

乳清多肽复合粉对运动小鼠抗疲劳作用研究

刘小杰, 张潇漪, 王春华*

(上海城建职业学院, 上海 201415)

摘要:将雄性昆明小鼠随机分为4组:空白对照组、阳性对照组、低剂量和高剂量乳清多肽复合粉组。在给予受试物30 d后测定各组负重游泳的持续时间。实验前及实验第35天,小鼠在水温(25±1)℃的水中游泳45 min,测定乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、血乳酸(blood lactic acid, LAC)、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)和肝糖原等生化指标。乳清多肽复合粉组小鼠游泳时间明显大于对照组($P<0.01$);服用乳清多肽复合粉的小鼠LDH活力、肝糖原水平均比对照组显著增加($P<0.01$),运动后血乳酸及BUN水平明显降低($P<0.01$)。上述结果表明:乳清多肽复合粉具有抗疲劳作用。同时对以乳清多肽、 β -羟基- β -甲基丁酸盐(β -hydroxy- β -methylbutyrate, HMB)、L-肉碱、B族维生素等为主要组分的抗疲劳运动补剂进行质量评价。

关键词:乳清多肽;抗疲劳;血尿素氮;乳酸脱氢酶;血乳酸

Research into Anti-fatigue Effect of Whey Polypeptide Compound Powder on Exercise Mice

LIU Xiao-jie, ZHANG Xiao-yi, WANG Chun-hua*

(Shanghai Urban Construction Vocational College, Shanghai 201415, China)

Abstract: Male Kunming mice were randomly divided into four groups of equivalent average body weight: a vehicle control group, a positive control group, and low and high dose whey peptide compound powder groups. After 30 days, each group was subjected to the forced swimming test [mice swim for 45 minute at (25±1)℃]. After 35 days, prior to and after swim testing, lactate dehydrogenase (LDH), blood lactic acid (LAC), blood urea nitrogen (BUN) and hepatic glycogen content were determined. Swimming times of mice in the whey peptide compound powder groups were significantly prolonged compared with those in the control group ($P<0.01$). Mice in the whey peptide compound powder groups displayed obviously increased LDH activity and hepatic glycogen storage ($P<0.01$). Mice in the whey peptide compound powder groups displayed significantly blood lactic acid and BUN clearance after swimming ($P<0.01$). The above results indicated that whey peptide compound powder conferred anti-fatigue effects. In addition, an anti-fatigue sports supplement composed of whey peptides, β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB), L-carnitine, and B vitamins etc., was developed, and systematic research has been carried out, and the quality of the products was evaluated.

Key words: whey peptide; anti-fatigue; blood urea nitrogen; lactate dehydrogenase; blood lactic acid

引文格式:

刘小杰, 张潇漪, 王春华. 乳清多肽复合粉对运动小鼠抗疲劳作用研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(15): 119-123.

LIU Xiaojie, ZHANG Xiaoyi, WANG Chunhua. Research into Anti-fatigue Effect of Whey Polypeptide Compound Powder on Exercise Mice[J]. Food Research and Development, 2021, 42(15): 119-123.

基金项目: 上海城建职业学院 2021 年度校级科研项目(cjky202105)

作者简介: 刘小杰(1973—), 男(汉), 高级工程师, 博士, 研究方向: 功能食品与发酵工程。

* 通信作者: 王春华(1978—), 女(汉), 讲师, 硕士, 研究方向: 功能食品加工与益生菌应用。

随着生活节奏的加快, 现代人面临更多的职业发展压力、家庭生活压力和学习竞争的压力, 导致亚健康的人群与日俱增。而“疲劳”作为一种生理现象, 是指“身体机能不能持续在特定水平或者整体不能维持预定的运动强度”而出现的一种状态, 已经是现代社

会的一种常见现象。关于运动性疲劳产生的假说,主要有能量耗竭学说、代谢产物堆积学说、离子代谢紊乱学说、氧自由基及其引起的脂质过氧化反应增强学说、内分泌调节机能下降学说等,延缓疲劳的发生和促进疲劳的恢复一直是运动医学和营养学等学科的研究热点。

本文通过小鼠负重游泳实验、小鼠游泳实验后部分生化指标的变化,研究乳清多肽复合粉(乳清多肽含量>99%,其余为L-肉碱和B族维生素)对运动小鼠抗疲劳的作用。同时对以乳清多肽、 β -羟基- β -甲基丁酸盐(β -hydroxy- β -methylbutyrate, HMB)、L-肉碱、B族维生素等为主要成分的抗疲劳运动补剂进行质量评价,为其实现产业化奠定一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物

雄性昆明小鼠,体重18 g~22 g,由浙江医学科学院实验动物中心提供。

1.2 材料

乳清多肽:丹麦阿拉食品公司; β -羟基- β -甲基丁酸钙:超维健康科技有限公司;L-肉碱:瑞士龙沙公司;复合B族维生素(含烟酰胺、维生素B₆和维生素B₁₂):芜湖美诺食品科技有限公司;异麦芽酮糖:安徽中弘生物工程有限公司;菊粉:重庆骄王天然产物股份有限公司;西柚果粉:西安斯诺特生物技术有限公司;0卡糖:山东糖之物语健康产业有限公司;三勒浆(强力抗疲劳剂):四川华美制药公司,使用前配制成适宜的浓度;血乳酸脱氢酶、血乳酸和血尿素氮检测试剂盒:南京建成生物工程研究所有限公司。

1.3 仪器与设备

小型三维混合机(FZH-300):江苏宇通干燥工程有限公司;电子天平(ME1002T/02)、pH计(PHS-9V)、便携式折光率仪(Refracto30GS):梅特勒-托利多公司;无菌操作台(BBS-H1300):山东博科生物产业有限公司;食品温度计(SINCERE 8300):SinCERE公司。

1.4 方法

1.4.1 实验分组

将乳清多肽、L-肉碱、B族维生素直接混合,即为乳清多肽复合粉,其中乳清多肽含量>99%。

将60只雄性昆明小鼠在实验室饲养适应10 d后,将小鼠随机分成空白对照组、阳性对照组、乳清多肽复合粉低剂量组和高剂量组,每组15只,分别以生理盐水、三勒浆、低剂量和高剂量乳清多肽复合粉灌

胃,每日1次。

1.4.2 游泳实验

小鼠游泳实验I:分组剂量及给药方法同1.4.1,给药至第30天,进行游泳实验。实验条件:水深80 cm,水温(25±1)℃,实验时于小鼠尾部吊一铅锤(质量约为小鼠体重的5%),记录小鼠游泳至力竭的时间。

小鼠游泳实验II:分组剂量及给药方法同1.4.1,给药至第35天。实验前及实验第35天,分别让小鼠在(25±1)℃的水中游泳45 min,测定乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、血乳酸(blood lactic acid, LAC)、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)和肝糖原等生化指标。

1.4.3 指标测定

乳酸脱氢酶、血乳酸和血尿素氮水平的测定:分别采用相关试剂盒测定;肝糖原含量的测定:用蒽酮比色法测定肝糖原含量;pH值的测定:用PHS-9V型酸度计测定;水分的测定:按GB 5009.3—2016《食品安全国家标准 食品中水分的测定》规定的方法测定;蛋白质的测定:按GB 5009.5—2016《食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定》规定的方法测定;可溶性固形物的测定:按GB/T 12143—2008《饮料通用分析方法》规定的方法测定;菌落总数的测定:按GB 4789.2—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 菌落总数测定》规定的方法测定;大肠菌群的测定:按GB 4789.3—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 大肠菌群计数》规定的方法测定;霉菌和酵母的测定:按GB 4789.15—2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 霉菌和酵母计数》规定的方法测定。

1.4.4 抗疲劳补剂生产工艺流程及依据

本抗疲劳补剂主要由乳清多肽、HMB、L-肉碱、B族维生素等成分组成,其中乳清多肽用量参考本研究抗疲劳实验的结果、HMB设计量主要参考国内外临床研究报告^[1-6];L-肉碱也具有一定的抗疲劳作用^[7-14];B族维生素主要依据GB 14880—2012《食品安全国家标准 食品营养强化剂使用标准》相关强化量而定;异麦芽酮糖、菊粉和0卡糖作为食品原料或配料,主要依据产品口感确定使用量;西柚果粉作为香精的替代品,可以为产品提供天然清新的口感。

产品归属于固体饮料,生产工艺如图1所示。

1.4.5 稀释倍数确认与产品口感评定

将产品(各30 g)分别溶于100、150、200、250 mL温水中(40℃~45℃),测定可溶性固形物含量;邀请由30名大学生组成的志愿者小组进行品尝,分别对产品

酸甜比、饱满度、香气等指标进行评判。

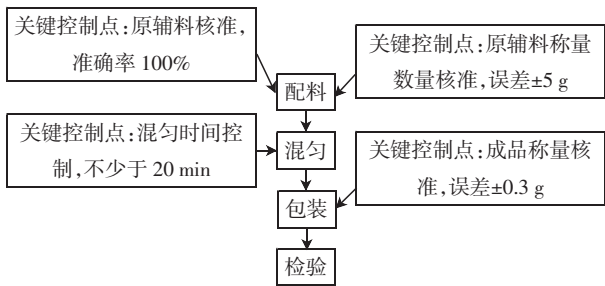


图 1 抗疲劳运动补剂生产工艺简图
Fig.1 The diagram of the production process of anti-fatigue sports supplements

2 结果与分析

2.1 乳清多肽复合粉对小鼠游泳时间的影响

乳清多肽复合粉对小鼠负重游泳时间的影响见表 1。

从表 1 的结果可以看出,与空白对照组相比,乳清多肽复合粉各剂量组小鼠游泳时间明显延长($P<0.01$),

表 1 乳清多肽复合粉对小鼠游泳时间的影响

Table 1 The effect of whey peptide compound powder on swimming time in mice

组别	动物只数	游泳时间/min
空白对照组	15	72.6±3.2
阳性对照组	15	94.0±2.2*
乳清多肽复合粉低剂量	15	102.0 ±2.9*
乳清多肽复合粉高剂量	15	112.8 ±3.1*

注:各组与空白对照组相比,*表示有极显著差异($P<0.01$)。

且各剂量组呈一定的剂量依赖性。乳清多肽复合粉对小鼠有一定的抗疲劳作用,可以增强小鼠的耐力。

2.2 乳清多肽复合粉对小鼠乳酸脱氢酶、血乳酸、血尿素氮和肝糖原的影响

将小鼠随机分成 4 组,连续给药 35 d。在实验前及实验第 35 天,让小鼠在(25±1)℃的水中游泳 45 min,测定乳酸脱氢酶、血乳酸、血尿素氮和肝糖原等生化指标,实验结果见表 2 和表 3。

从表 2 的测试结果可以看出,实验前各组生化指

表 2 乳清多肽复合粉对小鼠乳酸脱氢酶、血乳酸、血尿素氮和肝糖原的影响(实验前)

Table 2 Effect of whey peptide compound powder on LDH,LAC,BUN and hepatic glycogen in mice (before test)

组别	乳酸脱氢酶/(U/100 mL)	血乳酸/(mg/100 mL)	血尿素氮/(mg/100 mL)	肝糖原/(mg/g)
空白对照组	283±18	42.0±1.4	21.8±1.65	42.0±2.0
阳性对照组	291±16	43.2±1.6	22.2±1.74	41.3±1.9
乳清多肽复合粉低剂量	288±19	45.3±1.8	23.1±1.58	42.5±1.8
乳清多肽复合粉高剂量	292±20	41.9±1.5	22.5±1.61	43.1±1.7

表 3 乳清多肽复合粉对小鼠乳酸脱氢酶、血乳酸、血尿素氮和肝糖原的影响(实验后)

Table 3 Effect of whey peptide compound powder on LDH,LAC,BUN and hepatic glycogen in mice (after test)

组别	乳酸脱氢酶/(U/100 mL)	血乳酸/(mg/100 mL)	血尿素氮/(mg/100 mL)	肝糖原/(mg/g)
空白对照组	295±15	43.3±2.5	23.2±1.87	42.4±2.98
阳性对照组	352±18*	32.5±2.4*	17.5±1.75*	62.5±2.71*
乳清多肽复合粉低剂量	358±21*	32.1±2.1*	16.4±1.60*	62.8±3.06*
乳清多肽复合粉高剂量	376±19*	30.8±2.3*	15.0±1.68*	67.6±3.47*

注:各组与空白对照组相比,+表示差异显著($P<0.05$);*表示差异极显著($P<0.01$)。

标均无差异($P>0.05$),表明实验动物的分组是随机的,可以进行后续的试验研究。

乳酸脱氢酶(LDH)能催化乳酸脱氢,生成丙酮酸,可以减少乳酸在体内的蓄积。一般认为,LDH 活性在一定范围内的升高,说明机体清除乳酸的能力增强。实验第 35 天,乳清多肽复合粉各剂量组及阳性对照组 LDH 活力明显高于对照组($P<0.05$)。长时间剧烈运动后机体内乳酸积累过多,会影响机体内环境的相对稳定和体内的正常代谢过程,引发运动性疲劳。实验第 35 天,乳清多肽复合粉各剂量组及阳性对照组运动后血乳酸水平明显低于对照组($P<0.05$)。本实验结果表

明,乳清多肽复合粉能够增强 LDH 活力,有效降低运动后血乳酸的水平。提示乳清多肽复合粉通过提高 LDH 活力,降低血乳酸水平,起到抗疲劳的作用。国内外大量的研究表明,许多来自于动植物的肽类物质具有显著的抗疲劳作用^[15-29],而有关乳清多肽抗疲劳作用的研究,还不多见。

剧烈运动时,肌糖原的消耗增大,能量供应失衡,蛋白质的分解代谢增强。机体对于运动负荷的适应性越低,蛋白质分解代谢越强,形成的尿素也越多,因此血尿素氮是较为理想、灵敏的疲劳指标。乳清多肽复合粉各剂量组及阳性对照组运动后血尿素氮极显著

低于对照组($P<0.01$),并且有剂量依赖性,说明乳清多肽复合粉具有节约蛋白质利用的功能。

肝糖原是机体运动时能量的重要来源,它的多少直接影响运动能力。提高肝糖原储备对增强运动耐力有重要意义。乳清多肽复合粉各剂量组及阳性对照组肝糖原极显著高于对照组($P<0.01$),在高剂量组肝糖原的浓度达到了 67.6 mg/g。说明乳清多肽复合粉能有效地提高机体肝糖原的储备,增强机体对运动负荷的适应能力。

2.3 抗疲劳补剂的工艺要点及质量评价

2.3.1 工艺操作要点

1) L-肉碱、B 族维生素在配方中含量很低,需要先把 L-肉碱、B 族维生素和少量菊粉进行一次混合;再将其它原料加入,进行第 2 次混合。

2) 定期抽检成品,检测各功效成分的含量,确保产品配方的准确性和稳定性。

2.3.2 稀释倍数与产品口感

按照 1.4.5 的方法,通过分析品尝结果,得出最佳的稀释倍数为 30 g 固体饮料溶于 200 mL 温水中。

2.3.3 产品质量标准

2.3.3.1 感官评价

色泽:带有产品应有的正常色泽,为色泽均匀一致的淡黄色粉末。

滋味及气味:具有产品应有的气味和滋味,口感协调柔和,酸甜适口,无异味。

状态:无正常视力可见的外来异物。

2.3.3.2 理化指标

测定 3 个批次产品的水分含量,求得其平均值为 6%,符合 GB/T 29602—2013《固体饮料》相关规定。

测定 3 个批次产品的蛋白质含量,求得其平均值为 10%,符合 GB/T 29602—2013《固体饮料》中含乳固体饮料的相关规定。

2.3.3.3 微生物指标

测定 3 个批次产品的微生物指标(菌落总数、大肠菌群、霉菌和酵母),所有批次产品的指标均符合 GB 7101—2015《食品安全国家标准 饮料》的相关规定。

3 结论

本文通过小鼠负重游泳实验,研究乳清多肽复合粉对运动小鼠抗疲劳的作用,结果提示乳清多肽复合粉可以提高 LDH 活力、降低血乳酸水平,提高肝糖原储备,这些都是其抗疲劳的作用机理。

本研究根据人体三大能量物质供能系统的特点,以乳清多肽、 β -羟基- β -甲基丁酸盐、L-肉碱、B 族维

生素等为主要成分得到的抗疲劳运动补剂,其产品质量符合国家相关标准,为实现产业化奠定一定的理论基础。

参考文献:

- [1] CORREIA A L M, DE LIMA F D, BOTTARO M, et al. Pre-exercise β -hydroxy- β -methylbutyrate free-acid supplementation improves work capacity recovery: A randomized, double-blinded, placebo-controlled study[J]. Applied Physiology Nutrition and Metabolism, 2018, 43: 691-696.
- [2] DURKALEC-MICHALSKI K, JESZKA J, PODGÓRSKI T. The effect of a 12-week β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) supplementation on highly-trained combat sports athletes: A randomized, double-blind, placebo-controlled crossover study[J]. Nutrients, 2017, 9(7): 753.
- [3] DURKALEC-MICHALSKI K, JESZKA J. The effect of β -hydroxy- β -methylbutyrate on aerobic capacity and body composition in trained athletes[J]. Journal of Strength and Conditioning Research, 2016, 30(9): 2617-2626.
- [4] FERREIRA H R, RODACKI A L F, GILL P, et al. The effects of supplementation of β -hydroxy- β -methylbutyrate on inflammatory markers in high performance athletes[J]. Journal of the American Society of Exercise Physiologists, 2013, 16(1): 53-63.
- [5] MIRAMONTI A A, STOUT J R, FUKUDA D H, et al. Effects of 4 weeks of high-intensity interval training and β -hydroxy- β -methylbutyric free acid supplementation on the onset of neuromuscular fatigue[J]. Journal of Strength and Conditioning Research, 2016, 30(3): 626-634.
- [6] ROBINSON E H, STOUT J R, MIRAMONTI A A, et al. High-intensity interval training and β -hydroxy- β -methylbutyric free acid improves aerobic power and metabolic thresholds[J]. Journal of the International Society of Sports Nutrition, 2014, 11: 16-27.
- [7] 王丽霞, 刘安军, 朱晓萍. 羊肉中 L-肉碱抗疲劳作用机理研究[J]. 食品科学, 2008, 29(10): 553-556.
WANG Lixia, LIU Anjun, ZHU Xiaoping. Study on antifatigue mechanism of L-carnitine from mutton[J]. Food Science, 2008, 29(10): 553-556.
- [8] 王京钟, 王筱桂. L-左旋肉碱对人体运动能力的影响[J]. 中国食品添加剂, 2003(5): 40-43.
WANG Jingzhong, WANG Xiaogui. The effects of L-carnitine on human stamina[J]. China Food Additives, 2003(5): 40-43.
- [9] 王翔. 丙酮酸或丙酮酸-肉碱补充对定量负荷运动时脂肪动员和 RPE 的影响[J]. 体育与科学, 2003, 24(3): 60-62.
WANG Xiang. The effects of supplements of pyruvate or pyruvate with carnitine on the fatty mobilization and utilization and RPE during the quantitative exercise[J]. Journal of Sports and Science, 2003, 24(3): 60-62.
- [10] BRASS E P, ADLER S, SIETSEMA K E, et al. Intravenous L-carnitine increases plasma carnitine, reduces fatigue, and may preserve exercise capacity in hemodialysis patients[J]. American Journal of

- Kidney Diseases, 2001, 37(5): 1018–1028.
- [11] PANJWANI U, THAKUR L, ANAND J P, et al. Effect of l-carnitine supplementation on endurance exercise in normobaric/normoxic and hypobaric/hypoxic conditions[J]. Wilderness and Environmental Medicine, 2007, 18: 169–176.
- [12] KARLIC H, LOHNINGER A. Supplementation of l-carnitine in athletes: Does it make sense? [J]. Nutrition, 2004, 20: 709–715.
- [13] 王樑. 外源性补充 L-肉碱与运动性疲劳的研究综述[J]. 体育科学研究, 2008, 12(4): 61–62.
- WANG Liang. On the current research of supplements the l-carnitine in exercise-induced fatigue[J]. Sports Science Research, 2008, 12(4): 61–62.
- [14] 周星. 运动前补充 L-肉碱对女大学生急性 400 米跑血乳酸的影响[J]. 四川体育科学, 2018, 37(1): 18–21, 33.
- ZHOU Xing. The effect of l-carnitine supplement to blood lactic acid after 400-meter race in female college students[J]. Sichuan Sports Science, 2018, 37(1): 18–21, 33.
- [15] 闫萍, 李茂辉, 郭红, 等. 大豆小分子肽抗疲劳效果评价[J]. 中国公共卫生, 2008, 24(2): 217–218.
- YAN Ping, LI Maohui, GUO Hong, et al. Evaluation on anti-fatigue effect of soybean minor peptides[J]. Chinese Journal of Public Health, 2008, 24(2): 217–218.
- [16] 江小云, 潘道东. 乳源活性肽抗疲劳作用的实验研究[J]. 食品科学, 2009, 30(9): 191–194.
- JIANG Xiaoyun, PAN Daodong. Study on anti-fatigue effect of milk protein-derived peptide[J]. Food Science, 2009, 30(9): 191–194.
- [17] 温红珊, 昌友权, 曹柏营. 蚕蛹蛋白多肽抗疲劳作用的实验研究[J]. 食品科学, 2009, 30(19): 291–293.
- WEN Hongshan, CHANG Youquan, CAO Baiying. Anti-fatigue function of silkworm pupa protein polypeptides[J]. Food Science, 2009, 30(19): 291–293.
- [18] 杨俊峰. 大菱鲆鱼皮多肽液的制备及其抗运动疲劳作用[J]. 食品研究与开发, 2017, 38(10): 98–102.
- YANG Junfeng. Preparation and anti-exercise-fatigue activity of peptide liquid from *Scophthalmus maximus* fishskin[J]. Food Research and Development, 2017, 38(10): 98–102.
- [19] 王嘉佳, 李晓倩, 高山, 等. 核桃多肽复配核桃乳对小鼠抗疲劳及抗氧化作用研究[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(19): 84–91.
- WANG Jiajia, LI Xiaoqian, GAO Shan, et al. Anti-fatigue and antioxidant effects of walnut peptide compound walnut milk on mice [J]. Food and Fermentation Industries, 2020, 46(19): 84–91.
- [20] 胡太超, 刘玉敏, 陶荣珊, 等. 鹿茸多肽的抗疲劳作用机制研究[J]. 吉林农业大学学报, 2015, 37(4): 469–475.
- HU Taichao, LIU Yumin, TAO Rongshan, et al. Study on antifatigue mechanism of pilose antler polypeptides[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2015, 37(4): 469–475.
- [21] 李华亮, 王碧雪, 丁玉梅, 等. 暹罗鳄多肽粉对小鼠机体免疫力及抗疲劳效应的增强作用[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2019, 58(5): 707–711.
- LI Hualiang, WANG Bixue, DING Yumei, et al. Effects of peptide powder from *Crocodylus siamensis* on enhancing immunity of organism and anti-fatigue effect in mice[J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 2019, 58(5): 707–711.
- [22] 曹向宇, 朱昱, 刘剑利, 等. 小米多肽对小鼠抗疲劳作用[J]. 中国公共卫生, 2011, 27(9): 1153–1154.
- CAO Xiangyu, ZHU Yu, LIU Jianli, et al. Anti-fatigue function of millet peptides in mice[J]. Chinese Journal of Public Health, 2011, 27(9): 1153–1154.
- [23] 王旭清, 张培正, 李坤, 等. 鸭胚多肽对小鼠抗疲劳、耐缺氧能力的影响[J]. 天然产物研究与开发, 2010, 22(3): 502–505.
- WANG Xuqing, ZHANG Peizheng, LI Kun, et al. Effects of duck embryo peptides on ability of mice anti-fatigue, anti-anoxia and anti-oxidation[J]. Natural Product Research and Development, 2010, 22(3): 502–505.
- [24] 胡滨, 陈一资. 猪血多肽缓解疲劳作用研究[J]. 食品科学, 2011, 32(11): 300–305.
- HU Bin, CHEN Yizi. Fatigue-alleviating effect of peptides from porcine blood[J]. Food Science, 2011, 32(11): 300–305.
- [25] 贾靖霖, 蒲云峰, 李虎, 等. 核桃多肽抗疲劳作用的研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(7): 340–342.
- JIA Jinglin, PU Yunfeng, LI Hu, et al. Study on anti-fatigue effects of walnut peptides[J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(7): 340–342.

加工编辑:王艳

收稿日期:2021-02-04