

猪胰脏酶解物对 D-半乳糖诱导小鼠衰老的改善作用

李玉慧, 王越, 宋瑞娜, 刘馨雅, 张会图, 王海宽*

(天津科技大学生物工程学院, 天津 300457)

摘要: 猪胰脏酶解物富含生物活性肽, 具有潜在的抗衰老活性, 但原料的腥臭味限制了其开发应用。本研究旨在通过微生物发酵改善其风味品质, 深入探讨猪胰脏酶解发酵产物对衰老小鼠的改善作用。通过颈部皮下注射 D-半乳糖建立小鼠亚急性衰老模型, 测定多组织氧化应激与炎症指标, 结合胸腺、睾丸及海马病理观察, 探究猪胰脏酶解发酵产物对衰老相关组织退行性改变的干预效果。结果表明, 发酵处理改善了特有腥臭味并保留了生物活性, 发酵后样品气味感官评分由 4.30 分提升至 15.90 分; 高剂量发酵产物使小鼠血清和脑组织中 SOD 活性分别提升 108.85% 和 79.55%, GSH 水平分别提升 59.24% 和 63.29%, MDA 含量分别降低 55.09% 和 28.25%; 促炎因子 IL-6 水平分别下降 58.01% 和 41.19%, TNF- α 水平分别下降 37.89% 和 26.18%; 并显著改善胸腺脂肪浸润、睾丸生精小管萎缩及海马神经元丢失。综上, 发酵处理在脱腥增香的同时保留了酶解物活性, 该发酵产物通过抗氧化防御、抑制炎症反应及多组织保护等延缓 D-半乳糖诱导的衰老进程, 为其开发为功能性食品提供了理论基础。

关键词: 胰脏酶解; 抗衰老; 氧化应激; D-半乳糖; 组织保护

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2027.8.1053

The Ameliorative Effect of Porcine Pancreatic Enzyme Hydrolysates on D-Galactose-Induced Aging in Mice

LI Yuhui, WANG Yue, SONG Ruina, LIU Xinya, ZHANG Huitu, WANG Haikuan*

(College of Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: Porcine pancreatic enzymatic hydrolysates are rich in bioactive peptides and possess potential anti-aging properties, but their application and development are limited by the fishy odor of the raw material. In this study, flavor improvement through microbial fermentation was conducted, and the effects of fermented porcine pancreatic enzymatic hydrolysates on aging mice were investigated. A subacute aging mouse model was established via subcutaneous injection of D-galactose in the neck. Multi-tissue oxidative stress and inflammatory markers were assessed, and combined with pathological observations of the thymus, testes, and hippocampus, the intervention effects of fermented porcine pancreatic enzymatic hydrolysates on age-related tissue degenerative changes were explored. It was demonstrated that the characteristic fishy odor was improved by fermentation while bioactivity was retained, with the sensory score of the fermented sample increased from 4.30 to 15.90 points. In mouse serum and brain tissue, SOD activity was increased by 108.85% and 79.55%, and GSH levels were elevated by 59.24% and 63.29%, while MDA content was decreased by 55.09% and 28.25%, respectively, by high doses of the fermented product. Pro-inflammatory cytokine IL-6 and TNF- α levels were decreased by 58.01% and 41.19%, and 37.89% and 26.18%, respectively, and thymic fat infiltration, testicular seminiferous tubule atrophy, and hippocampal neuron loss were significantly improved. In conclusion, the fishy odor is removed and flavor is enhanced while the bioactivity of the enzymatic hydrolysates is preserved through fermentation. D-galactose-induced aging is delayed by this fermented product through antioxidant defense, inhibition of inflammatory responses, and multi-tissue protection, providing a theoretical foundation for its development as a functional food.

Key words: enzymatic hydrolysis of porcine pancreas; anti-aging; oxidative stress; D-galactose; tissue protection

衰老是机体在遗传因素和环境因素共同作用下发生的渐进性生理功能衰退过程, 其主要表现为组织器官结构退化、代谢稳态失衡以及机体适应能力下降^[1]。随着全球人口老龄化进程不断加快, 衰老相关疾病如神经退行性

收稿日期: 2026-07-17; 修回日期: 2026-09-14; 接受日期: 2026-09-15

基金项目: 京津冀自然科学基金合作专项项目 (25JJJC0023)

作者简介: 李玉慧 (2000-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品营养与健康, E-mail: 1748060507@qq.com

通讯作者: 王海宽 (1974-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 功能食品, E-mail: hkwang@tust.edu.cn

疾病、代谢综合征、心血管疾病及免疫功能衰退等发病率持续升高^[2,3],严重影响老年人群生活质量并加重社会医疗负担。因此,开发安全、高效的天然抗衰老功能因子已成为食品科学、营养学及生物医药领域的重要研究方向。在众多衰老机制学说中,氧化应激(Oxidative Stress)与慢性炎症反应(Inflammatory Response)被公认为是驱动细胞衰老和组织损伤的核心因素^[4,5]。机体在衰老过程中,活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)的产生与清除失衡,导致脂质过氧化物丙二醛(Malondialdehyde, MDA)大量蓄积^[6],进而抑制超氧化物歧化酶(Superoxide Dismutase, SOD)及谷胱甘肽(Glutathione, GSH)等关键抗氧化酶的活性^[7]。这种持续的氧化损伤会激活核因子 κ B(nuclear factor kappa-B, NF- κ B)等信号通路^[8,9],触发肿瘤坏死因子(Tumour necrosis factor- α , TNF- α)和白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)等促炎细胞因子的级联释放^[10],最终引发生物大分子损伤及多组织病理学病变^[11]。因此,同时调控氧化应激与炎症反应已成为抗衰老研究的重要策略。

禽畜内脏是一种营养丰富的食品,富含蛋白质、脂肪、维生素和矿物质^[12],不仅是一种优质的蛋白资源^[13],同时还含有大量的超氧化物歧化酶,具有优良的抗氧化、抗炎以及抗衰老等作用^[14],是制备生物活性肽的优良原料^[15],受到广泛关注。生物活性肽(Bioactive peptides, BPs)是由2~50个氨基酸通过酰胺键脱水缩合形成的短链肽^[16],广泛存在于动物、植物及微生物体内^[17],具备抗肿瘤、抗氧化、免疫调节及抗菌等多种活性,在生物医学领域广泛应用^[18]。猪胰脏内含有丰富的酶类蛋白及活性肽前体^[19],经适当酶解后可释放具有较高生物活性的低分子肽^[20]。然而,传统胰脏加工方式存在活性成分释放不足、产品功能单一以及腥臭味明显等问题,限制了其高值化利用和产业化开发。微生物发酵技术被认为是提高天然产物生物活性和改善感官品质的重要手段^[21]。发酵过程中微生物产生的蛋白酶、多肽酶及代谢产物不仅能够进一步促进大分子蛋白降解,提高活性肽得率^[22],还可通过代谢转化改善产品风味和稳定性。木糖葡萄球菌(*Staphylococcus xylosus*, *S. xylosus*)作为肉制品发酵中常用的功能微生物,具有良好的蛋白降解能力、脱腥增香作用及安全应用基础,在改善动物源发酵制品品质方面展现出较大潜力^[23]。在发酵过程中,木糖葡萄球菌不仅具有硝酸还原酶活性,对肌红蛋白色泽起到较好的稳定作用,还具有分泌胞外酶的能力,可将蛋白和脂肪等大分子物质降解,产生肽、氨基酸、醛、胺和游离脂肪酸等小分子物质,有助于发酵肉制品风味的形成^[24]。此外,木糖葡萄球菌的存在可抑制发酵肉制品中有害微生物的生长和生物胺的形成,提高产品营养价值和可贮藏性^[25]。尽管酶解结合微生物发酵改善动物副产物风味已有报道,但猪胰脏兼具高脂质与高内源消化酶活,常规发酵极易诱发过度水解或氧化酸败,难以兼顾彻底脱腥与活性肽构效保留;且现有研究多局限于挥发性风味及体外抗氧化活性分析,缺乏活体层面的系统抗衰老评价。因此本研究的独特之处在于:针对猪胰脏高酶活与高脂质基质,构建了定向控制酶解-两阶段温和发酵耦联工艺,在破解腺体副产物腥臭瓶颈的同时实现了抗衰老活性肽的精准护存;并首次在整体动物水平系统揭示了其通过抗氧化防御-抑炎-多器官病理逆转多靶点延缓衰老的内在作用。

为此,本研究以小鼠体内实验为主要研究内容,以深入探究猪胰脏酶解发酵产物对D-半乳糖诱导衰老的体内修复作用及多器官保护功效。通过皮下注射D-半乳糖构建小鼠亚急性衰老模型,系统考察受试物对小鼠体重及脏器指数的改善作用;检测血清、脑、肝、脾中抗氧化指标SOD、GSH、MDA与炎症因子IL-6、TNF- α 水平,系统评价其对外周及中枢抗氧化屏障的重建能力与慢性炎症级联反应的抑制效应;并结合胸腺、睾丸及海马体病理切片评价组织结构退变的改善效果,明确其对衰老相关靶器官器质性损伤的微观改善能力。本研究旨在系统明确猪胰脏酶解发酵产物的体内抗衰老功效及其多靶点作用机制,为其开发为抗衰老功能性食品提供扎实的实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

SPF级雄性昆明小鼠,30只,6周龄,体重(18~22)g,购自斯贝福(北京)生物技术有限公司,实验动物质量合格证号SCXK(京)2024-0001。本实验经易生源基因科技(天津)有限公司的动物伦理委员会批准(方案号YSY-DWLL-2025139)。

1.1.2 材料与试剂

木糖葡萄球菌(*Staphylococcus xylosus*) YB-12,保藏于中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心(CGMCC),保藏编号为CGMCC No.26373;猪胰脏酶解物样品,由天津核生科技生物工程有限公司提供(样品

2, 其主要理化指标与营养成分分析如表 3、4 所示); D-半乳糖, 上海源叶生物科技有限公司; β -烟酰胺核苷酸, 上海源叶生物科技有限公司; 超氧化物歧化酶 (SOD) 检测试剂盒, 江苏酶免实业有限公司; 谷胱甘肽还原酶 (GSH-Px) 检测试剂盒, 江苏酶免实业有限公司; 丙二醛 (MDA) 检测试剂盒, 江苏酶免实业有限公司; 总抗氧化能力 (T-AOC) 酶联免疫测定试剂盒, 北京索莱宝科技有限公司; 小鼠白细胞介素-6 (IL-6) 酶联免疫分析试剂盒, 上海江莱生物科技有限公司; 小鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 酶联免疫分析试剂盒, 上海江莱生物科技有限公司; 苏木素, 北京中杉金桥生物科技有限公司, 伊红, 北京中杉金桥生物科技有限公司。

1.1.3 实验仪器

TGL-16K 医用离心机, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司; DNM-9602 酶标分析仪, 北京普朗新技术有限公司; LEiCA TP-1020 脱水机, 徠卡仪器有限公司; LEiCA HistoCore MULTICUT 病理切片机, 徠卡仪器有限公司; ES500-1 包埋机, 华市华速科技有限公司; ES500-2C 冻台, 金华市华速科技有限公司; ES500-3H 组织摊片机, 金华市华速科技有限公司; DHISTECHP250FLASH 全景扫描仪, 3DHISTECH。

1.2 实验方法

1.2.1 猪胰脏酶解发酵产物的制备 (样品 1)

取 50 g 猪胰脏, 将猪胰脏切块, 加入 50 mL PBS 缓冲液 (0.1 mol L⁻¹, pH=7.0) 浸泡 30 min, 经低温超声 (4 ℃, 3 000 W, 10 min) 辅助破碎后, 于沸水中加热 30 min, 冷却至室温。此时测得液体的 pH 为 5.5 左右, 加入 400 μ L 的 10% (m/V) 氢氧化钙悬液, 调节 pH 至 7.5, 加入 0.14 g 碱性蛋白酶 (枯草蛋白酶, 酶活力为 5.0 $\times$ 10⁵ U $\cdot$ g⁻¹), 在 50 ℃ 下酶解 2 h, 期间动态调节 pH 与温度, 保证 pH 始终维持在 7.5, 酶解温度始终保持在 50 ℃ 以优化酶活, 酶解结束后, 90 ℃ 灭活 10 min, 得到酶解液。将酶解液冷却至 30 ℃, 接种 1% (V/V) *S. xylosus* 菌液, 菌液活菌数为 2 $\times$ 10⁹, 进行两阶段发酵: 第一阶段 30 ℃、220 rpm 振荡培养 12 h; 第二阶段 28 ℃ 静置培养 12 h。发酵结束后, 得富含生物活性肽的发酵产物。

1.2.2 对猪胰脏酶解物内含物检测

对猪胰脏酶解物进行总蛋白、水分、脂肪、肽含量的测定。

1.2.3 猪胰脏酶解物发酵前后感官品质评价

参考董颖颖等^[26]的方法并作适当调整, 组建由 10 名经过专业感官评价培训的评价员, 男女各半, 年龄 22~28 岁构成的评定小组。所有人员均通过基本味觉与嗅觉辨别测试, 测试前 2 h 禁烟酒及刺激性食物。采用 20 分制对发酵前后产物的色泽、气味、油脂浮层、组织形态及综合感官品质等指标进行定量描述评分, 评价标准见表 1。

表 1 猪胰脏酶解物发酵前后感官评价标准

Table 1 Sensory Evaluation Criteria of Porcine Pancreatic Hydrolysates Before and After Fermentation

Project	16~20	11~15	6~10	1~5
色泽 (20 分)	浅琥珀色, 完全澄清, 无沉淀、 无悬浮杂质, 光泽均匀	浅黄褐色, 轻微微量沉 淀, 静置后分层不明显	深棕浑浊, 底部明显沉 淀, 透光差	黑褐色、大量絮状沉淀, 分 层严重
气味 (20 分)	发酵鲜醇香气饱满, 开盖清晰 释放	发酵香气适中, 静置后可 闻到	发酵香气微弱, 被腥气 掩盖	几乎无发酵醇香
油脂浮层状态 (20 分)	无浮油, 液面平整无油膜, 无 氧化油斑	极薄微量油膜, 静置无油 渣析出	明显黄色浮油层, 少量 油渣漂浮	厚氧化油层, 油体发黄发哈 喇, 油渣结块漂浮
组织形态 (20 分)	组织均匀细腻, 流动性适中, 无分层无残渣	整体均一, 少量细微沉 淀, 轻微挂壁	轻微分层, 少量固形颗 粒, 摇晃可恢复均一	严重分层、大量残渣硬块, 粗糙砂感, 结块无法分散
综合感官品质 (20 分)	完全可接受	一般可接受	勉强可接受	不能接受

1.2.4 小鼠分组、造模及给药设计

SPF 级雄性昆明小鼠适应性饲养 1 周后开展实验, 本研究采用皮下注射造模与灌胃给药同步进行的方式, 每日一次, 连续干预 56 d, 饲养环境温度为 (23 $\pm$ 3) ℃, 相对湿度 40%~70%, 每 12 h 明暗交替照明, 期间自由摄食、饮水。将小鼠随机分为 7 组, 每组 6 只, 分别为空白组 (B)、模型组 (M)、阳性药组 (PC)、样品 1 低剂量组 (D1)、样品 1 中剂量组 (D2)、样品 1 高剂量组 (D3)、样品 2 (NC)。具体设计如表 2。

正常人体每日摄入胰脏酶解发酵产物 1.8 g, 成人体重 60 kg, 因此, 成人每日摄入量约为 1.8 g/60 kg≈0.03 g·kg⁻¹。依据小鼠与人代谢差异, 剂量换算系数取 9.1^[27], 因此小鼠每日正常给药剂量为 0.03 g·kg⁻¹×9.1≈0.27 g·kg⁻¹。实验以此剂量设为低剂量组, 3 倍剂量为中剂量组, 5 倍剂量为高剂量组, 每日分两次灌胃。

表2 分组、造模及给药设计

Table 2 Grouping, Modeling, and Medication Administration Design					
Group	Group Name	Modeling Method	Drug Administration	Dose/g·(kg d) ⁻¹	Medication Frequency
B	空白组	皮下注射等量生理盐水	不给予任何处理	—	每日灌胃等量生理盐水
M	模型组	D-gal 360 mg·kg ⁻¹	不给予药物	—	边造模边给药, 每日一次, 连续 56 d
PC	阳性药组	D-gal 360 mg·kg ⁻¹	β-烟酰胺核苷酸	100 mg·(kg d) ⁻¹	边造模边给药, 每日一次, 连续 56 d
D1	样品 1 低剂量组	D-gal 360 mg·kg ⁻¹	样品 1	0.27 g·(kg d) ⁻¹	边造模边给药, 每日一次, 连续 56 d
D2	样品 1 中剂量组	D-gal 360 mg·kg ⁻¹	样品 1	0.81 g·(kg d) ⁻¹	边造模边给药, 每日一次, 连续 56 d
D3	样品 1 高剂量组	D-gal 360 mg·kg ⁻¹	样品 1	1.35 g·(kg d) ⁻¹	边造模边给药, 每日一次, 连续 56 d
NC	样品 2 组	D-gal 360 mg·kg ⁻¹	样品 2	0.27 g·(kg d) ⁻¹	边造模边给药, 每日一次, 连续 56 d

注: B-空白组; M-模型组; PC-阳性对照组; D1-样品 1 低剂量组; D2-样品 1 中量组; D3-样品 1 高剂量组; NC-样品 2。

1.2.5 样本收集

第 56 天灌胃后, 小鼠摘眼球取血, 4 ℃静置 2 h, 4 ℃、3 500 r·min⁻¹离心 15 min, 取血清分装。无菌解剖取出肝脏、肾脏、脾脏、大脑、睾丸, 用生理盐水清洗脏器表面, 用滤纸吸干水分, 称重。每组取 3 只小鼠的肺、肝脏、睾丸、胸腺用 4%多聚甲醛固定, 常温贮藏, 其余用液氮速冻后转至-80 ℃贮藏。无菌收集结肠内容物, 用液氮速冻后转至-80 ℃贮藏。取左侧股骨, 用 4%多聚甲醛固定, 常温贮藏。

1.2.6 体重和脏器指数

根据文献^[28], 分别按式 (1)、(2) 计算小鼠体重增长率、脏器指数。

$$R = \frac{G_1 - G_0}{G_0} \times 100\%$$

(1)

$$I = \frac{M}{G_1} \times 100\%$$

(2)

式中:
R——体重增长率, %;
G₀——分组前小鼠质量, g;
G₁——灌胃结束小鼠质量, g;
I——脏器指数, %;
M——脏器湿重, g。

1.2.7 衰老相关指标测定

1.2.7.1 ELISA 法检测氧化应激及炎症因子水平

采用双抗体夹心 ELISA 法测定小鼠血清、肝脏、脾脏及脑组织中 SOD、GSH、MDA、IL-6、TNF-α 含量。简要操作步骤如下: 血清经小鼠摘眼球取血后 3 000 r·min⁻¹离心 10 min 分离得到; 组织按质量体积比 0.1 g:0.9 mL 加入 PBS 充分冰浴匀浆, 4 ℃、2 000 r·min⁻¹离心 20 min 获取上清, 超声破碎细胞后再次离心收集待测液。试剂盒提前 20 min 平衡至室温, 配制梯度标准品、1×生物素化抗体工作液、1×HRP 酶结合物工作液与 1×洗涤液; 每孔加入 100 μL 标准品或稀释后样本, 空白孔加入等量通用稀释液, 封板后 37 ℃孵育 60 min; 弃液后直接加入 100 μL 生物素化抗体工作液, 37 ℃孵育 60 min, 洗涤液洗板 3 次; 每孔添加 100 μL 酶结合物工作液, 37 ℃孵育 30 min, 洗板 5 次; 加入 90 μLTMB 底物 37 ℃避光显色 15 min, 最后加入 50 μL 终止液, 酶标仪于 450 nm 处测定各孔 OD 值, 依托标准曲线计算各指标浓度。所有样本均设置复孔, 实验重复三次。

1.2.7.2 海马体、胸腺和睾丸组织形态学观察

将胸腺和睾丸组织置于包埋盒中, 采用不同浓度的乙醇对组织进行脱水, 放入二甲苯中至透明, 浸蜡包埋,

切成 5 μm 薄片，进行苏木精和伊红（HE）染色，封片，光学显微镜下观察胸腺和睾丸病理形态。小鼠脑组织海马体用石蜡包埋、切片，片厚 6 μm，常规尼氏染色，中性树胶封固，高倍显微镜下观察各组小鼠海马神经元。

1.2.8 数据分析

本研究使用 Origin 2026 软件进行数据统计分析并进行绘图，每项实验均独立重复 3 次，所有数据以均数±标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，用单因素方差分析（One-Way ANOVA）进行多组间比较，以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果分析

2.1 猪胰脏酶解物基本成分分析

由表 3、4 检测结果显示，经碱性蛋白酶水解后获得的猪胰脏酶解物展现出优良的营养组分特征，每 100 g 样品中总氮含量达 12.10 g，总氨基酸含量为 52.40 g，其中生成的小分子肽含量高达 39.40 g；组分中天冬氨酸、谷氨酸、亮氨酸及赖氨酸等氨基酸储备充沛。同时，产物水分 4.50 g/100 g 和脂肪 0.40 g/100 g 含量极低，表现出高蛋白、高肽含量的生化特征。上述结果表明，碱性蛋白酶定向酶解有效释放了丰富的小分子肽与游离氨基酸，证实该酶解产物具备良好的功能营养基础，并能为后续 *S. xylosus* 的发酵增殖提供充足的氮源营养。

表 3 猪胰脏酶解物（样品 2）主要理化指标与营养成分分析

Table 3 Physicochemical indexes and main components of porcine pancreatic hydrolysates (Sample 2)			
Serial Number	Test Item	Test Result/(g/100 g)	Reference Method
1	水分	4.50	GB 5009.3-2016 第一法
2	总氮	12.10	GB 5009.5-2016 第一法
3	脂肪	0.40	GB 5009.6-2016 第二法
4	肽含量	39.40	GB/T 22492-2008 附录 B
5	16 种氨基酸总量	52.42	GB 5009.124-2016

注：表中数据为送交第三方权威检测机构、依据相应国家标准方法测得的批次定值结果。表中检测项目为各指标独立测定值，非彼此排他的常规概略分析（Proximate Analysis）独立组分。总氮为凯氏定氮法测得的元素氮质量；肽含量为 TCA 溶解后双缩脲法测得值；16 种氨基酸为完全酸水解后测得的总和。上述后三项存在包含与重叠关系，不可直接进行算术累加。

表 4 猪胰脏酶解物（样品 2）游离氨基酸组成分析

Table 4 Amino acid composition of porcine pancreatic hydrolysates (Sample 2)			
Serial Number	Test Item	Test Result/(g/100 g)	Reference Method
1	天冬氨酸	5.87	GB 5009.124-2016
2	苏氨酸	2.75	GB 5009.124-2016
3	丝氨酸	2.20	GB 5009.124-2016
4	谷氨酸	6.89	GB 5009.124-2016
5	脯氨酸	2.37	GB 5009.124-2016
6	甘氨酸	3.82	GB 5009.124-2016
7	丙氨酸	3.93	GB 5009.124-2016
8	缬氨酸	3.79	GB 5009.124-2016
9	蛋氨酸	1.15	GB 5009.124-2016
10	异亮氨酸	2.95	GB 5009.124-2016
11	亮氨酸	5.61	GB 5009.124-2016
12	酪氨酸	0.61	GB 5009.124-2016
13	苯丙氨酸	2.29	GB 5009.124-2016
14	赖氨酸	4.40	GB 5009.124-2016
15	组氨酸	1.42	GB 5009.124-2016
16	精氨酸	2.39	GB 5009.124-2016

注：表中数据为送交第三方权威检测机构、依据相应国家标准方法测得的批次定值结果；表中检测项目为各指标独立测定值，

非彼此排他的常规概略分析 (Proximate Analysis) 独立组分。总氮为凯氏定氮法测得的元素氮质量; 肽含量为 TCA 溶解后双缩脲法测得值; 16 种氨基酸为完全酸水解后测得的总和。上述后三项存在包含与重叠关系, 不可直接进行算术累加。

2.2 木糖葡萄球菌 YB-12 对发酵胰脏酶解物感官品质的影响

董颖颖等^[26]在发酵香肠的研究中发现, 接种 *S.xylosus* 可通过促使蛋白质和脂质适度降解产生丰富挥发性风味物质, 从而显著改善发酵肉制品的风味品质与感官接受度。但是目前, 有关 *S.xylosus* 发酵猪胰脏酶解物改善未发酵猪胰脏酶解物特有的特殊腥臭异味的研究鲜有报道。猪胰脏酶解物发酵前后的感官评价雷达图如图 1 所示。结果表明, 经 *S.xylosus* 两阶段发酵处理后, 样品 1 在气味、组织形态及综合感官品质方面的感官得分均较未经发酵处理的样品 2 发生了显著提升, 气味评分由未发酵时的 4.30 分提升至 15.90 分, 组织形态评分由未发酵时的 11.50 分提升至 16.20 分, 综合感官品质评分由 9.00 分提升至 15.50 分, 差异均具有统计学意义, $P<0.001$ 。

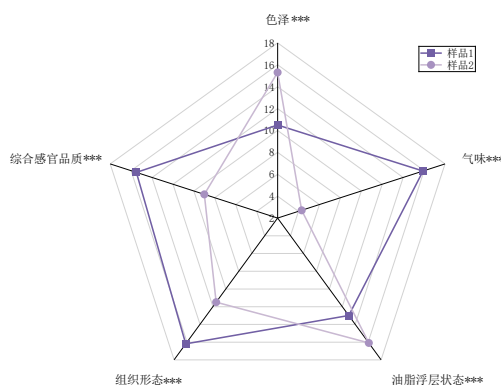


图 1 猪胰脏酶解物发酵前后感官雷达图

Fig.1 Radar chart of sensory characteristics before and after fermentation of pancreatic enzyme hydrolysates

注: 样品 1: 猪胰脏酶解发酵产物; 样品 2: 猪胰脏酶解物。

2.3 猪胰脏酶解物及其发酵产物对衰老小鼠体重及脏器指数影响

2.3.1 猪胰脏酶解物及其发酵产物对体重增长影响

实验期间, 各组小鼠体重均呈上升趋势如图 2, 但增长幅度存在明显差异。B 组体重持续增加, 表现出正常生长发育规律; M 组体重增长缓慢, 小鼠逐渐表现出活动减少, 毛色灰暗并渐有脱毛现象, 表明 D-半乳糖诱导的衰老模型建立成功。与 M 组相比, PC 组体重增长显著改善, 验证了实验体系的有效性。D1、D2、D3 均能不同程度促进模型小鼠体重增长, 与富含活性肽的猪胰脏酶解发酵产物浓度呈现明显的剂量依赖性, 其中 D3 组改善效果最为显著, 其终末体重接近 PC 组水平。NC 组也表现出一定促进作用。

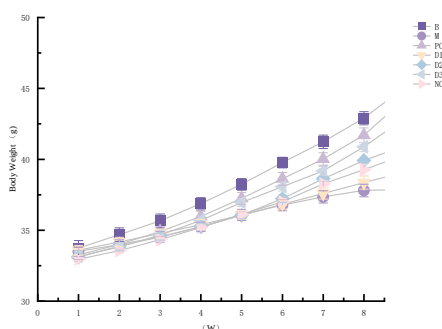


图 2 猪胰脏酶解物及其发酵产物对衰老小鼠体重变化的影响

Fig.2 Effects of porcine pancreatic hydrolysate and its fermented product on body weight in aging mice

注: B-空白组; M-模型组; PC-阳性对照组; D1-样品 1 低剂量组; D2-样品 1 中剂量组; D3-样品 1 高剂量组; NC-样品 2。

2.3.2 猪胰脏酶解物及其发酵产物对脏器重量影响

脏器重量可直观反映机体生理状态、造模有效性及受试物安全性^[29]。各组小鼠肝、脑、肾、睾丸、脾脏重量结果如图3。各组间的肝脏和大脑的脏器重量无统计学意义 ($P>0.05$)，而M组小鼠肾、睾丸和脾的脏器重量与B组相比均存在显著性差异 ($P<0.001$)，分别下降68.18%、65.71%、68.18%。不同剂量的胰脏酶解发酵产物对D-gal引起小鼠脏器的损伤起到不同程度的改善作用，且呈剂量关系。同时，D3组小鼠肾、睾丸和脾的脏器重量与模型组相比，分别升高35.87%、125.00%、139.29%，且差异显著 ($P<0.001$)，表明一定剂量的猪胰脏酶解发酵产物能显著增强小鼠的抗氧化、免疫防御与生殖保护综合能力。NC组也表现出一定的保护能力。张雪妍^[30]研究表明，动物源功能性寡肽能优先通过外周循环在免疫与生殖腺体富集，阻断脂质过氧化链式反应并促进基质细胞增殖，从而遏制靶器官的进行性退化。本实验中猪胰脏酶解发酵产物对脾脏、睾丸与肾脏重量的逆转，表明富含生物活性肽的猪胰脏酶解发酵产物对衰老机体的排泄、免疫及生殖机能退化具有针对性的修复与防护效能。

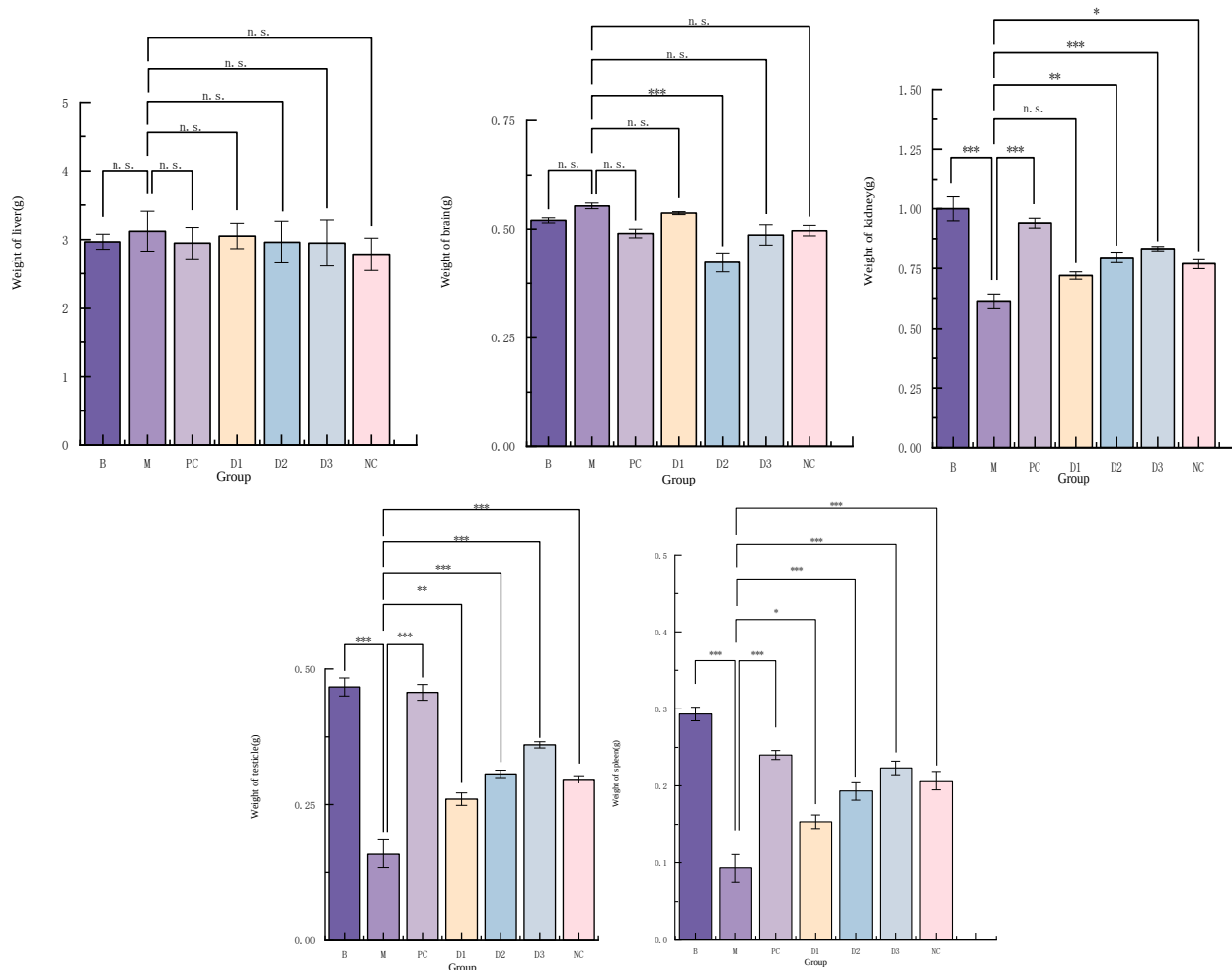


图3 猪胰脏酶解物及其发酵产物对衰老小鼠主要脏器重量的影响

Fig.3 Effects of porcine pancreatic hydrolysates and their fermented products on major organ weights of aging mice

注: B-空白组; M-模型组; PC-阳性对照组; D1-样品1低剂量组; D2-样品1中剂量组; D3-样品1高剂量组; NC-样品2。n.s.代表差异无统计学意义 ($P\geq 0.05$)、*代表差异具有统计学意义 ($P<0.05$)、**代表差异具有高度统计学意义 ($P<0.01$)、***代表差异具有极高度统计学意义 ($P<0.001$)。下图同。

2.4 猪胰脏酶解物及其发酵产物对衰老小鼠血清、肝脏、脾脏和脑组织中 SOD、GSH 以及 MDA 水平的影响

Hu 等^[31]研究表明，特定食源性活性肽（如 EDDQMDPMAK 和 QNWDFCEAWPCF）不仅能显著抑制细胞内一氧化氮 (NO)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 及白细胞介素-6 (IL-6) 等促炎因子的表达，还能有效降低活性氧 (ROS) 积累，显著提高超氧化物歧化酶 (SOD) 活性与谷胱甘肽 (GSH) 水平，展现出优异的抗氧化与抗炎协

同功效。据此本研究结果如图 4、5、6 所示,与 B 组相比, M 组小鼠血清、脑、肝脏、脾脏中的 MDA 含量明显增加,分别升高了 268.25%、89.90%、136.55%、122.40%,且均具有显著差异 ($P<0.001$)。同时 M 组小鼠血清、脑、肝脏、脾脏中的 SOD 和 GSH 水平均显著降低 ($P<0.001$),SOD 水平分别降低了 65.53%、51.78%、50.37%、45.44%;GSH 水平分别降低了 53.73%、52.31%、48.69%、50.09%,表明造模较成功。三个剂量 D1、D2、D3 可不同程度增强氧化损伤小鼠血清、脑、肝脏、脾脏中的 GSH 活性,并对于富含活性肽的猪胰脏酶解发酵产物呈现出明显的剂量依赖性;同时,三个剂量 D1、D2、D3 均可不同程度显著降低 ($P<0.05$, $P<0.01$, $P<0.001$) 氧化损伤小鼠血清、脑、肝脏、脾脏中的 MDA 含量,并显著增高 SOD 活性;其中, D3 组效果高度极显著 ($P<0.001$),其血清 SOD 活性和 GSH 水平较 M 组分别显著提升了 108.85%和 59.24%;脑 SOD 活性和 GSH 水平较 M 组分别显著提升了 79.55%和 63.29%;肝脏 SOD 活性 GSH 水平较 M 组分别显著提升了 57.64%和 60.19%,脾脏 SOD 活性和 GSH 水平较 M 组分别显著提升了 43.42%和 55.43%;同时氧化损伤小鼠血清、脑、肝脏、脾脏中的 MDA 含量分别大幅降低了 55.09%、28.25%、29.92%、35.69%;D3 组作用效果与 PC 组相当;NC 组也有一定的作用效果。本研究与 Hu 等^[31]的发现一致,进一步证实了氧化应激导致的系统性能量代谢紊乱可通过富含活性肽的猪胰脏酶解发酵产物干预得到逆转,且高剂量组通过显著下调 MDA 水平并恢复 SOD 与 GSH 活性,展现出优异的全身性抗氧化保护效能及明确的剂量依赖性。

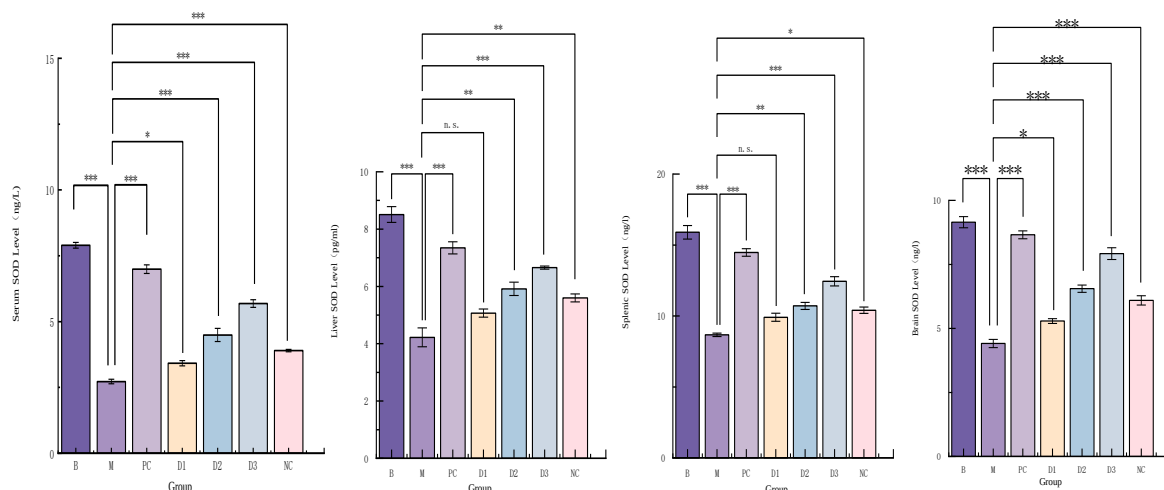


图 4 猪胰脏酶解物及其发酵产物对衰老小鼠血清、肝脏、脾脏、脑 SOD 水平影响

Fig.4 Effects of porcine pancreatic enzyme hydrolysates and their fermentation products on SOD levels in the serum, liver, spleen, and brain of aging mice

注: B-空白组; M-模型组; PC-阳性对照组; D1-样品 1 低剂量组; D2-样品 1 中剂量组; D3-样品 1 高剂量组; NC-样品 2。

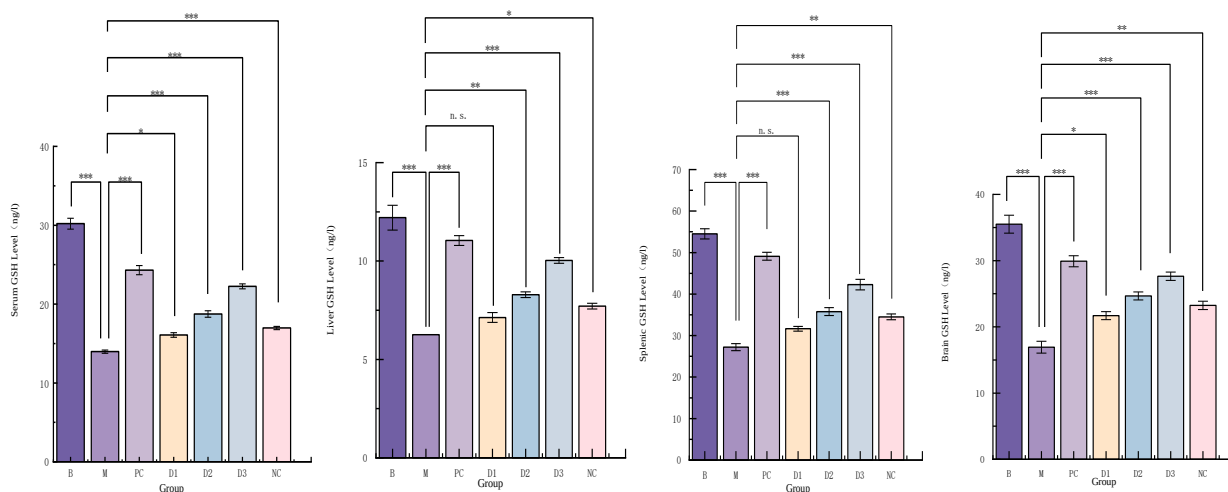


图 5 猪胰脏酶解物及其发酵产物对衰老小鼠血清、肝脏、脾脏、脑 GSH 水平影响

Fig.5 Effects of porcine pancreatic enzyme hydrolysates and their fermentation products on GSH levels in serum, liver, spleen, and brain of aging mice

注: B-空白组; M-模型组; PC-阳性对照组; D1-样品 1 低剂量组; D2-样品 1 中剂量组; D3-样品 1 高剂量组; NC-样品 2。

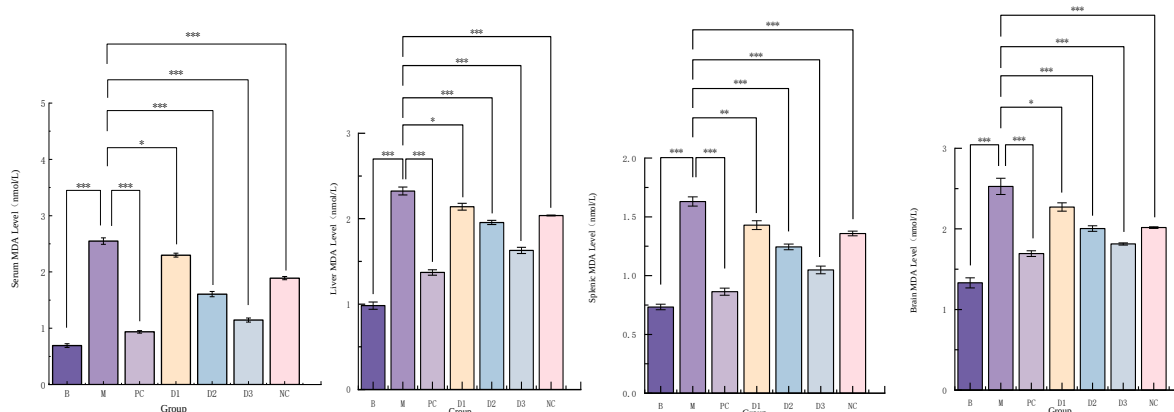


图 6 猪胰脏酶解物及其发酵产物对衰老小鼠血清、肝脏、脾脏、脑 MDA 水平影响

Fig.6 Effects of porcine pancreatic enzyme hydrolysates and their fermentation products on MDA levels in serum, liver, spleen, and brain of aging mice

注: B-空白组; M-模型组; PC-阳性对照组; D1-样品 1 低剂量组; D2-样品 1 中剂量组; D3-样品 1 高剂量组; NC-样品 2。

2.5 猪胰脏酶解物及其发酵产物对衰老小鼠血清、肝脏、脾脏和脑组织中 IL-6、TNF- α 水平的影响

如图 7、8 所示,与 B 组相比,M 组小鼠血清、肝脏、脾脏及脑组织中的 IL-6 与 TNF- α 水平均显著升高($P<0.001$),其中血清、肝脏、脾脏及脑组织中的 IL-6 分别升高了 696.55%、66.36%、86.46%、245.10%, TNF- α 分别升高了 197.46%、119.55%、177.78%、96.42%,表明 D-gal 诱导导致机体炎症反应增强,形成明显的炎症衰老状态。与 M 组比较,不同剂量的胰脏酶解发酵产物干预后血清、肝脏、脾脏及脑组织中的 IL-6 与 TNF- α 水平均可不同程度显著降低,并且表现出剂量依赖性;其中, D3 组对炎症因子具有极显著的抑制效应($P<0.001$),其血清 IL-6 与 TNF- α 分别降低了 58.01%和 37.89%;肝脏 IL-6 与 TNF- α 分别降低了 23.27%和 36.79%;脾脏 IL-6 与 TNF- α 分别降低了 30.14%和 44.80%;脑组织 IL-6 与 TNF- α 分别降低了 41.19%和 26.18%,表明高剂量富肽型猪胰脏酶解发酵产物可以缓解 D-gal 诱导的炎症,已接近阳性药组抑制效果;同时, NC 组也起到了一定效果。目前关于猪胰脏酶解发酵产物直接调控多器官炎症衰老的研究较少见,但类似研究表明,利用双酶(Alcalase 与 Protana Prime)深度水解动物副产物-猪血^[32]获取的富肽产物,能高度抑制 TNF- α 转换酶(TACE,抑制率达 50.79%),而 TACE 是促使膜结合型 TNF- α 剪切释放为可溶性活性促炎因子的关键限速酶。因此,本研究中猪胰脏酶解发酵产物对 TNF- α 及下游 IL-6 的强效抑制,其机制可能是通过酶解片段阻断了 TACE 介导的促炎因子剪切释放,或间接抑制了 NF- κ B 炎症信号通路的激活。但该机制目前尚属基于表型的合理推测,缺乏直接生化证据,需在后续工作中通过 Western Blot 及 RT-qPCR 等分子生物学手段对关键靶点蛋白及转录因子进行直接验证。

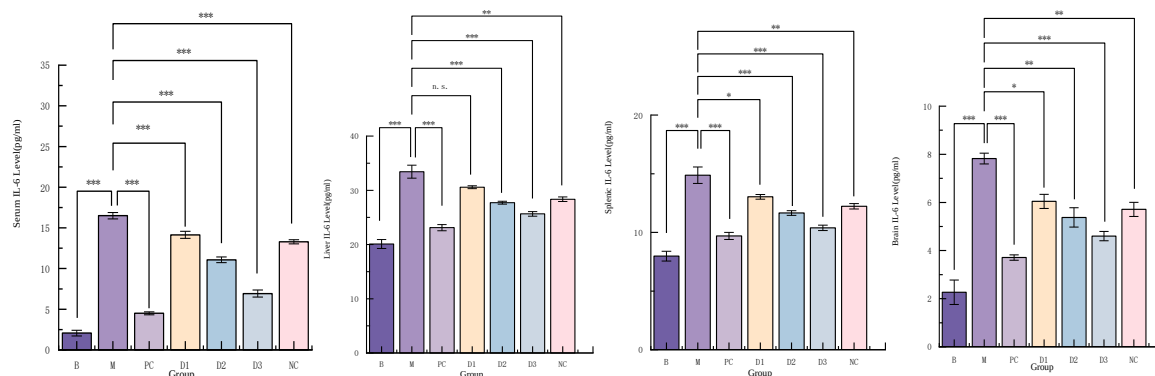


图 7 猪胰脏酶解物及其发酵产物对衰老小鼠血清、肝脏、脾脏、脑 IL-6 水平影响

Fig.7 Effects of porcine pancreatic enzyme hydrolysates and their fermentation products on IL-6 levels in serum, liver, spleen, and brain of aging mice

注: B-空白组; M-模型组; PC-阳性对照组; D1-样品 1 低剂量组; D2-样品 1 中剂量组; D3-样品 1 高剂量组; NC-样品 2。

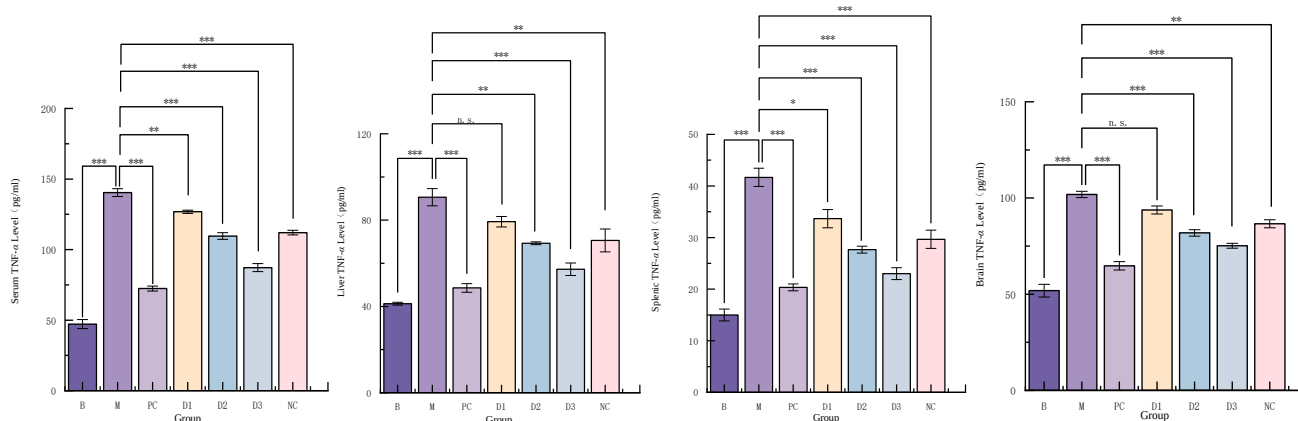


图 8 猪胰脏酶解物及其发酵产物对衰老小鼠血清、肝脏、脾脏、脑 TNF- α 水平影响

Fig.8 Effects of porcine pancreatic enzyme hydrolysates and their fermentation products on TNF- α levels in serum, liver, spleen, and brain of aging mice

注: B-空白组; M-模型组; PC-阳性对照组; D1-样品 1 低剂量组; D2-样品 1 中剂量组; D3-样品 1 高剂量组; NC-样品 2。

2.6 衰老小鼠胸腺组织切片观察

如图 9 所示, B 组小鼠胸腺组织结构完整、轮廓清晰, 外层皮质区内未成熟胸腺淋巴细胞密集排列且深染, 皮质与髓质交界清晰分明; M 组衰老模型小鼠胸腺呈现出显著的退行性萎缩表型, 皮质区淋巴细胞数量大幅脱失、排列疏松, 基质淡染区扩大且皮髓质界限模糊, 伴随明显的网状细胞暴露及空泡样组织退变; 经不同剂量猪胰脏酶解发酵产物干预后, 胸腺退行性改变获梯度改善, 其中 D3 组小鼠胸腺皮质厚度显著恢复, 淋巴细胞重新呈高密度致密浸润深染, 皮质与髓质结构层次规整, 其形态学表现高度趋近于 B 组与 PC 组, 且改善程度优于 NC 组。上述胸腺实质结构的维持, 印证了 Barbouti 等^[33]关于抗氧化活性物质可有效抑制胸腺退化、维护微环境内淋巴细胞池储备的论断; 切片表型提示, 高剂量猪胰脏酶解发酵产物能够有效改善 D-半乳糖引起的胸腺细胞坏死与组织架构松散, 在组织病理学水平表现出延缓中枢免疫器官退行性衰老的保护效应。

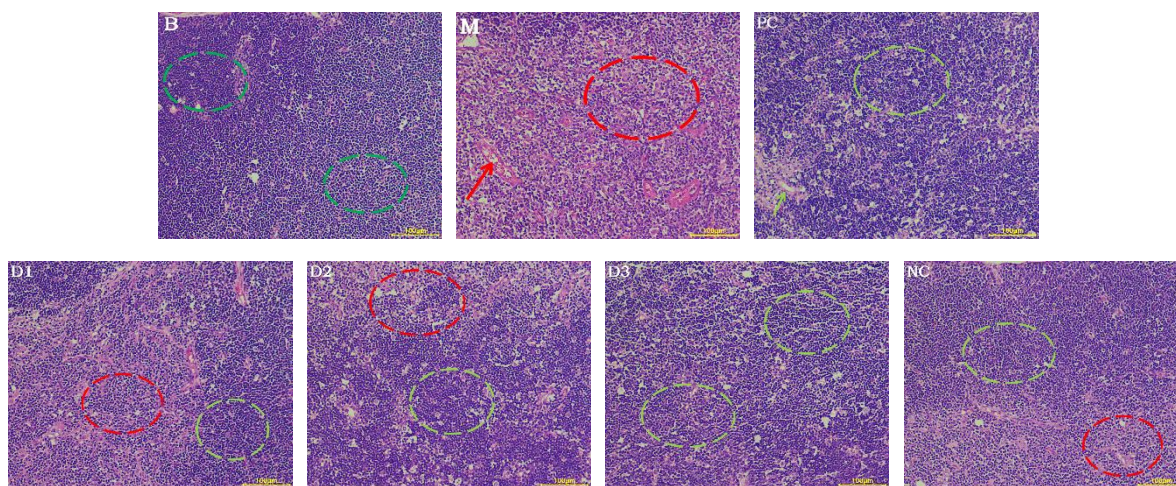


图 9 小鼠胸腺组织病理切片图 (HE 染色, $\times 20$)

Fig.9 Histological sections of mouse thymus tissue (HE staining, $\times 20$)

注: B-空白组; M-模型组; PC-阳性对照组; D1-样品 1 低剂量组; D2-样品 1 中剂量组; D3-样品 1 高剂量组; NC-样品 2; 图中红色虚线圈、红色箭头所示为胸腺淋巴细胞疏松脱失、基质网状暴露及血管周围退变区; 绿色虚线所示为胸腺皮质区淋巴细胞高密度紧密浸润且深染的正常或恢复结构。

2.7 衰老小鼠睾丸组织切片观察

Zhang 等^[34]研究表明,动物源小分子多肽能够改善生殖腺微循环及氧化应激状态,维持生精小管细胞层次完整并抑制生精细胞过度凋亡。如图 10 所示,B 组小鼠睾丸生精小管轮廓规则、排列紧密,生精上皮结构完整,生精细胞层次丰富且排列致密有序,管腔内充盈着大量呈放射状分布的成熟精子束;M 组衰老模型小鼠生精小管发生退行性萎缩,管间隙显著增宽,管壁生精细胞层次明显变薄、排列疏松,管腔内成熟精子数量锐减而呈现明显的管腔空虚表型;经不同剂量猪胰脏酶解发酵产物干预后,各组小鼠睾丸病理损伤呈现出良好的梯度改善趋势,生精小管间隙逐渐收紧,生精细胞层次与排列密度逐步恢复;其中高剂量 D3 组生精小管轮廓饱满,生精上皮厚度增加,管腔内再次被高密度的成熟精子密集充填,组织形态高度趋近于正常 B 组与 PC 组,NC 组亦表现出一定的形态改善作用。生精上皮富含多不饱和脂肪酸,对 D-半乳糖介导的氧化应激极其敏感;上述生精小管结构的恢复与 Zhang 等^[34]关于动物源小分子多肽减轻生殖腺氧化损伤、抑制生精细胞过度凋亡的研究结果相互呼应,证实猪胰脏酶解发酵产物通过遏制生精上皮退变与精子生成阻滞,对衰老所致的睾丸组织病理损伤及生精功能退化发挥了良好的保护作用。

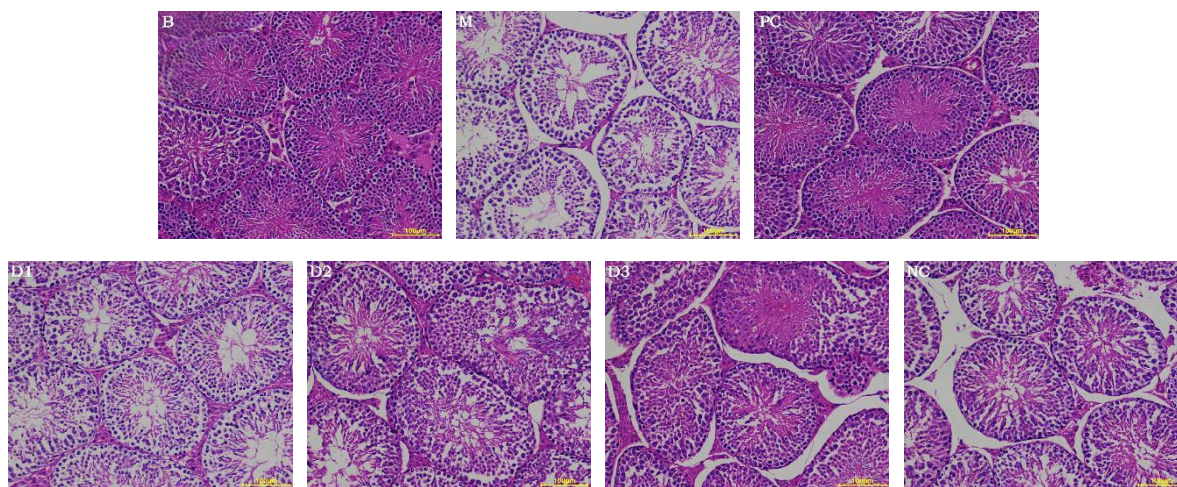


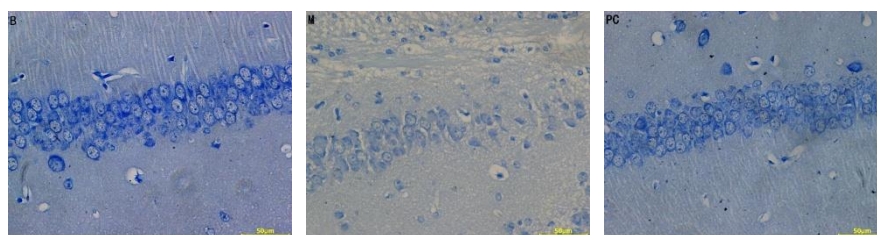
图 10 小鼠睾丸组织病理切片图 (HE 染色, ×20)

Fig.10 Pathological Section Images of Mouse Testis Tissue (HE staining, ×20)

注: B-空白组; M-模型组; PC-阳性对照组; D1-样品 1 低剂量组; D2-样品 1 中剂量组; D3-样品 1 高剂量组; NC-样品 2。

2.8 衰老小鼠海马体组织切片观察

Wang 等^[35]研究发现,小分子抗氧化肽干预可显著逆转衰老小鼠海马区神经元变性与核固缩,促进尼氏小体合成。本研究如图 11 所示,B 组小鼠海马体神经元数量丰富、排列紧密有序,神经元胞体饱满、界限清晰,胞质内充满大量深蓝色块状尼氏小体,呈均一密集分布。M 组衰老模型小鼠出现明显的神经元脱落与丢失,细胞排列稀疏紊乱且间隙增宽,胞质内尼氏小体弥散溶解、染色浅淡且结构模糊,表明 D-半乳糖诱发的系统性氧化应激已导致神经元粗面内质网严重受损及蛋白质合成代谢发生障碍。经猪胰脏酶解发酵产物干预后,小鼠海马神经损伤呈现出明确的剂量依赖性改善趋势,特别是 D3 组神经元密集排列、胞体充盈,胞质内尼氏小体数目显著增多且着色致密深染,其形态特征已高度趋近于 B 组与 PC 组;NC 组也有一定的改善作用。这一现象与 Wang 等^[35]研究相契合,表明猪胰脏酶解发酵产物能够有效抑制衰老小鼠海马神经元的固缩与脱落,通过维持胞内尼氏体结构及蛋白质合成微环境的稳态,在组织形态层面发挥出对脑实质退行性病变的改善作用。



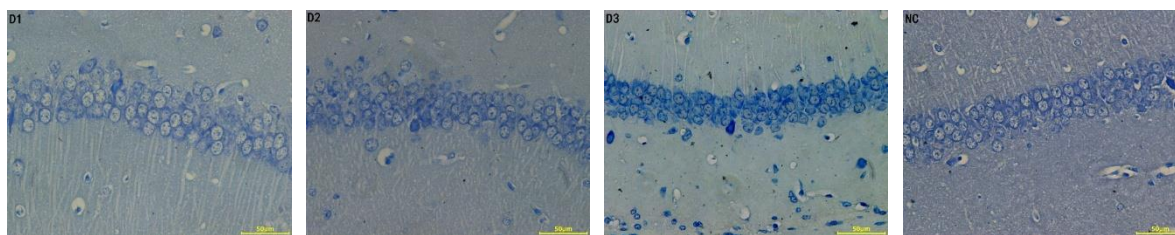


图 11 小鼠海马体组织病理切片图(尼氏染色, ×20)

Fig.11 Pathological section images of mouse hippocampal tissue (Nissl staining, x20)

注: B-空白组; M-模型组; PC-阳性对照组; D1-样品 1 低剂量组; D2-样品 1 中剂量组; D3-样品 1 高剂量组; NC-样品 2。

3 结论与讨论

本研究针对传统猪胰脏酶解物异味严重、应用受限的难题,构建了酶解-发酵联用工艺,并系统评价了其体内生物活性:(1)木糖葡萄糖菌两阶段发酵工艺有效消除了原料特有的腥臭异味,显著提升了感官接受度,且发酵过程并未降低猪胰脏酶解物固有的抗衰老生物活性。(2)猪胰脏酶解发酵产物通过提高多组织中 SOD 活性与 GSH 水平、降低 MDA 含量激活内源性抗氧化防御;通过显著下调血清及组织中促炎因子 IL-6 和 TNF- α 水平抑制慢性炎症级联;通过提升免疫与生殖脏器系数,减轻胸腺脂肪浸润、改善睾丸生精小管萎缩及抑制脑海马神经元丢失发挥多器官病理损伤保护效应,从而多途径协同延缓 D-半乳糖诱导的衰老进程。(3)本研究工艺实现了动物腺体副产物脱腥增香与活性护损的有机统一,为猪胰脏的高值化精深加工及新型抗衰老功能性食品的研发提供了重要实验依据。

衰老进程中常伴随代谢紊乱与器官器质性萎缩。本研究中, D-半乳糖模型组小鼠体重增长显著迟缓,毛色暗哑脱落,且睾丸、脾脏及肾脏重量发生萎缩性降低,这与已报道的 D-半乳糖诱发组织细胞微循环障碍和蛋白质分解代谢亢进表型一致^[36]。经猪胰脏酶解发酵产物干预后,小鼠终末体重明显回升并表现出剂量依赖性趋势,各靶器官萎缩程度得到显著遏制。组织病理学结果进一步表明,猪胰脏酶解发酵产物干预后,衰老小鼠胸腺脂肪浸润显著减少,睾丸曲细精管生精细胞排列趋于致密,且海马 CA1 区神经元核固缩与尼氏体溶解现象明显得到缓解。陈露露^[37]在细胞水平的研究表明,猪源抗氧化寡肽 GAPGPVGP 可通过提高抗氧化酶活性、调控 MAPK 及 PI3K-Akt 通路来抑制细胞凋亡。本研究在整体动物水平观察到的多组织细胞结构改善,表型上与此类活性肽抗细胞凋亡的生物学效应相一致,提示猪胰脏酶解发酵产物对器官损伤的保护作用可能同样与阻断氧化应激诱导的细胞损伤通路有关,但具体的下游信号靶点仍有待进一步通过分子生物学实验深入确证。多器官组织细胞形态的良好维持,与其体内氧化还原平衡的重建密切相关。超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽(GSH)构成了细胞清除超氧阴离子及氢过氧化物的第一道防御防线,而丙二醛(MDA)作为多不饱和脂肪酸过氧化的终产物,其积累会加剧细胞膜结构流动性丧失及蛋白质变性^[38]。本研究表明,高剂量猪胰脏酶解发酵产物使小鼠血清及脑组织中 SOD 活性分别提升 108.85%和 79.55%,GSH 水平显著提升,MDA 含量分别下降 55.09%和 28.25%,表明该产物能重建外周循环与神经中枢的抗氧化屏障。在促炎因子方面,衰老引发的线粒体 ROS 突增会持续活化 NF- κ B 经典信号转导通路,诱导下游促炎介质 IL-6 与 TNF- α 的大量释放,进而加剧组织细胞坏死与炎症浸润^[39]。本研究中猪胰脏酶解发酵产物干预显著逆转了血清与组织中促炎因子的异常分泌,TNF- α 与 IL-6 分别下降达 37.89%与 58.01%。这与 Kim 等^[40]报道的动物源低分子量水解物通过抑制 MAPKs 与 NF- κ B 信号通路发挥抗氧化及下调促炎介质表达的生物学效应相一致,提示发酵工艺修饰有效保留了富肽型猪胰脏酶解发酵产物的抗炎功能基质,其抑制体内炎症因子的深层机制可能亦与调控上述炎症转录通路相关。

尽管本研究在整体动物水平上系统阐明富含生物活性肽的猪胰脏酶解发酵产物的抗衰老混合功效,但要实现其临床转化与工业化精准应用,仍有以下几个深层科学问题有待后续实验开展更细致的剖析:(1)在实验分组设计上,本研究设立低剂量猪胰脏酶解物(NC 组)作为对照,证实了两阶段发酵并未破坏原料固有的生物活性;然而,NC 组仅设置了低剂量,未能与高剂量猪胰脏酶解发酵产物(D3 组)建立平行的高浓度对照,无法充分比较二者在高给药剂量下生物功效上限的差异。这一设计构成了一定的局限性,后续研究需建立完整的猪胰脏酶解物全剂量梯队,以开展更为系统和严密的横向药效动力学对比。(2)本研究评价的对象为猪胰脏酶解发酵产物的全组分混合物,包含多肽、游离氨基酸及脂质等多种组分。目前尚未将特定的生物活性肽单体分离纯化,猪胰脏

酶解发酵产物中究竟是哪些特征短链肽（如二肽、三肽或特定核心寡肽序列）穿透肠上皮屏障直接发挥主要的抗氧化与抑炎作用，其精确的分子量分布与空间构象如何，尚不明确。这构成了本研究物质基础阐明方面的局限性。未来亟需借助超高效液相色谱-串联质谱（UPLC-MS/MS）与多肽组学（Peptidomics）开展高通量序列鉴定，并通过固相合成单体肽段在细胞模型上完成功能对标与构效关系解析。（3）组织病理学与生化指标的改善提示该发酵产物具有显著的抗氧化与抑炎效能，但其在靶器官细胞内的具体信号传导网络尚未完全阐明。文中关于抑制促炎因子级联释放的推测尚缺乏直接的分子生物学证据。后续研究需借助 Western Blot 与 RT-qPCR 等技术手段，直接验证该发酵产物是否通过激活 Keap1-Nrf2/ARE 通路增强抗氧化酶基因的转录表达，或通过抑制 I κ B α 磷酸化阻断 NF- κ B p65 转录因子的核转位，从而在转录调控层面系统阐明其分子作用靶点。（4）外源性功能成分经口摄入后需经历胃肠道消化酶系的次级剪切。后续有必要引入体外模拟胃肠消化模型（in vitro GI digestion），动态监测发酵产物在胃酸、胃蛋白酶及胰蛋白酶消化下的结构稳定性与生物利用度；同时，鉴于“肠-脑轴”和“肠-生殖轴”在机体衰老调控中的关键作用，后续工作应结合 16S rRNA 测序与靶向代谢组学技术，深入分析该产物对肠道微生物菌群结构及短链脂肪酸（SCFAs）代谢轮廓的调节效应，进一步探究其是否依托改善肠道微环境稳态间接延缓多器官的退行性病变

参考文献

- [1] FANG E F, FANG Y, CHEN G, et al. Adapting health, economic and social policies to address population aging in China [J]. *Nature Aging*, 2025, 5(2): 2176-2187.
- [2] 宋敏,胡康一,宋婷,等.免疫衰老与炎症衰老驱动骨质疏松症的机制进展[J].*中华骨质疏松和骨矿盐疾病杂志*,2026,19(1):100-108.
- [3] MÜLLER L, DI BENEDETTO S. Immunosenescence and inflammaging: mechanisms and modulation through diet and lifestyle [J]. *Frontiers in Immunology*, 2025, 16: 1708280.
- [4] KUMAR P, LIU C, SULIBURK J, et al. Supplementing glycine and n-acetylcysteine (glynac) in older adults improves glutathione deficiency, oxidative stress, mitochondrial dysfunction, inflammation, physical function, and aging hallmarks: a randomized clinical trial [J]. *The Journals of Gerontology: Series A*, 2023, 78(1): 75-89.
- [5] GUO J, HUANG X, DOU L, et al. Aging and aging-related diseases: from molecular mechanisms to interventions and treatments [J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2022, 7(1): 391.
- [6] WANG Z, GE S, LIAO T, et al. Integrative single-cell metabolomics and phenotypic profiling reveals metabolic heterogeneity of cellular oxidation and senescence [J]. *Nature Communications*, 2025, 16(1): 2740.
- [7] FANG S H, JIANG M J, JIAO J, et al. Unraveling the ros-inflammation-immune balance: a new perspective on aging and disease [J]. *Aging and Disease*, 2026, 17(1): 305-325.
- [8] ZHANG Z, GUO L, YANG F, et al. Adiponectin attenuates splenectomy-induced cognitive deficits by neuroinflammation and oxidative stress via tlr4/myd88/nf- κ b signaling pathway in aged rats [J]. *ACS Chemical Neuroscience*, 2023, 14(10): 1799-1809.
- [9] 徐灿丽,何文星,王玉萍,等.核因子 κ B 激活激酶在自身免疫、肿瘤防治等领域的研究脉络与趋势[J].*中国组织工程研究*,2026,30(28):7456-7464.
- [10] DI CARLO E, SORRENTINO C. Oxidative stress and age-related tumors [J]. *Antioxidants*, 2024, 13(9): 1109.
- [11] HAJAM Y A, RANI R, GANIE S Y, et al. Oxidative stress in human pathology and aging: molecular mechanisms and perspectives [J]. *Cells*, 2022, 11(3): 552.
- [12] 董俊峰,齐海深,张春晓,等.酶解鲍内脏蛋白替代鱼粉对花鲈生长、肝脏抗氧化及肠道健康的影响[J].*水生生物学报*,2026,50(6):26-35.
- [13] 崔昱清,王复龙,崔保威,等.牛胰脏组织蛋白酶 L 的纯化和酶学性质[J].*食品科学*,2015,(15):142-146.
- [14] 杨中华,张鹏霞,夏佳琪.生物活性肽在生物医学领域的应用[J].*中国生物化学与分子生物学报*,2026,42(5):742-753.
- [15] 张昱婷,牛占占,黄玉清,等.畜禽内脏源生物活性肽的制备、活性分析及构效关系的研究进展[J].*现代食品科技*,2024,40(7):343-352.
- [16] CHEN H, SUN J, FANG H, et al. Food-derived bioactive peptides: health benefits, structure-activity relationships, and translational prospects [J]. *Journal of Zhejiang University-Science B (Biomedicine & Biotechnology)*, 2025, 26(12): 1037-1058.
- [17] 赵怡童,伍秋祥,王俊驰,等.食药同源生物活性肽的挖掘及生产技术研究进展[J].*中国生物工程杂志*,2026,46(4):43-62.
- [18] 宋萌佳,宇光海,潘龙,等.牛乳酪蛋白源生物活性肽的研究进展[J].*中国调味品*,2024,49(7):214-220.

- [19] SUN SL, ZHANG H, SHAN K, et al. Effect of different cereal peptides on the development of type 1 diabetes is associated with their anti-inflammatory ability: *in vitro* and *in vivo* studies [J]. Molecular Nutrition and Food Research, 2019, 63(11): e1800987.
- [20] ELBIRA A, HERNÁNDEZ-ÁLVAREZ A J, BOESCH C. Enhanced bioactive peptide release from pre-hydrolysed pea protein: impact of pepsin digestion on antidiabetic and antihypertensive functions [J]. Foods, 2025, 14(19): 3306.
- [21] 陈超,焦宇珊,唐文胜,等.乳酸菌与木糖葡萄糖球菌复配发酵剂调控发酵香肠品质、脂肪酸代谢与挥发性风味物质形成[J/OL].食品工业科技,1-22[2026-05-30].
- [22] AHMED A Z, JESUS S G, EUN J B, et al. Bioactivities, applications, safety, and health benefits of bioactive peptides from food and by-products: a review [J]. Frontiers in Nutrition, 2022, 8: 815640.
- [23] WANG H, ZHAO S Q, XIA X F, et al. Interaction of the extracellular protease from *Staphylococcus xylosus* with meat proteins elucidated via spectroscopic and molecular docking [J]. Food Chemistry: X, 2024, 21: 101204.
- [24] SHI Z H, WU L H, FAN X K, et al. Impact of inoculating *Staphylococcus xylosus* CICC21445 and *Staphylococcus vitulinus* CICC10850 on lipid metabolism and flavor development in dry-cured duck [J]. Food Bioscience, 2024, 61: 104864.
- [25] 黄静,后鹏飞,胡继贵,等.混合接种木糖葡萄糖球菌和肉葡萄糖球菌对腊肉品质的影响[J].食品与发酵科技,2025,61(5):50-57.
- [26] 董颖颖,刘莹,栗晓东,等.木糖葡萄糖球菌 YCC3 对发酵香肠品质的影响[J].肉类研究,2025,39(9):35-42.
- [27] REAGAN-SHAW S, NIHAL M, AHMAD N. Dose translation from animal to human studies revisited [J]. The FASEB Journal, 2007, 22(3): 659-661.
- [28] 于俊飞,周建中,张可洋,等.靶向代谢组学分析阿勒泰羊臀脂与分提产物对小鼠盲肠短链脂肪酸的影响[J].食品与发酵工业,2026, 52(6): 182-191.
- [29] MAZUKINA E V, IZUROVA E A, SULTANOVA K T. Use of absolute weights and mass coefficients of beagle dog internal organs relative to body and brain weights in preclinical studies [J]. Ветеринарная патология, 2025, 24(1): 7-14.
- [30] 张雪妍.牡蛎活性肽对雄性小鼠生殖功能损伤的保护作用及机制[D].湛江:广东海洋大学,2022.
- [31] HU S, YUAN J L, GAO J Y, et al. Antioxidant and anti-inflammatory potential of peptides derived from *in vitro* gastrointestinal digestion of germinated and heat-treated foxtail millet (*Setaria italica*) proteins [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(35): 9415-9426.
- [32] MORENO-MARISCAL C, MORONI F, PÉREZ-SÁNCHEZ J, et al. Enzymatic hydrolysis of porcine blood as a strategy to obtain a peptide-rich functional ingredient [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2025, 26(20): 9863.
- [33] BARBOUTI A, VASILEIOU P V S, EVANGELOU K, et al. Implications of oxidative stress and cellular senescence in age-related thymus involution (review) [J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2020, 2020: 7986071.
- [34] ZHANG X Y, PENG Z L, ZHENG H N, et al. The potential protective effect and possible mechanism of peptides from oyster (*Crassostrea hongkongensis*) hydrolysate on triptolide-induced testis injury in male mice [J]. Marine Drugs, 2021, 19(10): 566.
- [35] WANG Y Z, WANG Z H, GUO S Y, et al. Svlrsp alleviates age-related cognitive deficiency by reducing oxidative stress and neuroinflammation [J]. Antioxidants (Basel, Switzerland), 2024, 13(6): 628.
- [36] 王柏惠,王经,王琦,等.D-半乳糖致心脏衰老动物模型的建立及评估[J].华中科技大学学报(医学版),2025,54(2):211-216.
- [37] 陈露露.猪骨酶解产物中抗氧化肽的分离鉴定及其特性研究[D].郑州:河南工业大学,2025.
- [38] 钱桂凤,李虹竹,赵玮璇,等.火针膏肓穴对慢性疲劳综合征大鼠血清 SOD、MDA 及 GSH-Px 的影响[J].中华中医药杂志,2018,33(8):3291-3294.
- [39] 陈施静,林夏鸿.能量代谢与衰老的研究进展[J].中国医学前沿杂志(电子版),2026,18(4):9-16,79.
- [40] KIM H-J, KIM K-W, LEE J, et al. Low-molecular-weight hydrolysate from black goat extract had antioxidative and anti-inflammatory effects in macrophage cells via inhibition of MAPKs and NF- κ B pathways [J]. Journal of Food Biochemistry, 2024, 2024(1): 1-14.