

蒸煮前、后小米蛋白对小鼠急性肝损伤的预防作用比较

付永霞, 刘振宇, 张凡, 沈群*

(中国农业大学食品科学与营养工程学院 植物蛋白与谷物加工北京市重点实验室
国家果蔬加工工程技术研究中心 北京 100083)

摘要 谷物蛋白质已被证明能够有效缓解代谢性疾病,然而,有关于小米蛋白对小鼠急性肝损伤的保护作用的研究较为有限。本文研究小米蛋白对 *D*-半乳糖胺诱导的急性肝损伤小鼠的保护作用,以及蒸煮处理是否影响小米蛋白的保护作用。在饲喂蒸煮前、后小米蛋白的小鼠中均观察到血清中天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)和乳酸脱氢酶(LDH)以及肝脏丙二醛(MDA)水平显著降低。此外,蒸煮前、后小米蛋白干预均改善了急性肝损伤小鼠的脂质代谢紊乱,表现为血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)和肝脏 TG 水平的显著降低。值得注意的是,蒸煮后小米蛋白中氨基酸含量降低,蒸煮前小米蛋白干预组的血清 AST、ALT 和肝脏 MDA 水平以及血清 TC、TG 和 LDL-C 水平显著低于蒸煮后小米蛋白干预组。总的来说,小米蛋白可以预防 *D*-半乳糖胺引起的急性肝损伤,虽然蒸煮会削弱其保护作用,但也可作为预防急性肝损伤的功能性食品成分。

关键词 急性肝损伤; 氨基酸; 蒸煮; 小米蛋白

文章编号 1009-7848(2022)11-0165-08 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2022.11.018

肝损伤可由多种因素引起,例如病毒感染、药物使用不当和摄入有毒食物^[1-3]。在这些因素中,药物使用不当引起的急性肝衰竭占到 10%~52%,被称为药物性肝损伤。考虑到药物治疗的副作用,肝损伤患者在日常生活中更愿意通过选择摄入功能性食品来确保肝脏健康^[4-5]。

迄今为止,谷物蛋白及其衍生水解物已被证实可有效缓解肝损伤。例如,研究表明黍米蛋白具有预防肝损伤的功能^[6]。此外,摄入大米蛋白可以降低肝损伤大鼠的天冬氨酸氨基转移酶(Aspartate transaminase, AST)和丙氨酸氨基转移酶(Alanine transaminase, ALT)水平^[7]。此外,大米衍生肽通过增加谷胱甘肽水平,从而对乙酰氨基酚引起的小鼠肝损伤起到保护作用^[8]。由玉米蛋白制备的两种玉米蛋白肽也被证明可通过抑制肝细胞凋亡和调节 Bcl-2 家族蛋白、细胞表面受体 Fas 和核因子 kappa-B(NF- κ B)发挥预防急性酒精性肝损伤的作用^[9-10]。谷子主要在亚洲和非洲地区种植,是植物蛋白的重要来源。谷子脱皮后即小米,多项研究已证明小米蛋白及其衍生水解物的潜在

生理功能。Chen 等^[11]发现摄入蒸煮前小米和挤压小米的蛋白水解物可改善自发性高血压大鼠的血压情况。脯氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸-苯丙氨酸(PFLF)和异亮氨酸-丙氨酸-亮氨酸-亮氨酸-异亮氨酸-脯氨酸-苯丙氨酸(IALLIPF)是由小米醇溶蛋白制备的两种具有较强抗氧化作用的多肽^[12]。此外,来自小米醇溶蛋白肽具有很强的胰脂肪酶和脂肪氧化酶抑制活性^[13]。然而,目前有关于小米蛋白对肝损伤的保护作用鲜有报道。此外,蒸煮会影响食物的营养价值,从而影响其生理功能。例如,经常摄入反复加热的植物油会导致心血管疾病的发生^[14]。摄入煮熟的猪肉蛋白会加重谷氧还蛋白 1 缺陷小鼠的肝脏炎症和脂质积累^[15]。然而,摄入煮熟和发酵的绿豆均可降低血浆胆固醇浓度并保护肝脏免受损伤^[16]。造成上述这些差异的原因可能是蒸煮方法及试验材料的不同。综上所述,有必要研究小米蛋白对 *D*-半乳糖胺诱导的急性肝损伤小鼠是否具有保肝作用以及蒸煮对小米蛋白功能的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

本试验采用的小米品种为东方亮,由山西东方亮生命科技股份有限公司提供。*D*-半乳糖胺,

收稿日期: 2021-11-08

基金项目: 国家现代农业产业技术体系(CARS-07-13.5)

第一作者: 付永霞,女,博士

通信作者: 沈群 E-mail: shenqun@cau.edu.cn

Sigma-Aldrich 公司; ALT、AST、丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 和 BCA 蛋白质浓度测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所有限公司。

1.2 仪器与设备

SHZ-B 水浴恒温振荡器, 上海龙跃有限公司; FD-1A-50 冷冻干燥机, 北京博医康有限公司; ACCULAB ALC-110.4 分析天平, 德国 Sartorius 公司。

1.3 蒸煮前、后小米粗蛋白的制备

根据 Molla 等^[7]的方法提取蒸煮前小米蛋白。将脱脂处理后的小米粉与水按料液比 1:5 的比例混合, 磁力搅拌 15 min 使其混合均匀, 调节 pH 值为 7.0, 加入 7% 的 α -淀粉酶后在 50 °C 的水浴中振荡 36 h。在振荡过程中, 每隔 3 h 检查一次 pH 值并将其调整为 7.0。振荡结束后, 将混合物在室温下以 11 000 r/min 的速度离心 15 min 收集沉淀, 冻干得到小米蛋白。小米蛋白质含量为 44.07%, 提取率为 7.17%。然后在 100 °C 下煮沸 30 min 制备蒸煮后小米蛋白并在 -20 °C 保存备用。

1.4 蒸煮前、后小米蛋白的氨基酸组成

采用酸水解法对小米蛋白的氨基酸组成进行分析。将约 18 mg 小米蛋白样品 (相当于 8 mg 纯蛋白) 放入安瓿瓶中, 加入含 0.1% 苯酚的 6 mol/L 盐酸溶液溶解小米蛋白样品, 然后将安瓿瓶放入烘箱中, 在 110 °C 下水解 24 h, 用氮气吹干盐酸。随后, 将干燥的小米蛋白样品加水复溶, 然后配置两种衍生试剂溶液 (异硫氰酸苯酯和三乙胺), 加入 200 μ L 上述小米蛋白样品溶液, 摇匀, 室温反应 60 min。随后, 在上述反应液中加入 400 μ L 正己烷, 振荡 5~10 s, 室温下分层后收集约 200 μ L 下层溶液与 800 μ L 水混合。随后继续取 200 μ L 上述上述混合液与 800 μ L 水混合, 过膜过滤, 得到最终待测样品溶液。随后采用高效液相色谱法进行氨基酸分析。对含硫氨基酸 (甲硫氨酸、半胱氨酸、胱氨酸)、支链氨基酸 (亮氨酸、异亮氨酸、L-缬氨酸) 和疏水性氨基酸 (亮氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸、色氨酸、丙氨酸) 的含量均进行了计算。此外, 还计算了必需氨基酸与总氨基酸和必需氨基酸与非必需氨基酸的比率。此外, 氨基酸评分计算如下:

氨基酸评分=

样品蛋白质中的氨基酸含量 (g/100 g)
FAO/WHO 评分标准模式下对应的氨基酸含量 (g/100 g)

1.5 动物实验

雄性昆明小鼠 (6 周龄, 平均体重 39.69 g), 购自北京科奥协力饲料有限公司。饲养条件严格按照《实验动物管理条件》进行, 实验方案得到中国农业大学实验动物福利与动物实验伦理审查委员会的批准, 批准编号为: AW03401202-4-1。所有小鼠自由进食和饮水。动物饲料参考 Nishizawa 等^[6]的设计并作了适当修改。正常饲料中的酪蛋白分别被蒸煮前、后小米蛋白所取代。制备动物饲料所用的酪蛋白和小米蛋白营养成分见表 1。动物饲料组成及饲料中蛋白质、脂肪和碳水化合物的能量百分比见表 2 和表 3。

表 1 酪蛋白和小米蛋白的营养成分
Table 1 Nutritional composition of casein and foxtail millet protein

营养成分	酪蛋白/%	小米蛋白/%
蛋白	66.67	44.07
脂肪	5.39	6.85
灰分	4.55	7.05
粗纤维	7.22	7.50
水分	4.83	4.36
碳水化合物	11.36	30.17

表 2 动物饲料组成
Table 2 Composition of animal diets

组分	正常饲料/%	含小米蛋白饲料/%
纯酪蛋白	19.7	-
小米蛋白中纯蛋白	-	20.0
酪蛋白或小米蛋白中淀粉	3.4	13.7
玉米淀粉	65.9	55.6
玉米油	1.0	1.0
维生素混合物	1.0	1.0
盐混合物	3.5	3.5
酒石酸氢胆碱	0.2	0.2
纤维素	5.0	5.0
D,L-蛋氨酸	0.3	-
蛋白含量	20.0	20.0

表 3 动物饲料中蛋白质、脂肪和碳水化合物成分和能量的百分比

Table 3 The percentage of composition and energy of protein, fat and carbohydrate in animal feeds

	正常饲料		含小米蛋白饲料	
	g%	kcal%	g%	kcal%
蛋白质	20.0	21.8	20.0	21.8
碳水化合物	69.3	75.7	69.3	75.7
脂肪	1.0	2.5	1.0	2.5

动物实验设计见图 1。所有小鼠适应性培养 3 d 后随机分为 4 组:1)正常组:喂食正常饲料而不注射 *D*-半乳糖胺(每组 6 只);2)模型组:喂食正常饲料并注射 *D*-半乳糖胺(每组 6 只);3)蒸煮前小米蛋白组:喂食蒸煮前小米蛋白饲料并注射 *D*-半乳糖胺(每组 6 只);4)蒸煮后小米蛋白组:喂食蒸煮后小米蛋白饲料并注射 *D*-半乳糖胺(每组 6 只)。干预 15 d 后,所有小鼠禁食 10 h 后腹腔注射 *D*-半乳糖胺(400 mg/kg)。注射 *D*-半乳糖胺 24 h 后,处死所有小鼠并采集血液和肝脏样本。

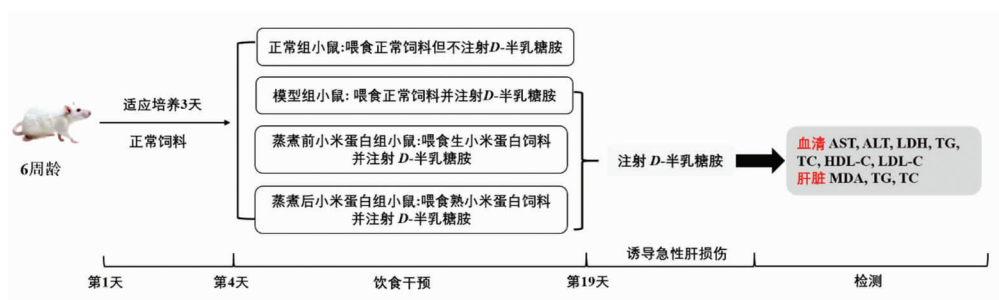


图 1 实验设计

Fig.1 Experimental design

1.6 生化分析

使用全自动生化分析仪测定血清中酶活性,包括 AST、ALT、LDH 和总胆固醇 (Total cholesterol, TC)、甘油三酯 (Triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (High density lipoprotein, HDL-C) 和低密度脂蛋白胆固醇 (Low density lipoprotein, LDL-C) 的水平。除此之外,还测定了肝脏中 TC 和 TG 以及 MDA 的水平。为了计算 MDA,使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定总蛋白质含量。

1.7 统计分析

所有数据均表示为平均值±标准偏差。使用软件 SPSS 17.0 进行单因素方差分析 (One-way ANOVA),多重比较采用 Duncan 法, $P < 0.05$ 为显著差异。

2 结果与分析

2.1 蒸煮前、后小米蛋白中氨基酸的测定

蒸煮前、后小米蛋白质的氨基酸含量如表 4 所示,结果表明蒸煮前小米蛋白中必需氨基酸和非必需氨基酸分别为 24.80 mg/g 和 42.44 mg/g 小米蛋白,而蒸煮后小米蛋白中的分别为 12.95 mg/g

和 28.07 mg/g 小米蛋白。蒸煮后小米蛋白中氨基酸含量的降低是由蒸煮所引起的。值得注意的是,蒸煮还降低了含硫氨基酸、支链氨基酸和疏水性氨基酸的含量。此外,蒸煮前小米蛋白的必需氨基酸与总氨基酸和必需氨基酸与非必需氨基酸的比率 (0.35 和 0.58) 接近 WHO 推荐值 (0.36 和 0.60),根据世界卫生组织的标准^[8],蒸煮前小米蛋白可以被认为具有足够的营养。氨基酸评分是食品蛋白质营养评价的指标,也称为蛋白质化学评分。蒸煮前小米蛋白的氨基酸评分高于蒸煮后小米蛋白,说明蒸煮前小米蛋白的营养价值优于蒸煮后小米蛋白。然而,蒸煮前、后小米蛋白的氨基酸评分都符合世界卫生组织提出的优质蛋白的标准。

2.2 蒸煮前、后小米蛋白对小鼠摄食量,血清中 AST、ALT、LDH 和肝脏中 MDA 水平的影响

蒸煮前、后小米蛋白对小鼠摄食量,血清 AST、ALT 和 LDH 以及肝脏 MDA 影响如图 2 所示。在所有组中均未观察到食物摄入量之间有显著差异,表明摄入小米蛋白并不会影响小鼠的食物摄入量。此外,AST、ALT 和 LDH 是评估肝功能

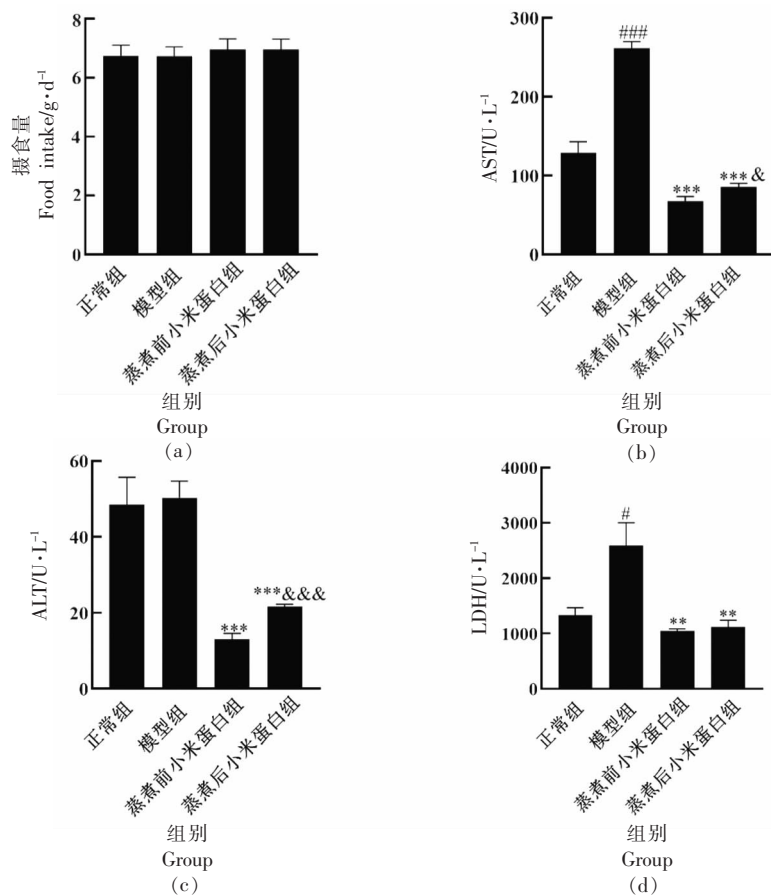
表4 小米蛋白的氨基酸组成和氨基酸评分

Table 4 Amino acid composition and amino acid scores of foxtail millet protein

氨基酸	蒸煮前小米蛋白	蒸煮后小米蛋白
必需氨基酸/mg·g ⁻¹ 小米蛋白		
赖氨酸	3.42	0.57
苏氨酸	2.05	1.65
异亮氨酸	1.63	1.41
亮氨酸	6.08	4.28
甲硫氨酸	1.30	0.46
苯丙氨酸	6.61	2.53
缬氨酸	2.95	1.50
色氨酸	0.76	0.54
总必需氨基酸/mg·g ⁻¹ 小米蛋白	24.80	12.95
非必需氨基酸/mg·g ⁻¹ 小米蛋白		
丙氨酸	4.65	2.73
精氨酸	3.02	2.45
天冬氨酸	4.14	2.14
半胱氨酸	0.00	0.00
谷氨酸	15.40	7.87
甘氨酸	2.73	2.69
组氨酸	1.98	1.94
脯氨酸	3.94	2.31
丝氨酸	3.97	3.50
酪氨酸	2.60	2.45
总非必需氨基酸/mg·g ⁻¹ 小米蛋白	42.44	28.07
氨基酸评分		
异亮氨酸	0.41	0.35
亮氨酸	0.87	0.61
赖氨酸	0.62	0.10
甲硫氨酸与半胱氨酸	0.37	0.13
苯丙氨酸与酪氨酸	1.54	0.83
苏氨酸	0.51	0.41
色氨酸	0.76	0.54
缬氨酸	2.71	1.38
含硫氨基酸/mg·g ⁻¹ 小米蛋白	1.30	0.46
疏水性氨基酸/mg·g ⁻¹ 小米蛋白	23.99	13.45
支链氨基酸/mg·g ⁻¹ 小米蛋白	10.66	7.19
必需氨基酸/总氨基酸	0.35	0.32
必需氨基酸/非必需氨基酸	0.58	0.46

的重要生物标志物。MDA 是脂质过氧化的终末产物,具有较强的生物毒性,可加重生物膜损伤。因此,MDA 常用于测定膜脂过氧化程度。在本实验中,模型组 AST、LDH 水平明显高于正常组。与模型组相比,小米蛋白干预显著降低了血清中 AST、ALT、LDH 和肝脏 MDA 水平,说明小米蛋白对预防小鼠急性肝损伤有一定的有益作用。值得注意的是,喂食蒸煮前小米蛋白的小鼠血清 AST、ALT 和肝脏 MDA 水平显著低于喂食蒸煮后小米蛋白的小鼠,这表明蒸煮减弱了小米蛋白对急性肝损

伤的保护作用。这是由于蒸煮降低了小米蛋白质中含硫氨基酸、支链氨基酸等氨基酸的含量。先前的研究也表明,3 种中国本土豆科植物种子的氨基酸含量会随着烹饪时间的增加而降低^[19]。此外,非洲面包树种子种皮中的部分氨基酸(赖氨酸、蛋氨酸和甘氨酸)含量在蒸煮处理中也减少了^[20]。这与本研究中蒸煮后小米蛋白的氨基酸含量明显低于蒸煮前小米蛋白相一致(表 4)。蛋白质中较高的氨基酸含量有助于体内肽和氨基酸的转运,从而对机体产生积极影响^[21]。例如,在含有 10% 大豆

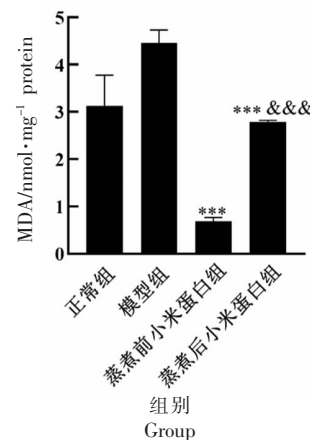


注:模型组与正常组相比,###. $P < 0.001$,#. $P < 0.05$;蒸煮前小米蛋白组或蒸煮后小米蛋白组与模型组相比,***. $P < 0.001$,**.
 $P < 0.01$;蒸煮前小米蛋白组与蒸煮后小米蛋白组相比,&&&. $P < 0.001$,&. $P < 0.05$ 。

图 2 蒸煮前、后小米蛋白对小鼠摄食量和血清中 AST、ALT 和 LDH 水平的影响

Fig.2 Effects of foxtail millet proteins before and after cooking on food intake, AST, ALT and LDH levels in mice

蛋白的饮食中补充足量的蛋氨酸和半胱氨酸可以减轻 *N*-亚硝基二甲胺对大鼠造成的氧化损伤^[22]。一项有关于含硫氨基酸对大鼠肝纤维化和星状细胞功能影响的研究表明包括 *L*-半胱氨酸和 *L*-甲硫氨酸在内的含硫氨基酸延缓了星状细胞的活化并抑制了肝纤维化的进展^[23],提示蒸煮前小米蛋白中较高的含硫氨基酸含量有利于其对急性肝损伤的预保护作用。除此之外,口服支链氨基酸可减轻缺血再灌注引起的肝损伤^[24]。支链氨基酸还可有效降低肝脏 MDA 水平并逆转四氯化碳诱导的肝纤维化^[25]。补充支链氨基酸还可改善肝硬化患者的胰岛素和葡萄糖耐受量^[26],其中的亮氨酸具有治疗代谢综合征的功能。富含亮氨酸的玉米肽在一定剂量下可以缓解四氯化碳诱导的肝细胞损伤^[27]。在本研究中,蒸煮前小米蛋



注:蒸煮前小米蛋白组或蒸煮后小米蛋白组与模型组相比,***. $P < 0.001$;蒸煮前小米蛋白组与蒸煮后小米蛋白组相比,&&&. $P < 0.001$ 。

图 3 蒸煮前、后小米蛋白对小鼠肝脏 MDA 水平的影响

Fig.3 Effects of foxtail millet proteins before and after cooking on liver MDA in mice

白组的支链氨基酸高于蒸煮后小米蛋白组。此外,蒸煮前小米蛋白中的丙氨酸和谷氨酸水平也高于蒸煮后小米蛋白(表4)。值得注意的是,蒸煮后小米蛋白仍然可以发挥其对急性肝损伤的保护作用。总的来说,小米蛋白的摄入可以改善小鼠的肝损伤和氧化应激反应,其中蒸煮前小米蛋白可以更好地预防小鼠的急性肝损伤,而蒸煮会降低蛋白中氨基酸含量导致小米蛋白对急性肝损伤的保护功能被削弱。

2.3 蒸煮前、后小米蛋白对小鼠血清和肝脏中脂质水平的影响

报道称脂质代谢与 *ABCB4* 基因敲除小鼠的肝损伤有关。在酒精性肝病的早期阶段也观察到甘油三酯在肝细胞中的积累^[9],提示脂质代谢水平与肝损伤之间关系密切。蒸煮前、后小米蛋白对小鼠血清和肝脏中脂质水平的影响结果见表5。当给患有肝损伤的大鼠喂食大米蛋白饮食时,也观察到了相同的趋势^[7]。对照组和模型组之间除血清 TC 和 HDL-C 外,其它血清指标和肝脏脂质水

平之间没有显著性差异。饲喂小米蛋白 15 d 后,小米蛋白组血清 TG、TC 和 LDL-C 水平显著低于模型组。此外,蒸煮前小米蛋白组肝脏 TG 水平低于模型组($P<0.05$)。值得注意的是,蒸煮前小米蛋白组 TC、TG、LDL-C 等血清脂质水平显著低于蒸煮后小米蛋白组,说明摄入蒸煮前小米蛋白可以更好地改善急性肝损伤小鼠的血脂紊乱。总体而言,小米蛋白干预可以改变小鼠血清和肝脏中的脂质水平,从而预防 *D*-半乳糖诱导的急性肝损伤,而该预防保护作用会因蒸煮而减弱。这是由于蒸煮降低了小米蛋白质中含硫氨基酸、支链氨基酸等氨基酸的含量。含硫氨基酸的膳食补充剂有利于脂质代谢^[28]。蛋氨酸的抗氧化特性可能有助于抑制肝损伤小鼠或大鼠的脂质氧化^[29]。除此之外,膳食补充支链氨基酸可以减少低白蛋白血症患者骨骼肌中的脂肪堆积^[30]。综上,蒸煮前小米蛋白中较高的含硫氨基酸和支链氨基酸含量有利于其对急性肝损伤的预保护作用。

表5 蒸煮前、后小米蛋白干预对小鼠血清和肝脏中脂质水平的影响 (mmol/L)

Table 5 Lipids in serum and liver of mice fed with foxtail millet protein before and after cooking (mmol/L)

		正常组	模型组	蒸煮前小米蛋白组	蒸煮后小米蛋白组
血清	TC	3.46 ± 0.09	4.12 ± 0.08 ^{###}	2.26 ± 0.13 ^{***}	2.85 ± 0.04 ^{***&&}
	TG	1.98 ± 0.06	2.04 ± 0.09	0.81 ± 0.07 ^{***}	1.44 ± 0.20 ^{*&}
	HDL-C	0.72 ± 0.22	1.38 ± 0.14 [#]	3.17 ± 0.60	2.07 ± 0.60
	LDL-C	2.74 ± 0.13	2.74 ± 0.11	0.13 ± 0.02 ^{***}	0.78 ± 0.06 ^{***&&&}
肝脏	TC	0.44 ± 0.06	0.51 ± 0.15	0.16 ± 0.06	0.26 ± 0.07
	TG	1.08 ± 0.24	1.67 ± 0.47	0.38 ± 0.11 [*]	0.76 ± 0.22

注:模型组与正常组相比,###. $P<0.001$,#. $P<0.05$;蒸煮前小米蛋白组或蒸煮后小米蛋白组与模型组相比,***. $P<0.001$,*. $P<0.05$;蒸煮前小米蛋白组与蒸煮后小米蛋白组相比,&&&. $P<0.001$,&. $P<0.05$ 。

3 结论

本文研究了小米蛋白对急性肝损伤小鼠的保护作用,以及蒸煮是否影响了小米蛋白的功能。结果表明,蒸煮前、后小米蛋白的摄入都可以通过降低血清和肝脏中 AST、ALT、LDH、MDA 和脂质的水平来减轻急性肝损伤。蒸煮会减少小米蛋白中对改善急性肝损伤有益的氨基酸含量,包括含硫氨基酸、支链氨基酸、丙氨酸、谷氨酸等削弱了其护肝功能。因此蒸煮前小米蛋白对肝损伤的保护作用优于蒸煮后小米蛋白。然而,人们在日常生活

中通常会食用蒸煮后的食物,应更加重视通过添加功能性氨基酸来增强蒸煮后小米蛋白的营养。

参 考 文 献

- [1] HOOFNAGLE J H, CARITHERS R L, SHAPIRO C, et al. Fulminant hepatic failure: Summary of a workshop[J]. *Hepatology*, 1995, 21(1): 240-252.
- [2] OSTAPOWICZ G, FONTANA R J, SCHIODT F V, et al. Results of a prospective study of acute liver failure at 17 tertiary care centers in the United

- States[J]. *Annals of Internal Medicine*, 2002, 137(12): 947–954.
- [3] POLSON J, Lee W M. AASLD position paper: The management of acute liver failure[J]. *Hepatology*, 2005, 41(5): 1179–1197.
- [4] JIN Y, REGEV A, KAM J, et al. Dose-dependent acute liver injury with hypersensitivity features in humans due to a novel microsomal prostaglandin E synthase 1 inhibitor[J]. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 2018, 84(1): 179–188.
- [5] RAMADHAN A H, NAWAS T, ZHANG X, et al. Purification and identification of a novel antidiabetic peptide from Chinese giant salamander (*Andrias davidianus*) protein hydrolysate against α -amylase and α -glucosidase[J]. *International Journal of Food Properties*, 2018, 20(3): S3360–S3372.
- [6] NISHIZAWA N, SATO D, ITO Y, et al. Effects of dietary protein of proso millet on liver injury induced by d-galactosamine in rats[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2002, 66(1): 92–96.
- [7] YANG L, CHEN J H, LV J, et al. Rice protein improves adiposity, body weight and reduces lipids level in rats through modification of triglyceride metabolism[J]. *Lipids in Health and Disease*, 2012, 11(1): 24.
- [8] KAWAKAMI K, MORITANI C, URAJI M, et al. Hepatoprotective effects of rice-derived peptides against acetaminophen-induced damage in mice[J]. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 2017, 60(2): 115–120.
- [9] MA Z, HOU T, SHI W, et al. Inhibition of hepatocyte apoptosis: An important mechanism of corn peptides attenuating liver injury induced by ethanol[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16(9): 22062–22080.
- [10] SUN N, XU T, LIU Y N, et al. Preparation of two oligopeptides from corn protein and their protective effect on acute alcohol intoxication in mice[J]. *Biomedical Research*, 2018, 29(7): 1284–1289.
- [11] CHEN J, DUAN W, REN X, et al. Effect of foxtail millet protein hydrolysates on lowering blood pressure in spontaneously hypertensive rats[J]. *European Journal of Nutrition*, 2017, 56(6): 2129–2138.
- [12] JI Z, FENG R, MAO J. Separation and identification of antioxidant peptides from foxtail millet (*Setaria italica*) prolamins enzymatic hydrolysate[J]. *Cereal Chemistry*, 2019, 96(6): 981–993.
- [13] JALKUBCZYK A, SZYMANOWSKA U, KARAS M, et al. Potential anti-inflammatory and lipase inhibitory peptides generated by *in vitro* gastrointestinal hydrolysis of heat treated millet grains[J]. *CyTA—Journal of Food*, 2019, 17(1): 324–333.
- [14] GANESAN K, SUKALINGAM K, XU B, Impact of consumption and cooking manners of vegetable oils on cardiovascular diseases – A critical review[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2018, 71: 132–154.
- [15] AHMAD M I, ZOU X, IJAZ M U, et al. Processed meat protein promoted inflammation and hepatic lipogenesis by upregulating Nrf2/Keap1 signaling pathway in Glrx-deficient mice[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(32): 8794–8809.
- [16] LAYS L, MARIA M, LUCIANA F, et al. Cholesterol-lowering and liver-protective effects of cooked and germinated mung beans (*Vigna radiata* L.)[J]. *Nutrients*, 2018, 10(7): 821.
- [17] MOLLA M M, RAHMAN E, REN X, et al. Characterization and quality evaluation of foxtail millet (*Setaria Italica*) protein[J]. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 2019, 4(4): 117–122.
- [18] World Health Organization. Energy and protein requirements. Report of a joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation[J]. *World Health Organization Technical Report Series*, 1985, 724: 1–206.
- [19] MOUSTAFA T, FICKERT P, MAGNES C, et al. Alterations in lipid metabolism mediate inflammation, fibrosis, and proliferation in a mouse model of chronic cholestatic liver injury[J]. *Gastroenterology*, 2012, 142(1): 140–151.
- [20] ADEYEYE E I, ADESINA A J. Effects of cooking and roasting on the amino acid composition of African breadfruit seeds testa[J]. *Journal of Peptide and Protein*, 2013, 2(1): 49–58.
- [21] LEUNG P S. The gastrointestinal system[M]. Hong Kong: Springer, 2014: 148–153.
- [22] TANIGUCHI M, YASUTAKE A, TAKEDOMI K. Effects of dietary sulfur-containing amino acids on oxidative damage in rat liver caused by *N*-nitrosodimethylamine administration[J]. *British Journal of Nutrition*, 2000, 84(2): 211–217.

- [23] MATSUI H, IKEDA K, NAKAJIMA Y, et al. Sulfur-containing amino acids attenuate the development of liver fibrosis in rats through down-regulation of stellate cell activation [J]. *Journal of Hepatology*, 2004, 40(6): 917-925.
- [24] KITAGAWA T, YOKOYAMA Y, KOKURYO T, et al. Protective effects of branched-chain amino acids on hepatic ischemia-reperfusion-induced liver injury in rats: A direct attenuation of Kupffer cell activation [J]. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2013, 304(4): 346-355.
- [25] KHEDR N F, KHEDR E G. Branched chain amino acids supplementation modulates TGF- β 1/Smad signaling pathway and interleukins in CCl₄-induced liver fibrosis [J]. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 2017, 31(5): 534-545.
- [26] NISHITANI S, TAKEHANA K, FUJITANI S, et al. Branched-chain amino acids improve glucose metabolism in rats with liver cirrhosis [J]. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2005, 288(6): 1292-1300.
- [27] YU Y, WANG L, WANG Y, et al. Hepatoprotective effect of albumin peptides from corn germ meal on chronic alcohol-induced liver injury in mice [J]. *Journal of Food Science*, 2017, 82(12): 2997-3004.
- [28] HIROAKI O. Functions of sulfur-containing amino acids in lipid metabolism [J]. *Journal of Nutrition*, 2006, 136(6): 1666S-1669S.
- [29] PENG B, HUANG R, ZHOU X. Oxidation resistance of the sulfur amino acids: Methionine and cysteine [J]. *BioMed Research International*, 2017, 2017: 1-6.
- [30] KITAJIMA Y, TAKAHASHI H, AKIYAMA T, et al. Supplementation with branched-chain amino acids ameliorates hypoalbuminemia, prevents sarcopenia, and reduces fat accumulation in the skeletal muscles of patients with liver cirrhosis [J]. *Journal of Gastroenterology*, 2018, 53(3): 427-437.

Comparison of the Preventive Effect of Foxtail Millet Protein before and after Cooking on Acute Liver Injury in Mice

Fu Yongxia, Liu Zhenyu, Zhang Fan, Shen Qun*

(College of Food Science & Nutritional Engineering, China Agricultural University, Key Laboratory of Plant Protein and Cereal Processing of Beijing, National Engineering Research Center for Fruits and Vegetables Processing, Beijing 100083)

Abstract Cereal proteins have been proven to be beneficial to the alleviation of metabolic diseases. However, the function of foxtail millet protein against liver injury is lack of research. This study investigated whether the intake of diet containing raw or cooked foxtail millet proteins could protect mice from *D*-galactosamine induced acute liver injury and how cooking affected the protective efficiency of foxtail millet proteins. A significant decrease of serum aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT), lactate dehydrogenase (LDH) and liver malondialdehyde (MDA) levels was observed in mice fed with foxtail millet protein diets. Besides, foxtail millet proteins ameliorated lipid metabolism disorders in mice with acute liver injury as evidenced by significantly lower serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low density lipoprotein (LDL-C) and liver TG. Notably, AST, ALT, MDA and serum lipid concentrations including serum TC, TG and LDL-C in raw or cooked foxtail millet proteins group were significantly lower than those in cooked foxtail millet protein group due to the amino acids contents reduction after cooking. In conclusion, foxtail proteins could prevent acute liver injury of mice and cooking would weaken its protective effect. Overall, foxtail millet protein can be used as a functional food component towards acute liver injury prevention even after the cooking process.

Keywords acute liver injury; amino acids; cooking; foxtail millet protein