

富含磷脂的乳清蛋白粉改善小鼠记忆力功能研究

王 利¹, 郭月逸², 赵 建^{2,3}, 刘小雪¹, 秦思杨¹, 郭 豫^{2,3}, 赵江燕^{2,3}, 闫文杰^{2,3*}

(1. 北京市顺义区计量和食品药品检测中心, 北京 101300; 2. 北京联合大学应用文理学院保健食品功能检测中心, 北京 100191; 3. 北京联合大学生物活性物质与功能食品北京市重点实验室, 北京 100191)

摘 要: **目的** 探讨富含磷脂的乳清蛋白粉对小鼠记忆力的影响。**方法** 选取 288 只 SPF 级昆明种雄性小鼠, 分别进行两次实验, 每次实验 144 只。每次实验分为 3 批, 每批 48 只, 随机分为模型对照组和磷脂乳清蛋白粉低、中、高剂量组。连续给予受试物灌胃 30 d 后, 分别进行小鼠跳台行为学实验、避暗行为学实验、水迷宫行为学实验。**结果** 两次跳台实验, 中、高剂量组与模型对照组比较均能减少测试期错误次数; 第一次避暗实验高剂量组、第二次避暗实验中剂量组与模型对照组比较重测期错误潜伏期延长、错误次数减少。各剂量组与模型对照组比较小鼠脑组织乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)含量升高, 乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)活力降低。**结论** 富含磷脂的乳清蛋白粉可以通过调节改善小鼠中枢胆碱能系统从而改善小鼠记忆力。**关键词:** 磷脂; 乳清蛋白粉; 改善记忆

Research on the function of whey protein powder rich in phospholipid to improve the memory ability on mice

WANG Li¹, GUO Yue-Yi², ZHAO Jian^{2,3}, LIU Xiao-Xue¹, QIN Si-Yang¹, GUO Yu^{2,3},
ZHAO Jiang-Yan^{2,3}, YAN Wen-Jie^{2,3*}

(1. Metrology and Food & Drug Testing Center of Shunyi in Beijing, Beijing 101300, China; 2. Testing Center of Health Food Function Determination, College of Arts and Science of Beijing Union University, Beijing 100191, China; 3. Beijing Key Laboratory of Bioactive Substances and Functional Food, Research Institute of Science and Technology of Functional Food, Beijing Union University, Beijing 100191, China)

ABSTRACT: Objective To investigate the effects of whey protein powder rich in phospholipid on memory ability on mice. **Methods** A total of 288 SPF Kunming male mice were selected for two experiments in this study. There were 144 mice in each experiment, and they were divided into 3 batches of 48 ones in each batch. The mice were randomly divided into model control group, low-, medium- and high-dose group of whey protein powder containing phospholipid. After continuous gavage of the test substance for 30 days, then the step down test, the step through test and water maze test were performed. **Results** Compared with the model control group, the number of errors in the medium and high-dose group was significantly reduced in two step down test. In first step through test, compared with the model control group, the latency of mice in high-dose group was significantly prolonged, the number of errors in high-dose group was reduced. In second step through test, compared with the model control group, the latency of mice in medium-dose group was significantly prolonged, the number of errors in medium-dose group was

基金项目: 北京市属高校分类发展项目

Fund: Supported by the Classified Development Project of Beijing Municipal Colleges and Universities

*通信作者: 闫文杰, 教授, 主要研究方向为保健食品研发与机理研究。E-mail: meyanwenjie@126.com

*Corresponding author: YAN Wen-Jie, Professor, Beijing Union University, 197 North Tucheng West Road, Haidian District, Beijing 100023, China. E-mail: meyanwenjie@126.com

reduced. Compared with the model control group, each dose group could significantly increase the content of acetylcholine (ACh) and significantly reduce acetylcholinesterase (AChE) activity in brain of mice. **Conclusion** Whey protein powder rich in phospholipid can help to improve the memory by regulating and improving the central cholinergic system on mice.

KEY WORDS: phospholipid; whey protein powder; improve memory

0 引言

磷脂是一类含有磷酸基团的脂类, 具有独特的生物活性, 对维持机体生命正常活动具有至关重要的作用。磷脂不仅是机体中细胞膜和核膜的基本组成部分, 参与脂质的消化、吸收和运输过程, 同时维持着膜内外物质和信息的传递, 是机体新陈代谢和信号传递的基础物质^[1-2]。机体中磷脂主要有两大类, 分别为甘油磷脂和鞘磷脂(sphingomyelin, SM)^[3]。甘油磷脂又可以根据其极性头部基团的不同分为磷脂酰胆碱(phosphatidylcholine, PC)、磷脂酰乙醇胺(phosphatidylethanolamine, PE)、磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol, PI)、磷脂酰丝氨酸(phosphatidylserine, PS)等^[4-5]。很多研究表明, 乙酰胆碱是决定记忆和认知水平的关键因素, 磷脂中的乙酰基团可以通过与胆碱结合形成乙酰胆碱, 从而改善记忆力。安红^[6]的研究也表明 PC 能增加机体大脑中的乙酰胆碱含量。陈岷等^[7]研究表明, PS 复合胶囊对于改善小鼠以及人体学习记忆功能具有很好的辅助作用。苏玉芳等^[8]研究了大豆 PC 对小鼠记忆力的影响, 结果显示, 添加 PC 的奶粉可以改善小鼠的记忆力。TANAKA 等^[9]针对性研究了 SM 对早产婴儿的精神、活动和行为发育的作用, 证明了采用 SM 强化乳进行干预, 能够对早产儿的神经行为起到积极有效的作用。TAN 等^[10]研究证实了 PC 膳食补充剂可改善大脑认知记忆功能。

乳清蛋白是分离和沉淀乳酪蛋白时保留在上清液中的蛋白质成分^[11-12]。乳清蛋白是一种优质蛋白, 具有很高的营养价值, 经常被用作人体的高质量蛋白质补充剂^[13-14]。目前的研究表明, 乳清蛋白可以改变机体内乙酰胆碱的含量, 从而达到改善记忆的功能。卞辑^[15]通过对衰老小鼠灌胃乳清蛋白肽进行实验, 发现衰老小鼠在跳台实验(step down test)、避暗实验(step through test)、水迷宫实验(water maze test), 比对照组有更好的表现, 表明乳清蛋白水解物可以改善小鼠的记忆力。徐琳琳等^[16]的研究表明乳清蛋白肽能提高小鼠空间学习记忆能力。

记忆是人脑对以往经验的保存和再现, 是思维和想象等高级心理活动的基础。压力、衰老、代谢综合征和风险基因等都是导致记忆障碍的因素^[17]。随着社会的快速发展, 生活节奏加快, 学习和工作压力增大, 焦虑、抑郁、失

眠等由压力引起的情况会对大脑造成一定的损害。最直接的结果是记忆力减退等症状^[18]。同时随着人口老龄化的进程加剧, 保护和改善大脑功能, 研究和开发改善记忆的功能食品已成为研究的热点。磷脂和乳清蛋白作为单一原料制备改善记忆功能产品已有报道^[19-21], 而两者混合对于改善记忆能力的联合作用却鲜有报道。而保健食品基本上是体现配伍的协同增效作用, 且前期预实验同样表明富含磷脂的乳清蛋白粉对于小鼠改善记忆作用优于其单独组分。因此本研究通过给小鼠灌胃不同剂量富含磷脂的乳清蛋白粉, 观察磷脂和乳清蛋白粉两种成分复合作用效果, 评估和研究该受试物对小鼠改善记忆力的联合作用, 为保健食品行业改善记忆力保健食品配方的量效关系提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选用北京华阜康生物科技股份有限公司[许可证号: SCXK(京)2019-0008]繁殖的 18~22 g 雄性 SPF 级 KM 种小鼠 288 只, 分别进行两次实验。每次实验经过动物适应饲养观察后, 共分为 3 批动物, 48 只每批进行实验。实验一批进行小鼠跳台行为学实验; 实验二批进行小鼠避暗行为学实验; 实验三批进行小鼠水迷宫行为学实验。实验动物饲养于北京联合大学应用文理学院保健食品功能检测中心 SPF 级动物室, 实验动物使用许可证号: SYXK(京)2017-0038。实验期间小鼠自由进食和进水。本研究动物实验设计和实施方案通过了北京联合大学伦理委员会审核和批准(实验动物伦理委员会意见书编号 20210701)。

1.2 样品与剂量

样品为富含 5% 磷脂的浓缩乳清蛋白粉(蛋白含量 \geq 70%), 来自于新西兰恒天然集团。磷脂中的各组分含量为: 磷脂酰胆碱 26.4%、磷脂酰乙醇胺 26.6%、磷脂酰肌醇 8.4%、磷脂酰丝氨酸 12.7%、鞘磷脂 25.0%。

1.3 试剂和仪器

东莨菪碱[纯度 98%, 阿拉丁科技(中国)有限公司]; 总蛋白测定试剂盒、乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)测定试剂盒、乙酰胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)测试盒(南京建成生物工程研究所)。

T1000 电子天平(精度 0.1 g, 常熟市双杰测试仪器厂); BS2202S 电子天平(精度 0.01 g, 德国赛多利斯公司);

YLB-3TB 跳台记录仪(北京众实迪科技发展有限公司); LE870 系列避暗箱(西班牙 PanLab 公司); 自制水迷宫。

1.4 实验方法

富含磷脂的乳清蛋白粉人体推荐剂量为: 每日 11.0 g/60 kg·bw。实验设模型对照组[0 g/(kg·bw)], 剂量组[0.92、1.83、3.67 g/(kg·bw)]。小鼠灌胃体积为 10 mL/(kg·bw), 每日一次经口灌胃给予受试物, 对照组用无菌水代替受试物。连续灌胃 30 d 后分别进行跳台实验、避暗实验、水迷宫实验。训练前 10 min 模型对照组和各剂量组腹腔注射东莨菪碱 5 mg/(kg·bw), 建立记忆获得障碍模型, 注射体积为 10 mL/(kg·bw)。各剂量组均给予维持饲料。

跳台实验、穿梭箱实验以及水迷宫实验是常用来研究改善记忆的动物实验^[22]。本研究通过观察小鼠在此 3 项实验中的行为学表现, 来判断受试物对小鼠改善记忆力能力的影响。

1.4.1 跳台实验

参考文献[23]的方法, 末次给样后次日开始训练。训练前 10 min 腹腔注射东莨菪碱 5 mg/(kg·bw)。提前 3 min 将小鼠放入跳台实验箱中适应环境。然后将小鼠置于实验箱内通电金属底盘上, 小鼠会因为受到电击而跳回绝缘平台。经过一次训练后, 记录各组小鼠 300 s 内首次跳下绝缘平台的时间, 即错误潜伏期。并记录各组小鼠的错误次数和错误动物数(错误动物百分率), 以此作为测试期实验成绩。24 h 后进行重测期实验并将实验时间改为 180 s。停止训练 7 d 后, 按重测期实验方法进行一次记忆消退期实验。

1.4.2 避暗实验

参考文献[24]的方法, 末次给样后次日开始训练。训练前 10 min 腹腔注射东莨菪碱 5 mg/(kg·bw)。实验时将小鼠背向暗室放入明室洞口, 计时立即开始。记录各组小鼠 300 s 内首次进入暗室被电击的时间, 即错误潜伏期。并记录各组小鼠的错误次数和错误动物数(错误动物百分率), 以此作为测试期实验成绩。24 h 后进行重测期实验。停止训练 7 d 后, 按重测期实验方法进行 1 次记忆消退期实验。

1.4.3 水迷宫实验

参考文献[25]的方法, 末次给样后次日开始训练。水迷宫结构如图 1, 训练前 10 min 腹腔注射东莨菪碱 5 mg/(kg·bw)。每天训练 1 次, 为了让小鼠熟悉终点的位置, 所有训练之前, 统一将小鼠面向迷宫放在终点附近自主爬上 1 次。如果小鼠训练或测试时没有在 120 s 内到达终点, 应引导其到达终点, 并将到达终点时间记录为 120 s。实验分阶段进行, 第一阶段为第 1 次训练, 让小鼠从 A 点出发。训练前将小鼠放在阶梯附近, 使其自动爬上 3 次。第二阶段训练从 B 点开始, 本阶段训练最多 3 次, 当到达终点的动物数到达 80% 以上后结束本阶段训练。末次测试从 S 点开始。记录各组小鼠每次训练和测试期到达终点时间、错误次数和到达终点动物数(到达终点动物百分率), 并计算各组动物的总时间、总错误次数和到达

终点总动物数(到达终点动物百分率)。停止训练 7 d 后从 S 点开始进行消退期试验。

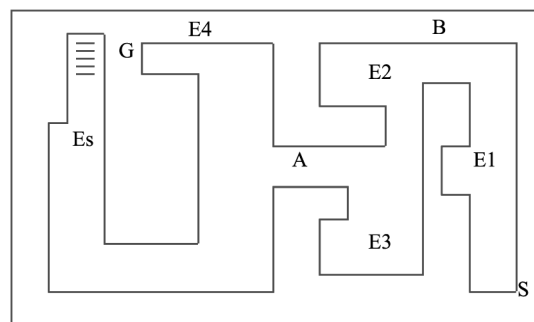


图 1 水迷宫结构图

Fig.1 Structure diagram of water maze

1.4.4 小鼠脑组织生化指标测定

行为学实验完成后, 小鼠断头取脑, 用生理盐水将脑组织制成 10% 匀浆, 根据试剂盒说明进行预处理并检测 Ach、AchE 指标。

1.5 数据统计

用 SPSS 软件进行数据处理。错误潜伏期和到达终点时间属于计量资料, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用方差分析, 先进行方差齐性检验, 方差不齐的数据改用秩和检验进行统计。各实验小鼠错误次数、错误动物数及水迷宫到达终点动物数为计数资料, 采用 χ^2 检验。

1.6 结果判定

跳台实验、避暗实验、水迷宫实验中任意两项实验结果阳性, 且重复实验结果一致, 可以判定该受试样品辅助改善记忆动物实验阳性。

2 结果与分析

2.1 对小鼠跳台实验的影响

两次实验各剂量组错误潜伏期与模型对照组比较, 未见显著性差异(表 1)。与模型对照组比较, 第 1 次实验中, 高剂量组测试期错误次数显著减少($P < 0.05$), 低剂量测试期虽没有统计学意义, 但是从结果中可以看出错误次数有减少的趋势; 第 2 次实验低、中剂量组测试期错误次数极显著减少($P < 0.01$), 高剂量组测试期错误次数显著减少($P < 0.05$); 第 2 次实验高剂量组消退期错误次数显著减少($P < 0.05$), 低、中剂量组消退期虽没有统计学意义, 但是从结果中可以看出错误次数有减少的趋势(见表 2)。两次实验各剂量组错误动物数与模型对照组比较, 未见差异显著性(见表 3)。跳台实验利用绝缘平台的狭小空间限制了小鼠的正常活动, 导致它会一次或多次跳下平台遭受到电击。因此小鼠在绝缘平台停留的时间越久、错误次数越少, 越能

够反映受试物的改善记忆作用^[22]。富含磷脂的乳清蛋白粉在两次跳台实验均能减少小鼠错误次数,表明该受试物在跳台实验可以明显改善小鼠记忆力。

2.2 对小鼠避暗实验的影响

与模型对照组比较,第 1 次实验高剂量组重测期错误潜伏期显著延长($P<0.05$),第 2 次实验中剂量组重测期错误潜伏期延长,有极显著性差异($P<0.01$)(表 4);与模型对照组比较,第 1 次实验高剂量组重测期错误次数显著减少($P<0.05$),第 2 次实验中剂量组重测期错误次数显著减少

($P<0.05$)(表 5);除以上描述剂量组外,其他剂量组虽没有统计学意义,但是重测期错误次数有减少的趋势。与模型对照组比较,第 2 次实验中剂量组重测期错误动物数显著减少($P<0.05$)(表 6)。避暗实验是利用了小鼠趋暗的天性,导致它不想停留在明室而移动至暗室遭受电击。因此小鼠在明室停留的时间越久,错误次数越少,越能反映受试物的改善记忆力作用^[22]。富含磷脂的乳清蛋白粉在两次避暗实验均能延长小鼠错误潜伏期、减少小鼠错误次数,表明该受试物在避暗实验可以明显改善小鼠记忆力。

表 1 对小鼠跳台实验错误潜伏期的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of error latence of step down test in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	第 1 次实验错误潜伏期/s			第 2 次实验错误潜伏期/s		
		测试期	重测期	消退期	测试期	重测期	消退期
模型对照组	12	166.0±108.6	170.0±23.3	179.1±3.2	156.6±133.4	168.7±39.1	166.0±33.2
低剂量	12	180.0±134.6	175.3±14.7	180.0±0.0	150.2±126.3	168.3±40.6	179.2±2.8
中剂量	12	156.7±131.7	168.1±20.2	176.5±12.1	170.4±125.2	168.5±39.8	164.0±42.2
高剂量	12	150.6±136.5	156.2±49.0	180.0±0.0	140.8±105.2	180.0±0.0	180.0±0.0

表 2 对小鼠跳台实验错误次数的影响

Table 2 Effects of error numbers of step down test in mice

组别	动物数	第 1 次实验错误次数/次			第 2 次实验错误次数/次		
		测试期	重测期	消退期	测试期	重测期	消退期
模型对照组	12	22	4	1	39	1	5
低剂量	12	13	2	0	16**	1	1
中剂量	12	9*	4	1	18**	1	3
高剂量	12	9*	3	0	25*	0	0*

注:与模型对照组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,下同。

表 3 对小鼠跳台实验错误动物数的影响

Table 3 Effects of wrong animal number of step down test in mice

组别	动物数	错误动物数/只			错误动物百分率/%			
		测试期	重测期	消退期	测试期	重测期	消退期	
第 1 次实验	模型对照组	12	8	3	1	67	25	8
	低剂量	12	6	2	0	50	17	0
	中剂量	12	7	4	1	58	33	8
	高剂量	12	7	3	0	58	25	0
第 2 次实验	模型对照组	12	8	1	3	67	8	25
	低剂量	12	8	1	1	67	8	8
	中剂量	12	7	1	2	58	8	17
	高剂量	12	10	0	0	83	0	0

表 4 对小鼠避暗实验错误潜伏期的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effects of error latence of step through test in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	第 1 次实验错误潜伏期/s			第 2 次实验错误潜伏期/s		
		测试期	重测期	消退期	测试期	重测期	消退期
模型对照组	12	43.4±33.4	158.2±126.9	296.1±13.4	66.8±32.2	123.6±48.1	264.7±67.8
低剂量	12	85.4±79.0	218.1±96.6	300.0±0.0	52.2±32.6	163.1±78.8	236.0±106.6
中剂量	12	49.8±30.5	191.2±96.4	300.0±0.0	65.2±50.1	213.9±88.7**	253.8±88.4
高剂量	12	48.3±33.5	280.3±44.7*	285.4±26.4	93.9±64.9	170.6±72.9	300.0±0.0

表 5 对小鼠避暗实验错误次数的影响

Table 5 Effects of errors number of step through test in mice

组别	动物数	第 1 次实验错误次数/次			第 2 次实验错误次数/次		
		测试期	重测期	消退期	测试期	重测期	消退期
模型对照组	12	25	12	1	20	17	3
低剂量	12	26	6	0	20	11	5
中剂量	12	20	8	0	26	7*	3
高剂量	12	21	3*	4	17	11	0

表 6 对小鼠避暗实验错误动物数的影响

Table 6 Effects of wrong animal number of step through test in mice

组别	动物数	错误动物数/只			错误动物百分率/%			
		测试期	重测期	消退期	测试期	重测期	消退期	
第 1 次实验	模型对照组	12	12	7	1	100	58	8
	低剂量	12	12	6	0	100	50	0
	中剂量	12	12	8	0	100	67	0
	高剂量	12	12	3	4	100	25	33
第 2 次实验	模型对照组	12	12	12	3	100	100	25
	低剂量	12	12	11	4	100	92	33
	中剂量	12	12	7*	3	100	58*	25
	高剂量	12	12	11	0	100	92	0

2.3 对小鼠水迷宫实验的影响

与模型对照组比较, 第 1 次实验高剂量组第 1 次训练到达终点时间显著减少($P<0.05$)(表 7)。与模型对照组比较, 第 1 次实验中、高剂量组第 1 次训练、低剂量组第 2 次训练和第 2 次实验高剂量组第 2 次训练错误次数显著减少($P<0.05$)(表 8)。两次实验各剂量组到达终点动物数与模型

对照组比较, 差异均无显著性(表 9, 图 2)。水迷宫实验是反映小鼠的方向空间位置感和方向感的学习记忆能力, 因此到达终点时间越少, 错误次数越少越能反映小鼠的记忆力越好^[26]。富含磷脂的乳清蛋白粉在两次水迷宫实验均能减少小鼠训练时期错误次数, 表明该受试物在水迷宫实验可以明显改善小鼠记忆力。

表7 对小鼠水迷宫实验到达终点时间的影响($\bar{x} \pm s$)Table 7 Effects of on reaching the end time of water maze test in mice ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	到达终点时间/s							
		第1次训练	第2次训练	第3次训练	第4次训练	测试期	总时间	消退期	
第1次实验	模型对照组	12	33.4±25.5	95.1±32.1	71.2±36.9	60.1±39.4	65.0±36.7	324.8±95.7	72.3±44.0
	低剂量	12	19.3±17.8	74.2±42.8	71.5±47.0	60.2±41.9	78.8±44.3	303.8±121.6	70.8±42.7
	中剂量	12	19.4±15.7	90.4±33.7	67.2±38.7	54.8±41.8	83.8±46.0	315.6±122.4	83.2±45.4
	高剂量	12	13.8±11.2*	76.0±35.4	64.8±39.4	51.5±38.8	77.7±42.5	283.8±116.1	65.5±33.5
第2次实验	模型对照组	12	23.1±24.7	70.1±37.9	70.1±38.3	—	55.9±39.7	219.2±70.5	58.4±44.0
	低剂量	12	13.8±11.9	79.3±39.5	66.0±35.2	—	54.5±40.1	213.6±63.2	57.3±34.9
	中剂量	12	24.8±18.3	64.6±42.0	53.7±39.2	—	73.2±47.0	216.2±96.4	68.1±35.5
	高剂量	12	14.3±9.0	57.4±39.9	73.1±58.6	—	65.3±40.1	210.1±71.0	71.8±40.6

注: —表示无此项, 下同。

表8 对小鼠水迷宫实验错误次数的影响

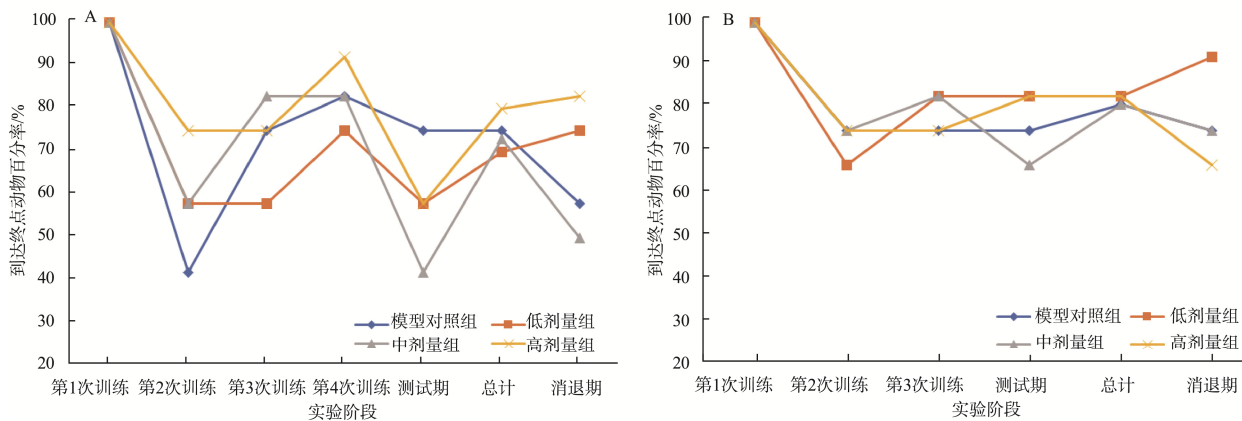
Table 8 Effects of error numbers of water maze test in mice

组别	动物数	错误次数/次							
		第1次训练	第2次训练	第3次训练	第4次训练	测试期	总计	消退期	
第1次实验	模型对照组	12	16	70	52	47	50	235	67
	低剂量	12	18	45*	63	56	58	240	64
	中剂量	12	6*	75	63	37	62	243	59
	高剂量	12	5*	77	60	49	57	248	56
第2次实验	模型对照组	12	17	64	50	—	58	189	55
	低剂量	12	14	61	54	—	54	183	52
	中剂量	12	13	51	44	—	55	163	74
	高剂量	12	11	40*	60	—	55	166	68

表9 对小鼠水迷宫实验到达终点动物数的影响

Table 9 Effects of number of animals reaching the destination of water maze test in mice

组别	动物数	到达终点动物数/只							
		第1次训练	第2次训练	第3次训练	第4次训练	测试期	总计	消退期	
第1次实验	模型对照组	12	12	5	9	10	9	45	7
	低剂量	12	12	7	7	9	7	42	9
	中剂量	12	12	7	10	10	5	44	6
	高剂量	12	12	9	9	11	7	48	10
第2次实验	模型对照组	12	12	9	9	—	9	39	9
	低剂量	12	12	8	10	—	10	40	11
	中剂量	12	12	9	10	—	8	39	9
	高剂量	12	12	9	9	—	10	40	8



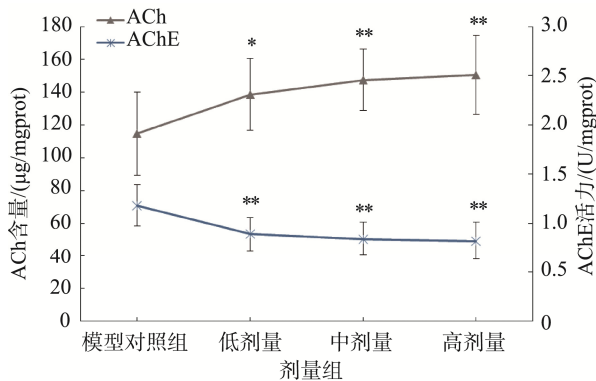
注: A 为第 1 次水迷宫实验到达终点动物百分率; B 为第 2 次水迷宫实验到达终点动物百分率。

图 2 水迷宫实验到达终点动物百分率

Fig.2 Percentages of animals reaching the destination of water maze test in mice

2.4 对小鼠脑组织生化指标的影响

与模型对照组比较, 低剂量组小鼠脑组织中 ACh 的含量升高, 有显著性差异($P<0.05$), 中、高剂量组小鼠脑组织中 ACh 的含量升高, 有极显著性差异($P<0.01$)。与模型对照组比较, 各剂量组小鼠脑组织中 AChE 活力均降低, 有极显著性差异($P<0.01$)(见图 3)。中枢胆碱能系统与学习、记忆密切相关, ACh 是中枢胆碱能系统中重要的神经递质之一, 在学习记忆中起重要作用。AChE 是生物神经传导中的一种关键性酶, 该酶能降解 ACh, 是中枢胆碱能系统功能的重要指标^[27-31]。给予小鼠富含磷脂的乳清蛋白粉后, 其学习记忆能力明显提高, 并且各组小鼠脑组织中的 ACh 含量显著上升, AChE 活力显著下降。提示调节改善中枢胆碱能系统是富含磷脂的乳清蛋白粉改善小鼠记忆力的可能机制。



注: 与模型对照组比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

图 3 对小鼠脑组织 Ach 含量和 AChE 活力的影响($\bar{x} \pm s, n=12$)
Fig.3 Effects of ACh content and AChE activities in brain of mice ($\bar{x} \pm s, n=12$)

3 结 论

本研究结果表明富含 5%磷脂的浓缩乳清蛋白粉中、高剂量组可以减少跳台实验测试期错误次数; 延长避暗实验重测期错误潜伏期, 减少避暗实验重测期错误次数; 高剂量组可以减少水迷宫实验训练错误次数。各剂量组均可以提高小鼠脑组织 ACh 含量, 降低小鼠脑组织 AChE 活力。综上所述, 富含磷脂的乳清蛋白粉可以通过调节小鼠中枢胆碱能系统从而改善小鼠的记忆力, 达到辅助改善记忆力的功能。本研究结果可为富含磷脂的乳清蛋白粉改善记忆功能食品提供实验基础和开发依据。

参考文献

- [1] FAVE G, COSTE TC, ARMAND M. Physicochemical properties of lipids: New strategies to manage fatty acid bioavailability [J]. Cell Mol Biol, 2004, 50(7): 815-831.
- [2] 和小明. 磷脂的营养作用及生理调控功能[J]. 饲料博览, 2006, (6): 37-40.
HE XM. Nutritional effect and physiological regulation function of phospholipids [J]. Feed Rev, 2006, (6): 37-40.
- [3] KULLENBERG D, TAYLOR LA, SCHNEIDER M, et al. Health effects of dietary phospholipids [J]. Lipids Health Dis, 2012, 11(1): 3.
- [4] 冉世前, 朱云芬, 徐淑玲, 等. 磷脂结构、膳食来源及营养学研究进展 [J]. 中国油脂, 2022, 47(1): 68-74.
RAN SQ, ZHU YF, XU SL, et al. Progress on structure, dietary source and nutrition of phospholipid. [J]. China Oils Fat, 2022, 47(1): 68-74.
- [5] 殷涌光, 陈玉江, 刘瑜, 等. 磷脂功能性质及其生产应用的研究进展 [J]. 食品与机械, 2009, 25(3): 120-124.
YIN YG, CHEN YJ, LIU Y, et al. The function and character of lecithin and the research process of its production and application [J]. Food Mach,

- 2009, 25(3): 120–124.
- [6] 安红. 粉状及高卵磷脂含量大豆磷脂的制备及表面物性研究[D]. 大连: 大连理工大学, 2002.
- AN H. The preparation of granule lecithin and high phosphatidylcholine content lecithin and study on the surface physical properties [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2002.
- [7] 陈颀, 朴玮, 黄建. 磷脂酰丝氨酸复合胶囊辅助改善记忆功能研究[J]. 中国食物与营养, 2020, 26(2): 69–74.
- CHEN D, PIAO W, HUANG J. Improvement of memory function by phosphatidylserine compound capsules [J]. Food Nutr China, 2020, 26(2): 69–74.
- [8] 苏玉芳, 梅连杰, 刘彪, 等. 添加大豆磷脂酰胆碱的奶粉对小鼠记忆力的影响[J]. 中国乳品工业, 2010, 38(1): 29–30, 34.
- SU YF, MEI LJ, LIU B, *et al.* Effect of milk powder adding phosphatidylcholine from soybean lecithin on the memory of rats [J]. China Dairy Ind, 2010, 38(1): 29–30, 34.
- [9] TANAKA K, HOSOZAWA M, KUDO N, *et al.* The pilot study: sphingomyelin-fortified milk has a positive association with the neurobehavioural development of very low birth weight infants during infancy, randomized control trial [J]. Brain Dev, 2013, 35(1): 45–52.
- [10] TAN W, ZHANG Q, DONG Z, *et al.* Phosphatidylcholine ameliorates LPS-induced systemic inflammation and cognitive impairments via mediating the gut-brain axis balance [J]. J Agric Food Chem, 2020, 68(50): 14884–14895.
- [11] 李晓逸, 邹潇潇, 王全宇, 等. 乳清蛋白及其生物活性肽血压调节功能研究进展[J]. 中国食物与营养, 2022, 28(3): 69–72.
- LI XY, ZOU XX, WANG QY, *et al.* Research progress of whey protein and its bioactive peptides in regulating blood pressure [J]. Food Nutr China, 2022, 28(3): 69–72.
- [12] 赵立娜, 汪少芸, 黄一帆. 乳清蛋白生物活性肽及其应用前景[J]. 食品科学技术学报, 2014, 32(3): 48–53.
- ZHAO LN, WANG SY, HUANG YF. Review on whey protein bioactive peptides [J]. J Food Sci Technol, 2014, 32(3): 48–53.
- [13] 孙敏, 郭永泽, 李霜, 等. 乳清蛋白生物活性肽研究进展[J]. 基因组学与应用生物学, 2019, 38(12): 5428–5435.
- SUN M, GUO YZ, LI S, *et al.* Review on bioactive peptides of whey protein [J]. Genom Appl Biol, 2019, 38(12): 5428–5435.
- [14] 孙景珠, 赵丽双, 刘丽波, 等. 乳清蛋白水解物的研究进展及应用[J]. 食品工业科技, 2019, 40(1): 316–320, 325.
- SUN JZ, ZHAO LS, LIU LB, *et al.* Research progress and application of whey protein hydrolysate [J]. Sci Technol Food Ind, 2019, 40(1): 316–320, 325.
- [15] 卞辑. 酶法制备乳清蛋白肽及其对衰老小鼠学习记忆能力的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014.
- BIAN J. Preparation of whey protein peptides by enzymatic hydrolysis and the effect on ability of learning and memory of aging mice [D]. Haerbin: Northeast Agricultural University, 2014.
- [16] 徐琳琳, 马奕, 许雅君, 等. 乳清蛋白肽改善 C57BL/6J 小鼠学习记忆功能研究[J]. 现代预防医学, 2011, 38(6): 1090–1092.
- XU LL, MA Y, XU YJ, *et al.* The research on the function of whey protein peptides to improve the learning and memory in C57BL/6J mice [J]. Mod Prev Med, 2011, 38(6): 1090–1092.
- [17] ZHAO TT, XU JC, ZHAO HW, *et al.* Antioxidant and anti-acetylcholinesterase activities of anchovy (*Coilia mystus*) protein hydrolysates and their memory-improving effects on scopolamine-induced amnesia mice [J]. Int J Food Sci Technol, 2017, 52(2): 504–510.
- [18] 李阅兵, 刘承初, 谢晶, 等. ω -3 脂肪酸及磷脂酰丝氨酸的益智作用研究进展[J]. 中国油脂, 2011, 36(9): 51–55.
- LI YB, LIU CC, XIE J, *et al.* Research advance in the function on intelligence of ω -3 fatty acid and phosphatidylserine [J]. China Oils Fats, 2011, 36(9): 51–55.
- [19] MARIA CO, GIOVANNI R, PAOLA B. Phosphatidylserine (PS) as a potential nutraceutical for canine brain aging: A review [J]. J Vet Behav, 2007, 3(2): 41–51.
- [20] FLAVIA TC, CAMILLA LP, VANESSA CA, *et al.* Bovine brain phosphatidylserine attenuates scopolamine induced amnesia in mice [J]. Prog Neuro-Psychoph, 2006, 30: 881–885.
- [21] 陈鹏, 邓乾春, 臧茜茜, 等. 国内辅助改善记忆功能性食品研究进展[J]. 中国食品学报, 2015, 15(4): 116–123.
- CHEN P, DENG QC, ZANG XX, *et al.* Advances about functional food aim to auxiliary improve memory in China [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2015, 15(4): 116–123.
- [22] 唐晓莽, 曲敏, 孙凡中, 等. 复方天麻提取物改善学习记忆功能试验研究[J]. 公共卫生与预防医学, 2016, 27(2): 113–115.
- TNG XQ, QU M, SUN FZ, *et al.* Experimental study of compound *Gastrodia elata* extract on improving learning and memory function [J]. J Public Health Prev Med, 2016, 27(2): 113–115.
- [23] 冯敏, 郑自明, 万鸣, 等. 茯苓改善小鼠学习记忆功能作用的研究[J]. 食品研究与开发, 2021, 42(19): 13–18.
- FENG M, JIA ZM, WAN M, *et al.* Study on improving learning and memory function of *Poria cocos* in mice [J]. Food Res Dev, 2021, 42(19): 13–18.
- [24] 王双, 王婷婷, 田俊娜, 等. 益智方改善东莨菪碱致小鼠学习记忆障碍的药理作用研究[J]. 中医药导报, 2021, 27(8): 6–9, 19.
- WANG S, WANG TT, TIAN JN, *et al.* Study on the pharmacological effect of Yizhi Prescription on improving scopolamine-induced learning and memory impairment in mice [J]. Guiding J Tradit Chin Med Pharm, 2021, 27(8): 6–9, 19.
- [25] 钟智, 王权, 谌正楠, 等. 开智灵组方改善小鼠记忆作用研究[J]. 热带医学杂志, 2018, 18(8): 997–1002.
- ZHONG Z, WANG Q, SHEN ZN, *et al.* Study of Kaizhiling formulation on improving memory ability in mice [J]. J Trop Med, 2018, 18(8): 997–1002.
- [26] 万朋, 高俊涛, 刘志洋, 等. 部分学习记忆的行为学方法研究及其在应用[J]. 吉林医药学院学报, 2015, 36(1): 57–60.
- WAN P, GAO JT, LIU ZY, *et al.* Study on the behavioristics method of partial learning memory and its application [J]. J Jilin Med Coll, 2015, 36(1): 57–60.

- [27] 张建东, 侯一平, 宋焱峰, 等. 大豆磷脂酰胆碱提高幼年大鼠学习记忆能力及海马突触素的表达[J]. 第四军医大学学报, 2005, (9): 805-807.
ZHANG JD, HOU YP, SONG YF. *et al.* Intake of phosphatidylcholine from soybean lecithin improves learning and memory ability and hippocampal synaptophysin expression in young rats [J]. J Fourth Mil Med Univ, 2005, (9): 805-807.
- [28] 程晓范, 黄昕, 应丹丹, 等. PS 软胶囊改善记忆的药效学研究[J]. 沈阳药科大学学报, 2020, 37(12): 1111-1116.
CHENG XF, HUANG X, YING DD, *et al.* Pharmacodynamic study on improving memory effect of PS soft capsules [J]. J Shenyang Pharm Univ, 2020, 37(12): 1111-1116.
- [29] 雷孟洁, 黄圆圆, 胡巧珍, 等. 核桃健脑片对东莨菪碱诱导记忆障碍小鼠的作用及其机制考察[J]. 中国药师, 2018, 21(9): 1538-1541, 1593.
LEI MJ, HUANG YY, HU QZ, *et al.* Effect and mechanism of Hetao Jiannao tablets in mice with scopolamine-induced memory disorder [J]. China Pharm, 2018, 21(9): 1538-1541, 1593.
- [30] 薛姣, 顾业伟, 韩玉谦. DHA 型磷脂酰丝氨酸对东莨菪碱痴呆模型小鼠学习记忆力的影响[J]. 中国海洋药物, 2020, 39(1): 26-30.
XUE J, GU YW, HAN YQ. Effect of DHA phosphatidylserine on learning and memory of mice with scopolamine induced dementia [J]. Chin J Mar Drug, 2020, 39(1): 26-30.
- [31] 齐微微, 卞辑, 于广吉, 等. 乳清蛋白肽对自然衰老小鼠抗氧化效果及脑内乙酰胆碱脂酶的影响[J]. 中国乳品工业, 2016, 44(2): 4-7.
QI WW, BIAN J, YU GJ, *et al.* Influence of whey protein antioxidant peptides on antioxidant and AChE of natural aged mice [J]. China Dairy Ind, 2016, 44(2): 4-7.

(责任编辑: 韩晓红 郑 丽)

作者简介



王 利, 工程师, 主要研究方向为食品检测。

E-mail: 541566473@qq.com



闫文杰, 教授, 主要研究方向为保健食品研发与机理研究。

E-mail: meyanwenjie@126.com