

# 大豆小肽对大鼠高血脂症和抗疲劳作用的研究

单春乔<sup>1</sup>, 修立颖<sup>1</sup>, 刘秋晨<sup>1</sup>, 李晶晶<sup>1</sup>, 林洋<sup>1</sup>, 刘艳<sup>1,2</sup>

(1. 大连三仪生物工程研究所, 辽宁 大连 116036; 2. 江苏三仪科研质量控制中心, 江苏 邳州 221300)

**摘要:**通过建立大鼠高血脂症动物模型,用不同剂量的自制大豆小肽灌胃大鼠,分别在第20,40,60天时尾静脉采血测定血液生化指标,并在第21天进行游泳负重实验和肝糖原含量测定,探讨了大豆低聚肽在调节血脂、预防动脉粥样硬化、抗疲劳作用。结果表明:灌胃60 d时高剂量组的大鼠的TC、TG、LDL-C、TXA<sub>2</sub>相对于模型对照组显著降低,分别降低22.97%、8%、15.29%、18.97%,高剂量组大鼠的NO、HDL-C、PGI<sub>2</sub>相对于模型对照组显著升高,分别升高了43.85%、20.56%、28.92%。抗疲劳试验中,在灌胃剂量2.0 g·kg<sup>-1</sup>(体重)时,小鼠负重时间比对照组延长61.49%,小鼠肝糖原含量为20.07 mg·g<sup>-1</sup>,与对照组相比提高了41.14%。表明大豆小肽具有明显的预防动脉粥样硬化和抗疲劳的功能。

**关键词:**大豆小肽;降低血脂;抗疲劳;生理功能

**中图分类号:**R151

**文献标识码:**A

**DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2015.04.0695

## Study on Hyperlipidemia Rats and Anti-fatigue Effect of Soybean Peptides

SHAN Chun-qiao<sup>1</sup>, XIU Li-ying<sup>1</sup>, LIU Qiu-chen<sup>1</sup>, LI Jing-jing<sup>1</sup>, LIN Yang<sup>1</sup>, LIU Yan<sup>1,2</sup>

(1. Dalian Sanyi Bioengineering Research Institute, Dalian 116036, China; 2. Jiangsu Sanyi Bioengineering Research Institute, Pizhou 221300, China)

**Abstract:** Through establishing animal model group of hyperlipidemia, and feeding self-made soybean peptides with different doses, blood biochemical parameters of serums collected from caudal vein were detected at 20, 40 and 60 d, the text of physical power and detect of liver glycogen content were carried out at 21 d. the functions of soybean peptides in regulating blood lipid, preventing atherosclerosis and anti-fatigue were studied by testing plasma indicators, swimming load test and liver glycogen content detection. The results showed that TC, TG, LDL-C, TXA<sub>2</sub> levels of the high dose group hyperlipidemia rats who were fed soybean small peptides for 60 days, with respect to the model group, decreased by 22.97%, 8%, 15.29%, 18.97%. The NO, HDL-C, PGI<sub>2</sub>, significant higher than model group, increased by 43.85%, 20.56%, 28.92%, respectively. In anti-fatigue experiments, when administered at a dose of 2.0 g·kg<sup>-1</sup>bw, swimming time of mice extended to 61.49%; mouse liver glycogen content was 20.07 mg·g<sup>-1</sup>, compared with control increased by 41.14%. So soybean peptides has distinct efficacy of regulating blood lipids, preventing AS and anti-fatigue.

**Keywords:** Soybean small peptides; Reducing blood lipid; Anti-fatigue; Physiological functions

大豆肽具有降低血脂、降血压、抗疲劳和延缓衰老等功效。美国食品和药物管理局(FDA)1999年10月20日确认“食用大豆蛋白有助减少心血管发病率”,并正式批准颁布有关大豆食品用于食品标签及标贴中的健康通告。2000年日本已批准大豆多功能肽作为降低胆固醇的特定保健食品。高脂血症是心脑血管发病的主要诱因之一,即血清总胆固醇(CHO)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL)的增高以及高密度脂蛋白(HDL)的降低,是脂代谢紊乱的标志,可引起动脉粥样硬化、心脏病、中风和脂肪肝<sup>[1-2]</sup>。

另外,大豆肽具有增强人体体能和肌肉力量、抗疲劳等诸多功能。大豆肽被吸收的速度比蛋白质与氨基酸还要快,20 min内即可以被人体有效吸收,因此对人体机体获取充分的氨基酸,迅速修复受损肌肉组织,缓解疲劳感作用明显。

目前国内在大豆肽功能的研究上已经取得了

很大的突破,但制备大豆肽的工艺不同,所得产物的分子量也差距较大,分子量越低机体吸收效果越趋于明显<sup>[3]</sup>,当前国内生产的大豆肽一般分子量较大,本实验室采用酶解法经特殊工艺处理生产大豆小肽分子量500 D以下占90%以上。本研究旨在通过分析高血脂症大鼠血液生化指标,测定小鼠游泳负重时间和肝糖原含量,研究该大豆小肽对大鼠高血脂症和小鼠抗疲劳功能,以期为大豆小肽的应用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

大豆小肽(大连三仪生物工程研究所自主研发)、SD大鼠(180±20 g,购自大连医科大学)、高脂饲料(由普通饲料和一定量的猪油、胆固醇、胆酸盐组成)。试剂主要有大鼠一氧化氮(NO)ELISA试剂盒、大鼠血栓素A<sub>2</sub>(TXA<sub>2</sub>)ELISA试剂盒、大鼠甘

油三酯(TG)ELISA试剂盒、大鼠总胆固醇(TC)ELISA试剂盒、大鼠前列环素(PGI<sub>2</sub>)ELISA试剂盒、大鼠低密度脂蛋白(LDL-C)ELISA试剂盒、大鼠高密度脂蛋白(HDL-C)ELISA试剂盒、肝糖原ELISA检测试剂盒(南京建成生物工程研究所)。仪器设备为万分之一天平BSA224S。

## 1.2 方法

1.2.1 降血脂试验 将供试大鼠随机分成5组,每组10只,自由饮水和采食,灌胃量分高、中、低剂量组,记为C、D、E,并设空白对照组A和模型对照组B(表1),每天8:00和14:00灌胃2次,并记录采食量,每12d称量一次体重,在饲养过程中,分别在第20、40、60天时,将大鼠禁食12h,从尾静脉采血,将采集的血液放入制备好的含有肝素抗凝离心管中,离心取上清进行各项指标检测。

表1 实验大鼠的分组情况及灌胃剂量

Table 1 Experimental rats grouping and fed doses

组别 Group	数量 Quantity	剂量(每天一次) Dose(Once a day)
A	10	基础饲料+蒸馏水灌胃 5 mL·kg <sup>-1</sup>
B	10	高脂饲料+蒸馏水灌胃 5 mL·kg <sup>-1</sup>
C	10	高脂饲料+糖肽灌胃 0.4 g·kg <sup>-1</sup>
D	10	高脂饲料+糖肽灌胃 2.0 g·kg <sup>-1</sup>
E	10	高脂饲料+糖肽灌胃 10.0 g·kg <sup>-1</sup>

1.2.2 抗疲劳试验 负重小鼠游泳时间是衡量抗疲劳特性中最常选择的评价指标,连续灌胃给药21d后进行力竭性游泳实验。测定当天正常喂食、喂水,末次给药后将小鼠尾根缚以自身体重7%的重

表2 不同剂量的大豆肽对大鼠血浆中TC和TG的影响

Table 2 The impacts of soybean small peptides with different doses on TC and TG of rat blood ( $\bar{X} \pm S, n = 10$ )

组别 Group	TC/mmol·L <sup>-1</sup>			TG/mmol·L <sup>-1</sup>		
	20 d	40 d	60 d	20 d	40 d	60 d
A	0.62 ± 0.07	0.61 ± 0.09	0.6 ± 0.07 <sup>#</sup>	3.48 ± 0.54	3.64 ± 0.37 <sup>#</sup>	3.61 ± 0.69
B	0.65 ± 0.06	0.66 ± 0.05	0.74 ± 0.08 <sup>*</sup>	3.80 ± 0.85	4.11 ± 0.48 <sup>*</sup>	3.87 ± 0.47
C	0.63 ± 0.04	0.60 ± 0.03	0.64 ± 0.06	3.50 ± 0.76	4.04 ± 0.42 <sup>*</sup>	3.61 ± 0.82
D	0.61 ± 0.07	0.51 ± 0.06 <sup>**###</sup>	0.57 ± 0.09 <sup>#</sup>	3.45 ± 0.63	3.39 ± 0.29 <sup>###</sup>	3.56 ± 0.36
E	0.59 ± 0.06	0.56 ± 0.03 <sup>#</sup>	0.72 ± 0.08	3.57 ± 0.36	3.42 ± 0.21 <sup>###</sup>	3.63 ± 0.45

与空白对照组比较,\*为P<0.05,\*\*为P<0.01;与模型对照组比较,<sup>#</sup>为P<0.05,<sup>###</sup>为P<0.01。下同。

Compared with blank control group,\* and \*\* presented P<0.05 and P<0.01, respectively; compared with model group, <sup>#</sup> and <sup>###</sup> presented P<0.05, P<0.01, respectively. The same below.

大鼠灌胃大豆小肽20和40d后,实验组与模型组对比,大鼠总胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白胆固醇的含量明显降低,说明大豆肽具有降低血脂的作用。其中实验60d时,低、中、高剂量组与模型组对比低密度脂蛋白降低的效果均存在显著性差异,所对应的变化率为7.12%、8.37%、15.29%,

物(铅),让其在50cm×50cm×40cm,水深30cm,水温25~30℃的水槽中游泳,观察并记录小鼠游泳至力竭的时间(力竭标准是小鼠沉入水底10s不浮出水面,捞出后在平面不能进行翻正反射)。计算各组平均游泳时间,各剂量组结果与溶剂对照组比较进行方差分析。肝糖原检测指标<sup>[4]</sup>,取小鼠肝脏,用生理盐水漂洗后,加入300μL碱液,沸水浴20min后冷却,取200μL备用,空白组加入水与显色液混合;标准组加入1.0mL 0.01mg·mL<sup>-1</sup>标准葡萄糖溶液与2mL显色液混合,测定组加入0.9mL蒸馏水与0.1mL糖原检测液加入显色液混合均匀。沸水浴5min,冷却后620nm下,用酶标仪测定吸光度。

## 1.3 数据分析

数据采用SPSS11.0软件统计并进行方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 大豆肽对大鼠血浆中TC、TG、LDL-C、HDL-C的影响

高脂饲料饲喂SD大鼠20d后,对血液中TC、TG、LDL-C和HDL-C指标进行检测,发现模型对照组大鼠血清中TC、TG、LDL-C的含量有明显升高趋势,HDL-C含量降低,说明实验造模成功,由表2可知,低剂量组的TC、TG的水平与空白对照组比较接近,明显低于模型组,在试验40d时中剂量和高剂量实验组与模型组相比效果显著,中剂量TC相对于模型变化率22.73%,TG相对于模型变化率为17.52%。

低、中、高剂量组低密度脂蛋白LDL-C水平呈下降趋势,高密度脂蛋白胆固醇HDL-C水平呈上升趋势,所对应的变化率20.87%、24.13%、20.56%,由此表明:大豆蛋白肽降低血清胆固醇的效应,在试验60d时主要表现在高密度脂蛋白胆固醇HDL-C升高,中剂量组与模型对照组相比升高24.13%,而

对低密度脂蛋白胆固醇有降低作用,高剂量组与模型对照组相比降低 15.29%。综上所述表明,大豆小肽具有降低血清胆固醇的作用,在剂量为 2.0 ~ 10.0 g·kg<sup>-1</sup>时随着剂量的增加,效果越明显。

## 2.2 大豆肽对大鼠血浆中 TXA<sub>2</sub>、PGI<sub>2</sub>、NO 含量的影响

由表 4 可知,大豆肽干预大鼠 40 d 后,低、中、

高剂量组与模型对照组相比能降低高脂血症大鼠 TXA<sub>2</sub> 水平,变化率为 11.42%、22.36%、34.93%,中、高剂量组效果与模型组比较效果显著,同时中、高剂量组 PGI<sub>2</sub> 含量增高,变化率为 2.11%、3.42%,灌胃 60 d 时,高剂量组 TXA<sub>2</sub> 效果最明显,比模型对照组降低 18.97%,中剂量组 PGI<sub>2</sub> 效果最明显,比模型对照组升高 28.92%。

表 3 不同剂量的大豆肽对大鼠血浆中 LDL-c 和 HDL-c 的影响

Table 3 The impacts of soybean small peptides with different doses on LDL-c and HDL-c of rat blood ( $\bar{X} \pm S, n = 10$ )

组别 Group	LDL-C/ng·L <sup>-1</sup>			HDL-C/ng·L <sup>-1</sup>		
	20 d	40 d	60 d	20 d	40 d	60 d
A	99.53 ± 27.52	105.47 ± 14.31	108.57 ± 8.53	52.37 ± 6.80	51.27 ± 4.02 <sup>#</sup>	45.11 ± 3.72 <sup>#</sup>
B	117.02 ± 16.88	110.27 ± 12.35	117.16 ± 10.28 <sup>*</sup>	48.94 ± 3.75	45.17 ± 4.52 <sup>*</sup>	37.80 ± 7.97 <sup>*</sup>
C	99.38 ± 20.98	97.5 ± 7.78	108.81 ± 9.18	49.02 ± 3.07	46.00 ± 4.03	45.69 ± 8.11 <sup>#</sup>
D	109.15 ± 25.92	102.34 ± 25.60	107.35 ± 11.94 <sup>#</sup>	47.39 ± 7.96	45.73 ± 7.89 <sup>*</sup>	46.92 ± 5.25 <sup>#</sup>
E	95.65 ± 18.85	106.81 ± 11.80	99.25 ± 3.38 <sup>***</sup>	44.25 ± 3.11 <sup>**</sup>	44.42 ± 6.82 <sup>*</sup>	45.57 ± 9.51 <sup>#</sup>

表 4 不同剂量的大豆肽对大鼠血浆中 TXA<sub>2</sub> 和 PGI<sub>2</sub> 的影响

Table 4 The impacts of soybean small peptides with different doses on TXA<sub>2</sub> and PGI<sub>2</sub> of rat blood ( $\bar{X} \pm S, n = 10$ )

组别 Group	TXA <sub>2</sub> /ng·L <sup>-1</sup>			PGI <sub>2</sub> /ng·L <sup>-1</sup> ·L <sup>-1</sup>		
	20 d	40 d	60 d	20 d	40 d	60 d
A	407.58 ± 45.50	268.83 ± 43.02	302.98 ± 32.60 <sup>###</sup>	100.17 ± 33.03	106.36 ± 8.42 <sup>#</sup>	114.19 ± 13.12 <sup>##</sup>
B	407.79 ± 25.29	291.63 ± 33.90	345.91 ± 32.59 <sup>**</sup>	119.10 ± 36.78	125.36 ± 19.86 <sup>*</sup>	97.56 ± 14.84 <sup>**</sup>
C	426.36 ± 60.55	258.32 ± 47.71	302.16 ± 40.56 <sup>###</sup>	117.45 ± 22.41	121.4 ± 20.09	106.51 ± 5.61
D	354.12 ± 41.78 <sup>**</sup>	226.42 ± 54.72 <sup>***</sup>	299.46 ± 25.98 <sup>###</sup>	114.41 ± 15.90	128.07 ± 42.96	125.77 ± 14.19 <sup>###</sup>
E	378.20 ± 63.80	189.78 ± 27.38 <sup>***</sup>	280.28 ± 26.87 <sup>###</sup>	109.29 ± 16.38	129.65 ± 14.38	120.46 ± 11.99 <sup>###</sup>

由表 5 可知,各剂量组在整个试验周期内 NO 升高确实较明显,均高于空白组和模型组,灌胃到 60 d 时,高剂量组相对于模型组 NO 的增加率为 43.85%,升高趋势最明显,说明随着灌胃剂量的增大效果越明显。

表 5 不同剂量的大豆肽对大鼠血浆中 NO 的影响

Table 5 The impacts of soybean small peptides with different doses on NO of rat blood ( $\bar{X} \pm S, n = 10$ )

组别 Group	NO/μmol·L <sup>-1</sup>		
	20 d	40 d	60 d
A	23.89 ± 6.42	26.48 ± 1.70	30.90 ± 2.31 <sup>##</sup>
B	23.85 ± 7.68	26.81 ± 1.78	26.34 ± 3.19 <sup>**</sup>
C	24.71 ± 3.03	31.08 ± 4.71 <sup>**</sup>	27.82 ± 2.86
D	26.94 ± 6.27	29.04 ± 4.23	32.49 ± 2.94 <sup>##</sup>
E	26.20 ± 7.23	31.69 ± 2.00 <sup>***</sup>	37.89 ± 5.18 <sup>***</sup>

## 2.3 大豆肽对雄性大鼠体重的影响

试验期间各组动物均未见有异常反应,无任何中毒症状及死亡,各剂量组在体重增重等方面与对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ) (表 6),说明该受试物对动物进食及生长状况无不良影响。

## 2.4 抗疲劳实验

与对照组比较,给予低、中、高 3 种剂量大豆小肽的小鼠负游泳时间都明显延长,中剂量小鼠负重时间比对照组延长 61.49% (表 7)。由表 7 还可看出,高剂量组小鼠肝糖原含量较对照组明显升高,经方差分析,其差异有显著性( $P < 0.05$ )。综合以上结果表明活性肽能明显延长小鼠负重游泳时间、降低疲劳、提高肝糖原含量,故可初步判定生物活性肽具有缓解体力疲劳功能。

表6 不同剂量组对雄性大鼠体重的影响

Table 6 Influences of soybean small peptides with different doses on body weight of male rats ( $\bar{X} \pm S, n = 10$ ) (g)

时间 Time/d	A	B	C	D	E
0	231.11 ± 31.44	236.09 ± 26.37	232.61 ± 13.90	230.08 ± 12.79	228.69 ± 22.91
12	317.50 ± 26.95	325.61 ± 22.20	314.64 ± 27.04	317.95 ± 16.63	323.20 ± 23.04
24	365.72 ± 25.82	372.66 ± 24.06	362.44 ± 33.15	357.13 ± 21.37	366.014 ± 28.78
36	398.94 ± 26.98	403.93 ± 22.98	391.47 ± 39.59	386.79 ± 23.09	398.65 ± 31.14
48	419.01 ± 30.75	427.03 ± 21.12	416.74 ± 43.99	415.62 ± 25.67	426.55 ± 34.21
60	440.54 ± 32.88	443.02 ± 22.48	432.73 ± 50.46	427.56 ± 25.88	438.73 ± 39.07
增重 Weight increase	209.42 ± 35.49	206.93 ± 27.22	200.12 ± 48.07	197.92 ± 27.47	210.05 ± 33.63

表7 大豆小肽对小鼠负重游泳和肝糖原含量的影响

Table 7 The effects of soybean small peptides on physical power and liver glycogen content of mice ( $\bar{X} \pm S, n = 8$ )

组别 Group	动物数 Mice number	游泳时间 Swimming time /min	肝糖原 Liver glycogen content /mg·g <sup>-1</sup>
A	8	4.96 ± 1.46 a	14.22 ± 2.07 a
C	8	5.62 ± 1.31 ab	14.47 ± 2.38 a
D	8	8.01 ± 2.15 c	18.13 ± 4.64 ab
E	8	6.54 ± 1.91bc	20.07 ± 2.10 b

### 3 结论与讨论

#### 3.1 大豆肽对血脂的调节作用

试验中高血脂症大鼠造模成功,模型对照组血脂代谢紊乱。高胆固醇和甘油三酯是动脉粥样硬化的重要诱因。高血脂症大鼠灌胃大豆小肽 60 d 后血清中 TC、TG、LDL-C 的含量明显降低、HDL-C 含量明显升高,这与谢莎莉<sup>[5]</sup>的研究结果趋于一致,这对防治高脂血症和心血管病具有重要意义。

#### 3.2 大豆肽对血液生化指标的影响

内皮细胞活性物质血栓素(TXA<sub>2</sub>)和前列素(PGI<sub>2</sub>)是花生四烯酸代谢产物。PGI<sub>2</sub>是强烈的血管舒张剂和血小板聚集抑制剂,具有抑制凝血和血栓形成等防治冠心病作用,而 TXA<sub>2</sub>是强烈的血管收缩剂和血小板聚集促进剂。模型组在喂养高脂饲料 40 d 后 PGI<sub>2</sub>显著降低, TXA<sub>2</sub>显著升高,说明高脂血症影响大鼠 TXA<sub>2</sub>和 PGI<sub>2</sub>的代谢,引起血管功能异常。用大豆小肽进行干预后 TXA<sub>2</sub>显著降低, PGI<sub>2</sub>显著升高,说明大豆肽能有效调节 TXA<sub>2</sub>和 PGI<sub>2</sub>之间的平衡,保护内皮细胞及减轻内皮功能障碍,减少血栓形成和维护正常的血管舒缩功能,起到抗粥样硬化的作用。

NO 具有使动脉内皮依赖性血管舒张的功能,内皮源性 NO 生成减少导致内皮依赖性血管舒张功能受损是高脂血症引起的血管病变和动脉粥样硬化的早期特征之一。本试验证明大豆糖肽能升高

NO 的含量,通过提高 NO,清除体内过多自由基,防止脂质过氧化等作用,有效防止动脉粥样硬化的发生<sup>[5]</sup>。

#### 3.3 大豆肽对小鼠抗疲劳作用的研究

在游泳负重实验中,中剂量小鼠负重时间比对照组延长 61.49%。说明补充大豆多肽可抑制或缩短因运动而引起的体内“负氮平衡”的副作用<sup>[6]</sup>,维持或促进体内正常蛋白质的合成,从而达到抗疲劳的作用,中剂量组 2.0 g·kg<sup>-1</sup>效果最好。

综合以上结果,大豆小肽推荐使用最佳剂量浓度为 2.0 g·kg<sup>-1</sup>左右,这为开发大豆肽相关制品提供了重要的理论依据。

#### 参考文献

- [1] 胡可心,陈光,孙扬. 大豆肽的功能特性的研究[J]. 酿酒, 2004, 31(6): 33-34. (Hu K X, Chen G, Sun Y. Research of the physiology activity of soy peptide [J]. Liquor Making, 2004, 31(6): 33-34.)
- [2] 刘忆梅,陈朝晖. 大豆蛋白肽降血脂功能性的研究[J]. 大豆通报, 2004(3): 22. (Liu Y M, Chen C H. Study of the soy peptide activity on blood lipid-lowering [J]. Soybean Bulletin, 2004, (3): 22.)
- [3] 陈亮. 生物活性肽生产工艺及其生理活性研究[D]. 西安: 西北大学, 2006. (Chen L. Study on the production and bioactivities research of bioactive peptides [D]. Xi'an: Northwestern University, 2006.)
- [4] Kyung-Mi Kim, Teruo Kawada, Kengo Ishihara, et al. Swimming capacity of mice is increased by oral administration of a nonpungent capsaicin analog, stearyl vanillylamide [M]. Journal of Nutrition, 1998, 128(11): 1987-1983.
- [5] 谢莎莉. 大豆低聚糖和低聚肽调节大鼠血脂代谢的影响[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(9): 945-948. (Xie S L. Effects of soy oligosaccharides and peptides on blood lipid metabolism of rats [J]. Acta Academiae Medicinae Militaris Tertiae, 2006, 28(9): 945-948.)
- [6] 李绩. 大豆多肽的功能特性和应用[J]. 山东食品发酵, 2003(3): 42-44. (Li J. Features and applications of soybean peptides [J]. Shandong Food Ferment, 2003(3): 42-44.)