

紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽的运动疲劳改善作用

杨如珍, 陈姝帆, 魏碧倩, 常耀光, 唐庆娟*
(中国海洋大学食品科学与工程学院, 山东青岛 266000)

摘要: 该文研究了不同分子量紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽改善运动疲劳的作用。将小鼠随机分为正常组(N)、运动组(M)、牡蛎肽组(O)及牡蛎肽联合高、中、低分子量紫菜多糖酶解片段组(OH、OM、OL), 连续干预16 d。结果表明, 相较于单一牡蛎肽干预, 紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽具有更好的抗疲劳活性, OH、OM、OL组小鼠的游泳力竭时间分别提高了60.77%、37.25%、37.59%; OH组小鼠肝脏AST、ALT水平分别降低了12.88%、11.39%, 血清CK、LDH活力分别显著降低了22.02%、8.99%, 运动引起的肝脏和骨骼肌损伤得到改善。此外, 干预组小鼠肝糖原含量增加, 血清乳酸和尿素氮水平降低, 氧化应激水平改善。机制分析表明, 紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽可以上调骨骼肌中PGC1 α /TFAM信号通路; 增加有益菌 *Lactococcus* 的丰度, 降低致病菌 *Staphylococcus*、*Acinetobacter*、*Oscillospira* 和 *Ruminococcus* 的丰度。总之, 紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽通过促进线粒体生物发生和调节肠道菌群改善小鼠运动疲劳, 其中高分子量紫菜多糖酶解片段 ($M_w=267.3$ ku) 效果较优, 该研究为紫菜产品的开发提供了理论依据。

关键词: 运动疲劳; 紫菜多糖; 酶解片段; 牡蛎肽; 肠道菌群

文章编号: 1673-9078(2025)06-1-12

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.6.0455

Exercise Fatigue Synergistically Mitigated by Enzymatic Fragments of *Porphyra* Polysaccharides and Oyster Peptides

YANG Ruzhen, CHEN Shufan, WEI Biqian, CHANG Yaoguang, TANG Qingjuan*

(College of Food Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266000, China)

Abstract: The ability of a combination of enzymatic fragments of *Porphyra* polysaccharides of different molecular weights and oyster peptides to synergistically reduce exercise fatigue was investigated. Mice were randomly divided into a normal group (N), an exercise group (M), an oyster peptide intervention group (O), and combined intervention groups jointly treated with oyster peptides and high-, medium-, and low-molecular-weight enzymatic fragments of *Porphyra* polysaccharides (OH, OM, and OL). All groups received continuous intervention for 16 d. Compared with oyster peptide intervention alone, interventions combining enzymatic fragments of *Porphyra* polysaccharides and oyster peptides yielded superior anti-fatigue activity. In the OH, OM, and OL groups, swimming endurance times increased by 60.77%, 37.25%, and 37.59%, respectively. In the OH group, liver AST and ALT levels decreased by 12.88% and 11.39%, respectively. Serum CK and LDH activities were significantly reduced by 22.02% and 8.99%, respectively, suggesting that exercise-induced liver

引文格式:

杨如珍,陈姝帆,魏碧倩,等.紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽的运动疲劳改善作用[J].现代食品科技,2025,41(6):1-12.

YANG Ruzhen, CHEN Shufan, WEI Biqian, et al. Exercise fatigue synergistically mitigated by enzymatic fragments of *Porphyra* polysaccharides and oyster peptides [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(6): 1-12.

收稿日期: 2024-04-09

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2023YFF1105305)

作者简介: 杨如珍 (1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 海洋食品分子营养学, E-mail: yrz@stu.ouc.edu.cn

通讯作者: 唐庆娟 (1971-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 海洋食品分子营养学, E-mail: tangqingjuan@ouc.edu.cn

and skeletal muscle damage was reduced. Liver glycogen content also increased in the intervention groups, whereas serum lactate and urea nitrogen levels decreased, indicating reduced oxidative stress levels. Mechanism analysis revealed that a combination of enzymatic fragments of *Porphyra* polysaccharides with oyster peptides synergistically upregulated PGC1 α /TFAM signaling in skeletal muscle, increased the abundance of beneficial *Lactococcus* bacteria, and decreased the abundance of pathogenic bacteria, including *Staphylococcus*, *Acinetobacter*, *Oscillospira*, and *Ruminococcus*. In conclusion, a combination of enzymatic fragments of *Porphyra* polysaccharides with oyster peptides can synergistically ameliorate exercise fatigue in mice by promoting mitochondrial biogenesis and regulating gut microbiota. High-molecular weight enzymatic fragments of *Porphyra* polysaccharides ($M_w=267.3$ ku) exhibited the best efficacy. This study provides a theoretical basis for the development of *Porphyra*-based health products.

Key words: exercise fatigue; *Porphyra* polysaccharides; enzymatic fragments; oyster peptides; gut microbiota

运动性疲劳是人体脑力和体力持续活动到一定阶段时出现的一种生理现象,表现为机体生理过程中不能在特定水平上继续其机能或不能维持预定的运动强度^[1]。运动疲劳是一种普遍存在的生理现象,机体可以通过休息来恢复一定程度的运动疲劳,但是持续或过度疲劳可能会导致内分泌功能改变、免疫力受损、全身炎症和器质性疾病,如癌症、衰老、糖尿病等,对健康构成威胁^[2]。目前治疗疲劳的有效药物包括一些抗抑郁药和中枢神经系统兴奋剂,可能危害人体健康,同时易产生药物依赖^[3]。此外,市场上也出现了多种抗疲劳饮料,其中最常见的成分是咖啡因和牛磺酸等^[4],不适用于所有人群且其安全性存疑。因此,寻找低毒副作用的天然活性物质用于缓解运动疲劳,对于开发更加安全有效的营养补充剂具有重要意义。

多糖是一种由多种单糖通过直链或支链糖苷键连接而成的天然大分子聚合物,是生命活动中不可或缺或四大基本物质之一^[5]。研究表明,多糖可以通过调节能量代谢、减少代谢产物积累、提高免疫功能、增强抗氧化活性、抑制炎症反应等多方面发挥抗疲劳功效^[2];此外,多糖作为一种益生元,也被证明可通过调节肠道菌群的结构组成缓解运动疲劳^[6]。紫菜多糖是一种硫酸化杂多糖,具有多种生物活性,但其发挥受限于较大的相对分子量,因此有必要对紫菜多糖进行降解以提高其生物活性的发挥。赵婷婷等^[7]研究发现紫菜多糖降解产物能够提高小鼠疲劳耐受能力,且效果优于紫菜多糖原糖,但其具体分子生物学机制仍有待进一步探讨。

海洋生物活性肽易被人体分解利用,是抗疲劳肽的重要来源。牡蛎是中国四大养殖贝类之一,富含蛋白质,其氨基酸组成的质量和完整性优于牛奶,牡蛎蛋白中存在多种活性肽,包括抗高血压肽、抗

菌肽、抗疲劳肽等^[8]。Xiao等^[9]研究发现牡蛎多肽组分具有抗疲劳作用,同时初步揭示了牡蛎肽的抗疲劳活性与肠道菌群之间的关系。

运动营养食品通过多种功效成分的复配来缓解运动疲劳,但目前的实验研究局限于单一功效成分的活性研究,对于多种成分在体内的实际功效研究较少^[1]。研究发现,多糖可以与多酚、蛋白等活性成分复配,复配物可以通过协同效应发挥强于单一化合物的生物活性^[10],提示其可能在食品配方的制定中具有应用潜力,有必要探究复配物的体内活性以便于科学制定运动营养食品选择策略。因此,本实验拟将不同分子量紫菜多糖酶解片段与牡蛎肽复配,旨在探究紫菜多糖与牡蛎肽在抗疲劳活性中的协同效应。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

BALB/C小鼠,SPF级,雄性(6周龄),购于北京维通利华实验动物技术有限公司(实验动物生产许可证号:SCXK(京)2021-0006)。所有小鼠在室内温度为23~24℃,相对湿度为60%~65%,光照时间为每天12h的条件下饲养,自由饮食。动物实验获得中国海洋大学食品科学与工程学院动物实验伦理委员会批准(SPHY2023101310)。

1.1.2 原料与试剂

紫菜,购自福州海林食品有限公司;GH16 β -紫菜多糖酶Por16A_Wf,由实验室自行制备;牡蛎肽(CAS号:94465-79-9,纯度>90%,分子量<800u),购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;肝/肌糖原、乳酸(LD)、尿素氮(BUN)、谷胱甘肽过氧

化物酶 (GSH-Px)、过氧化氢酶 (CAT)、丙二醛 (MDA)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、丙氨酸转氨酶 (ALT)、肌酸激酶 (CK) 和乳酸脱氢酶 (LDH) 测定试剂盒, 购自南京建成生物工程研究所; 苏木素染液、伊红染液、过氧化物酶体增殖受体 γ 辅激活因子 α (PGC1 α) 抗体、线粒体转录因子 A (TFAM) 抗体和甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 抗体, 购自武汉赛维尔生物科技有限公司。

1.1.3 主要仪器

GIPP-4000FD 真空冷冻干燥机, 上海继普电子科技有限公司; YLS-10B 小鼠转轮式疲劳仪, 山东医学科学院; SPARK 10M 酶标仪, 瑞士 Tecan 公司; NIKON/Ni-E 电动荧光显微镜, 日本尼康公司; 低温研磨仪, 武汉赛维尔生物科技有限公司; GIS-2008 凝胶成像分析系统, 上海天能科技有限公司; Miseq 测序平台, 美国 Illumina 公司。

1.2 方法

1.2.1 紫菜多糖酶解片段的制备

将紫菜研磨成粉末, 加入 20 倍体积的水, 于 60 ℃ 水浴中搅拌 12 h, 随后按紫菜质量的 5% 加入木瓜蛋白酶, 60 ℃ 条件下继续反应 12 h 后灭酶, 离心弃去沉淀, 向上清液中加入 3 倍体积的 φ =95% 乙醇, 边加边搅拌, 4 ℃ 过夜醇沉, 离心弃去上清液后, 用去离子水复溶沉淀即得紫菜粗多糖溶液, 经 *seavage* 法脱蛋白和透析除去小分子物质后冻干获得紫菜多糖原糖。取适量紫菜多糖原糖用蒸馏水溶解配制质量浓度为 40 mg/mL 的溶液, 加入紫菜多糖酶 (Por16A_Wf) 进行酶解, 酶解过程中, 每克紫菜多糖加入 0.1 U 的酶, 同时持续搅拌, 在 35 ℃ 的反应温度下进行 2、4、7 h 的反应制备得到三种不同分子量的紫菜多糖酶解片段, 分别为高分子量紫菜多糖酶解片段 (HP, M_w =267.3 ku)、中分子量紫菜多糖酶解片段 (MP, M_w =225.4 ku)、低分子量紫菜多糖酶解片段 (LP, M_w =109.5 ku)。

1.2.2 动物模型的建立

48 只小鼠适应性喂养 1 周后按体质量随机均分为正常组 (N)、运动组 (M)、牡蛎肽组 (O)、牡蛎肽 + 高分子量紫菜多糖酶解片段组 (OH)、牡蛎肽 + 中分子量紫菜多糖酶解片段组 (OM)、牡蛎肽 + 低分子量紫菜多糖酶解片段组 (OL) 共 6 组, 按照下表进行灌胃, 持续 16 d。除正常组外, 其余各组小鼠, 在第 4、8、16 天利用小鼠转轮式疲劳仪

进行 30 min 运动训练, 转速 25 r/min。

表 1 动物实验分组
Table 1 Animal experiment grouping

分组	饲喂方法
N	灌胃生理盐水
M	灌胃生理盐水
O	灌胃 200 mg/kg·bw 牡蛎肽
OH	灌胃 200 mg/kg·bw 牡蛎肽 +200 mg/kg·bw 高分子量紫菜多糖
OM	灌胃 200 mg/kg·bw 牡蛎肽 +200 mg/kg·bw 中分子量紫菜多糖
OL	灌胃 200 mg/kg·bw 牡蛎肽 +200 mg/kg·bw 低分子量紫菜多糖

1.2.3 游泳力竭实验

在第 14 天, 参考 Liu 等^[11]的方法, 小鼠灌胃 1 h 后进行游泳力竭实验。将小鼠放入水深 25 cm, 水温 25 ℃ 左右的游泳箱中并计时, 以小鼠游泳动作明显失调、小鼠头部沉入水中 10 s 不能浮出水面, 判定为小鼠此时游泳力竭, 记录小鼠从游泳开始至力竭的时间为游泳力竭时间。游泳结束后迅速将小鼠捞出, 擦干毛发。

1.2.4 生化指标测定

在第 16 天, 正常组小鼠直接处死, 其余各组小鼠利用小鼠转轮式疲劳仪进行 30 min 运动训练, 运动结束后 30 min, 对小鼠进行小鼠脱颈椎处死, 取小鼠血浆于灭菌离心管中。解剖并收集肝脏、骨骼肌及结肠内容物。

1.2.4.1 肝、肌糖原测定

按照相关试剂盒使用方法, 对小鼠肝脏和肌肉中糖原的含量进行检测。

1.2.4.2 血清生化指标测定

将小鼠血浆于 4 ℃ 下, 7 500 r/min 离心 10 min 后取上清。血清 BUN、LD、GSH-Px、CAT、MDA、CK、LDH 水平分别用相应试剂盒进行测定。

1.2.4.3 小鼠肝脏和骨骼肌组织病理学分析

取处理好的肝脏和骨骼肌组织置于多聚甲醛溶液中浸泡 24 h 后, 经脱水、石蜡包埋和切片后进行 HE 染色, 于显微镜下观察肝细胞和骨骼肌细胞的形态、组织结构等病理学变化。

1.2.4.4 肝脏AST、ALT水平测定

准确称取肝组织质量, 按质量 (g): 体积 (mL) =1:9 的比例, 加入 9 倍体积的生理盐水, 冰水浴条件下匀浆, 2 500 r/min 离心 10 min, 取上清即为 10% 肝脏匀浆液。按照试剂盒说明书对肝脏组织

AST、ALT 水平进行测定。

1.2.4.5 骨骼肌PGC1 α 和TFAM蛋白表达水平测定

采用 Western Blot 法检测各组小鼠骨骼肌中 PGC1 α 和 TFAM 蛋白表达水平, 使用 ImageJ 对蛋白条带的灰度值进行分析, 以 GAPDH 作为内参进行定量分析。

1.2.4.6 肠道菌群16S rRNA测序分析

按照 DNA 提取试剂盒的说明书提取结肠内容物的粪菌总 DNA, 利用 16S PCR 引物 338F(5'-ACTCCTACGGGAGCAGCA-3') 和 806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 进行 16S rRNA 的 V3-V4 高变区扩增。用 DNA 检测试剂盒进行定量, 并在 Illumina Miseq 测序平台上分析。

使用 R 语言软件相关安装包进行如下分析: QIIME2 (2019.4) 计算 weighted UniFrac 距离矩阵, 使用 R 软件进行 PCoA 分析输出样本点的 PCoA 坐标, 并将其绘制成二维散点图; 使用 R 语言的 vegan 包进行 PERMANOVA 组间差异分析; 使用 QIIME2 (2019.4)、R 语言、ggplot2 包等进行分类学组成分析, 并以柱形图呈现结果; 使用 R 语言计算各样本及各分类单元的聚类结果, 用 pheatmap 绘制热图。采用 LEfSe 进行物种丰度的组间显著差异分析, 设置 $P < 0.05$, LDA > 2 。

1.2.5 数据处理

独立性实验重复次数 $n=8$, 实验数据以 (Mean $\pm$ SEM) 表示, 数据显著性分析采用 SPSS 25.0 软件进行单因素方差分析, 组间比较采用多重检验的 Tukey 法, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽对运动疲劳小鼠游泳力竭时间的影响

小鼠力竭游泳实验能直观反映小鼠的疲劳程度, 常被用于化合物缓解运动疲劳的功效测定。如图 1 所示, 与 M 组 (21.48 min) 相比, O、OH、OM、OL 组小鼠的游泳力竭时间分别显著提高至 31.82、51.16、43.68、43.78 min ($P < 0.05$)。与 O 组相比, OH、OM、OL 组小鼠的游泳力竭时间分别提高了 60.77%、37.25%、37.59%, 且具有显著性 ($P < 0.05$), 表明紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽干预显著提高了小鼠的疲劳耐受能力, 高分子量紫菜多糖酶解片段的作用效果较优。赵婷婷等^[7]的

研究也发现介于原料 P 和其余紫菜多糖降解产物之间的高分子量紫菜多糖 P1 作用效果最好。以上结果表明紫菜多糖生物活性的发挥需要具备适宜的分子量, 大分子量可能限制多糖跨膜运输, 而小分子量可能由于缺少高级结构, 影响其活性的发挥。

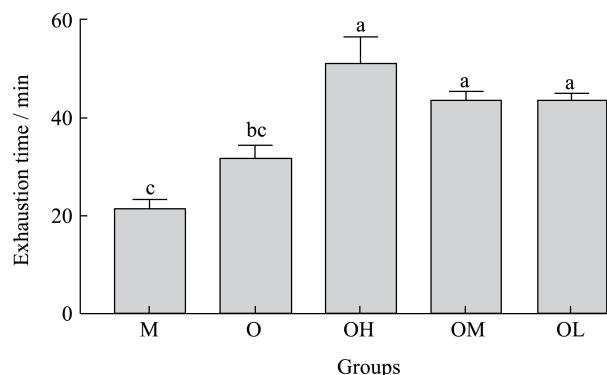


图 1 不同受试物对小鼠游泳力竭时间的影响

Fig.1 Effect of different test substances on exhaustion time of swimming in mice

注: N-正常组, M-运动组, O-牡蛎肽组, OH-牡蛎肽+高分子量紫菜多糖酶解片段组, OM-牡蛎肽+中分子量紫菜多糖酶解片段组, OL-牡蛎肽+低分子量紫菜多糖酶解片段组, 不同字母标识代表各组间具有显著性差异 ($P < 0.05$), 下同。

2.2 紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽对运动疲劳小鼠组织损伤的影响

研究表明, 剧烈运动会通过减少肝脏中的血流量而损害肝细胞, 同时也会对肌肉细胞造成损伤, 影响骨骼肌完整性^[12], 这些运动造成的组织损伤也可能导致机体疲劳。

小鼠肝脏组织病理学变化如图 2a 所示, 运动造成小鼠肝细胞排列紊乱, 肝细胞肿胀且胞浆疏松不均, 肝索界限模糊, 这些变化在干预组中明显改善。进一步测定肝细胞损害的敏感标志—ALT 和 AST 的水平, 其升高程度与肝细胞受损程度相一致, 如图 2b、2c 所示, M 组小鼠肝功能明显受损。与 M 组相比, O、OH、OM、OL 组小鼠肝脏 AST 水平分别降低了 1.76%、14.41%、11.41%、8.03%, ALT 水平分别降低了 13.17%、23.06%、15.56%、5.71%。与 O 组相比, OH 和 OM 组小鼠肝脏 AST 水平显著降低了 12.88% 和 9.02% ($P < 0.05$), OH 组小鼠肝脏 ALT 降低了 11.39% ($P=0.069$)。在李昆展等^[13]的研究中, 补充高浓度桑黄多糖的运动小鼠血清 ALT 和

AST 水平显著降低表明其具有肝脏保护作用，因此，本研究中紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽干预可以改善由剧烈运动导致的小鼠肝脏病理学变化和肝功能损伤。

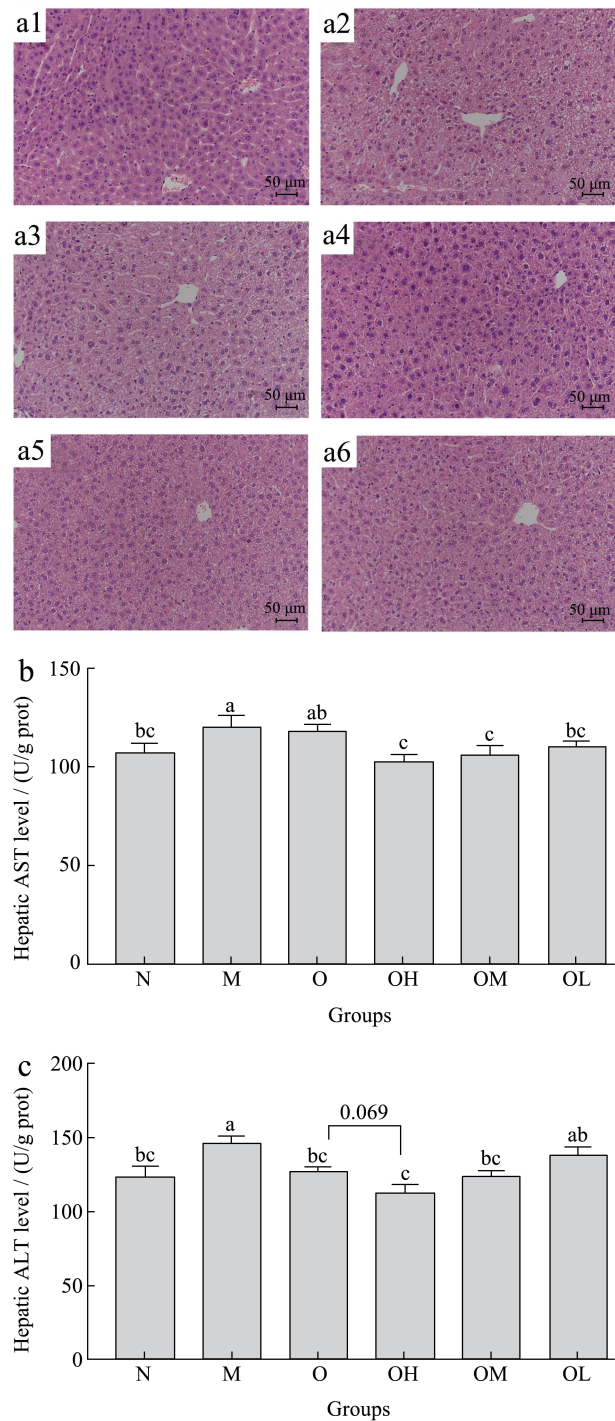
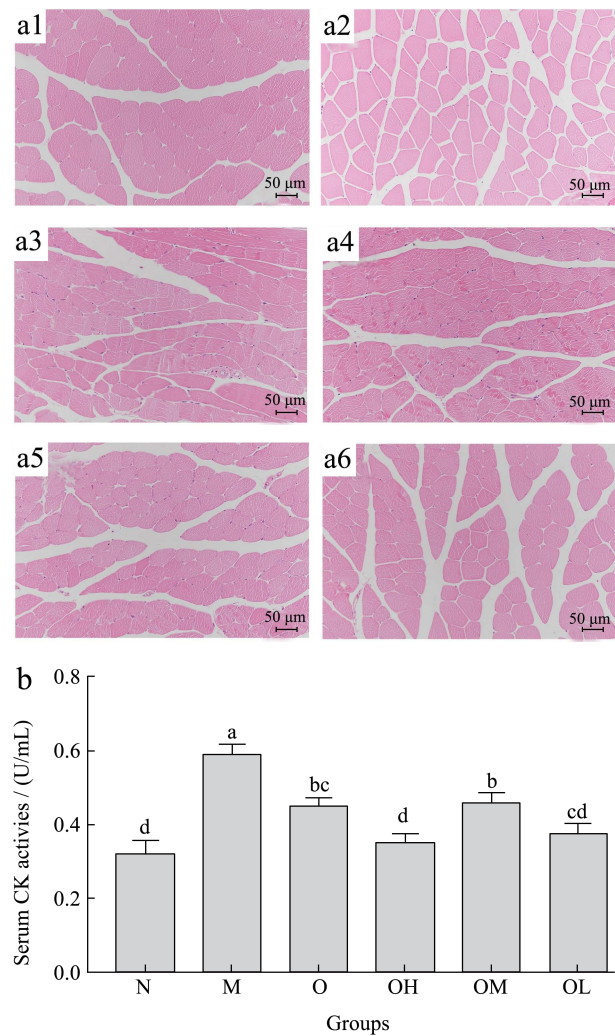


图2 不同受试物对小鼠肝脏损伤程度的影响

Fig.2 Effect of different test substances on the degree of liver injury in mice

注：a：肝脏组织病理学变化（200×，标尺=50 μm），a1为N组，a2为M组，a3为O组，a4为OH组，a5为OM组，a6为OL组。

小鼠骨骼肌组织病理学变化如图 3a 所示，运动组小鼠肌肉细胞间出现缝隙。各干预组相较于 M 组，骨骼肌肌肉细胞形态明显改善。进一步测定小鼠骨骼肌组织损伤相关的关键标志物-CK 和 LDH 的酶活力，如图 3b 和图 3c 所示。剧烈运动时肌肉细胞受到损伤，其细胞膜通透性增加导致血清 LDH 和 CK 浓度增加^[14]，M 组小鼠血清 CK 和 LDH 活力显著升高 ($P<0.05$)，分别为 0.59 U/mL 和 3 190.26 U/L。牡蛎肽干预后这两种酶活力显著降低 ($P<0.05$)，分别为 0.45 U/mL 和 2 310.66 U/L。与 O 组相比，OH 组小鼠血清 CK 和 LDH 活力分别显著降低了 22.02% 和 8.99%，OL 组小鼠血清 CK 活力显著降低了 16.74% ($P<0.05$)。林桐^[15]研究发现，高剂量的羊肚菌多肽可以明显改善运动疲劳造成的小鼠骨骼肌损伤，同时显著降低了运动小鼠血清 CK 和 LDH 活力，提示其可以改善组织损伤并维持细胞膜的正常功能，因此本研究中紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽干预可以改善由剧烈运动导致的小鼠骨骼肌损伤。



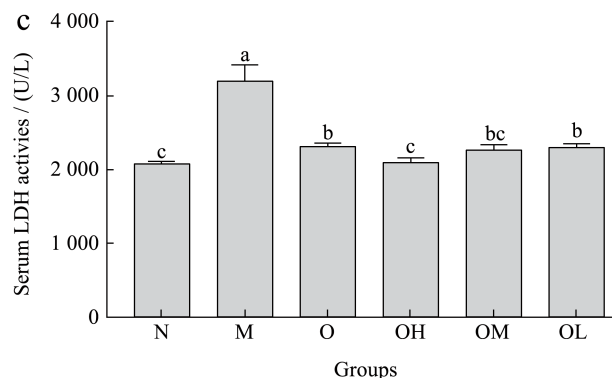


图3 不同受试物对小鼠骨骼肌损伤程度的影响

Fig.3 Effect of different test substances on the degree of skeletal muscle injury in mice

注: a: 骨骼肌组织病理学变化 (200×, 标尺=50 μm), a1 为 N 组, a2 为 M 组, a3 为 O 组, a4 为 OH 组, a5 为 OM 组, a6 为 OL 组。

本研究中小鼠剧烈运动后肝脏和骨骼肌受损,而牡蛎肽联合紫菜多糖酶解片段改善了这一损伤。Peng 等^[3]研究发现,枸杞多糖可以显著降低急性运动后运动损伤相关的生化指标 (ALT、AST、CK 和 LDH) 的水平,与本研究结果一致,表明紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽可以通过改善小鼠运动造成的组织损伤从而缓解运动疲劳。

2.3 紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽对运动疲劳小鼠糖原储备的影响

糖原是机体中重要的能量来源,主要存在肝脏和肌肉中。运动过程中,肝糖原和肌糖原分别通过分解为葡萄糖和无氧酵解实现能量供给^[16],因此提高糖原储备或减缓糖原消耗能够提升机体的疲劳耐受能力。如图4所示,由于运动造成的糖原含量降低在各干预组中得到改善,但组间无显著差异。与O组相比,OH、OM、OL组小鼠的肝糖原和肌糖原含量有升高趋势,肝糖原含量分别提高了6.43%、6.40%、0.35%,肌糖原含量分别提高了7.33%、1.10%、7.24%。剧烈运动发生时,能源物质的消耗顺序为ATP、肌糖原、血糖和肝糖原^[17],因此,短时间休息难以将快速消耗的肌糖原恢复至正常水平导致其变化不显著。赵文瑾^[6]、Peng 等^[3]分别研究发现芫根多糖、枸杞多糖均可以通过提高机体糖原水平发挥抗疲劳作用,提示紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽可能在一定程度上提高体内肝糖原或肌糖原的储备,或者减缓体内糖原的消耗,保证运动过程中的能源供给。

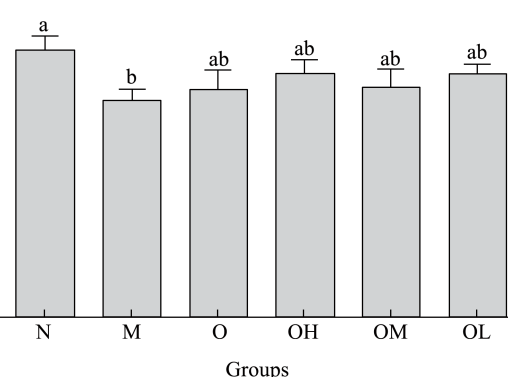
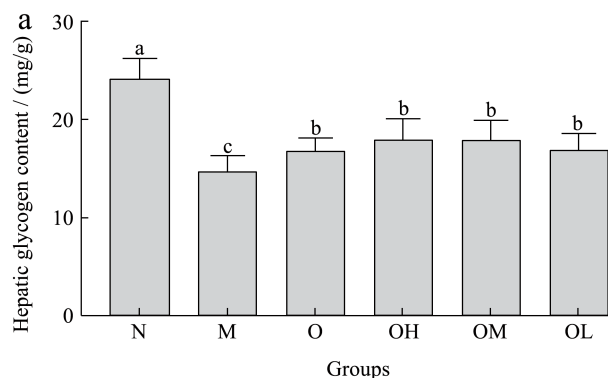


图4 不同受试物对小鼠糖原含量的影响

Fig.4 Effect of different test substances on glycogen contents in mice

2.4 紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽对运动疲劳小鼠血清代谢物的影响

小鼠剧烈运动,血清中代谢物如乳酸(LD)、尿素氮(BUN)大量积累,降低了其运动耐力并引发疲劳^[18]。机体在进行剧烈运动时,糖酵解反应加速并伴随LD的大量积累,引发机体产生疲劳。如图5a所示,与N组相比,M组小鼠血清LD水平升高。各干预组血清LD水平降低,其中OH和OM组小鼠血清LD水平显著降低($P<0.05$),分别为5.22和5.05 mmol/L。当剧烈运动导致机体无法通过分解代谢碳水化合物和脂肪满足能量需求时,蛋白质和氨基酸代谢增加,使其代谢终产物BUN的含量增加^[19],导致疲劳。如图5b所示,与N组相比,M组小鼠血清BUN水平显著升高($P<0.05$),而灌胃牡蛎肽能够显著逆转这一变化($P<0.05$)。与O组相比,OH和OM组血清BUN水平分别显著降低了24.16%和52.48%($P<0.05$),为7.42和4.65 mmol/L。李强等^[20]研究发现,吕梁木枣多糖与交城骏枣多糖干预均可以通过清除运动中积累的代谢产物LD和BUN缓解疲劳,提示紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽干预可以清除运动过程中产生的代谢物的累积,从

而增强抗疲劳效果,其中中、高分子量紫菜多糖的效果较优。

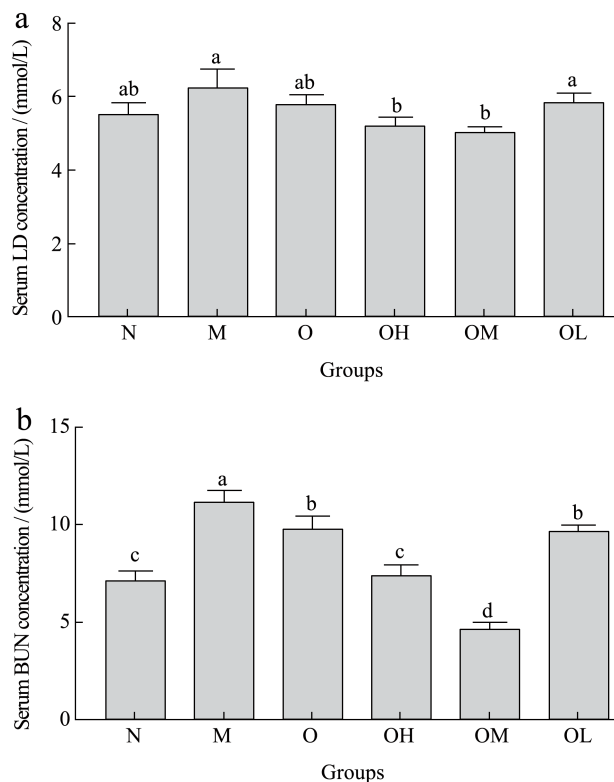


图5 不同受试物对小鼠血清代谢物水平的影响

Fig.5 Effect of different test substances on serum metabolite levels in mice

2.5 紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽对运动疲劳小鼠血清氧化应激指标的影响

研究表明,运动会引起过多的自由基产生,损害细胞膜及线粒体等细胞器,致使细胞代谢和机体功能出现紊乱^[18],最终导致疲劳。因此,对小鼠血清中氧化应激相关指标CAT、GSH-Px、MDA进行测定,其中,CAT和GSH-Px是机体抗氧化系统的重要组成部分,CAT可以催化 H_2O_2 保护生物体免受其损伤,GSH-Px可以催化谷胱甘肽的形成,与活性氧反应以阻断其对机体的损伤,MDA作为脂质过氧化物,是自由基代谢的敏感标志物之一^[21]。如图6所示,与N组相比,M组小鼠血清抗氧化酶的活力显著降低,MDA含量显著升高($P<0.05$)。牡蛎肽灌胃使血清CAT活力显著升高了119.45%,MDA的含量显著降低了29.67%($P<0.05$)。与O组相比,OH、OM、OL组的血清CAT活力有分别

升高了3.92%、18.06%、6.67%,MDA含量分别降低了1.04%、9.56%、5.36%,但无显著差异,OM组中血清GSH-Px活力显著升高了36.59 mmol/L($P<0.05$)。大量研究表明^[3,11,22],天然植物营养物质可以通过增加抗氧化酶活力和抑制脂质过氧化反应,加快自由基的清除,从而缓解体力疲劳程度,同样的,本研究中紫菜多糖协同牡蛎肽干预可以通过改善机体氧化应激水平从而缓解运动疲劳,这种现象可能与紫菜多糖酶解片段良好的抗氧化活性有关。

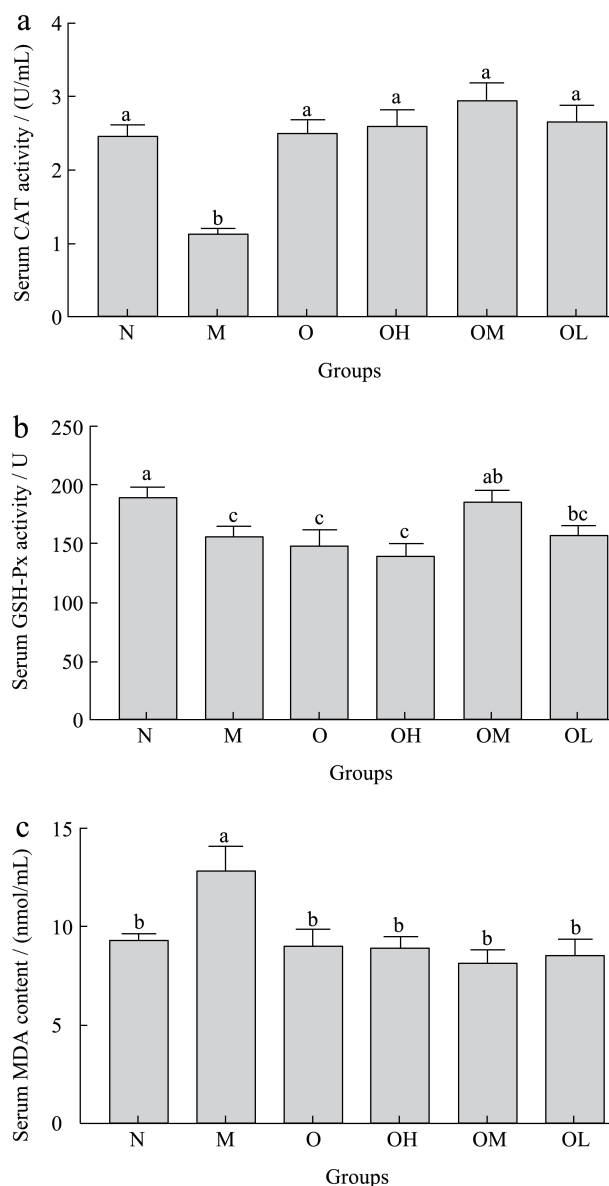


图6 不同受试物对小鼠血清氧化应激相关指标的影响

Fig.6 Effect of different test substances on serum oxidative stress related indicators in mice

2.6 紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽对运动疲劳小鼠线粒体生物发生相关蛋白表达水平的影响

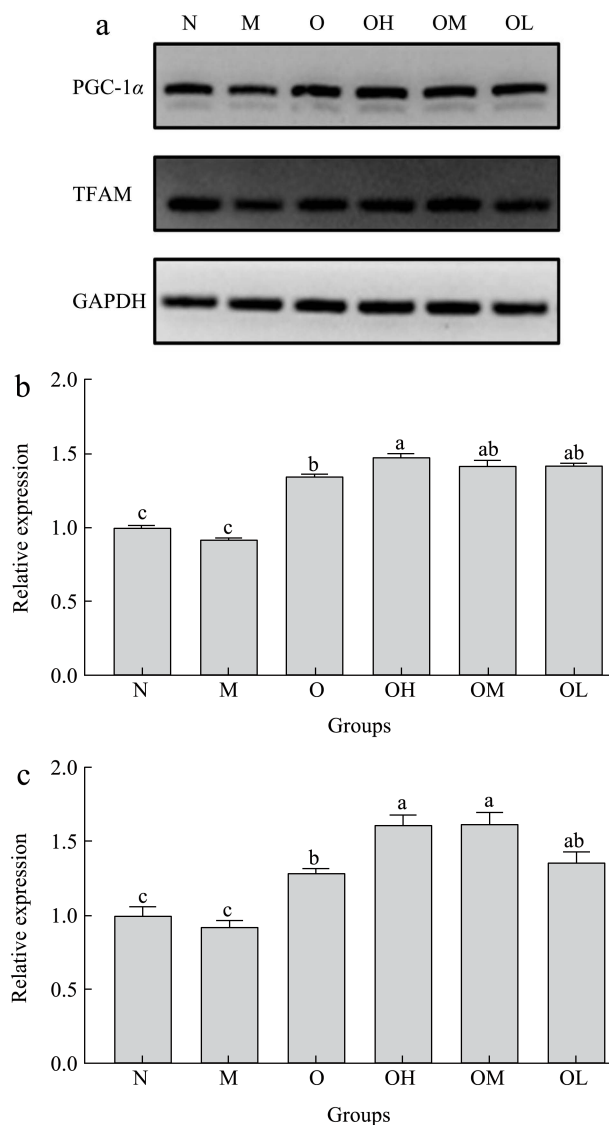


图7 不同受试物对小鼠骨骼肌线粒体生物发生相关蛋白表达水平的影响

Fig.7 Effect of different test substances on the expression levels of protein related to skeletal muscle mitochondrial biogenesis in mice

注：a：骨骼肌 PGC1α、TFAM 蛋白表达，b、c：骨骼肌 PGC1α、TFAM 蛋白定量分析。

运动过程中，机体能量需求不断增加，骨骼肌中 ATP 的大量消耗从而导致疲劳的发生。线粒体作为 ATP 生成位点，也是维持 ATP 生成和水解之间平衡的主要细胞器，因此线粒体在改善小鼠运动疲劳中发挥了重要作用^[23]，提高线粒体能力有助于增加机体能量代谢从而缓解疲劳。测定小鼠骨骼肌中

线粒体生物发生相关蛋白的蛋白 PGC1α 和 TFAM 的表达水平，如图 7 所示。PGC1α 可以促进下游 TFAM 的表达，通过调节线粒体 DNA 复制、维持和转录，增强线粒体能力，是骨骼肌中线粒体生物发生的主要调控因子^[24]。此外，TFAM 还可以与 mtDNA 连接并覆盖 mtDNA，保护线粒体免受活性氧的破坏^[25]。在本研究中，牡蛎肽干预后，小鼠骨骼肌 PGC1α 和 TFAM 的蛋白水平分别显著升高了 46.18% 和 38.89% ($P < 0.05$)。与 O 组相比，OH 组小鼠骨骼肌 PGC1α 和 TFAM 的蛋白水平分别显著升高了 9.79% 和 25.59% ($P < 0.05$)，OM 组小鼠骨骼肌 TFAM 的蛋白水平显著升高了 26.02% ($P < 0.05$)。林桐^[15]和刘明^[26]研究发现，羊肚菌多肽和油莎豆酶解物均可以通过上调 PGC1α 的蛋白表达，进一步提高 TFAM 蛋白的表达水平，增加 ATP 的合成，提高机体能量代谢从而发挥抗疲劳作用。以上结果表明紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽可以通过上调 PGC1α/TFAM 信号通路促进线粒体生物发生，从而促进机体能量代谢改善小鼠运动疲劳，其中高分子量的紫菜多糖酶解片段效果较优。

2.7 紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽对运动疲劳小鼠肠道菌群的影响

研究表明，骨骼肌虽然在生理上远离肠道，但肠道菌群相互作用产生的信号通过全身机制构成了肠道菌群生物活动与肌肉之间的联系^[2]。Ticinesi 等^[27]综述了运动、肠道菌群、免疫系统和骨骼肌功能之间的复杂关系，发现肠道菌群可以通过肠-肌轴调节肌肉蛋白质沉积和肌肉功能。此外，多项研究表明^[2,28,29]，多糖可以通过对肠道菌群结构组成和代谢功能的调节从而发挥增强机体免疫、缓解炎症和氧化应激的作用，从而改善运动疲劳。本研究前期结果表明 OH 组有较好的抗疲劳效果，因此选择 N 组、M 组、O 组和 OH 组进行肠道菌群的测定。

2.7.1 菌群多样性分析

各组小鼠肠道菌群多样性如图 8a、8b 所示。PCoA 分析结果表明，O 组和 OH 组与 M 组重叠程度较小，表明牡蛎肽及牡蛎肽联合高分子量紫菜多糖酶解片段干预可以在一定程度上调节小鼠肠道菌群的结构组成，但组间差异显示其整体变化不明显，有必要对肠道菌群具体的物种组成进

行分析。

2.7.2 菌群物种组成分析

小鼠肠道菌群的物种组成如图 8c~8e 所示。在门水平上，小鼠的肠道菌群主要包括厚壁菌门（Firmicutes）和拟杆菌门（Bacteroidota）等。与 M 组相比，O 组 Firmicutes 丰度降低，而 Bacteroidota 丰度升高，而在 OH 组中表现出相反的趋势，可能是优势菌群相互作用的结果。在属水平上，乳杆菌属（*Lactobacillus*）、*Odoribacter* 属、拟杆菌属（*Bacteroides*）、颤螺菌属（*Oscillospira*）丰度较高。由属水平的相对丰度聚类热图可知，各组表现出不同的菌群结构和组成。与 M 组和 O 组相比，OH 组中属于厚壁菌门的 *Lactobacillus* 属丰度明显升高，属于拟杆菌门的 *Bacteroides* 属和另枝菌属（*Alistipes*）丰度明显降低，与门水平的结果一致。其中 *Lactobacillus* 是一种典型的益生菌，可以将多糖水解为可溶性细胞因子，发挥增强细胞免疫功能、促进肠道蠕动和分泌、改善肠道菌群失调的作用^[30]。以上结果表明，牡蛎肽联合紫菜多糖对运动疲劳的改善作用可能与其调节小鼠肠道菌群的物种组成有关。

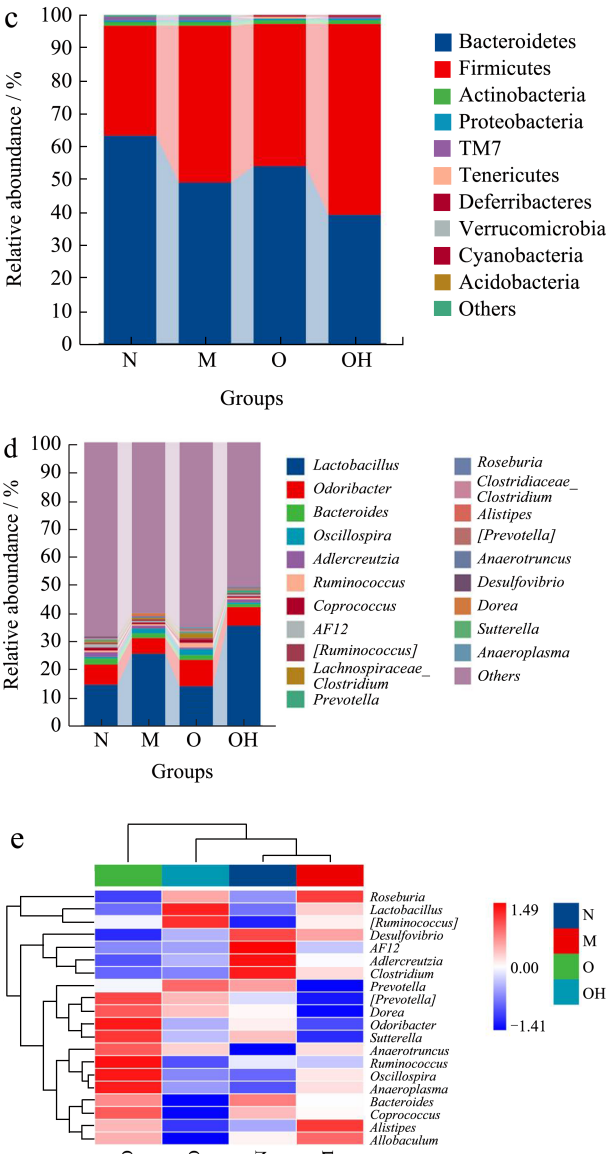
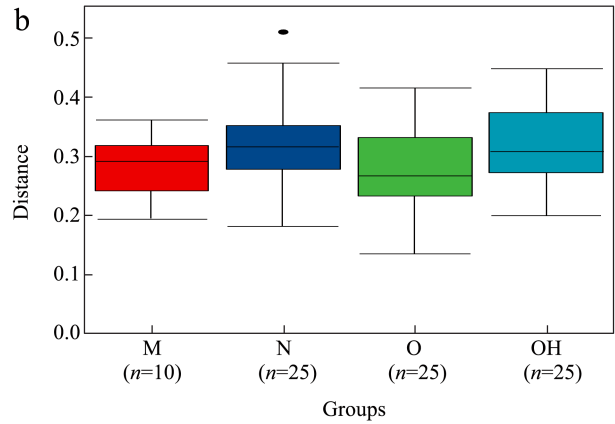
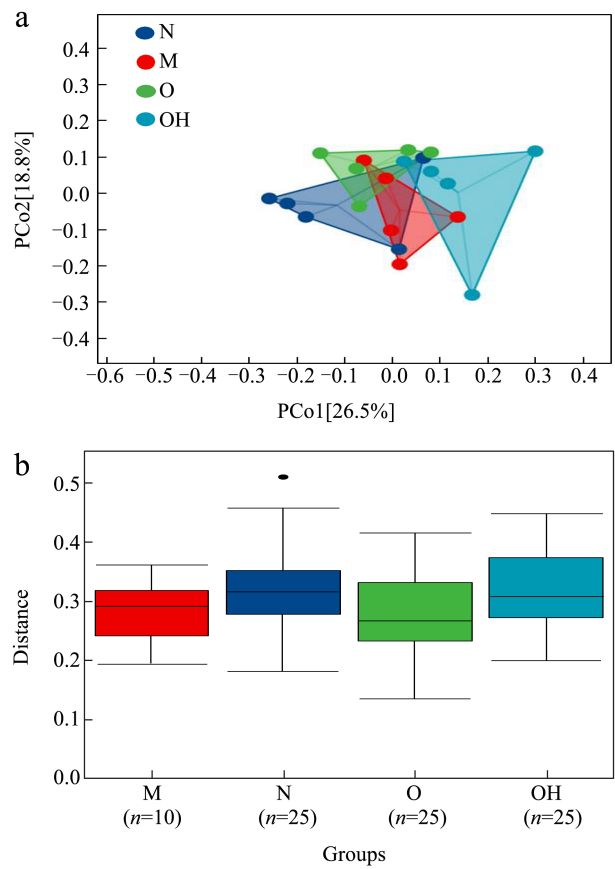


图 8 小鼠肠道菌群多样性和物种组成分析

Fig.8 Analysis of the diversity and species composition of intestinal flora in mice

注：a：PCoA 分析，b：组间差异性分析，c：门水平上肠道菌群的物种相对丰度，d：属水平上肠道菌群的物种相对丰度，e：属水平上的相对丰度聚类热图。

2.7.3 菌群差异物种分析

通过 LEfSe 分析各运动组小鼠肠道菌群之间的差异，如图 9 所示。与 M 组相比，O 组中丁酸球菌属（*Butyricicoccus*）丰度上调，Shi 等^[31]研究发现小鼠肠道中 *Butyricicoccus* 属丰度的增加与粪便丁酸浓度的变化一致，丁酸含量的增加可以预防肠道通透性增加和肠道内毒素转移，避免全身炎症反应的发生；阿克曼氏菌属（*Akkermansia*）的丰度下

调，可能与剧烈运动小鼠肠道炎症减轻有关；OH组产生乙酸和乳酸的乳球菌属（*Lactococcus*）丰度上调，研究表明，*Lactococcus* 与短链脂肪酸的浓度呈显著正相关，而短链脂肪酸可以调节活性氧及细胞因子释放来发挥抗炎作用^[32]；致病菌葡萄球菌属（*Staphylococcus*）和不动杆菌属（*Acinetobacter*）丰度下调。此外，与O组相比，OH组中 *Oscillospira* 属和瘤胃球菌属（*Ruminococcus*）丰度下调，其中

Oscillospira 属被发现在疲劳状态下小鼠的肠道菌群中丰度上调^[2]，且有研究表明^[33]，这两种共生菌能够在饮食导致的肥胖、糖尿病或肠道变化中诱导肠道的炎症或病理学。以上结果表明，牡蛎肽和牡蛎肽联合紫菜多糖可以上调有益菌的丰度，下调致病菌的丰度，推测其可能通过增加短链脂肪酸的产生，发挥抗炎和增强肠道免疫的作用，从而改善小鼠运动疲劳。

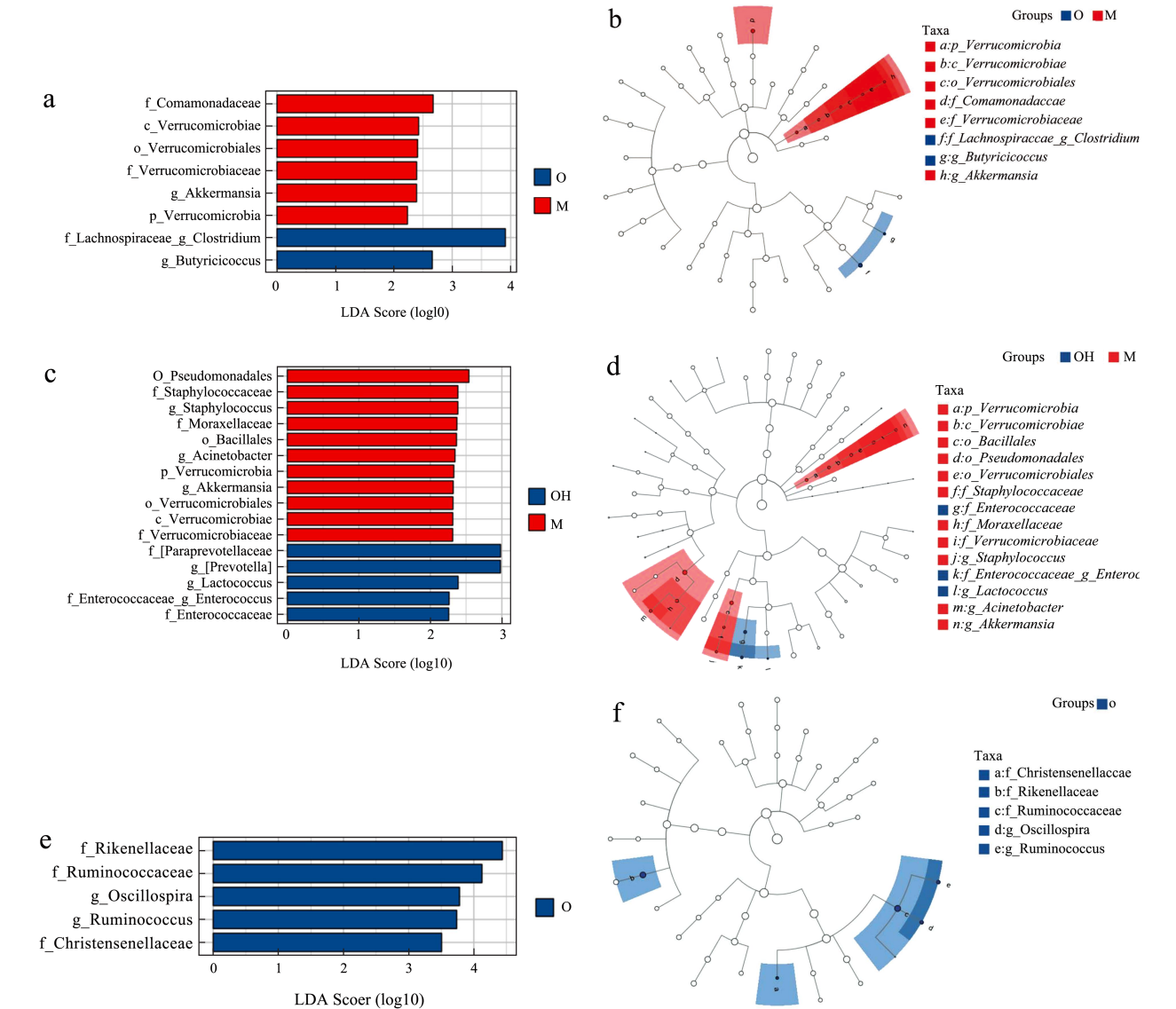


图 9 LEfSe 分析组间显著差异菌

Fig.9 LEfSe analysis of gut microbiota significantly different between groups

注：a、b：O 与 M 组间差异显著菌群的 LDA 值分布柱状图及进化分支图；c、d：OH 与 M 组间差异显著菌群的 LDA 值分布柱状图及进化分支图；e、f：OH 与 O 组间差异显著菌群的 LDA 值分布柱状图及进化分支图。

3 结论

本研究通过小鼠运动疲劳模型探究了紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽对小鼠运动疲劳的改善作

用及其机制。结果表明，不同分子量紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽分别将小鼠的游泳力竭时间从 21.48 min 显著提高至 51.16、43.68、43.78 min，提高了小鼠的疲劳耐受能力，改善了小鼠运动中出现

的肝脏和骨骼肌损伤,增加了机体糖原储备,减少了有害代谢物的积累,缓解了机体氧化应激。机制分析结果可知:紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽通过上调PGC1 α /TFAM信号通路,促进线粒体生物发生从而改善小鼠运动疲劳;通过上调有益菌*Lactococcus*的丰度,下调致病菌*Staphylococcus*、*Acinetobacter*、*Oscillospira*和*Ruminococcus*的丰度调节肠道菌群,改善小鼠运动疲劳。高分子量紫菜多糖酶解片段在协同牡蛎肽改善小鼠运动疲劳中效果最优。

综上所述,紫菜多糖酶解片段,尤其是高分子量紫菜多糖酶解片段协同牡蛎肽可以改善小鼠运动疲劳,其功效强于单独牡蛎肽干预,但其具体剂量配比与功效之间的关系尚不明确,有待进一步的探讨。本文为紫菜深加工产品的开发提供了理论支撑,也为疲劳人群提供了新的膳食选择。

参考文献

- [1] 赵静.运动疲劳机制及食源性抗疲劳活性成分研究进展[J].食品安全质量检测学报,2021,12(9):3565-3571.
- [2] ZHOU Y P, CHU Z X, LUO Y, et al. Dietary polysaccharides exert anti-fatigue functions via the gut-muscle axis: advances and perspectives [J]. Foods, 2023, 12(16): 3083.
- [3] PENG Y F, ZHAO L L, HU K, et al. Anti-fatigue effects of *Lycium barbarum* polysaccharide and effervescent tablets by regulating oxidative stress and energy metabolism in rats [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(18): 10920.
- [4] CUI J, SHI C, XIA P, et al. Fermented deer blood ameliorates intense exercise-induced fatigue via modulating small intestine microbiota and metabolites in mice [J]. Nutrients, 2021, 13(5): 1543.
- [5] YU Y, SHEN M Y, SONG Q Q, et al. Biological activities and pharmaceutical applications of polysaccharide from natural resources: a review [J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 183: 91-101.
- [6] 赵文瑾.芫根多糖提取、分离及抗疲劳机理研究[D].无锡:江南大学,2021.
- [7] 赵婷婷,张全斌,李智恩,等.不同相对分子质量坛紫菜多糖抗疲劳作用的实验研究[J].医药导报,2009,28(6):709-712.
- [8] LI B, ZHOU M, WEI Y, et al. The beneficial effect of oyster peptides and oyster powder on cyclophosphamide-induced reproductive impairment in male rats: a comparative study [J]. Journal of Food Biochemistry, 2020, 44(11): e13468.
- [9] XIAO M F, LIN L, CHEN H P, et al. Anti-fatigue property of the oyster polypeptide fraction and its effect on gut microbiota in mice [J]. Food Function, 2020, 11(10): 8659-8669.
- [10] 冯兆园,王贻森,王振宇,等.植物多糖协同增效研究进展[J].精细化工,2024,21(1203): 1-13.
- [11] LIU S, WANG M Y, XING Y B, et al. Anti-oxidation and anti-fatigue effects of the total flavonoids of *Sedum aizoon* L. [J]. Journal of Agriculture and Food Research, 2023, 12: 100560.
- [12] DUAN F F, GUO Y, LI J W, et al. Antifatigue effect of luteolin-6-C-neohesperidoside on oxidative stress injury induced by forced swimming of rats through modulation of Nrf2/ARE signaling pathways [J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2017, 2017: 3159358.
- [13] 李昆展,王颖,郑佳,等.基于Nrf2信号通路探析桑黄多糖对运动疲劳小鼠肝损伤的保护作用[J].现代食品科技, 2024,40(6):20-28.
- [14] 董佳萍,谢琳琳,王鹤霖,等.金雀异黄素通过AMPK/SIRT1/PGC-1 α 信号通路缓解免疫抑制大鼠的疲劳作用[J].食品科学,2023,44(9):82-87.
- [15] 林桐.羊肚菌抗氧化肽制备及其抗疲劳作用研究[D].重庆:西南大学,2023.
- [16] 马建伟.羊肚菌蛋白抗氧化肽的制备及抗运动疲劳活性研究[J].中国酿造,2023,42(9):163-169.
- [17] 王钺.芫根抗慢性疲劳功效的研究与产品的开发[D].无锡:江南大学,2023.
- [18] LU G Y, LIU Z T, WANG X, et al. Recent advances in *Panax ginseng* C.A. meyer as a herb for anti-fatigue: an effects and mechanisms review [J]. Foods, 2021, 10(5): 1030.
- [19] WANG J, SUN C X, ZHENG Y, et al. The effective mechanism of the polysaccharides from *Panax ginseng* on chronic fatigue syndrome [J]. Archives of Pharmacal Research, 2014, 37(4): 530-538.
- [20] 李强,刘钧珂.吕梁木枣多糖与交城骏枣多糖的抗疲劳作用比较研究[J].中国调味品,2023,48(2):83-86.
- [21] ZHAO W J, ZHANG W Y, LIU L, et al. Fractionation, characterization and anti-fatigue activity of polysaccharides from *Brassica rapa* L. [J]. Process Biochemistry, 2021, 106: 163-175.
- [22] CHEN X L, LIANG D H, HUANG Z Q, et al. Anti-fatigue effect of quercetin on enhancing muscle function and antioxidant capacity [J]. Journal of Food Biochemistry, 2021, 45(11): e13968.
- [23] 孔凡秀,杨琪,董佳萍,等.人参皂苷Rg1对疲劳小鼠骨骼肌中TFAM和NRF-1基因表达的影响[J].食品与生物技术学报,2022,41(2):67-72.
- [24] BN F, DP K. PGC-1 coactivators: inducible regulators of energy metabolism in health and disease [J]. Journal of

- Clinical Investigation, 2006, 116(3): 615-622.
- [25] ORHAN C, GENCOGLU H, TUZCU M, et al. Maca could improve endurance capacity possibly by increasing mitochondrial biogenesis pathways and antioxidant response in exercised rats [J]. Journal of Food Biochemistry, 2022, 46(7): e14159.
- [26] 刘明.油莎豆酶解物的制备、缓解体力疲劳活性研究与产品开发[D].长春:吉林农业大学,2022.
- [27] TICINESI A, LAURETANI F, TANA C, et al. Exercise and immune system as modulators of intestinal microbiome: implications for the gut-muscle axis hypothesis [J]. Exercise Immunology Review, 2019, 25: 84-95.
- [28] CAI M, ZHU H, XU L, et al. Structure, anti-fatigue activity and regulation on gut microflora *in vivo* of ethanol-fractional polysaccharides from *Dendrobium officinale* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2023, 234: 123572.
- [29] LIU C, JIANG W, YANG F, et al. The combination of microbiome and metabolome to analyze the cross-cooperation mechanism of *Echinacea purpurea* polysaccharide with the gut microbiota *in vitro* and *in vivo* [J]. Food Function, 2022, 13(19): 10069-10082.
- [30] WANG J M, LIANG Q X, ZHAO Q C, et al. The effect of microbial composition and proteomic on improvement of functional constipation by *Chrysanthemum morifolium* polysaccharide [J]. Food and Chemical Toxicology, 2021, 153: 112305.
- [31] SHI H J, CHANG Y G, GAO Y, et al. Dietary fucoidan of *Acaudina molpadioides* alters gut microbiota and mitigates intestinal mucosal injury induced by cyclophosphamide [J]. Food & Function, 2017, 8(9): 3383-3393.
- [32] ZHOU Q Q, QU Z H, WANG N L, et al. Miao sour soup influences serum lipid via regulation of high-fat diet-induced intestinal flora in obese rats [J]. Food Science Nutrition, 2023, 11(5): 2232-2242.
- [33] LI L, MA C L, HURILEBAGEN, et al. Effects of lactoferrin on intestinal flora of metabolic disorder mice [J]. BMC Microbiology, 2022, 22(1): 181.