

‘农大4号’欧李果实花色苷 对D-半乳糖致衰老小鼠保护作用研究

杜灵敏¹,付鸿博^{1,2},杜俊杰¹,王鹏飞¹,穆霄鹏¹,张建成^{1,*}

(1.山西农业大学园艺学院,山西太谷 030801;

2.黑龙江省农业科学院,乡村振兴科技研究所,黑龙江哈尔滨 150000)

摘要:为了研究‘农大4号’欧李果实花色苷对衰老小鼠保护作用,采用颈部皮下注射D-半乳糖构建衰老小鼠模型,用不同剂量(高、中、低剂量分别为500、250、125 mg·(kg·d)⁻¹)的花色苷灌胃小鼠,计算小鼠心脏、肝脏、脾脏、肺脏及肾脏指数,并测定小鼠血清、心脏、肝脏、脾脏和肾脏中总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)的指标变化情况。结果表明:与空白组相比,模型组小鼠肝脏指数、脾脏指数和肾脏指数显著下降($P<0.05$),血清和各脏器组织中的T-AOC、SOD、GSH-Px、CAT均显著降低($P<0.05$),MDA含量显著升高($P<0.05$),说明衰老小鼠模型构建成功。与模型组相比,高剂量组的肝脏指数、脾脏指数和肾脏指数显著升高($P<0.05$),血清和各脏器中的T-AOC、SOD、GSH-Px、CAT均有显著升高($P<0.05$),MDA含量显著降低($P<0.05$)。由此得出,‘农大4号’欧李果实花色苷能有效增强小鼠的抗氧化能力,对衰老小鼠有较强的保护作用。

关键词:欧李,花色苷,D-半乳糖,衰老,抗氧化

Protection Effect of Anthocyanins from the Chinese Dwarf Cherry ‘Nongda No 4’ on Aging Mouse by D-galactose

DU Ling-min¹, FU Hong-bo^{1,2}, DU Jun-jie¹, WANG Peng-fei¹, MU Xiao-peng¹, ZHANG Jian-cheng^{1,*}

(1.College of Horticulture, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China;

2.Rural Revitalization Institute of Science and Technology,

Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150000, China)

Abstract: In order to study the effect of anthocyanin from the Chinese dwarf cherry ‘Nongda No 4’ on the protection of aging mouse, a mouse model of aging was established by subcutaneously injecting D-galactose in the neck and back, and the aging mice were gavaged with different doses (500, 250, 125 mg·(kg·d)⁻¹) of anthocyanins. The heart, liver, spleen, lung and kidney indexes and the contents of malondialdehyde (MDA) and the activities of total antioxidant capacity (T-AOC), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) in the heart, liver, spleen, kidney and serum of mice were assessed. The results showed that compared with the control group, the liver, spleen and kidney indexes of mice in the model group decreased significantly ($P<0.05$), T-AOC, SOD, GSH-Px, and CAT activities in the serum and organs decreased significantly ($P<0.05$), and MDA content increased significantly ($P<0.05$), indicating successful construction of aging mice model. Compared with the model group, the liver, spleen and kidney indexes and T-AOC, SOD, GSH-Px, and CAT activities in the serum and organ tissues were increased significantly ($P<0.05$) and MDA content was decreased significantly ($P<0.05$) of mice in the high dose. Therefore, anthocyanins from the Chinese dwarf cherry ‘Nongda No 4’ can effectively improve the antioxidant ability and protection ability in mice.

Key words: the Chinese dwarf cherry; anthocyanins; D-galactose; aging; antioxidant

中图分类号:TS201.4

文献标识码:A

文章编号:1002-0306(2020)17-0292-06

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2020.17.049

引文格式:杜灵敏,付鸿博,杜俊杰,等.‘农大4号’欧李果实花色苷对D-半乳糖致衰老小鼠保护作用研究[J].食品工业科技,2020,41(17):292-296,307.

收稿日期:2019-12-13

作者简介:杜灵敏(1995-),男,硕士研究生,研究方向:果树种质资源研究与创新,E-mail:d1091171640@163.com。

*通讯作者:张建成(1974-),男,博士,教授,研究方向:果树生物技术;E-mail:zjcd001@163.com。

基金项目:山西省重点研发计划项目(201703D221028-4);山西省自然科学基金项目(201801D121251);山西省重点研发计划重点项目(201703D211001-04-04)。

人体中不断产生的自由基是人体进行新陈代谢产生的代谢产物^[1]。正常生理情况下,自由基处于动态平衡,维持机体健康^[2],但当自由基过量积累时,则会造成各种不可逆的氧化损伤^[3],表现出疾病、衰老等状态。花色苷是目前研究较多的有强抗氧化活性的一类功能因子,具有抗衰老、抗癌、抑菌、心血管保护等功能^[4-9]。

欧李主要分布于我国的黑龙江、吉林、辽宁、内蒙古、山西等13个省区^[10]。其果实颜色丰富,具有黄色、红色、粉红色、紫色和紫黑等多种颜色类型,花色苷色素含量较高。在对红树莓、越橘、李^[11-13]等的研究中发现,花色苷对衰老小鼠有较好的保护作用,但关于欧李果实花色苷对衰老小鼠保护作用的研究较少,因此本研究选用红底红肉型的‘农大4号’欧李果实为试验材料,D-半乳糖构建氧化损伤小鼠模型,以此探究欧李果实花色苷对衰老小鼠的保护作用,旨在为欧李果实花色苷在食药方面的开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

ICR 雄性小鼠60只,体重18~22 g 购自山西医科大学,动物合格证:SCXK(晋)2015-001;‘农大4号’欧李果实 采于2018年9月山西省太谷县巨鑫试验基地;总抗氧化能力(total superoxide dismutase, T-AOC)试剂盒、过氧化氢酶(catalase, CAT)试剂盒、丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)试剂盒 购于南京建成生物工程研究所;蛋白浓度测定试剂盒、D-半乳糖、维生素E(V_E) 购于Solarbio公司;无水乙醇(分析纯)≥99% 天津市天力化学试剂有限公司。

JJ224BC 型电子天平 常熟市双杰测试仪器厂;SB25-12D 超声波清洗机 宁波新芝生物科技有限公司;HC-2518R 高速冷冻离心机 安徽中科中佳科学仪器有限公司;RE-2000B 旋转蒸发器、SHZ-III 型循环水真空泵 上海亚荣生化仪器厂;Infinite F50 酶标仪 Tecan Austria GmbH。

1.2 实验方法

1.2.1 花色苷制备 参考本团队前期采用制备‘农大4号’欧李果实花色苷的方法^[14]。称取一定量‘农大4号’欧李果实,液氮研磨,按照料液比1:5(g/mL),加入体积分数为90%(pH=2.0)乙醇溶液,超声提取10 min,超声功率800 W,于10000×g下离心30 min,提取2次,合并上清液,得到粗提液,花色苷含量为24.21 mg/100 g。粗提液蒸发浓缩后通过AB-8大孔树脂吸附至饱和后先用蒸馏水洗至流出液为中性,再用体积分数为90%乙醇洗脱,当流出液为无色时洗脱完成,收集洗脱液。洗脱液在40℃条件下旋转蒸发后经冷冻干燥,得到欧李‘农大4号’精制花色苷。

1.2.2 试验设计 动物实验根据抗氧化功能评价方法进行设计^[15]。

1.2.2.1 分组方法 进行一周适应性饲喂后,将60只小鼠按体重随机分为6组,每组10只,分别为空白组、

模型组,维生素E(V_E)组,花色苷高、中、低剂量组。

1.2.2.2 氧化损伤方法 除空白组外,其余各组按照500 mg·(kg·d)⁻¹的剂量颈部皮下注射D-半乳糖,注射体积为0.01 mL·g⁻¹,空白组注射等量的生理盐水,注射体积为0.01 mL·g⁻¹,连续注射30 d。

1.2.2.3 给药方法 造模同时,花色苷高、中、低剂量组按500、250、125 mg·(kg·d)⁻¹的剂量灌胃花色苷,V_E组按20 mg·(kg·d)⁻¹剂量灌胃V_E,空白组和模型组灌胃生理盐水,灌胃体积为0.01 mL·g⁻¹,连续灌胃30 d。试验期间,所有小鼠不限制进食和饮水。

1.2.3 样品的采集 末次灌胃后,所有小鼠禁食不禁水12 h,之后摘眼球取血,断颈处死,迅速解剖取出小鼠心脏、肝脏、脾脏、肺脏及肾脏等组织,随后用预冷生理盐水制备10%的组织匀浆,4℃,3500 r·min⁻¹,离心10 min 取上清液。血清及组织匀浆上清液于-20℃保存备用^[16]。

1.2.4 指标测定 记录小鼠处死前体重为m₀,小鼠断颈处死后,取出心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏,洗去浮血,称重,记为m₁,根据公式算出小鼠各脏器指数;按试剂盒操作测定小鼠心脏、肝脏、脾脏、肾脏以及血清的MDA、T-AOC、SOD、CAT、GSH-Px。

$$\text{脏器指数}(\%) = \frac{m_1}{m_0} \times 100$$

1.3 数据处理

数据以 $\bar{x} \pm SD$ 表示,运用SPSS 16.0进行单因素方差分析与LSD多重比较。

2 结果与分析

2.1 ‘农大4号’欧李果实花色苷对衰老小鼠脏器指数的影响

由表1可知,与空白组相比,模型组肝脏指数、脾脏指数和肾脏指数显著低于空白组($P < 0.05$)。与模型组相比,高剂量组的肝脏指数、脾脏指数和肾脏指数显著高于模型组($P < 0.05$),V_E对照组、中剂量的肝脏指数、脾脏指数和肾脏指数高于模型组,但无显著差异($P > 0.05$)。各组的心脏指数和肺脏指数均无显著差异($P > 0.05$)。说明,花色苷高剂量组对小鼠脏器有较强的保护性。

2.2 ‘农大4号’欧李果实花色苷对衰老小鼠血清及脏器中MDA含量的影响

由表2可知,与空白组相比,模型组血清及各脏器MDA含量均显著升高($P < 0.05$)。与模型组相比,各组小鼠的MDA含量均有不同程度的下降,其中除低剂量组的心脏、肝脏、脾脏以及中剂量组的心脏、脾脏外,其余各组脏器的MDA含量及各组血清的MDA含量与模型组相比均有显著差异($P < 0.05$)。高剂量组与V_E对照组血清及各脏器的MDA含量均无显著差异($P > 0.05$)。表明,花色苷高剂量组能显著降低衰老小鼠血清及各脏器组织中MDA含量。

2.3 ‘农大4号’欧李果实花色苷对衰老小鼠血清及脏器中T-AOC含量的影响

由表3可知,模型组血清及各脏器T-AOC含量显著低于空白组($P < 0.05$)。与模型组相比,V_E对照组和高剂量组血清及各脏器T-AOC含量以及中剂

表1 欧李‘农大4号’花色苷对小鼠脏器指数的影响(n=10)

Table 1 Effect of the anthocyanins from Chinese dwarf cherry ‘Nongda No 4’ on organ indexes in mice(n=10)

组别	心脏指数(%)	肝脏指数(%)	脾脏指数(%)	肺脏指数(%)	肾脏指数(%)
空白组	0.53±0.05 ^a	4.60±0.50 ^a	0.59±0.16 ^a	0.70±0.11 ^a	1.52±0.06 ^a
模型组	0.48±0.09 ^a	3.89±0.12 ^b	0.40±0.06 ^b	0.70±0.09 ^a	1.29±0.21 ^b
V _E 对照组	0.47±0.05 ^a	4.08±0.37 ^{ab}	0.42±0.11 ^{ab}	0.61±0.02 ^a	1.38±0.05 ^{ab}
高剂量组	0.50±0.10 ^a	4.51±0.03 ^a	0.59±0.13 ^a	0.74±0.12 ^a	1.58±0.14 ^a
中剂量组	0.48±0.01 ^a	4.19±0.32 ^{ab}	0.41±0.07 ^b	0.68±0.09 ^a	1.39±0.14 ^{ab}
低剂量组	0.50±0.05 ^a	3.92±0.39 ^b	0.39±0.10 ^b	0.67±0.08 ^a	1.39±0.16 ^{ab}

注:同列肩标字母不同表示差异显著(P<0.05),表2~表6同。

表2 欧李‘农大4号’花色苷对小鼠血清及脏器组织中MDA含量的影响(n=10)

Table 2 Effect of the anthocyanins from Chinese dwarf cherry ‘Nongda No 4’ on MDA in serum and organ tissues of mice(n=10)

组别	血清MDA (nmol·mL ⁻¹)	MDA(nmol·mg pro ⁻¹)			
		心脏	肝脏	脾脏	肾脏
空白组	10.565±2.617 ^{bc}	72.098±9.656 ^{cd}	67.382±9.235 ^{cd}	40.454±2.339 ^{bc}	77.958±4.016 ^b
模型组	16.01±1.124 ^a	89.323±7.932 ^{ab}	82.826±2.279 ^a	49.351±5.201 ^a	90.609±5.343 ^a
V _E 对照组	9.232±0.724 ^c	62.549±12.403 ^d	60.011±4.584 ^d	34.772±7.038 ^c	57.600±8.067 ^c
高剂量组	8.979±0.687 ^c	63.184±4.743 ^d	60.339±7.617 ^d	34.29±2.802 ^c	65.985±7.747 ^c
中剂量组	10.562±1.753 ^{bc}	80.792±3.718 ^{bc}	71.218±5.196 ^{bc}	44.608±2.331 ^{ab}	77.694±9.367 ^b
低剂量组	11.786±1.083 ^b	93.488±5.589 ^a	77.790±1.637 ^{ab}	45.073±7.246 ^{ab}	78.102±4.193 ^b

表3 欧李‘农大4号’花色苷对小鼠血清及脏器中T-AOC含量的影响(n=10)

Table 3 Effect of the anthocyanins from Chinese dwarf cherry ‘Nongda No 4’ on T-AOC in serum and organ tissues of mice(n=10)

组别	血清T-AOC (mmol·mL ⁻¹)	T-AOC(mmol·g pro ⁻¹)			
		心脏	肝脏	脾脏	肾脏
空白组	0.887±0.022 ^{ab}	0.999±0.232 ^a	0.745±0.055 ^d	1.178±0.167 ^b	0.797±0.104 ^{bc}
模型组	0.754±0.045 ^c	0.619±0.164 ^{cd}	0.44±0.036 ^e	0.771±0.081 ^c	0.549±0.117 ^d
V _E 对照组	1.003±0.081 ^a	0.908±0.126 ^{ab}	1.008±0.214 ^d	1.615±0.32 ^a	1.188±0.186 ^a
高剂量组	0.930±0.070 ^{ab}	1.09±0.051 ^a	2.413±0.273 ^a	1.580±0.082 ^a	0.959±0.113 ^b
中剂量组	0.836±0.129 ^{bc}	0.731±0.128 ^{bc}	2.027±0.198 ^b	1.427±0.255 ^{ab}	0.682±0.064 ^{cd}
低剂量组	0.8458±0.078 ^{bc}	0.430±0.096 ^d	1.472±0.155 ^c	0.801±0.061 ^c	0.501±0.076 ^d

表4 欧李‘农大4号’花色苷对小鼠血清及脏器SOD活性的影响(n=10)

Table 4 Effect of the anthocyanins from Chinese dwarf cherry ‘Nongda No 4’ on SOD in serum and organ tissues of mice(n=10)

组别	血清SOD (U·mL ⁻¹)	SOD(U·mg pro ⁻¹)			
		心脏	肝脏	脾脏	肾脏
空白组	95.849±4.197 ^a	292.199±9.799 ^a	182.509±11.906 ^a	174.864±8.936 ^a	186.595±13.211 ^b
模型组	79.937±2.406 ^c	201.438±2.061 ^c	141.422±7.053 ^c	110.166±8.479 ^d	134.753±11.419 ^d
V _E 对照组	88.65±2.522 ^b	269.695±12.742 ^b	156.467±13.836 ^b	152.152±19.663 ^{bc}	213.703±10.184 ^a
高剂量组	91.271±1.533 ^{ab}	285.591±15.001 ^{ab}	182.452±6.049 ^a	153.933±5.764 ^b	178.389±11.354 ^b
中剂量组	81.414±4.557 ^c	198.324±14.242 ^c	148.084±7.768 ^{bc}	135.003±12.951 ^c	157.474±6.349 ^c
低剂量组	73.687±3.162 ^d	204.039±3.664 ^c	140.023±3.001 ^c	142.871±6.147 ^{bc}	142.314±10.833 ^{cd}

量组的肝脏和脾脏均显著高于模型组(P<0.05)。高剂量组肝脏的T-AOC含量显著高于V_E对照组(P<0.05),血清、心脏、脾脏的T-AOC含量无显著差异(P>0.05),肾脏的T-AOC含量显著低于V_E对照组(P<0.05)。表明,花色苷高剂量组能显著提高衰老小鼠血清及各脏器组织中的T-AOC含量。

2.4 ‘农大4号’欧李果实花色苷对衰老小鼠血清及脏器中SOD活性的影响

由表4可知,与空白组相比,模型组血清及各脏器SOD活性均显著降低(P<0.05)。与模型组相比,

V_E对照组、高剂量组的血清和各脏器以及中剂量组的脾脏、肾脏,低剂量组的脾脏的SOD活性均显著高于模型组(P<0.05)。高剂量组肝脏的SOD活性显著高于V_E对照组(P<0.05)。说明,花色苷高剂量组能显著提高衰老小鼠血清及各脏器组织中的SOD活性。

2.5 ‘农大4号’欧李果实花色苷对衰老小鼠血清及脏器中CAT活性的影响

由表5可知,与空白组相比,模型组血清及各脏器CAT活性均显著低于空白组(P<0.05)。与模型

表5 欧李‘农大4号’花色苷对小鼠血清及脏器CAT活性的影响(n=10)

组别	血清CAT (U·mL ⁻¹)	CAT(U·mg pro ⁻¹)			
		心脏	肝脏	脾脏	肾脏
空白组	13.006 ± 1.374 ^a	386.773 ± 14.194 ^{ab}	1830.155 ± 28.072 ^a	602.471 ± 15.791 ^b	629.6 ± 17.189 ^a
模型组	5.115 ± 1.477 ^e	202.889 ± 17.045 ^d	947.712 ± 17.210 ^c	382.007 ± 16.888 ^d	427.159 ± 19.868 ^c
V _E 对照组	9.68 ± 1.148 ^{bc}	371.983 ± 15.974 ^b	1019.163 ± 21.128 ^b	689.725 ± 15.311 ^a	642.884 ± 21.204 ^a
高剂量组	11.872 ± 2.292 ^{ab}	398.228 ± 15.635 ^a	1823.755 ± 33.735 ^a	568.866 ± 26.425 ^c	650.851 ± 13.527 ^a
中剂量组	8.275 ± 0.804 ^{cd}	238.655 ± 13.531 ^c	860.611 ± 24.135 ^d	298.608 ± 10.548 ^e	534.851 ± 23.276 ^b
低剂量组	6.737 ± 2.062 ^{de}	126.707 ± 5.714 ^e	775.153 ± 18.368 ^e	238.608 ± 15.022 ^f	403.478 ± 15.269 ^c

表6 欧李‘农大4号’花色苷对小鼠血清及脏器GSH-Px活性的影响(n=10)

组别	血清GSH-Px (U·mL ⁻¹)	GSH-Px(U·mg pro ⁻¹)			
		心脏	肝脏	脾脏	肾脏
空白组	380.808 ± 17.343 ^a	1089.8 ± 41.765 ^a	1987.949 ± 54.658 ^a	1523.571 ± 20.49 ^a	2091.954 ± 23.411 ^a
模型组	258.262 ± 12.049 ^d	456.49 ± 3.296 ^e	1579.586 ± 68.646 ^b	1035.76 ± 44.838 ^c	1270.144 ± 32.362 ^d
V _E 对照组	299.961 ± 9.840 ^c	700.659 ± 41.274 ^b	1656.231 ± 86.239 ^b	1048.267 ± 25.098 ^c	1936.467 ± 45.499 ^b
高剂量组	340.931 ± 18.595 ^b	639.171 ± 32.651 ^c	1983.161 ± 80.525 ^a	1233.884 ± 17.521 ^b	1909.849 ± 21.791 ^b
中剂量组	301.52 ± 21.613 ^e	563.559 ± 37.401 ^d	1889.095 ± 50.532 ^a	1241.933 ± 53.416 ^b	1642.028 ± 18.909 ^c
低剂量组	294.179 ± 13.968 ^c	532.825 ± 26.657 ^d	1613.087 ± 63.857 ^b	861.523 ± 32.78 ^d	1260.174 ± 34.858 ^d

组相比, V_E 对照组和高剂量组血清和各脏器以及中剂量组血清、心脏、肾脏CAT活性显著高于模型组($P < 0.05$)。高剂量组心脏、肝脏CAT活性显著高于V_E 剂量组($P < 0.05$)。说明, 花色苷高剂量组能显著提高衰老小鼠血清及各脏器组织中的CAT活性。

2.6 ‘农大4号’欧李果实花色苷对衰老小鼠血清及脏器中GSH-Px活性的影响

由表6可知, 与空白组相比, 模型组血清及各脏器GSH-Px活性均显著低于空白组($P < 0.05$)。与模型组相比, 高剂量组和中剂量组血清和各脏器以及V_E 对照组的血清、心脏、肾脏GSH-Px活性显著高于模型组($P < 0.05$)。与V_E 对照组相比, 高剂量组血清、肝脏、脾脏GSH-Px活性显著升高($P < 0.05$)。说明, 花色苷高剂量组能显著提高衰老小鼠血清及各脏器组织中的GSH-Px活性。

3 讨论

颈部皮下注射D-半乳糖是建造氧化损伤模型的经典方法^[17], 半乳糖在醛糖还原酶催化下, 还原成半乳糖醇, 堆积在细胞内, 导致细胞肿胀, 引起自由基堆积、抗氧化物质活性降低、机体免疫力降低等现象, 最终导致衰老^[18-19]。脾脏作为重要的免疫器官, 肝脏、肾脏作为动物重要的代谢器官, 若重量降低, 可直接影响机体免疫和动物代谢能力^[20]。本研究得出, 与模型组相比, 高剂量组脾脏、肝脏、肾脏指数都显著高于模型组($P < 0.05$), 说明‘农大4号’欧李果实花色苷有延缓脏器萎缩, 提高免疫力的作用。

MDA是脂质过氧化产物, 被认为是衰老的指标, MDA含量随衰老而增加^[20]。包晓玮等^[21]在沙棘多糖对D-半乳糖致衰老小鼠的抗氧化作用的研究中, 通过皮下注射D-半乳糖建造衰老模型, 得出模型组

与空白组相比, 小鼠的肝脏、脑组织匀浆及血清中的MDA均增加, 表明建模成功。罗磊等^[16]研究表明, 通过注射D-半乳糖, 模型组小鼠血清和脏器的MDA显著高于空白组, 表明抗衰老模型建造成功。本研究通过颈部注射D-半乳糖, 最后得出模型组的血清及各脏器的MDA均显著高于空白组($P < 0.05$), 表明抗衰老模型建立成功。也有研究表明^[22-23], SOD的降低也可表示D-半乳糖衰老模型的建立成功。本研究中, 空白组血清及各脏器SOD显著高于模型组($P < 0.05$), 也可以说明衰老模型建造成功。

MDA是不饱和脂肪酸过氧化产物之一, 其含量的高低可反映过氧化程度的强弱, 降低MDA是抗氧化研究中的一个重要机制^[24]。T-AOC代表体内酶类和非酶类抗氧化物质的综合^[25]。SOD对超氧阴离子自由基具有清除作用, 进而减少脂质过氧化反应^[16,26]。GSH-Px可以催化GSH还原过氧化物, 终止自由基引起的脂质过氧化反应^[27]。CAT可以使过氧化氢还原成水和分子氧, 清除过氧化氢^[28-29]。

本研究得出, 与模型组相比, 各组小鼠的MDA均有不同程度的下降, 其中除低剂量组的心脏、肝脏、脾脏以及中剂量组的心脏、脾脏外, 其余各组脏器的MDA及各组血清的MDA均具有统计学差异($P < 0.05$); V_E 对照组和高剂量组血清及各脏器T-AOC均显著高于模型组($P < 0.05$); V_E 对照组、高剂量组血清及各脏器SOD均显著高于模型组($P < 0.05$); 高剂量组和中剂量组血清及各脏器GSH-Px显著高于模型组($P < 0.05$); V_E 对照组和高剂量组血清及各脏器和中剂量组血清、心脏、肾脏CAT显著高于模型组($P < 0.05$)。在以往研究中心, ‘黑美人’土豆色素^[30]、黑豆花色苷^[31]、荔枝果皮花色苷^[32]和红树莓花色苷^[11]等作用于衰老小鼠, 发现花色苷增加了小鼠血清及各脏器组织中SOD、CAT、GSH-Px活性,

降低了MDA含量,这与本实验结果相似。花色苷作为多酚羟基的黄酮类化合物,可能一方面可以螯合作为自由基反应的催化剂的过渡金属元素如Fe、Cu等,抑制脂质过氧化,阻止脂质氧化的链式反应^[33],另一方面通过提高机体总抗氧化能力、提高过氧化物酶活力等清除机体中有害物质,从而间接或直接的增强机体清除自由基和抗氧化能力^[34-37],减缓小鼠衰老。

4 结论

本试验采用D-半乳糖构建小鼠氧化损伤模型的方法,进行‘农大4号’欧李果实花色苷对衰老小鼠保护作用研究中,得出‘农大4号’欧李果实花色苷可以降低小鼠体内的MDA的积累,提高组织的T-AOC、CAT、GSH-Px、SOD活性,减缓小鼠衰老,为后续欧李果实花色苷在功能农业,食药方面的开发利用提供数据和理论支持。

参考文献

- [1] 李仲叶,韩豪,江海,等.花色苷抗氧化活性的研究现状及展望[J].食品工业,2019,40(8):238-243.
- [2] 李焱,黄苇,卢明剑,等.西番莲种籽中总黄酮的体内抗氧化活性及其成分分析[J].食品科学,2020,41(1):203-208.
- [3] 魏好程,邵杰,何传波,等.鲍内脏多糖体内抗氧化及增强小鼠免疫活性[J].食品科学,2018,39(9):140-144.
- [4] 梁敏,包怡红.花色苷生物学功能的研究进展[J].天然产物研究与开发,2017,29(10):1785-1790.
- [5] Raman Sivakumar Thasma, Ganeshan Ajay Krishna Palani Gounder, Chen Cheng, et al. *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of flavonoid extracted from mulberry fruit (*Morus alba* L.) [J]. Pharmacognosy Magazine, 2016, 12(46):156-161.
- [6] Chang-Che Chen, Li-Kaung Liu, Jeng-Dong Hsu, et al. Mulberry extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits [J]. Food Chemistry, 2004, 91(4):601-607.
- [7] Yamamoto J, Naemura A, Ura M, et al. Testing various fruits for anti-thrombotic effect: I. Mulberries [J]. Platelets, 17(8):555-564.
- [8] Bomser J, Madhavi D L, Singletary K, et al. *In vitro* anticancer activity of fruit extracts from vaccinium species [J]. Planta Medica (Germany), 1996, 18(8):124-129.
- [9] Wang J, Mazza G. Effects of anthocyanins and other Phenolic compounds on the production of tumor necrosis factor alpha in LPS/IFN gamma-activated RAW 264.7 macrophages [J]. Agne Food Chem, 2002(50):4183-4189.
- [10] 杜俊杰,杨怀义,曹琴,等.欧李生物学特性的研究[J].山西农业大学学报,1992(4):311-314,371.
- [11] 毕凯媛,李娜,崔珊珊,等.红树莓花色苷对D-半乳糖衰老模型小鼠的保护作用[J].食品工业科技,2019,40(6):279-284.
- [12] 李亚巍,梁承武,金琰,等.越橘花色苷对D-半乳糖致衰老小鼠学习记忆能力的改善作用及机制[J].山东医药,2017,57(13):36-38,51.
- [13] 董桂红,刘延吉.三华李花色苷对D-半乳糖致衰小鼠皮肤组织的抗氧化作用[J].食品工业,2011,32(11):94-96.
- [14] 杜灵敏,宣晓毛,付鸿博,等.欧李农大4号花色苷提取工艺优化及其抗氧化与抑菌作用[J].食品与发酵工业,2019,45(16):216-221.
- [15] 王慧,李启艳.中国保健食品标准体系概述[J].中国药事,2017,31(9):1056-1059.
- [16] 罗磊,张冰洁,关宁宁,等.金银花叶黄酮对衰老模型小鼠的体内抗氧化作用[J].食品科学,2017,38(19):171-176.
- [17] 沙爱龙,吴瑛,盛海燕,等.昆仑雪菊黄酮对衰老模型小鼠脑及脏器指数的影响[J].动物医学进展,2013,34(7):66-68.
- [18] 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.
- [19] 赵凡凡,周玉枝,高丽,等.D-半乳糖致衰老大鼠模型的研究进展[J].药学报,2017,52(3):347-354.
- [20] 王荣,杨宽,陈春妮,等.亚麻籽提取物对D-半乳糖致衰老小鼠的抗氧化保护机制研究[J].中国油脂,2019,44(8):92-95.
- [21] 包晓玮,李建琰,任薇,等.沙棘多糖对D-半乳糖致衰老小鼠的抗氧化作用[J].食品工业科技,2020,41(4):293-297,306.
- [22] 刘贵珊,杨博,张泽生,等.白藜芦醇对D-半乳糖致衰老小鼠学习记忆能力和脑组织抗氧化能力的影响[J].食品科学,2014,35(5):204-207.
- [23] 王峰,王晓炜,陶明焯,等.大球盖菇多糖清除自由基活性和对D-半乳糖氧化损伤小鼠的抗氧化作用[J].食品科学,2009,30(5):233-238.
- [24] Huang Yuanyuan, Wu Chuancheng, Ye Youbin, et al. The increase of ROS caused by the interference of DEHP with JNK/p38/p53 pathway as the reason for hepatotoxicity [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2019, 16(3):291-299.
- [25] Wang Mi, Meng Xin Yu, Yang Rui Le, et al. Cordyceps militaris polysaccharides can enhance the immunity and antioxidation activity in immunosuppressed mice [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 89(2):461-466.
- [26] 易金城,屠迪,邹静,等.桦木酸对小鼠免疫器官抗氧化能力的影响[J].动物营养学报,2012,24(4):786-790.
- [27] 刘乔,管晓辉,黄翠菊,等.GA的提取分离工艺优化及其体内抗氧化活性作用[J].食品科学,2015,36(24):89-94.
- [28] 臧守相.原花青素对小鼠运动性疲劳及抗氧化能力的影响[J].世界复合医学,2019,5(3):25-28.
- [29] 迟晚星,张涛,郑丽娜,等.大豆异黄酮对青年雌性大鼠的抗氧化作用研究[J].中国食品学报,2010,10(5):78-82.
- [30] 李彩霞,高海宁,马佩,等.“黑美人”土豆色素对D-半乳糖诱导衰老小鼠抗氧化能力的影响[J].食品工业科技,2013,34(9):336-339.
- [31] 宋岩.黑豆花色苷提取、纯化及体内外抗氧化研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2013.
- [32] 何会.荔枝果皮中花色苷的分离纯化、结构鉴定及其抗氧化活性[D].武汉:华中农业大学,2009.

(下转第307页)

protein malnutrition[J].Biofactors, 2015, 41(3):190-197.

[12] 代春美, 廖晓宇, 叶祖光. 海洋中药牡蛎的化学成分、药理活性及开发应用[J]. 天然产物研究与开发, 2016, 28(3): 471-474, 437.

[13] 方玲, 马海霞, 李来好, 等. 华南地区近江牡蛎营养成分分析及评价[J]. 食品工业科技, 2018, 39(2): 301-307, 313.

[14] 褚波. 乌贼、牡蛎——来自海洋的良药[J]. 家庭医药, 2009(2): 20.

[15] 江和基, 曾新斌, 罗刚, 等. 夏季高温应激下牡蛎粗多糖对公猪生精功能的影响[J]. 福建畜牧兽医, 2014, 36(3): 3-6.

[16] 陈艳辉, 李超柱, 黎丹戎. 牡蛎蛋白活性肽的分离及生物活性研究进展[J]. 食品研究与开发, 2015, 36(15): 135-138.

[17] 方磊, 李国明. 牡蛎生物活性肽的研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(7): 1548-1553.

[18] 张亭, 李迪, 乌兰, 等. 牡蛎低聚肽配伍核桃低聚肽和山药多糖对雄性小鼠性功能的影响[J]. 现代预防医学, 2018, 45(12): 2141-2144, 2153.

[19] 张雪妍, 秦小明, 高加龙, 等. 牡蛎酶解工艺优化及其酶解产物对小鼠睾酮分泌的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2019, 39(3): 96-102.

[20] 陈悦, 李路, 闫朝阳, 等. 小分子牡蛎多肽对雄性小鼠性功能的影响[J]. 基因组学与应用生物学, 2019, 38(1): 109-116.

[21] 李大炜, 刘四军, 吴庆光. 牡蛎肽对 D-半乳糖致衰老大鼠睾丸组织及精子质量的影响[J]. 中医药导报, 2019, 25

(11): 55-58.

[22] 何清湖, 周兴. 环磷酰胺复制中老年男性雄激素部分缺乏综合征大鼠模型的研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2011, 31(1): 15-17.

[23] 许丹, 林峰, 朱小语, 等. 牡蛎肽对免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J]. 北京大学学报: 医学版, 2016, 48(3): 392-397.

[24] 杨菊. 西地那非非生物对雄性家兔和小鼠性行为的影响研究[J]. 中国药房, 2007, 18(16): 1223-1225.

[25] Afifi M, Almaghrabi O A, Kadasa N M. Ameliorative effect of zinc oxide nanoparticles on antioxidants and sperm characteristics in streptozotocin induced diabetic rat testes[J]. Biomed Res Int, 2015: 153573.

[26] Ghanbarzadeh S, Garjani A, Ziaee M, et al. CoQ10 and L-carnitine attenuate the effect of high LDL and oxidized LDL on spermatogenesis in male rats[J]. Drug Res (Stuttg), 2014, 64(10): 510-515.

[27] 陈指龙, 张晓春, 薛立群, 等. 环磷酰胺致小鼠生精障碍作用研究[J]. 动物医学进展, 2017, 38(5): 34-37.

[28] 罗琼, 任世成, 杨明亮, 等. 海带多糖对睾丸受辐射雄性大鼠性功能的影响[J]. 营养学报, 2009, 31(3): 259-262.

[29] 张洁, 陈立勇. 黑木耳多糖对青春期雄性大鼠性功能影响的研究[J]. 现代中西医结合杂志, 2012, (33): 3671-3672.

[30] 朱倩, 崔毓桂. 精子发生的调节机制及其进展[J]. 生殖医学杂志, 2016, 25(4): 378-383.

(上接第 296 页)

[33] 郑永霞. 花色苷药理功效的研究进展[J]. 山西医药杂志, 2008(3): 255-257.

[34] Gizella Csire, József Demjén, Sarolta Timári, et al. Electrochemical and SOD activity studies of copper(II) complexes of bis(imidazol-2-yl) derivatives[J]. Polyhedron, 2013, 61: 202-212.

[35] 韩小苗, 吴苏喜, 吴美芳, 等. 红花籽油对 D-半乳糖致衰

老小鼠模型的抗衰老作用[J]. 食品与机械, 2016, 32(10): 127-131, 167.

[36] 宋家乐, 李贵节, 赵欣. 竹盐酿造酱油对 H₂O₂ 诱发 LLC-PK1 细胞氧化损伤的保护作用[J]. 食品科学, 2015, 36(9): 176-180.

[37] 杨溢焯, 曾德永, 刘艳, 等. 香菇多糖体内抗氧化活性研究[J]. 中国食物与营养, 2016, 22(8): 72-74.

(上接第 301 页)

[9] 孙锐, 孙蕾, 和法涛, 等. 山东引种果桑果实氨基酸组分测定及营养评价[J]. 食品工业科技, 2017, 38(11): 340-343.

[10] 岳冬, 刘娜, 朱为民, 等. 樱桃番茄与普通番茄部分品质指标及氨基酸组成比较[J]. 食品科学, 2015, 36(4): 92-96.

[11] 钱金娥. 我国第三代水果的开发价值及发展建议[J]. 河北果树, 2006(3): 9-12.

[12] 韩德承. “21 世纪最佳保健果品”——桑葚[J]. 医食参考, 2017(6): 48.

[13] 蒋滢, 徐颖, 朱庚伯. 人类味觉与氨基酸味道[J]. 氨基酸与生物资源, 2002, 24(4): 1-3.

[14] 杨喆, 陈秋生, 张强, 等. 不同品种桑葚与桑叶中氨基酸含量差异研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(17): 4534-4538.

[15] 吴祖芳, 翁佩芳. 桑椹的营养组分与功能特性分析[J]. 中国食品学报, 2005, 5(3): 102-106.

[16] 刘峻池, 徐立, 伍春, 等. 四倍体果桑新品种嘉陵 30 号桑椹中的氨基酸组成及其含量分析[J]. 蚕业科学, 2011, 37(1): 112-115.

[17] 李俊芳, 马永昆, 张荣. 不同果桑品种成熟桑椹的游离氨基酸主成分分析和综合评价[J]. 食品科学, 2016, 37(14): 132-137.

[18] Kusano G, 赵宇新. 土耳其桑椹中 5 个新的去甲基萜生物碱和 6 个新的氨基酸. 国外医学[J]. 中医中药分册, 2003, 25(2): 103.

[19] 石旭平, 邓真华, 杜贤明, 等. 阿克陶县桑产业调研现状及发展建议[J]. 蚕桑茶叶通讯, 2018(1): 4-5.

[20] 张俊, 颜新培, 龚昕, 等. 15 个桑品种不同季节桑叶的游离氨基酸含量及主成分分析[J]. 蚕业科学, 2016(1): 131-142.

[21] 朱圣陶, 吴坤. 蛋白质营养价值评价——氨基酸比值系数法[J]. 营养学报, 1988, 10(2): 187-190.

[22] 姜丹, 蓝亿阳, 王金娥. 不同品牌柴鸡蛋的氨基酸分析与评价[J]. 生物资源, 2018, 40(6): 548-553.

[23] 刘和洋, 伊萨尔古丽·艾合买提, 左少纯, 等. 新疆地区果桑引种试验研究[J]. 北方蚕业, 2015, 36(3): 24-27.

[24] FAO/WHO. Energy and protein requirements [R]. FAO Roma: FAO Nutrition Meeting Report Series, 1973: 52-63.