记录其中精子畸形的类型和数量,计算精子畸形率。

1.2.5 30 d 喂养试验 将 80 只 SPF 级健康断奶 SD 大鼠按体重随机分为 4 组,雌雄各半。通过逐步稀释样品的方法将梅花鹿茸血冻干粉掺入基础饲料中,按体重的 10%折算。梅花鹿茸血冻干粉以 0.6,1.3,2.0 g/(kg·BW·d) 3 个剂量掺入基础饲料的百分含量分别为 0.6%,1.3%,2.0%,连续喂养 30 d 后采集血样进行常规血液检查、生化检查,同时进行大体解剖和组织病理学检查。

1.2.6 缓解体力疲劳作用 选用 SPF 级 CI/F1 代健康雄性小鼠 160 只,按体重随机分为 4 个组,每组 40 只,以梅

花鹿茸血冻干粉 0.1,0.2,0.6 g/(kg·BW·d)的剂量,小鼠每天灌胃 1 次,阴性对照组给予相同体积的溶剂,灌胃量为 0.1 mL/(10 g·BW),持续 30 d。

(1) 第 1 组小鼠在最后一次给样 30 min 后,每只小鼠尾根部负重 5%体重的铅丝,置于游泳箱中游泳。以小鼠游泳开始至死亡时间作为负重游泳时间。

(2) 第 2 组小鼠在最后一次给样 30 min 后,置于游泳箱中不负重游泳 90 min,休息 60 min 后立即眼眶采血。血液离心后,吸取 20 μL 血浆,用二乙酰—胍法测定血浆尿素值。

(3) 第 3 组小鼠在最后一次给样 30 min 后,立即处死,取肝脏经生理盐水漂洗后用滤纸吸干,精确称取肝脏配制成 1%肝匀浆液,取 1%肝匀浆液 0.1 mL,加 2 mL 萘酮试剂,煮沸 5 min,冷却后在 620 nm 波长比色测定,根据所称取的肝脏重量计算肝糖原含量。

(4) 第 4 组小鼠在最后一次给样 30 min 后眼眶采血。然后于游泳箱中不负重游泳 10 min 后捞起,再次眼眶采血,休息 20 min 后第 3 次采血,用血乳酸分析仪测定各时点血乳酸含量,并计算血乳酸曲线下面积。

血乳酸曲线下面积按式(1)计算。

$$S=1/2\times[(OD_1+OD_2)\times10+(OD_2+OD_3)\times20],$$

(1)

式中:

S——血乳酸曲线下面积;

OD₁——游泳前血乳酸值,mmol/L;

OD₂——游泳 10 min 后的血乳酸值,mmol/L;

OD₃——休息 20 min 后的血乳酸值,mmol/L。

1.3 数据分析

采用 SPSS 22.0 软件对各组原始数据进行分析。对满足均匀方差要求的数据用单因素方差分析方法中多个试验组与一个对照组间均数的两两比较方法进行统计处理。采用秩和检验法处理方差不齐的数据资料,P<0.05 为差异显著。用泊松分布 U 检验法对骨髓细胞微核试验结果进行统计分析,采用秩和检验法对小鼠精子畸形结果进行分析。

2 结果与分析

2.1 小鼠急性毒性试验

由表 1 可见,在观察期内未见有动物死亡,且梅花鹿茸血冻干粉对小鼠体重无明显影响。梅花鹿茸血冻干粉小鼠急性经口毒性剂量>15 g/(kg·BW),样品为无毒级。根据《保健食品检验与评价技术规范》(2003 年版)中关于急性毒性剂量分级标准,梅花鹿茸血冻干粉属于无毒级。

表 1 小鼠急性经口毒性
Table 1 Acute oral toxicity in mice (n=10)

性别	初始体重/g	终体重/g	剂量/(g·kg ⁻¹ ·BW)	死亡数/只	MTD/(g·kg ⁻¹ ·BW)
雌	19.6±0.6	26.8±1.6	15	0	>15
雄	20.8±0.5	33.9±1.9	15	0	>15

2.2 Ames 试验

由表 2 可见,梅花鹿茸血冻干粉各剂量组回变菌落数均不超过阴性对照组的 2 倍,且不存在明显的剂量反应关系。因此认为在加与不加 S-9 时梅花鹿茸血冻干粉对鼠伤寒沙门氏菌 TA97、TA98、TA100、TA102 4 株试验菌株无致基因突变作用。

2.3 小鼠骨髓细胞微核试验

由表 3 可见,梅花鹿茸血冻干粉各剂量组微核率与阴性对照组比较差异无统计学意义(P>0.05),但阳性对照组微核率显著高于阴性对照组且差异有统计学意义(P<0.01)。梅花鹿茸血冻干粉各剂量组 PCE/NCE 比值小于阴性对照组的 20%,对骨髓细胞增殖无抑制作用。

2.4 小鼠精子畸形试验

由表 4、5 可见,梅花鹿茸血冻干粉不同剂量组精子畸形率与阴性对照组比较差异无统计学意义(P>0.05),阳性对照组精子畸形率明显高于阴性对照组且差异有统计学意义(P<0.01)。因此梅花鹿茸血冻干粉的小鼠精

子畸形试验结果为阴性。

2.5 大鼠 30 d 喂养试验

由表 6~8 可见,梅花鹿茸血冻干粉在连续喂饲大鼠 30 d 后,对雌、雄性大鼠各观察点的体重无明显影响,对各剂量组大鼠的血液及生化指标均未产生明显影响。梅花鹿茸血冻干粉高剂量组和阴性对照组大鼠的肝、肾、脾、胃、十二指肠、卵巢、睾丸进行了组织病理学检查,如图 1 所示,高剂量组的大鼠脏器未见有明显的组织病理学改变。

2.6 小鼠负重游泳时间、运动后血清尿素水平、肝糖原储备量及血乳酸曲线下面积

小鼠负重游泳时间的长短能反映小鼠的耐力情况^[13],由表 9 可见,梅花鹿茸血冻干粉 0.60 g/(kg·BW·d)组的小鼠负重游泳时间明显长于阴性对照组,差异有统计学意义(P<0.05)。说明梅花鹿茸血冻干粉具有增进体能,增强耐力的作用。各剂量组小鼠运动后的血清尿素水平与阴性对照组比较,无明显差异。梅花鹿茸血冻干粉

0.10,0.20,0.60 g/(kg·BW·d)剂量的肝糖原储备量高于阴性对照组,差异有统计学意义(P<0.05)。肝糖原是由许多葡萄糖分子聚合而成的物质,当机体需要时,便可分解成葡萄糖,转化为能量^[14]。研究结果表明鹿茸血可增加肝糖原的储备量,为机体提供更多的能量,减少剧烈体力运动后糖原的消耗,起到缓解体力疲劳的作用。血液中的乳酸浓度在强烈运动时会急剧上升,体内的乳酸来不及处理,造成乳酸的堆积^[15],鹿茸血冻干粉

表 2 Ames 试验回变菌落数[†]
Table 2 Ames test retrograde colony count (n=3)

组别	+S-9				-S-9			
	TA 97	TA 98	TA 100	TA 102	TA 97	TA 98	TA 100	TA 102
8 μg/皿	123±18	36±4	160±12	286±12	118±15	35±6	165±25	293±11
40 μg/皿	104±9	39±6	174±26	279±24	118±10	34±5	166±12	280±22
200 μg/皿	120±13	39±4	145±20	274±15	112±17	35±5	179±14	290±12
1 000 μg/皿	107±10	36±6	166±15	253±14	119±14	34±4	154±17	259±16
5 000 μg/皿	114±13	38±4	171±26	259±11	115±13	36±6	141±14	272±29
二甲亚砷	119±17	35±8	181±14	270±17	118±14	36±7	141±11	277±23
自发回变	109±7	38±4	179±18	276±26	118±15	37±6	174±20	252±17
2-氨基苄	1 293±101 **	3 400±175 **	2 801±192 **	—	—	—	—	—
1,8-二羟基蒽醌	—	—	—	1 100±187 **	—	—	—	—
2,4,7-三硝基苄铜	—	—	—	—	2 594±217 **	2 565±192 **	—	—
甲基磺酸甲酯	—	—	—	—	—	—	2 549±349 **	3 436±218 **

† ** 超过阴性对照组菌落数 2 倍以上。

表 3 小鼠骨髓细胞微核发生率和嗜多染红细胞与成熟红细胞比值[†]
Table 3 Incidence of micronucleus in bone marrow cells and ratio of polychromatic erythrocyte to mature erythrocyte in mice (PCE/NCE) (n=5)

性别	剂量/(mg·kg ⁻¹ ·BW)	PCE 数	含微核的 PCE 数	微核率/%	PCE/NCE
雌	阴性对照	5 000	6	1.2±0.8	1.06±0.06
	1 875	5 000	9	1.8±0.8	1.05±0.07
	3 750	5 000	6	1.2±0.8	1.09±0.05
	7 500	5 000	8	1.6±1.3	1.08±0.03
	阳性对照	5 000	103	20.6±2.4 **	0.91±0.05
雄	阴性对照	5 000	10	2.0±1.2	1.08±0.05
	1 875	5 000	8	1.6±1.1	1.04±0.05
	3 750	5 000	7	1.4±0.5	1.05±0.08
	7 500	5 000	7	1.4±1.1	1.08±0.05
	阳性对照	5 000	114	22.8±4.1 **	0.92±0.05

† ** 与阴性对照组比较(P<0.01)。

表 4 小鼠精子畸形率[†]
Table 4 Rate of sperm abnormality in mice (n=5)

剂量/(mg·kg ⁻¹ ·BW)	受检精子数	总畸形数	畸形率/%
阴性对照	5 000	95	1.9±0.4
1 875	5 000	97	1.9±0.4
3 750	5 000	103	2.1±0.3
7 500	5 000	94	1.9±0.5
阳性对照	5 000	394	7.9±0.5 **

† ** 与阴性对照组比较,P<0.01。

表 5 小鼠精子畸形类型及比例[†]
Table 5 Types and proportions of sperm abnormalities in mice

剂量/ (mg·kg ⁻¹ ·BW)	无钩		无定形		胖头		香蕉形		双头		双尾		尾折叠		总畸 形数
	例数	占比/%	例数	占比/%	例数	占比/%	例数	占比/%	例数	占比/%	例数	占比/%	例数	占比/%	
阴性对照	18	18.9	71	74.7	5	5.3	1	1.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0	95
1 875	20	20.6	71	73.2	4	4.1	2	2.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0	97
3 750	26	25.2	74	71.8	3	2.9	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	103
7 500	15	16.0	74	78.7	4	4.3	1	1.1	0	0.0	0	0.0	0	0.0	94
阳性对照	93	23.6	265	67.3	15	3.8	7	1.8	4	1.0	5	1.3	5	1.3	394

[†] 占比为该类畸形数量占总畸形数量的百分比。

表 6 大鼠体重
Table 6 Weight of rats (n=10)

性别	剂量/ (g·kg ⁻¹ ·BW·d ⁻¹)	大鼠体重/g				
		第 0 天	第 7 天	第 14 天	第 21 天	第 30 天
雌	0.0	79.0±1.8	126.6±4.6	153.3±8.8	179.5±12.6	206.8±12.9
	0.6	79.1±2.1	127.5±4.4	158.0±6.6	185.9±12.4	212.8±11.4
	1.3	79.0±2.1	127.4±4.2	158.4±7.2	186.6±11.5	215.6±14.9
	2.0	79.3±2.5	128.0±6.3	156.7±10.4	180.0±13.0	208.0±15.0
雄	0.0	94.8±4.2	157.2±6.8	215.2±8.3	265.7±12.1	323.5±15.6
	0.6	94.8±3.9	158.4±8.5	218.6±13.3	273.6±17.7	328.9±26.9
	1.3	94.7±3.9	156.5±8.0	214.6±10.5	267.1±11.1	327.6±14.4
	2.0	94.9±4.4	157.1±9.2	218.7±12.5	276.3±17.5	339.7±25.7

表 7 大鼠血液学指标
Table 7 Hematological indices in rats (n=10)

性别	剂量/(g· kg ⁻¹ · BW·d ⁻¹)	白细胞 计数/ (×10 ⁹ L ⁻¹)	红细胞 计数/ (×10 ¹² L ⁻¹)	血红 蛋白/ (g·L ⁻¹)	淋巴细胞/ %	中性细胞/ %	单核细胞/ %	嗜酸性 细胞/ %	嗜碱性 细胞/ %
雌	0.0	6.0±1.3	7.1±0.4	135±7	85.2±3.4	10.5±3.0	2.94±0.77	0.67±0.19	0.14±0.05
	0.6	6.4±1.6	7.1±0.2	132±3	85.4±2.5	10.4±3.0	2.96±0.85	0.69±0.23	0.15±0.05
	1.3	6.1±0.9	7.2±0.3	137±5	85.1±3.4	10.5±3.2	3.14±0.66	0.65±0.22	0.19±0.06
	2.0	7.1±1.4	7.3±0.3	136±4	84.3±3.0	10.5±2.8	3.78±1.23	0.70±0.35	0.19±0.09
雄	0.0	8.8±1.6	7.2±0.4	134±5	84.4±5.7	10.4±4.8	3.92±1.55	0.55±0.18	0.22±0.06
	0.6	9.8±0.7	7.2±0.3	135±5	84.8±3.4	10.1±2.7	3.80±1.53	0.61±0.17	0.17±0.07
	1.3	8.1±1.2	7.3±0.3	136±4	84.6±1.8	10.1±1.4	3.94±1.28	0.66±0.18	0.18±0.04
	2.0	8.3±1.6	7.3±0.3	139±6	84.8±1.7	10.1±1.9	3.82±1.73	0.65±0.37	0.16±0.07

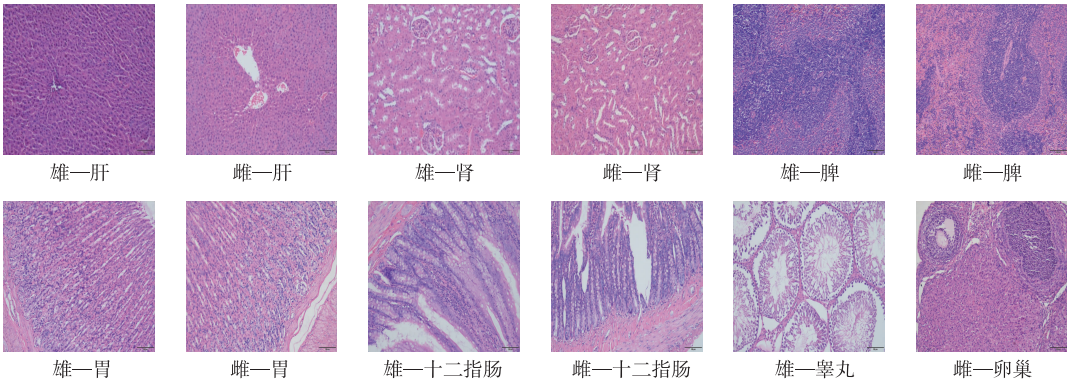


图 1 组织病理学图片
Figure 1 Histopathological picture

表 8 大鼠血液生化指标
Table 8 Blood biochemical indicators in rats (n=10)

性别	剂量/(g· kg ⁻¹ · BW)	谷丙转 氨酶/ (U·L ⁻¹)	谷草转 氨酶/ (U·L ⁻¹)	总蛋白/ (g·L ⁻¹)	白蛋白/ (g·L ⁻¹)	尿素氮/ (mmol· L ⁻¹)	肌酐/ (μmol· L ⁻¹)	总胆固醇/ (mmol· L ⁻¹)	甘油三酯/ (mmol· L ⁻¹)	血糖/ (mmol· L ⁻¹)
雌	0.0	33±6	130±30	55.3±1.6	37.7±0.8	7.72±1.36	37±4	2.19±0.37	0.47±0.11	5.82±1.19
	0.6	33±4	125±14	57.1±2.4	38.6±1.2	7.80±1.46	37±7	2.11±0.16	0.43±0.06	5.61±0.36
	1.3	37±12	142±21	56.0±1.8	37.9±1.2	8.62±1.72	43±8	2.09±0.31	0.50±0.16	6.08±0.65
	2.0	36±4	141±11	55.9±2.1	37.6±0.7	9.42±2.16	37±4	2.05±0.30	0.44±0.11	6.20±0.49
雄	0.0	41±7	149±28	54.5±1.2	36.5±0.7	6.07±0.99	31±6	1.46±0.30	0.66±0.19	6.14±1.30
	0.6	45±5	149±21	54.7±1.3	36.6±0.8	5.94±0.87	28±3	1.57±0.28	0.84±0.25	6.64±0.83
	1.3	47±8	150±28	54.3±0.9	36.5±0.5	5.82±0.50	30±3	1.49±0.25	0.75±0.09	6.36±1.13
	2.0	42±8	156±25	53.8±1.9	36.3±1.0	5.94±0.53	30±3	1.44±0.35	0.79±0.17	6.73±1.30

表 9 小鼠负重游泳时间、血浆尿素水平、肝糖原储备量、血乳酸曲线下面积[†]
Table 9 Weight-bearing swimming time, plasma urea level, hepatic glycogen reserve and area
under blood lactic acid curve in mice (n=10)

剂量/(g/kg ⁻¹ ·BW·d ⁻¹)	负重游泳时间/s	血浆尿素/(mmol·L ⁻¹)	肝糖原/(mg·g ⁻¹ ·Liver)	血乳酸曲线下面积值
0.00	448±155	7.98±0.62	10.3±6.2	97±14
0.10	587±177	8.33±0.54	22.5±2.4 * *	86±22
0.20	591±140	8.26±0.43	21.1±5.4 * *	83±12
0.60	661±163 *	7.47±0.54	17.4±5.8 *	78±10 *

[†] * 与阴性对照组比较,P<0.05; * * 与阴性对照组比较,P<0.01。

0.60 g/(kg·BW·d)组的小鼠游泳前后血乳酸曲线下面积值小于阴性对照组,差异有统计学意义(P<0.05)。说明梅花鹿茸血冻干粉能增加有氧代谢能力,促进乳酸代谢,降低血液中乳酸浓度,使乳酸能更快速地转化为肌肉收缩所需的能量,缓解运动后疲劳感,与白晨等^[16]的研究结果一致。

3 结论

研究表明,梅花鹿茸血冻干粉食用安全性,且具有缓解小鼠体力疲劳功能。推测是因为鹿茸血中作为血液蛋白来源的活性肽具有多种生理活性^[17],尤其是含有的鞣酮具有维持肌肉强度及质量、提升体能等作用^[18]。试验仅从动物试验的角度证实了鹿茸血冻干粉的安全性及缓解体力疲劳的作用,鉴于动物与人类之间的差异,对于人类食用来说是否安全及是否有明确的缓解体力疲劳作用还需进一步的试验研究。

参考文献

[1] HUO Yu-shu, HUO Hong, ZHANG Jie. The contribution of deer velvet antler research to the modern biological medicine[J]. Chinese Journal of Integrative Medicine, 2014, 20 (10): 723-728.

[2] GILBEV A, PEREZGONZALEZ J D. Health benefits of deer and elk velvet antler supplements: A systematic renew of randomised enntnrlled studies[J]. N Z Med J, 2012, 125 (1 367): 80-86.

[3] 朱文赫, 李亚巍, 沈楠, 等. 不同交联方法制备的鹿茸多肽—胶原蛋白/壳聚糖复合材料对成骨细胞增殖的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(14): 5-8.

[4] 李朝政, 徐岩, 黄晓巍. 鹿茸多肽对神经细胞损伤修复的研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(3): 763-765.

[5] 李朝政. 鹿茸多肽改善轻度认知功能障碍作用机理研究[D]. 吉林: 长春中医药大学, 2016: 47.

[6] 吴帆, 董玲, 王春梅, 等. 不同部位鹿茸水提液对 NRK-49F 细胞促增殖作用的研究[J]. 世界科学技术: 中医药现代化, 2014, 16(7): 1 537-1 541.

[7] 李泽鸿, 姚玉霞, 王全凯, 等. 二杠鹿茸与三杈鹿茸中营养元素含量的差异[J]. 微量元素与健康研究, 2003, 20(4): 30-31.

[8] 王博. 不同鹿血对离体牛蛙心脏功能的影响[D]. 长春: 吉林农业大学, 2013: 3-6.

[9] 李泽鸿, 刘洪章. 梅花鹿茸血中营养成分的分析[J]. 长春中医药大学学报, 2007(4): 28-29.

(下转第 176 页)

- [6] SUN Xiao-cun, ZEMEL M B. Leucine and calcium regulate fat metabolism and energy partitioning in murine adipocytes and muscle cells[J]. *Lipids*, 2007, 42(4): 297-305.
- [7] CHEN Qi-xuan, REIMER R A. Dairy protein and leucine alter GLP-1 release and mRNA of genes involved in intestinal lipid metabolism in vitro [J]. *Nutrition*, 2009, 25(3): 340-349.
- [8] QUALMANN B, KESSELS M M, KELLY R B. Molecular links between endocytosis and the actin cytoskeleton[J]. *The Journal of cell biology*, 2000, 150(5): F111.
- [9] PICARD F, KURTEV M, CHUNG N, et al. Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR- γ [J]. *Nature*, 2004, 429(6 993): 771-776.
- [10] OTABE Shuichi, YUAN Xiao-hong, FUKUTANI Tomoka, et al. Overexpression of human adiponectin in transgenic mice results in suppression of fat accumulation and prevention of premature death by high-calorie diet[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2007, 293(1): 210-218.
- [11] SUGAWARA T, ITO Y, NISHIZAWA N, et al. Regulation of muscle protein degradation, not synthesis, by dietary leucine in rats fed a protein-deficient diet[J]. *Amino Acids*, 2009, 37(4): 609-616.
- [12] XIAO Ding-fu, ZENG Li-ming, YAO Kang, et al. The glutamine- α -ketoglutarate (AKG) metabolism and its nutritional implications [J]. *Amino Acids*, 2016, 48(9): 2 067-2 080.
- [13] FANZANI A, CONRAADS V M, PENNA F, et al. Molecular and cellular mechanisms of skeletal muscle atrophy: An update[J]. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle*, 2012, 3(3): 163-179.
- [14] SURYAWAN A, DAVIS T A. Regulation of protein degradation pathways by amino acids and insulin in skeletal muscle of neonatal pigs[J]. *J Anim Sci Biotechnol*, 2014, 5(1): 8.
- [15] GLASS D J. Skeletal muscle hypertrophy and atrophy signaling pathways[J]. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 2005, 37(10): 1 974-1 984.
- [16] JEYAPALAN A S, ORELLANA R A, SURYAWAN A, et al. Glucose stimulates protein synthesis in skeletal muscle of neonatal pigs through an AMPK- and mTOR-independent process[J]. *Am J Physiol-Endoc M*, 2007, 293(2): E595-E603.
- [17] SUGDEN P H, FULLER S J. Regulation of protein turnover in skeletal and cardiac muscle[J]. *The Biochemical Journal*, 1991, 273(Pt 1): 21-37.
- [18] 丁晓东, 范建高, 王国良, 等. 二甲双胍干预大鼠非酒精性脂肪性肝炎疗效观察[J]. *肝脏*, 2005, 10(2): 79-81.
- [19] 石鹤坤, 陈开杰, 林小凤, 等. 不同跑台坡度对 SD 大鼠运动疲劳指标的影响[J]. *实验动物与比较医学*, 2017(6): 455-459.
- [20] COOPER A J, KRISTAL B S. Multiple roles of glutathione in the central nervous system[J]. *Biol Chem*, 1997, 378(8): 793.
- [21] 位莹莹, 徐奇友, 李晋南, 等. 不同蛋白质水平饲料中添加 α -酮戊二酸对松浦镜鲤生长性能、体成分和血清生化指标的影响[J]. *动物营养学报*, 2013(12): 2 958-2 965.
- [22] 易学武, 唐晓玲, 刘振湘, 等. 糖萜素对早期断奶仔猪血液生化指标及免疫机能的影响研究[J]. *湖南环境生物职业技术学院学报*, 2005, 11(3): 239-243.
- [23] 刘少娟, 陈家顺, 康保聚, 等. α -酮戊二酸和大蒜素对生长猪生长发育及养分表观消化率的影响[J]. *动物营养学报*, 2017(9): 3 193-3 201.
- [24] 李忠荣, 陈婉如, 叶鼎承, 等. 低蛋白质补充氨基酸饲料对北京鸭生长性能、血清生化指标及粪氮含量的影响[J]. *动物营养学报*, 2013, 25(2): 319-325.
- [25] 韩杰, 张飞, 边连全. 刺五加多糖对免疫应激断奶仔猪免疫器官指数、粪便微生物菌群数量和胃肠道 pH 的影响[J]. *动物营养学报*, 2014(8): 2 314-2 319.

(上接第 166 页)

- [10] TSENG S H, SUNG H C, CHEN L G, et al. Effects of velvet antler with blood on bone in ovariectomized rats[J]. *Molecules*, 2012, 17(9): 10 574-10 585.
- [11] 付程浩, 蒋春莹, 郑可欣, 等. 鹿茸血提取物改变乳腺癌荷瘤小鼠免疫细胞比例并抑制移植瘤生长[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2017, 33(12): 1 615-1 621.
- [12] 卫生部. 保健食品检验与评价技术规范[S]. 2003 版. 北京: 中华人民共和国卫生部, 2003: 87-93.
- [13] 刘鑫, 卢文倩, 蔡广胜, 等. 小牛脾提取物注射液对小鼠的抗疲劳活性研究[J]. *中国现代应用药学*, 2018, 35(11): 1 613-1 617.
- [14] SURHIO Maheen Mahwish, WANG Yu-fen, FANG Shi, et al. Anti-fatigue activity of a Lachnum polysaccharide and its carboxymethylated derivative in mice[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2017, 27(20): 4 777-4 780.
- [15] 范治云, 谭会萍, 李志坤, 等. 三七参芪胶囊安全性评价及缓解体力疲劳功能的研究[J]. *食品研究与开发*, 2018, 39(19): 180-184.
- [16] 白晨, 王淑珍, 周晓望, 等. 鹿茸血酒抗疲劳活性实验研究[J]. *食品科学*, 2008, 29(11): 575-578.
- [17] 马立芹, 乐国伟, 钱佳, 等. 马鹿茸血免疫活性肽的制备及其活性研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2009, 21(1): 125-128, 182.
- [18] 权石范, 张秀莲, 常忠娟. 梅花鹿三种茸片和鹿角盘性激素含量测定[J]. *特产研究*, 2014, 36(1): 10-11.