

夏黑葡萄花青素抗氧化活性及 对 D-半乳糖衰老模型小鼠的保护作用

王兵亚¹, 连秀仪², 杨琛肇³, 郭旭冉⁴, 申培红^{5,*}, 刘文涛⁴, 刘 乐¹

(1. 郑州大学公共卫生学院, 河南郑州 450001;

2. 河南富景生态旅游开发有限公司, 河南郑州 450001;

3. 郑州大学基础医学院, 河南郑州 450001;

4. 郑州大学材料科学与工程学院, 河南郑州 450001;

5. 郑州大学附属肿瘤医院, 河南郑州 450008)

摘要:目的:研究夏黑葡萄花青素提取物的抗氧化活性及其抗衰老作用。方法:以夏黑葡萄花青素为研究材料,通过测定其清除 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH)自由基、超氧阴离子、羟基自由基能力和总还原能力来评价其抗氧化活性。用不同剂量夏黑葡萄花青素对通过颈背部注射 D-半乳糖构建的 40 只衰老模型小鼠连续灌胃 30 d,禁食不禁水 24 h 后取血检测各组血清中超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)水平;并取大脑和肾脏做苏木精-伊红染色(hematoxylin-eosin staining, HE)病理学切片,观察其组织病理学变化。结果:夏黑葡萄花青素对于 DPPH 自由基、超氧阴离子、羟基自由基具有较强的清除力。与模型对照组相比,中、高剂量组小鼠血清中的 SOD 水平显著提高($P < 0.05$);中、高剂量组小鼠血清中的 SOD 水平显著高于低剂量组($P < 0.05$),同时显著降低血清 MDA 水平值($P < 0.05$)。从大脑、肾脏组织病理切片看,随着夏黑葡萄花青素处理剂量的增加,神经元细胞形态逐渐规则,数量丰富,细胞间隙变小,细胞数目较多,排列整齐;肾小球数量增多丰富,形态变饱满。结论:夏黑葡萄花青素具有一定的抗氧化能力,对 D-半乳糖衰老模型小鼠具有较好的保护作用。

关键词:夏黑葡萄花青素, D-半乳糖, 抗氧化, 抗衰老

Antioxidant Activity of Summer Black Grape Anthocyanin and Its Protective Effect on D-galactose Induced Aging Mice

WANG Bing-ya¹, LIAN Xiu-yi², YANG Chen-bo³, GUO Xu-ran⁴, SHEN Pei-hong^{5,*}, LIU Wen-tao⁴, LIU Le¹

(1. School of Public Health, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China;

2. Henan Fuming Ecotourism Development Co., Ltd., Zhengzhou 450001, China;

3. School of Basic Medical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China;

4. College of Materials Science and Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China;

5. Affiliated Tumor Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450008, China)

Abstract: Object: To study the antioxidant activity and anti-aging effect of summer black grape anthocyanin extract. Methods: The antioxidant activity of summer black grape anthocyanin extract was studied by measuring the ability to scavenge 1,1-diphenyl-2-trinitrophenylhydrazine (DPPH) free radicals, superoxide anion, hydroxyl radicals, and total reducing power. 40 aging model mice, which were established by injecting D-galactose into the nape of the neck, were fed with different doses of summer black grape anthocyanin for 30 days, and blood samples were taken after 24 h of fasting to detect the levels of superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) in serum. Brain and kidney were taken for hematoxylin-eosin staining (HE) pathological tissue sections to observe the histopathological changes. Results: Summer black grape anthocyanin had strong scavenging ability against DPPH radicals, superoxide anion, and hydroxyl radicals. Compared with the model group, SOD level in serum of mice was lower than that of medium and high dose groups ($P < 0.05$), while medium and high dose group was higher than that of low dose groups ($P < 0.05$), and significantly reduce the level of serum MDA ($P < 0.05$). From the histopathological sections of brain and kidney, with the increase of anthocyanin dosage, the morphology of neurons gradually became regular and abundant, the cell gap became smaller, the number of cells were larger, arranged neatly, the number of glomeruli was increased

收稿日期: 2019-05-13

作者简介: 王兵亚(1990-), 男, 硕士, 研究方向: 营养与食品卫生学, E-mail: wangbingyaleehom@163.com。

* 通讯作者: 申培红(1967-), 女, 博士, 教授, 研究方向: 病理学, E-mail: 13838122660@163.com。

基金项目: 河南省科技厅科技发展规划(豫科[2018]19号, 编号 182107000056)。

and abundant, and the morphology became plump. Conclusion: Summer black grape anthocyanin extract has certain antioxidant ability, and it has a better protective effect on D-galactose aging mice.

Key words: summer black grape anthocyanin; D-galactose; antioxidant; anti-aging

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2020)03-0022-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020.03.005

引文格式: 王兵亚, 连秀仪, 杨琛擘, 等. 夏黑葡萄花青素抗氧化活性及对 D-半乳糖衰老模型小鼠的保护作用[J]. 食品工业科技, 2020, 41(3): 22-26, 32.

花青素又称花色素, 为一类水溶性的类黄酮化合物, 主要存在于紫薯、葡萄、山药等农作物中^[1]。葡萄(*Vitis vinifera* L.) 是葡萄科葡萄属木质化藤本植物的果实, 葡萄中花青素主要存在部位为葡萄皮, 葡萄中所含有的花青素具有强效抗氧化作用, 能够在很大程度范围内保护人体或细胞免受自由基的伤害; 能增强人体免疫系统, 有抗氧化及抗衰老等功能^[2]。花青素是世界上发现的最有效、最安全的自由基清除剂^[3]之一, 而人体内存在清除自由基的防御系统包括超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等抗氧化酶系, SOD是体内重要的抗氧化酶^[4], 能够清除超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)生成 H_2O_2 , SOD水平伴随机体衰老而减低, 使人体清除自由基能力下降, 因此SOD水平可以间接反映机体抗氧化能力^[5]。同时衰老是一种不可抗拒的生理现象, 它与人体自由基关系密切, 因此保持体内自由基和抗氧化剂的平衡是延缓衰老的重要途径。随着年龄的增长, 抗氧化防御物质的合成和活性下降, 导致机体大量代谢产物丙二醛(MDA)的产生, MDA是判断机体内过氧化程度的重要指标, 既可以判断组织氧化程度, 也可以评价机体衰老程度^[6-9], 高水平的MDA将导致机体脂质过氧化, 过高的MDA使机体产生和清除自由基的平衡被破坏, 自由基堆积, 加速机体衰老, 从而引起多种衰老相关疾病^[10-12]。衰老过程复杂, 多种因素参与调节, 具体分子生物学机制仍在研究中, 目前大众比较接受的学说有氧化应激学说、免疫学说、凋亡学说等^[13]。D-半乳糖致小鼠衰老模型是以氧化应激学说为基础, 正常剂量的D-半乳糖在体内是还原醛糖, 可被肝脏酶解代谢为葡萄糖; 过量的D-半乳糖机体不能代谢, 会诱导产生活性氧自由基, 从而降低小鼠血清中SOD水平, 增加MDA含量, 使组织器官进入衰老状态^[14-15]。

现阶段国内外对花青素的研究多集中于蓝莓、紫薯、桑葚、黑枸杞等^[16-19], 对葡萄花青素的研究却很少。同时, 葡萄花青素的研究多集中于其常见生理活性成分的提取、纯化、结构分析及含量测定, 尚未见对夏黑葡萄花青素抗衰老作用的研究。

因此本实验以夏黑葡萄花青素提取物为研究材料, 测定夏黑葡萄花青素清除DPPH自由基、超氧阴离子自由基、羟基自由基的能力和总还原能力来研究其抗氧化活性, 同时采用D-半乳糖衰老动物模型^[18], 以此来研究夏黑葡萄花青素对小鼠血中抗氧化指标及脏器的变化影响, 综合评价其体内抗衰老活性, 为开发以夏黑葡萄为原料的新型保健食品打下试验基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

夏黑葡萄 采于河南富景生态旅游开发有限公司; 夏黑葡萄花青素样品 纯度62.1%, 郑州大学材料学院; 40只健康2月龄的ICR小鼠, 雌鼠20只、雄鼠20只 购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 动物合格证号为SCXK(京)2016-0006。小鼠饲养环境: 温度为20~22℃, 相对湿度为50%~60%, 自由饮水、进食; SOD和MDA测定试剂盒 南京建成生物工程研究所; 苏木素-伊红染料 沈阳万类生物有限公司; 甲醇、三羟甲基氨基甲烷 Tris 溶液 北京博奥拓达科技有限公司; 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH) 上海如吉生物公司; 邻苯三酚溶液、浓盐酸溶液、磷酸盐缓冲液、无水乙醇溶液、1%铁氰化钾溶液、 $FeSO_4$ 溶液、10%三氯乙酸溶液、邻羟基苯甲酸溶液、0.1%三氯化铁溶液、 H_2O_2 溶液(由实验室提供配制) 天津科密欧化学试剂有限公司; D-半乳糖粉剂 上海国药集团化学试剂有限公司; V_c 标品 上海麦克林生化科技有限公司, 批号: 201425, 纯度>99.0%; 水 为超纯水(屈臣氏蒸馏水)。

TG-16-WS型台式高速离心机 上海卢湘仪离心机仪器有限公司; UV-1100紫外可见分光光度计 上海光学仪器五厂有限公司; 恒温水浴槽 天津市泰斯特仪器有限公司; AZ2015型热台 安卓源科技有限公司; JJ124BC型电子天平 上海上平仪器有限公司; 旋转蒸发仪 上海亚荣生化仪器厂; AB-8树脂柱 南开合成科技有限公司; 组织包埋机 美国 Thermo 公司; CUT4062石蜡切片机 德国 SLEE 公司; 光学显微镜 日本 Olympus 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 清除DPPH自由基能力的测定 用夏黑葡萄花青素提取物样品分别配制成0.10、0.25、0.50、1.00、1.50、2.00 mg/mL的溶液, 取2 mL样品溶液然后分别与2 mL 0.2 mmol/L的DPPH无水乙醇溶液混合, 充分混合后静置1 h, 测定517 nm波长下的吸光度, 记为 A_x 。同样取上一个步骤配制的六个浓度梯度的样品溶液各2 mL, 分别与2 mL无水乙醇混合。混合均匀以后, 测定517 nm波长下的吸光度值, 记为 A_d 。准确吸取2 mL蒸馏水与2 mL DPPH无水乙醇溶液混合均匀, 测定517 nm波长下的吸光度值, 记为 A_0 。参比溶液均为1:1混合的无水乙醇和蒸馏水。以 V_c 为阳性对照^[13], 并根据式(1)计算DPPH自由基清除率。

$$\text{DPPH 自由基清除率}(\%) = [1 - (A_x - A_d) / A_0] \times 100 \quad \text{式(1)}$$

1.2.2 清除羟基自由基能力的测定 将样品溶液配成 0.10、0.25、0.50、1.00、1.50、2.00 mg/mL 六个浓度梯度的溶液,分别取 1 mL 样品溶液然后先后加入 1.0 mL 9 mmol/L 硫酸亚铁溶液、1.0 mL 9 mmol/L 邻羟基苯甲酸溶液和 1.0 mL 9 mmol/L 的 H_2O_2 溶液,充分摇匀。在 37 °C 的水浴槽中加热 30 min,静置 25 min 后,在波长 510 nm 处测定其吸光度 A_x 。用蒸馏水代替样品溶液作为待测溶液,测定波长为 510 nm 下的吸光度 A_0 。以蒸馏水代替上述硫酸亚铁、邻羟基苯甲酸和 H_2O_2 溶液,测定波长为 510 nm 下的吸光度值(以上所有参比溶液均为蒸馏水),记为 A_d 。按上述反应条件处理,以同样浓度的 V_c 为空白对照。根据式(2)计算清除率。

$$\text{清除率}(\%) = (A_0 - A_x + A_d) / A_0 \times 100 \quad \text{式(2)}$$

1.2.3 清除超氧阴离子自由基能力的测定 将样品溶液配成 0.10、0.25、0.50、1.00、1.50、2.00 mg/mL 六个浓度梯度的溶液。取 2.25 mL, pH 为 8.2 的 25 °C 下预热过的浓度为 50 mmol/L 三羟甲基氨基甲烷(Tris)-HCl 缓冲溶液,放置在 10 mL 的试管中,再将 2 mL 的样品溶液加入试管中,接着加入温度为 25 °C 的 60 mmol/L 联苯三酚溶液 0.05 mL,快速摇匀混合反应 4 min 后加入 0.02 mL 浓度为 10 mol/L 的浓盐酸溶液终止反应。参比溶液为蒸馏水,测定波长 325 nm 下的吸光度值,记为 A_x 。按上述方法,以 2 mL 蒸馏水代替样品溶液,测定波长 325 nm 下的吸光度值,记为 A_d 。最后用蒸馏水替换联苯三酚溶液,测定波长 325 nm 下的吸光度值,记为 A_0 。对同样浓度 V_c 作同样处理并作为阳性对照。根据式(3)计算清除率,根据公式计算清除率。

$$\text{清除率}(\%) = [A_d - (A_x - A_0)] / A_d \times 100 \quad \text{式(3)}$$

1.2.4 测定总还原能力的测定 总还原能力的测定参考石甜甜等^[20]采用的铁离子还原抗氧化剂能力法进行。将样品溶液配成 0.05、0.10、0.15、0.20、0.25、0.30 mg/mL 六个浓度梯度的溶液。分别取 1 mL 样品溶液加入试管中,然后依次加入 2.5 mL 磷酸盐缓冲液(0.2 mol/L, pH = 6.6)和 2.5 mL 的 1% 铁氰化钾溶液,充分摇匀混合后,在 50 °C 的条件下反应 20 min。反应完毕后迅速冷却,然后加入 2.5 mL 10% 三氯乙酸溶液,充分混匀后,以 4000 r/min 的速度离心 15 min。离心完毕后取 2.5 mL 上清液,加入 2.5 mL 蒸馏水和 0.5 mL 0.1% 三氯化铁溶液,充分摇匀,反应 10 min 后,然后以蒸馏水为参比,测定在波长 700 nm 下的吸光度值 A ,吸光度值越大,表示总还原能力越强,对同样浓度的 V_c 做同样处理并作为阳性对照。

1.2.5 实验分组及衰老模型处理 40 只小鼠按照 300 mg/(kg·d)的剂量皮下注射灭菌 D-半乳糖,连续注射 55 d,构建小鼠衰老模型,通过行为学检测显示造模成功^[21]。随后将建模成功的 40 只衰老模型小鼠根据体质量按随机数字表法随机分成 4 组,每组 10 只,用夏黑葡萄花青素提取物进行灌胃,剂量分别为低剂量组 50 mg/(kg·d)、中剂量组 75 mg/(kg·d)、高剂量组 100 mg/(kg·d),剩余 10 只用同体积生理盐水灌胃作为衰老模型对照组,连续

灌胃 30 d。各组小鼠同室分笼饲养,自由进食(基础饲料)和水。

1.2.6 标本采集及指标测定 各组小鼠末次灌胃后,禁食不禁水,24 h 后眼眶取血,小鼠脱颈处死。血浆于 4 °C 低温 3500 r/min 离心 10 min,分离血清,根据试剂盒说明测定 SOD 水平和 MDA 水平。取各组小鼠大脑组织和肾脏组织置于 10% 甲醛溶液中固定,酒精梯度脱水,石蜡包埋,进行 4 μm 切片,HE 染色后,中性树脂封片,在显微镜下观察变化情况,并拍照获取所需图片。

1.3 数据处理

本实验中采用 Excel 2016 对基础数据进行整理,采用 Origin 9.0 和 SPSS 21.0 对实验结果进行常规处理和分析,实验结果均用 $\bar{X} \pm SD$ 表示,将 3 个不同剂量实验组分别与对照组进行独立样本的 t 检验,差异显著水平为 $P < 0.05$,以不同字母标出。

2 结果与分析

2.1 夏黑葡萄花青素抗氧化活性分析

2.1.1 夏黑葡萄花青素清除 DPPH 自由基的能力

如图 1 所示,夏黑葡萄花青素和 V_c 对于 DPPH 自由基的清除能力随着浓度的增大而增强。在两者浓度都较低时,它们对于 DPPH 自由基的清除能力相差不大,但是在浓度到 0.25 mg/mL 时,夏黑葡萄花青素的清除能力达到了接近 90% 的水平,而此时 V_c 的清除能力还处于较低状态;当浓度到达 0.5 mg/mL,两组数据变化趋于平缓,最终两者对 DPPH 自由基的清除率相差不大。由此看出在浓度区间上夏黑葡萄花青素对 DPPH 自由基的清除作用显著强于 V_c ($P < 0.05$)。

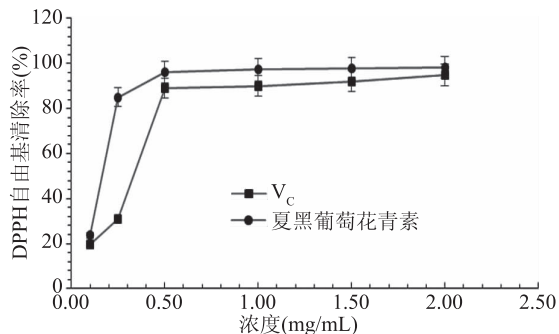


图 1 夏黑葡萄花青素与 V_c 对 DPPH 自由基的清除作用

Fig.1 DPPH radical scavenging ability of summer black grape anthocyanin and V_c

2.1.2 夏黑葡萄花青素清除羟基自由基的能力 根据图 2 显示,二者对羟基自由基的清除能力随着浓度的增大而增大,且 V_c 溶液对羟基自由基的清除能力一直显著高于夏黑葡萄花青素 ($P < 0.05$)。在浓度较低时,夏黑葡萄花青素和 V_c 的清除能力相差不大,但是在浓度较高时, V_c 的清除能力明显强于夏黑葡萄花青素,且在浓度较高时花青素的清除能力随浓度提高速度变慢,并且最终未能够达到 60%,而 V_c 的清除能力高达 80%。

2.1.3 夏黑葡萄花青素清除超氧阴离子自由基的能力 由图 3 可知,在实验浓度范围内夏黑葡萄花青

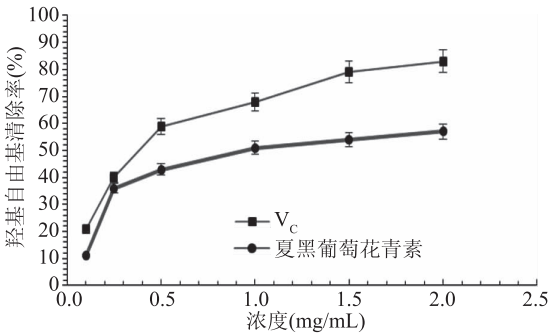


图2 夏黑葡萄花青素与V_c对羟基自由基清除作用

Fig.2 Hydroxyl radical scavenging ability of summer black grape anthocyanin and V_c

素量增加,超氧阴离子自由基的清除率升高。当夏黑葡萄花青素浓度较低时,其清除超氧阴离子自由基的能力较低,在0.5~1.0 mg/mL的浓度区间清除自由基的能力随浓度增大提高的最快,在之后提高速度变慢,在浓度区间范围内,其对超氧阴离子自由基的清除率小于对照组V_c,而且差异显著($P < 0.05$),然而当夏黑葡萄花青素浓度较高时其清除能力也能达到80%。因此,夏黑葡萄花青素具有较好的清除超氧阴离子自由基的能力,但是其能力弱于V_c。

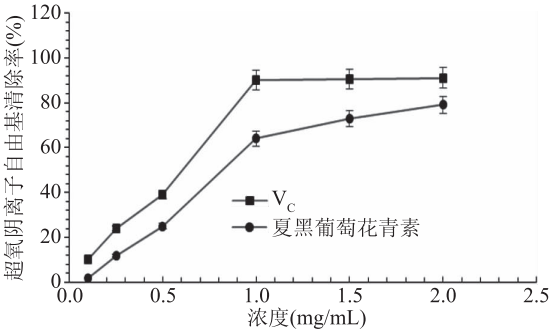


图3 夏黑葡萄花青素与V_c对超氧阴离子自由基清除作用

Fig.3 Superoxide anion radical scavenging ability of summer black grape anthocyanin and V_c

2.1.4 夏黑葡萄花青素总还原能力 从图4可知,两者的总还原力随着浓度的增大而一直处于上升趋势,且在0.05~0.30 mg/mL浓度范围内V_c的总还原能力远大于夏黑葡萄花青素,差异显著($P < 0.05$),同时夏黑葡萄花青素的总还原能力增强的速度明显小于对照组V_c。

对于以上抗氧化实验的结果,究其原因可能是对于不同的自由基,夏黑葡萄花青素对其清除机理不同,并且随着浓度的变化其清除效果也有明显变化,所以清除能力也有很大差别。总的来说,夏黑葡萄花青素有较好的体外抗氧化活性。

2.2 夏黑葡萄花青素对衰老模型小鼠血清中MDA和SOD含量的影响

由表1可知,与模型对照组相比,其小鼠血清中的SOD水平显著低于中、高剂量组($P < 0.05$);中、高剂量组小鼠血清中的SOD水平显著高于低剂量组($P < 0.05$),MDA含量各剂量模型组都显著低于模型对照组($P < 0.05$),同时,低、中、高剂量模型组小鼠

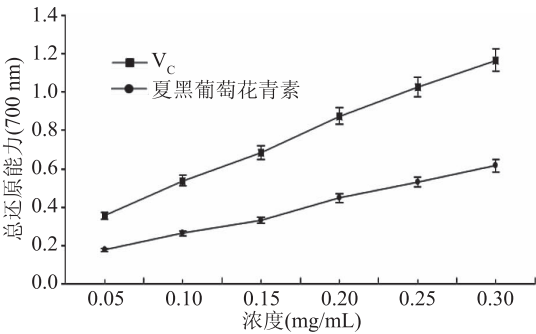


图4 夏黑葡萄花青素与V_c的总还原能力

Fig.4 Total reducing power of summer black grape anthocyanin and V_c

血清SOD活性依次升高和血清MDA水平依次降低。夏黑葡萄花青素能够提高衰老小鼠血清中SOD活性和减轻衰老小鼠体内有害氧化物的积累,减少了细胞损伤,且剂量越大时可能作用更加明显,说明高剂量的夏黑葡萄花青素对衰老小鼠保护作用良好。在以往研究中发现:将“紫甘薯花青素、蓝莓花青素^[5,8]作用于衰老小鼠,结果都显示小鼠血清及器官中SOD活性显著提高,MDA含量下降,与本实验有着类似的结果。

表1 各组小鼠血清中SOD活性和MDA含量(n=10, $\bar{X} \pm S$)

Table 1 Activity of SOD and MDA content in serum of mice in each group(n=10, $\bar{X} \pm S$)

组别	SOD(U/mg)	MDA(nmol/mL)
模型对照组	181.024 ± 2.146	13.518 ± 2.043
低剂量模型组	188.352 ± 9.612 ^b	9.821 ± 3.083 ^{*c}
中剂量模型组	191.008 ± 10.903 ^{*a}	5.981 ± 3.227 ^{*b}
高剂量模型组	203.872 ± 7.189 ^{*a}	3.050 ± 2.580 ^{*a}

注: *表示与模型对照组相比差异显著($P < 0.05$),不同剂量组间不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

2.3 夏黑葡萄花青素对衰老模型小鼠大脑组织的影响

衰老模型对照组小鼠大脑组织可见神经元细胞数量减少,大脑皮层区部分神经元数量少,排列紊乱,形态不规则,边界不清(图5A);低剂量组小鼠大脑组织可见水肿(图5B),细胞间隙增大,细胞核固缩,细胞形态开始变规则;中剂量组可见参与机体高级神经活动和空间定位的海马区变薄(图5C),结构异常;高剂量组小鼠大脑组织镜下结构形态正常,神经元细胞形态规则,数量丰富,细胞间隙小,细胞数目较多,排列整齐,海马区正常(图5D)。

2.4 夏黑葡萄花青素对衰老模型小鼠肾脏组织的影响

如图6所示,衰老模型对照组小鼠肾脏组织镜下可见皮质层肾小球数量减少,少量肾小球萎缩(图6A),肾小血管硬化(图6B),肾小球系膜和外基质出现增生现象,肾集合管淀粉样变(图6C);高剂量组小鼠肾脏组织镜下可见结构形态正常,肾小球数量丰富,形态饱满(图6D),肾小球结构完整并无损害情况。

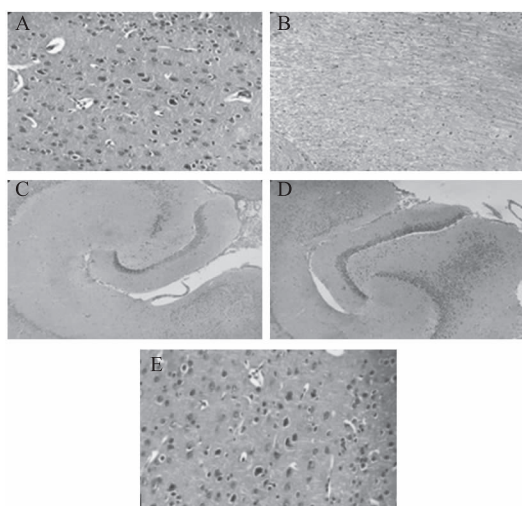


图5 各组小鼠大脑组织切片(HE,400×)

Fig.5 Histopathology of brain tissues
in mice of each group(HE,400×)

注:A:对照组;B:低剂量组;C:中剂量组;
D:高剂量组;E:正常小鼠。

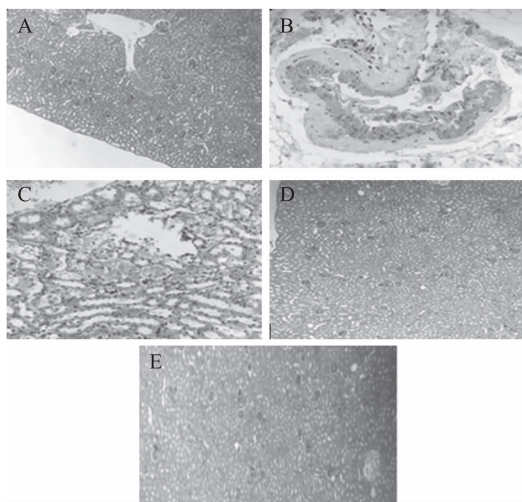


图6 各组小鼠肾脏组织切片(HE,400×)

Fig.6 Histopathology of kidney tissues
in mice of each group(HE,400×)

注:A:对照组;B:低剂量组;C:中剂量组;
D:高剂量组;E:正常小鼠。

3 结论

随着经济发展和生活水平的提高,人们的健康意识也日益增强,人们对预期寿命提出了更高的要求,高效抗衰老已成为全民关注的热门问题。同时随着对花青素越来越深入的研究,其抗氧化活性和延缓衰老作用开始被医学界所重视,花青素具有强大的抗氧化和清除自由基的功能,而目前对于夏黑葡萄花青素的抗氧化活性和抗衰老作用方面尚无系统研究。

本研究通过 D-半乳糖建立小鼠衰老模型来检测夏黑葡萄花青素的衰老预防作用。研究发现,夏黑葡萄花青素具有较强抗氧化活性,特别在浓度较大时其对于 DPPH 自由基的清除率能达到 98%,这与文献报道的夏黑葡萄花青素具有一定的抗氧化作

用相一致^[2,22-24]。体内实验显示,夏黑葡萄花青素对 D-半乳糖致衰老小鼠 SOD 活力具有提升作用,并且同时还降低 MDA 水平,可能与其清除氧自由基及其损伤细胞成分产生的有害产物、预防了老龄动物神经、内分泌等调节系统功能减退和微量元素的缺失,从而遏制了机体衰老导致的 SOD 合成减少等因素密切相关^[5],从病理切片看,夏黑葡萄花青素具有抗氧化能力,这与之之前文献报道花青素具有抗衰老的作用结果一致^[18-19,24-25]。

综上所述,夏黑葡萄花青素能抑制并减缓衰老小鼠的机体衰老,具有增强小鼠体内抗氧化,延缓衰老的作用。这为其进一步开发利用夏黑葡萄中的花青素提供了可靠的科学依据。然而,本研究仅对夏黑葡萄花青素的延缓衰老作用做了初步的探讨,对夏黑葡萄花青素中起抗衰老作用的单体化合物的研究与其抗衰老的机理尚待研究。

参考文献

- [1]侯锐,陈琦,王利,等.花青素及其生物活性的研究进展[J].现代生物医学进展,2015,15(28):5590-5593.
- [2]李小娟,聂钰洪,刘琦琦,等.鲜食葡萄品种多酚类物质含量及抗氧化活性分析[J].北方园艺,2017(21):37-42.
- [3]周玮婧,孙智达,谢笔钧,等.荔枝皮原花青素提取、纯化及抗氧化活性研究[J].食品科学,2009,30(8):68-71.
- [4]Cui J J, Yuan J F, Zhang Z Q, et al. Anti-oxidation activity of the crude polysaccharides isolated from *Polygonum Cillinerve* (Nakai) Ohwi in immunosuppressed mice [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2010, 132(2): 512-517.
- [5]庞棋期,钱波,王程强,等.辣木多肽对 D-半乳糖致衰老小鼠抗氧化功能的影响[J].现代食品科技,2019,35(5):23-29.
- [6]文全泰,潘廷啟,黄礼德,等.土人參提取液对 D-半乳糖所致衰老小鼠的抗氧化作用研究[J].天然产物研究与开发,2014,26(5):662-665.
- [7]宋家乐,周燕园,赵超超,等.六堡茶总黄酮对老龄小鼠抗氧化功能的影响[J].食品研究与开发,2016,37(20):173-176.
- [8]崔玮,韩春,赵巧华,等.苹果皮总黄酮对 D-半乳糖致衰老模型小鼠抗氧化能力的影响[J].食品科学,2014,35(15):258-262.
- [9]刘继翔,潘绵立,胡寒,等.薏灵酒对 D-半乳糖致衰老小鼠抗衰老作用的药效研究[J].世界临床药物,2018,39(2):120-124.
- [10]吴莹,周庆,李杏,等.蓝莓花青素与白藜芦醇复配对老龄小鼠抗衰老作用的评价[J].中国医院药学杂志,2016,36(24):2178-2183.
- [11]宋朝春,魏冉磊,樊晓兰,等.衰老及抗衰老药物的研究进展[J].中国生化药物杂志,2015,35(1):163-170.
- [12]高璐,王滢,饶胜其,等.葡萄籽原花青素提取物对衰老模型小鼠抗氧化作用[J].食品科学,2014,35(23):253-256.
- [13]Reiter R J, Paredes S D, Korkmaz A, et al. Melatonin in relation to the "strong" and "weak" Versions of the free radical

(下转第 32 页)

[J].食品科学,2018,39(5):148-154.

[6] Biais B, Bail P L, Robert P, et al. Structural and stoichiometric studies of complexes between aroma compounds and amylose. Polymorphic transitions and quantification in amorphous and crystalline areas [J]. Carbohydrate Polymers, 2006, 66 (3): 306-315.

[7] Marinopoulou A, Papastergiadis E, Raphaelides S N, et al. Morphological characteristics, oxidative stability and enzymic hydrolysis of amylose - fatty acid complexes [J]. Carbohydrate Polymers, 2016, 141: 106-115.

[8] Lesmes U, Cohen S H, Shener Y, et al. Effects of long chain fatty acid unsaturation on the structure and controlled release properties of amylose complexes [J]. Food Hydrocolloids, 2009, 23 (3): 667-675.

[9] Tang M C, Copeland L. Analysis of complexes between lipids and wheat starch [J]. Carbohydrate Polymers, 2007, 67 (1): 80-85.

[10] Zabar S, Lesmes U, Katz I, et al. Structural characterization of amylose - long chain fatty acid complexes produced via the acidification method [J]. Food Hydrocolloids, 2010, 24 (4): 347-357.

[11] 徐澎聪, 王雨生, 陈海华, 等. 制备方法对小麦淀粉-油酸包合物的热性质及消化性质的影响 [J]. 食品科学, 2017, 38 (3): 7-12.

[12] Zhou Z K, Robards K, Helliwell S, et al. Effect of the addition of fatty acids on rice starch properties [J]. Food Research International, 2007, 40 (2): 209-214.

[13] Chang F D, He X W, Huang Q. The physicochemical properties of swelled maize starch granules complexed with lauric acid [J]. Food Hydrocolloids, 2013, 32 (2): 365-372.

[14] Vasiliadou E, Stylianou N R, Efthimios P. Effect of heating time and temperature on partially gelatinized starch - fatty acid interactions [J]. LWT - Food Science and Technology, 2015, 60 (2): 698-707.

[15] Seo T R, Kim H Y, Lim S T. Preparation and characterization

of aqueous dispersions of high amylose starch and conjugated linoleic acid complex [J]. Food Chemistry, 2016, 211: 530-537.

[16] Kawai K, Takato S, Sasaki T, et al. Complex formation, thermal properties, and *in vitro* digestibility of gelatinized potato starch-fatty acid mixtures [J]. Food Hydrocolloids, 2012, 27 (1): 228-234.

[17] 王雨生, 陈海华, 赵阳. 热处理对不同直链淀粉含量的玉米淀粉理化性质的影响 [J]. 中国粮油学报, 2016, 36 (9): 45-51.

[18] Arik kibar E A, Gönenc I, Us F. Effects of fatty acid addition on the physicochemical properties of corn starch [J]. International Journal of Food Properties, 2014, 17 (1): 204-218.

[19] Marinopoulou A, Papastergiadis E, Raphaelides S N, et al. Structural characterization and thermal properties of amylose-fatty acid complexes prepared at different temperatures [J]. Food Hydrocolloids, 2016, 58: 224-234.

[20] 王雨生, 陈海华, 秦福敏, 等. DMSO/H₂O 法制备高链玉米淀粉-脂肪酸包合物的热性质 [J]. 中国粮油学报, 2017, 32 (6): 121-127.

[21] Godet M C, Tran V, Delage M M, et al. Molecular modelling of the specific interactions involved in the amylose complexation by fatty acids [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 1993, 15 (1): 11-16.

[22] Lu X X, Shi C, Zhu J Y. Structure of starch - fatty acid complexes produced via hydrothermal treatment [J]. Food Hydrocolloids, 2019, 88: 58-67.

[23] Marinopoulou A, Papastergiadis E, Raphaelides S N. An investigation into the structure, morphology and thermal properties of amylose starch-fatty acid complexes prepared at different temperatures [J]. Food Research International, 2016, 90: 111-120.

[24] Kim E A, Kim J Y, Chung H J, et al. Preparation of aqueous dispersions of coenzyme Q₁₀ nanoparticles with amylose starch and its dextrin [J]. LWT - Food Science and Technology, 2012, 47 (2): 493-499.

(上接第 26 页)

theory of aging [J]. Advances in Medical Sciences, 2008, 53 (2): 119-129.

[14] 原慧萍, 杨泽. 氧化应激与衰老研究进展 [J]. 中国老年保健医学, 2015, 13 (5): 14-17.

[15] 刘建亚, 冯文静, 王仁萍, 等. D-半乳糖致衰老动物模型及其机制研究进展 [J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2018 (3): 224-227.

[16] 卢立真, 张雨青, 马永雷, 等. 紫甘薯花青素苷对老龄小鼠的抗氧化作用 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38 (13): 6916-6917, 6920.

[17] 刘涛, 韦仕静, 任杰, 等. 桑葚汁多菌种发酵过程主要成分及抗氧化性的变化 [J]. 食品工业科技, 2017, 38 (19): 131-135, 141.

[18] 马嘉艺, 郭砚, 冶娟, 等. 黑果枸杞原花青素对小鼠皮肤衰老模型的保护作用研究 [J]. 中国全科医学, 2019, 22 (15): 1851-1854.

[19] 李路宁, 陈威, 赵立仪, 等. 蓝莓花青素的酰化及其抗氧化性评价 [J]. 食品工业科技, 2014, 35 (6): 102-106.

[20] 石甜甜, 李晶晶, 林春风, 等. 尾巨桉树皮提取物抗氧化活性及其成分分析 [J]. 食品工业科技, 2019, 40 (1): 23-28.

[21] 朱亚珍, 朱虹光. D-半乳糖致衰老动物模型的建立及其检测方法 [J]. 复旦学报: 医学版, 2007 (4): 617-619.

[22] 冯晓翎, 曹诗瑜, 徐晓瑜, 等. 11 个鲜食葡萄品种总酚含量和抗氧化活性的评价 [J]. 食品工业科技, 2019, 40 (6): 68-75.

[23] 邓红梅, 周天. 野生葡萄皮渣中花青素的含量及其抗氧化性和抑菌性研究 [J]. 中国食品添加剂, 2016 (9): 90-94.

[24] 石娟, 张曼莉, 孙汉巨, 等. 黑米花青素体内抗氧化研究 [J]. 食品工业科技, 2015, 36 (5): 348-351, 369.

[25] 周翠, 韩成云, 赵志刚. 紫薯、黑米、葡萄皮的花青素抗氧化性和稳定性的比较 [J]. 食品工业, 2018, 39 (6): 164-168.