

以小米和大豆为原料制备的婴幼儿辅食 对小鼠学习记忆能力的影响

任建华¹, 李 迪¹, 石耀武², 曹永庆², 张玉梅³, 郭顺堂^{1,*}

(1. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083;

2. 山西省沁州黄小米(集团)有限公司, 山西沁县 046400;

3. 北京大学公共卫生学院, 北京 100191)

摘要:以小米和大豆为主要原料,按国家婴幼儿断奶期辅助食品标准(GB10769-1997)配制了婴幼儿断奶期辅食,并以 C57 纯系断乳小鼠为模型,通过跳台实验和 Morris 水迷宫实验考察该米粉对小鼠学习记忆能力的影响。与以普通饲料和市售婴幼儿米粉饲喂的小鼠相比,该辅食饲喂的小鼠在跳台实验中学习成绩不突出,但记忆成绩相对较高, Morris 水迷宫实验中穿越平台的次数显著高于其它小鼠。小鼠的学习记忆能力因食用以小米和大豆为原料制备的辅食得到了较好的改善。

关键词:小米,大豆蛋白,婴幼儿辅食,学习记忆能力

Effect of infant weaning supplementary food prepared from millet and soybean protein on the learning and memory ability of mice

REN Jian-hua¹, LI Di¹, SHI Yao-wu², CAO Yong-qing², ZHANG Yu-mei³, GUO Shun-tang^{1,*}

(1. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agriculture University, Beijing 100083, China;

2. Shanxi Qinzhou Huang Millet(Group) Co., Ltd., Qinxian 046400, China;

3. College of Public Health, Peking University, Beijing 100191, China)

Abstract: The infant weaning supplementary food prepared from millet and soybean was made according to state-assisted infant weaning food standards(GB10769-1997). The effect of this kind of food on the learning and memory ability was investigated with models of jump and Morris water maze test of C57 purely weaning mice. The mice fed with supplementary food prepared from millet and soybean showed higher memory ability and normal learning ability in the step down model, and significantly higher cross-platform numbers in Morris water maze test, compared with the ordinary feed and commercial infant supplementary food. From those results, it seemed that the learning and memory ability of mice was improved after consumption of the supplementary food prepared from millet and soybean protein.

Key words: millet; soybean protein; infant supplementary food; learning and memory ability

中图分类号: TS216

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2010)09-0325-03

小米又名粟,历来以营养丰富而著称,含有人体所必需的多种维生素、蛋白质、脂肪、碳水化合物及钙、磷、铁等营养物质。同时,小米中的蛋白质为低过敏性蛋白,非常适合于孕产妇和婴幼儿食用^[1]。北方地区自古就有食用小米的习俗,在母乳不足或者婴幼儿断奶期,常以小米粥或小米糊作为辅食来喂养婴幼儿,即使现在仍有企业将小米添加到乳中制备婴幼儿配方奶粉^[2]。但是,小米中赖氨酸含量较低,只相当于 FAO/WHO 建议的必需氨基酸理想模式中的 18%^[3]。为解决这一问题,研究人员常用赖

氨酸含量较高的大豆蛋白或奶粉进行配合,使之与小米中氨基酸成分互补,开发小米产品^[4-5]。关于小米与大豆蛋白配合的营养效果,Geervani 等研究发现,小米和豆类加工婴幼儿混合饼干的蛋白质具有较好表现消化率和净蛋白质利用率^[6]。郭顺堂等报道,以小米和大豆为主要原料制备的婴幼儿辅食对断乳小鼠的体格发育具有良好的促进作用^[7]。作为婴幼儿食品不但要促进身体增长,还要保障婴幼儿的智力发育。然而,有关小米类婴幼儿产品对婴幼儿智力影响的实验还很少有报道。为进一步明确以小米和大豆制备的婴幼儿辅食对智力发育的影响,本研究在前期体格发育研究的基础上,以 C57 纯系断乳小鼠为模型,采用跳台实验和 Morris 水迷宫实验的方法考察了以小米和大豆制备的婴幼儿辅食对

收稿日期:2009-10-29 * 通讯联系人

作者简介:任建华(1985-),女,硕士研究生,研究方向:大豆蛋白质加工利用。

断乳小鼠学习记忆能力的影响。。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

实验动物 SPF 级 C57/BL 纯系断乳小鼠,雄性;基础饲料 AIN-93G^[8] 配方饲料,记为饲料 1;以小米和大豆为基料的婴幼儿辅食样品 按照国家婴幼儿辅食标准(GB 10769-1997),以小米和大豆蛋白为主要原料调制婴幼儿辅食米粉,与 AIN-93G 饲料以 1:1 的比例组成饲料 2;市售著名品牌婴幼儿辅食 A 购于北京市场,以 1:1 的比例与 AIN-93G 饲料组成饲料 3;市售著名品牌婴幼儿辅食 B 购于北京市场,以 1:1 的比例与 AIN-93G 饲料组成饲料 4。

DT-200 小鼠跳台自动测试仪 成都泰盟科技有限公司;Morris 水迷宫系统 自制。

1.2 实验方法

1.2.1 实验设计和分组 根据饲喂饲料的不同,将实验动物分为 4 组,分别饲喂饲料 1、2、3、4,每组动物 10 只,自由摄取水和饲料。以 1、3、4 组为对照,比较 2 组中小鼠的学习记忆能力与其他三组的差异。

1.2.2 跳台实验^[9] 小鼠喂养 28d 后,进行跳台实验,实验期间正常进食。

实验开始前将小鼠置于反应箱中适应 3min,然后通以 36V 交流电,动物受到电击,其正常反应是跳上箱内绝缘平台以避免伤害性刺激,多数动物可能再次或多次跳回铜栅上,受到电击又迅速跳回平台,如此训练 5min,记录第一次跳下平台的时间即潜伏期,同时记录受击动物数,以此作为学习成绩。24h 后做记忆保持实验,在底部铜栅通电的情况下,直接将小鼠置于绝缘平台上,记录小鼠第一次跳下平台的时间(即潜伏期)和 5min 内受击动物数,以此作为记忆成绩。停止训练 5d 后,再次重复测试,即为记忆消退实验。

潜伏期结果为计量资料,采用单因素方差分析。犯错的动物只数为记数资料,采用 χ^2 检验。

1.2.3 Morris 水迷宫实验^[10-11] 小鼠喂养 35d 后进行 Morris 水迷宫实验,实验期间小鼠正常进食。

整个实验分为隐藏平台获得实验(即训练阶段)和空间搜索实验(即实验阶段)两部分。训练阶段用于测量小鼠在水迷宫中的学习和记忆能力。实验开始前让小鼠自由游泳以适应环境。从实验第 1d 开始,每天训练 4 次,每次随机选择一个入水点,将小鼠面向池壁放入水中,观察并记录小鼠寻找并爬上平台的路线图及所需时间,即为逃避潜伏期。4 次训练小鼠分别从四个不同的入水点入水。如果小鼠在 120s 内未找到平台,需将其引至平台并在平台上停留 20s,这时潜伏期记为 120s。每次训练间隔 60s,连续 4d。实验阶段则用于测量小鼠对平台空间位置的准确记忆,即记忆保持能力。水迷宫实验进行到第 5d 时,撤去平台,任选一个入水点将小鼠置于水中,记录 2min 内穿越平台的次数。

分析实验第 1d 各组小鼠平均游泳速度有无差异,若有差异,则前 4d 实验为对小鼠每个象限游泳路程平均值进行重复测量的方差分析;若无差异,则

对前 4d 小鼠的平均每个象限逃避潜伏期进行重复测量的方差分析。第 5d 空间搜索实验,对穿过平台位置的次数进行单因素方差分析。

2 结果与讨论

2.1 小鼠跳台学习能力

小鼠喂养 28d 后,进行跳台实验,考察各组小鼠学习记忆能力,分别记录学习实验、记忆实验和记忆消退实验中各组小鼠的潜伏期和犯错动物数,并计算错误百分比。结果如表 1、表 2 所示。

表 1 各组小鼠跳台实验潜伏期比较

组别	学习成绩 潜伏期(s)	记忆成绩 潜伏期(s)	记忆成绩消退成绩 潜伏期(s)
1	253.50 ± 72.82	230.10 ± 82.37	277.80 ± 36.84
2	202.90 ± 103.10	300.00 ± 0.00 *	293.00 ± 20.01
3	288.20 ± 26.28	300.00 ± 0.00 *	300.00 ± 0.00
4	291.60 ± 15.74	300.00 ± 0.00 *	300.00 ± 0.00

注:“*”显著性水平 $p < 0.05$; Means ± SD。

表 2 各组小鼠跳台实验犯错动物只数比较

组别	记忆成绩		记忆消退成绩	
	犯错动物 只数	错误百分比 (%)	犯错动物 只数	错误百分比 (%)
1	5	50	4	40
2	0 *	0	1 *	10
3	0 *	0	0 *	0
4	0 *	0	0 *	0

注:“*”显著性水平 $p < 0.05$ 。

跳台实验第 1d 时,记录小鼠第一次跳下平台的时间即潜伏期;24h 后做记忆保持实验,记录小鼠第一次跳下平台的时间(即潜伏期)和 5min 内受击动物数,以此作为记忆成绩;停止训练 5d 后,再次重复测试,记录潜伏期和受击动物数,即为记忆消退实验。从表 1 和表 2 可以看出,跳台实验第 1d 时,第 2 组小鼠潜伏期略低于其他三组,说明第 2 组小鼠学习成绩稍差,但不呈显著差异($p > 0.05$);24h 后做记忆保持实验,第 2、3、4 组潜伏期显著长于第 1 组,并且其犯错动物只数也显著少于基础对照组,说明 2、3、4 组的记忆成绩显著优于基础对照组;停止训练 5d 后,再次实验考察各组小鼠的记忆保持能力,各组小鼠的潜伏期无显著性差异,但是 2、3、4 组的犯错动物数比 1 组少,表明 2、3、4 组的记忆消退比较少。

2.2 小鼠 Morris 水迷宫记忆学习能力

小鼠喂养到 35d 进行 Morris 水迷宫实验,整个实验分为隐藏平台获得实验(即训练阶段)和空间搜索实验(即实验阶段)两阶段。训练阶段用于测量小鼠在水迷宫中的学习和记忆能力,观察并记录小鼠寻找并爬上平台的路线图及所需时间,即为逃避潜伏期;实验阶段则用于测量小鼠对平台空间位置的准确记忆,即记忆保持能力,记录小鼠 2min 内穿越平台的次数。

2.2.1 隐藏平台获得实验 对隐藏平台获得实验中第 1d 各组小鼠的平均游泳速度(数据没有显示)进行单因素方差分析发现,各组小鼠的平均游泳速度无显著性差异($p > 0.05$),因此,本研究中 Morris 水迷宫实验考察指标为小鼠寻找平台的潜伏期,在隐藏

平台实验中记录各组小鼠的潜伏期。

从图1结果可以看出,经过4d的隐藏平台获得实验训练,与实验开始时相比,各组小鼠的潜伏期下降,说明各组小鼠已经基本学会寻找目标平台。各组小鼠潜伏期变化趋势基本一致,且各组小鼠的潜伏期不存在显著性差异($p > 0.05$)。这一结果说明, Morris 水迷宫实验中,各组小鼠的学习能力基本一致。

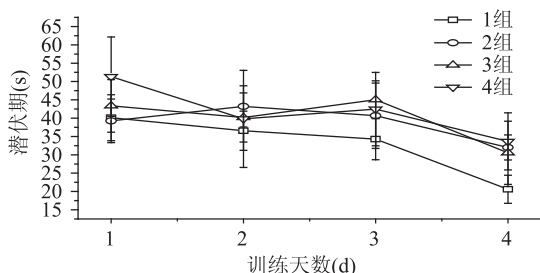


图1 各组小鼠在隐藏平台获得实验中的潜伏期

2.2.2 空间搜索实验 隐藏平台获得实验训练4d后撤去平台后进行空间搜索实验,记录小鼠在2min内经过平台的次数,考察水迷宫实验中小鼠的空间记忆保持能力,结果如图2所示。结果显示,第2组小鼠的穿越次数显著高于3、4两组($p < 0.05$),与基础对照组之间没有显著性差异,说明第2组小鼠的对水迷宫平台空间位置的记忆比3、4两组准确,即空间记忆保持能力优于3、4两组。

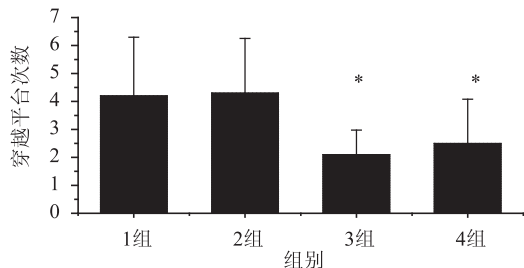


图2 各组小鼠空间搜索实验中穿越平台次数的比较

注:“*”显著性水平 $p < 0.05$ 。

3 结论

本研究采用跳台实验和 Morris 水迷宫实验考察了以小米和大豆为主要原料的婴幼儿辅食米粉对断乳小鼠的学习记忆能力的影响。

跳台实验中学习阶段,以小米和大豆为主要原料的婴幼儿辅食饲喂的小鼠学习成绩稍差于基础对照组和市售婴幼儿辅食组;但在后期的记忆阶段和记忆消退阶段,2组小鼠的成绩有所上升,记忆能力和记忆消退成绩显著好于基础对照组,与市售婴幼儿辅食组的记忆成绩和记忆消退成绩相当。这一结

果表明,以小米和大豆为主要原料的婴幼儿辅食饲喂的小鼠在学习成绩(基础)不突出的情况下,记忆能力提高较多。

Morris 水迷宫实验中主要用于评估空间学习记忆能力,在隐藏平台获得实验中,各组小鼠寻找平台的潜伏期差异不显著;空间搜索实验中,以小米和大豆为主要原料的婴幼儿辅食饲喂的小鼠穿越平台的次数与基础对照组相当,并且显著高于市售品牌对照组。

以上结果表明,以小米和大豆为主要原料配制的婴幼儿辅食对断乳小鼠的记忆能力有一定的改善作用,并且其改善程度要好于市售的婴幼儿营养米粉。

参考文献

- [1] 张超,张晖,李冀新.小米的营养以及应用研究进展[J].中国粮油学报,2007,22(1):51-54.
- [2] 马兴胜,朱滨华,付艳.婴幼儿配方乳粉的线性程序设计[J].中国乳品工业,1996,24(2):28-32.
- [3] 毛丽萍.小米的营养缺陷与强化[J].粮食与饲料工业,1997(9):34-35.
- [4] 薛平.小米营养粉的生产技术[J].食品科技,1992(5):14.
- [5] 张梅申.婴幼儿食品配方一则[J].食品科技,1992(6):17.
- [6] Geervani P, Vimala V, Pradeep KU, et al. Effect of processing on protein digestibility, biological value and net protein utilization of millet and legume based infant mixes and biscuits[J]. Plant Foods for Human Nutrition, 1996, 49: 221-227.
- [7] 任建华,徐婧婷,郭顺堂.以小米和大豆为原料的婴幼儿辅食对小鼠生长发育的影响[C].2009年食品安全与人类健康博士学术论坛论文摘要集,北京,2009:43.
- [8] Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: Final report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet[J]. The Journal of Nutrition, 1993, 123: 1939-1951.
- [9] 李晶.鱼油制剂改善小鼠记忆作用的实验研究[J].食品科学,2004,25(10):301-304.
- [10] 胡镜清,温泽雅,赖世隆. Morris 水迷宫检测的记忆属性与方法学初探[J].广州中医药大学学报,2000,17(2):117-187.
- [11] 李爱萍,赵慧,李韶,等.不同鼠种在 Morris 水迷宫学习记忆行为中的种属差异[J].中国行为医学科学,2005,14(1):29-31.
- [6] Gijs A Kleter, Hans J P Marvin. Indicators of emerging hazards and risks to food safety[J]. Food and Chemical Toxicology, 2009, 47(5):1022-1039.
- [7] 张涛.加工农产品质量安全预警与实证研究[D].中国农业科学院,2009.
- [8] 中国卫生统计年鉴.2004-2007年.
- [9] 中国农业发展报告.2004-2007年.

(上接第306页)

- [3] 梁保松,曹殿立.模糊数学及其应用[M].北京:科学出版社,2007.
- [4] 刘华楠,陈中江.基于 Fuzzy-AHP 方法的畜产食品安全信用评价实证研究[J].科技管理研究,2008,28(5):116-119.
- [5] 黄晓娟,刘北林.食品安全风险预警指标体系设计研究[J].哈尔滨商业大学学报:自然科学版,2008,24(10):621-629.