

# 猪股骨头胶原蛋白水解产物的降血压作用

陈 硕, 李 诚\*, 李 娜, 付 刚  
(四川农业大学食品学院, 四川 雅安 625014)

**摘 要:** 为了探讨猪股骨头胶原蛋白水解产物对自发性高血压大鼠(SHR)血压的影响, 先后进行单次灌胃和连续灌胃实验。先将SHR随机分为8组, 每组8只: 阴性对照组灌胃蒸馏水, A、B、C、D、E、F实验组分别按照20、30、40、50、60、70mg/kg剂量灌胃猪股骨头胶原蛋白水解产物, 阳性对照组灌胃10mg/kg卡托普利, 灌胃后每2h采用尾动脉无创测压法分别测定各组SHR尾动脉收缩压。选取降压效果较好的3个胶原蛋白水解产物实验组作为连续灌胃的实验组, 同时设阴性对照组和阳性对照组, 分别灌胃蒸馏水和10mg/(kg·d)卡托普利, 每组8只, 每天灌胃, 连续灌胃30d。每5d测量收缩压(SBP)和舒张压(DBP)的变化。结果表明: 与阴性对照组相比, B、D、F剂量组降压效果较优, 选为连续灌胃的低、中、高剂量组; 连续灌胃高、中、低剂量猪股骨头胶原蛋白水解产物均可极显著( $P<0.01$ )的降低SHR的SBP和DBP。猪股骨头胶原蛋白水解产物能够显著降低SHR的血压。

**关键词:** 猪股骨头; 胶原蛋白水解物; 血压

## Anti-hypertension Effect of Swine Femur Head Collagen Peptide

CHEN Shuo, LI Cheng\*, LI Na, FU Gang  
(College of Food Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

**Abstract:** To investigate the effect of collagen hydrolysates from swine femur head on the blood pressure of spontaneous hypertension rats (SHRs), 64 SHRs were randomly divided into 8 groups with 8 rats in each group. Six of these groups were administrated with 20, 30, 40, 50, 60 mg/kg and 70 mg/kg body weight of the hydrolysates. Negative control was orally administrated with the same volume of vehicle (distilled water) and positive control was administrated with 10 mg/kg body weight of captopril. After administration, the systolic pressure of rats was measured every two hours to determine the anti-hypertension effectiveness of collagen hydrolysates. The results obtained showed that oral administration of the hydrolysates at doses of 30, 50 mg/kg and 70 mg/kg body weight significantly lowered the systolic pressure of SHRs, which were then used as low, medium and high doses of hydrolysates for further study. In the next study, 8 rats in each group were then administrated with 30, 50 mg/(kg·d) and 70 mg/(kg·d) of the collagen hydrolysates or equal volume of distilled water (negative control) or 10 mg/(kg·d) of captopril (positive control) for 30 days. The systolic pressure and diastolic pressure of rats were measured every 5 days. The results showed that, compared to negative control, all three doses of hydrolysates significantly decreased both systolic and diastolic pressure of rats ( $P < 0.01$ ), showing its anti-hypertension property which might be used for human health care.

**Key words:** swine femur head; collagen hydrolysates; blood pressure

中图分类号: TS251.94

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)11-0285-03

doi:10.7506/spkx1002-6630-201311061

高血压病是一种常见的多发病, 据推测目前世界1/4的成年人患有高血压, 这一数据预计到2025年会增加到30%<sup>[1]</sup>。全球约有760万人由于高血压病早逝, 约占全球病死率13.5%; 由高血压引起的卒中和缺血性心脏病分别达54%和47%<sup>[2]</sup>。高血压病已成为一个十分严重的社会公共卫生问题。天然食品中的降血压肽通常是由蛋白质水解酶在温和条件下水解蛋白质而获得的一类多肽, 具有降压效果且无副作用。许多动物、植物、微生物蛋白及

发酵食品中都含有丰富的降血压肽, 目前已成功地从牛奶、鱼、贝、鸡蛋、大豆、清酒和酒粕、玉米、麦胚等食物中分离出了各种不同的ACE抑制肽<sup>[3-6]</sup>。

我国是一个畜牧业大国, 在肉类生产中, 每年产生近2000万t的各类畜禽骨, 绝大多数的畜禽骨没有得到充分利用<sup>[7]</sup>。这不仅浪费了宝贵的蛋白质资源, 而且对环境造成严重的污染。目前, 对骨的开发利用多集中在对骨钙研究, 而骨蛋白质多集中于调味品和营养强化方面的

收稿日期: 2012-03-09

作者简介: 陈硕(1987—), 女, 硕士研究生, 研究方向为畜产品加工与质量安全。E-mail: 123783208@qq.com

\*通信作者: 李诚(1964—), 男, 教授, 硕士, 研究方向为动物性食品加工与质量安全控制。E-mail: lichenglcp@163.com

研究开发<sup>[8-9]</sup>,而功能性方面的深入研究报道较少。利用现代高新技术开发高附加值的降压产品,进一步提高副产物的利用率,对副产制品的工业化和生态环境保护都具有重要意义。

根据本实验前期研究,与猪骨其他部位比较,猪股骨头胶原蛋白水解物具有较好的短期降压效果。因此本实验选用猪股骨头制备胶原多肽,以自发性高血压大鼠(SHR)血压为指标,确定降压效果最佳的猪股骨头胶原蛋白多肽浓度,并通过连续灌胃实验验证其长期降压效果,为进一步研究利用猪股骨头胶原蛋白开发降压产品提供参考和实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

新鲜猪股骨头购自雅安农贸市场。

胰蛋白酶(Trypsin 1:250) 美国Amresco公司;卡托普利(Captopril) 汕头金石制药厂。

SHR,雌性,10周龄,体质量(165±10)g,购自北京维通利华公司。

### 1.2 仪器与设备

BP-98A智能无创血压计 日本Softron公司;BR4i型多功能冷冻离心机、POWERDRY PL 3000冻干机 美国Thermo公司;UV-2102 PCS型紫外-可见分光光度计 美国Unico公司;超滤离心管(膜截留分子量5000、10000D) 美国Millipore公司;数显恒温水浴锅 中国金坛市富华仪器有限公司;BT-12S电子天平 德国Sartorius公司;数显恒温水浴锅 中国金坛市富华仪器有限公司;PHS-3C酸度计 中国方舟科技公司;海尔卧式冷藏冰柜 中国青岛海尔集团。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 猪股骨头胶原多肽制备

猪股骨头胶原蛋白多肽参照魏庭浩<sup>[10]</sup>的方法,将新鲜猪股骨头进行碎骨、脱脂、浸酸、浸灰和中和淌干后,用0.5%的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>在100℃、pH8.0条件下处理7h提取胶原蛋白,再采用胰蛋白酶在温度50℃、pH7.5、底物质量分数6%、酶底比8000U/g的条件下酶解猪骨胶原蛋白6h。采用超滤分级的方法分离纯化酶解液中的降血压肽,取超滤离心后分子量小于5000D的肽段冷冻干燥后制得。

#### 1.3.2 单次灌胃实验

将SHR适应性喂养1周后,随机分为8组,每组8只:阴性对照组(NC)灌胃蒸馏水;A、B、C、D、E、F组,分别按20、30、40、50、60、70mg/kg剂量灌胃猪股骨头胶原蛋白水解产物(用蒸馏水溶解);阳性对照组(PC)灌胃10mg/kg卡托普利悬浊液。灌胃前用尾动脉血压测量器测定每只SHR尾动脉血压,然后空腹灌胃相应剂量溶液,

灌胃后每2h分别测定各组SHR尾动脉收缩压。选取降压效果较好的3个剂量组作为连续灌胃的实验组。

#### 1.3.3 连续灌胃实验

将SHR适应性喂养1周后,随机分成5组,每组8只:阴性对照组(NC)灌胃蒸馏水;实验组为低剂量组(L)、中剂量组(M)、高剂量组(H),按照30、50、70mg/(kg·d)剂量灌胃猪骨胶原蛋白水解产物(用蒸馏水溶解);阳性对照组(PC)灌胃10mg/(kg·d)卡托普利悬浊液。每天同一时间空腹灌胃相应剂量溶液,每5d采用尾动脉血压测量器分别测定各组SHR尾动脉血压(灌胃前测量)。连续灌胃30d。

#### 1.4 数据统计

尾动脉血压用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间数据进行独立样本 $t$ 检验,组内数据进行配对样本 $t$ 检验,采用双尾检验, $P < 0.05$ 时显著, $P < 0.01$ 时极显著。所有统计分析采用SPSS17.0软件计算。

## 2 结果与分析

### 2.1 单次灌胃对SHR收缩压的影响

表1 单次灌胃猪股骨头胶原蛋白水解产物对SHR收缩压的影响( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 1 Effect of single administration of collagen hydrolysates from swine femur head on the systolic pressure of spontaneous hypertension rats ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别 | 灌胃前        | 灌胃后          |              |              |              |              |
|----|------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|    |            | 2h           | 4h           | 6h           | 8h           | 10h          |
| NC | 154.5±9.1  | 154.3±14.8   | 151.6±5.7    | 156.6±7.9    | 152.0±9.1    | 153.0±13.3   |
| A  | 154.9±10.3 | 156.4±7.8    | 153.8±11.3   | 156.9±8.2    | 156.3±8.0    | 150.4±5.5    |
| B  | 158.9±6.5  | 154.2±5.4    | 151.4±7.6*   | 149.9±11.6** | 151.7±9.7    | 148.7±9.6*   |
| C  | 156.9±12.2 | 147.2±11.8** | 149.2±10.6** | 149.3±11.7*  | 154.8±10.1   | 147.1±9.7    |
| D  | 157.4±14.6 | 150.9±9.4    | 144.8±12.7** | 138.2±15.2** | 150.2±11.0*  | 152.3±7.4    |
| E  | 160.7±7.4  | 160.1±8.4    | 153.1±7.8**  | 153.2±11.1** | 157.3±9.9*   | 140.7±12.1** |
| F  | 160.4±11.9 | 159.9±6.8    | 155.3±14.4   | 145.4±13.5** | 142.1±18.5** | 140.4±19.2** |
| PC | 158.8±6.5  | 148.1±6.6**  | 141.7±10.0** | 146.6±9.2**  | 142.9±12.1** | 136.6±7.7**  |

注:\*.与本组灌胃前相比,有显著性差异( $P < 0.05$ );\*\*.与本组灌胃前相比,有极显著性差异( $P < 0.01$ )。

由表1可知,与灌胃前收缩压比较,A组没有显著的降压效果;B组在灌胃后4h收缩压出现显著下降,至10h时下降值最大,达到10.2mmHg;C组在灌胃后2h收缩压出现极显著下降,下降最大值达到9.7mmHg;D组在灌胃后4h出现极显著下降,至6h时下降值最大,达到19.2mmHg;E组在灌胃后4h出现极显著下降,至10h时下降值最大,达到20.0mmHg;F组在灌胃后6h出现极显著下降,至10h时下降值达到20.0mmHg。可见6个实验组除A组没有显著降压效果外,其他各组均有不同程度的降压效果。选择30、50、70mg/kg剂量,分别作为多次灌胃的低剂量组、中剂量组和高剂量组。

### 2.2 连续灌胃对SHR血压的影响

#### 2.2.1 连续灌胃对SHR收缩压的影响

由表2可知,与同时段阳性对照组比较,各剂量组收缩压总体上无显著差异。与同时段阴性对照组比

较,低、中、高剂量组SHR收缩压均出现极显著降低,且稳定持续降低。其中,低剂量组在30d时降压值达到19.8mmHg;中剂量组下降值达24.5mmHg;高剂量组SHR收缩压下降值达17.1mmHg。中、低剂量组显现出更好的降压效果。

**表2 连续灌胃猪股骨胶原蛋白水解产物对SHR收缩压的影响( $\bar{x} \pm s$ )**  
**Table 2 Effect of swine collagen hydrolysates administrated for 30 days on the systolic pressure of spontaneous hypertension rats ( $\bar{x} \pm s$ )**

| 组别 | 灌胃前        | 灌胃后                       |                          |                          |                          |                           |                          |
|----|------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|
|    |            | 5d                        | 10d                      | 15d                      | 20d                      | 25d                       | 30d                      |
| NC | 160.5±7.4  | 163.8±10.7                | 166.0±7.4 <sup>##</sup>  | 164.8±6.3 <sup>##</sup>  | 170.1±5.9 <sup>##</sup>  | 171.0±6.3 <sup>##</sup>   | 168.1±7.4 <sup>##</sup>  |
| L  | 159.9±10.6 | 148.2±11.9 <sup>###</sup> | 149.6±10.9 <sup>##</sup> | 146.9±9.5 <sup>##</sup>  | 141.1±10.3 <sup>##</sup> | 151.6±8.9 <sup>##</sup>   | 148.3±11.6 <sup>##</sup> |
| M  | 157.1±10.6 | 147.2±10.8 <sup>###</sup> | 147.1±12.1 <sup>##</sup> | 147.6±11.0 <sup>##</sup> | 141.4±8.8 <sup>##</sup>  | 145.0±10.2 <sup>##</sup>  | 143.6±11.3 <sup>##</sup> |
| H  | 157.5±8.5  | 152.6±11.9 <sup>##</sup>  | 158.6±8.5                | 157.0±8.3 <sup>##</sup>  | 154.1±4.3 <sup>##</sup>  | 158.5±10.9 <sup>###</sup> | 151.0±8.7 <sup>##</sup>  |
| PC | 162.2±9.5  | 159.2±7.0                 | 154.5±12.1 <sup>##</sup> | 151.1±9.8 <sup>##</sup>  | 146.2±10.3 <sup>##</sup> | 146.6±9.3 <sup>##</sup>   | 143.5±13.8 <sup>##</sup> |

注: #. 与同时期阴性对照组(NC)相比,有显著性差异( $P < 0.05$ ); ##. 与同时期 NC 相比,有极显著性差异( $P < 0.01$ );+. 与同时期阳性对照组(PC)相比,有显著性差异( $P < 0.05$ ); ++. 与同时期 PC 相比,有极显著性差异( $P < 0.01$ ).下同。

## 2.2.2 连续灌胃对SHR舒张压的影响

**表3 连续灌胃猪股骨胶原蛋白水解产物对SHR舒张压的影响( $\bar{x} \pm s$ )**  
**Table 3 Effect of swine collagen hydrolysates administrated for 30 days on the diastolic pressure of spontaneous hypertension ( $\bar{x} \pm s$ )**

| 组别 | 灌胃前        | 灌胃后                       |                          |                           |                          |                          |                          |
|----|------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|    |            | 5d                        | 10d                      | 15d                       | 20d                      | 25d                      | 30d                      |
| NC | 128.6±9.4  | 132.4±15.8                | 136.6±9.1 <sup>##</sup>  | 140.0±13.5 <sup>##</sup>  | 135.2±11.7 <sup>##</sup> | 136.8±11.5 <sup>##</sup> | 140.8±12.1 <sup>##</sup> |
| L  | 126.3±14.2 | 124.0±10.6 <sup>###</sup> | 128.7±14.3               | 122.4±12.1 <sup>###</sup> | 122.0±13.7 <sup>##</sup> | 127.8±11.8 <sup>##</sup> | 125.1±12.3 <sup>##</sup> |
| M  | 125.5±16.2 | 121.6±13.3 <sup>###</sup> | 125.2±10.9 <sup>##</sup> | 123.7±10.4 <sup>##</sup>  | 119.3±9.9 <sup>##</sup>  | 127.0±11.9 <sup>##</sup> | 121.8±14.7 <sup>##</sup> |
| H  | 125.5±10.4 | 125.4±11.2 <sup>##</sup>  | 132.3±14.1               | 130.1±10.5 <sup>##</sup>  | 128.2±11.6 <sup>##</sup> | 130.3±23.4 <sup>##</sup> | 127.6±9.6 <sup>##</sup>  |
| PC | 125.1±14.0 | 134.4±9.5                 | 129.9±15.1               | 131.9±12.4 <sup>##</sup>  | 125.2±14.0 <sup>##</sup> | 126.4±8.0 <sup>##</sup>  | 121.5±15.0 <sup>##</sup> |

由表3可知,与同时段阳性对照组比较,除个别时段外,各剂量组舒张压总体上无显著差异。与同时段阴性对照组比较,低、中、高剂量组SHR舒张压总体上均出现极显著降低。其中低剂量组在30d时降压值达到15.7mmHg;中剂量组下降值达19.0mmHg;高剂量组下降值达13.2mmHg。中、低剂量组显现出更好的降压效果。

## 3 讨论与结论

现已研究出多种中药提取物或食源性多肽具有较好的降压效果,如杨浩等<sup>[11]</sup>研究发现按照1600mg/(kg·d)茶皂苷高剂量连续灌胃SHR,第4周收缩压平均值下降18.67mmHg;黄开珍等<sup>[12]</sup>研究发现只有按照2g/(kg·d)白子菜水提取物的高剂量连续灌胃SHR,才有显著的降压效果,第5周收缩压平均值下降18.0mmHg,舒张压下降7.4mmHg;王进等<sup>[13]</sup>考察了玉米大豆复合肽对SHR的降压作用,50mg/kg剂量玉米大豆复合肽一次性给药后降压作用可一直持续3h,长期实验中,SHR血压显著降低24.58mmHg;李利生等<sup>[14]</sup>研究发现按照500mg/(kg·d)杜仲降压片剂量连续灌胃SHR,第4周收缩压平均值下降

29.0mmHg,舒张压下降32.5mmHg。本实验猪股骨胶原蛋白水解产物的灌胃量30mg/(kg·d),连续灌胃30d SHR收缩压下降19.8mmHg,舒张压下降15.7mmHg;50mg/(kg·d)连续灌胃30d SHR收缩压下降24.5mmHg,舒张压下降19.0mmHg。通过与以上植物型原材料制备的降血压产品对比,猪股骨胶原蛋白水解产物的灌胃量更小,且具有更好的长期降压效果,选用猪股骨胶原蛋白作为原材料制备降血压产品更好。

Jung等<sup>[15]</sup>用 $\alpha$ -胰凝乳蛋白酶水解黄鳍鲳鱼骨蛋白,在低于5000D的组分中分离出包含了11个氨基酸ACE抑制肽,能显著降低SHR血压;Lee等<sup>[16]</sup>用胃蛋白酶水解鲑鱼骨蛋白质,得到5000D以下的肽段ACE抑制活性最高,并且能够显著降低SHR收缩压;王金玲等<sup>[17]</sup>以酸性蛋白酶水解带鱼脊骨,超滤制备得到分子量小于3000D的降血压肽长期饲喂低剂量组(10mg/(kg·d))使SHR血压下降15mmHg,高剂量组(50mg/(kg·d))组对SHR降压幅度达到20mmHg,并且降压效果稳定。通过对比,猪股骨胶原蛋白水解物的降压效果略优于鱼骨蛋白水解产物;同时猪骨产量大、易得,因此利用猪骨开发降血压产品具有及其广阔的开发前景。

猪股骨胶原蛋白水解产物能长期稳定地降低SHR血压;在30~70mg/(kg·d)剂量范围内,中、低剂量具有更好的降压效果。

## 参考文献:

- [1] FERNANDEZ-MUSOLES R, LOPEZ-DIEZ J J, TORREGROSA G, et al. Lactoferricin B-derived peptides with inhibitory effects on ECE-dependent vasoconstriction[J]. Peptides, 2010, 31(10): 1926-1933.
- [2] 陈玲, 邹树. 全球心血管药物研发动态[J]. 中国新药杂志, 2010, 19(1): 8-16.
- [3] FUJITA H, YOSHIKAWA M, LKPN M. a prodrug-type ACE-inhibitory peptide derived from fish protein[J]. Immunopharmacology, 1999, 44(1/2): 123-127.
- [4] 肖平, 周丽珍, 李艳, 等. 降血压肽制备工艺的研究进展[J]. 食品工业科技, 2010, 31(8): 417-420.
- [5] TOVAR-PERE E, GUERRERO-LEGARRETA I, FARRÉS-GONZÁLEZ A, et al. Angiotensin I-converting enzyme-inhibitory peptide fractions from albumin I and globulin as obtained of amaranth grain[J]. Food Chemistry, 2009, 116(2): 437-444.
- [6] MIGULE M, ALVAREZ Y, LOPEZ-FANDINO R, et al. Vasodilator effects of peptides derived from egg white proteins[J]. Regulatory Peptides, 2007, 140(3): 131-135.
- [7] 王卫, 张志宇, 刘达玉, 等. 禽畜骨加工利用及其产品开发[J]. 食品科技, 2009(5): 154-158.
- [8] 岑宁, 葛正广. 猪产品加工新技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [9] 罗通彪. 禽畜鲜骨的开发利用[J]. 食品研究与开发, 2003, 24(5): 70-73.
- [10] 魏庭浩. 猪骨胶原多肽的制备及其血管紧张素转换酶抑制活性的研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2010.
- [11] 杨浩, 邵翔, 俞国华. 茶皂甙对自发性高血压大鼠血压的影响研究[J]. 中国临床保健杂志, 2007, 10(3): 270-272.
- [12] 黄开珍, 郝永靖, 曾春晖, 等. 白子菜水提取物对自发性高血压大鼠降压作用的实验研究[J]. 中成药, 2009, 31(10): 1505-1508.
- [13] 王进, 何慧, 郭辉. 玉米大豆复合肽体内ACE抑制活性研究[J]. 中国粮油学报, 2009, 24(8): 38-41.
- [14] 李利生, 余丽梅, 黄燮南, 等. 杜仲降压片对自发性高血压大鼠血压的影响及机制研究[J]. 中成药, 2011, 33(7): 1236-1238.
- [15] JUNG W K, MENDIS E, JE J Y. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptide from yellowfin sole (*Limanda aspera*) frame protein and its antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats[J]. Food Chemistry, 2006, 94(1): 26-32.
- [16] LEE S H, QIANG Zhongji, KIM S K. A novel angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide from tuna frame protein hydrolysate and its antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats[J]. Food Chemistry, 2010, 118(1): 96-102.
- [17] 王金玲, 何国庆. 酶解法制备带鱼脊骨降血压肽及其降血压效果[J]. 食品与发酵工业, 2010, 36(4): 54-57.