

茶树菇多糖酸奶的抗氧化活性与抗衰老研究

李广富, 陈伟, 范路平, 戚慧颖

(山东农业大学食品科学与工程学院, 山东泰安 271018)

摘要: 对添加茶树菇多糖的益生菌酸奶的体外抗氧化活性及 D-半乳糖致衰老小鼠抗衰老效果进行探索, 为茶树菇多糖酸奶的抗衰老机制提供依据。结果表明: 茶树菇多糖酸奶可有效清除羟自由基、DPPH 和 ABTS 自由基, 清除能力在一定浓度范围内与多糖添加量呈正相关; 茶树菇多糖的益生菌酸奶可显著提高衰老小鼠血清及不同组织中 SOD、CAT、GSH-PX 活性, 降低 MDA 含量 ($P < 0.05$), 且以高剂量组 (1200 mg/kg d) 效果最优。高剂量组分别与衰老组和酸奶组相比, 小鼠血清、肝脏、脑组织中 SOD 活力提高了 55.87%、79.09%、58.08% 和 27.48%、15.52%、22.36%; 血清、肝脏中 GSH-PX 活力提高 60.86%、41.37% 和 21.07%、21.63%; 血清、肝脏、脑中 MDA 含量降低 78.75%、65.48%、44.93% 和 69.34%、46.23%、31.77%; 脑、肝脏中 CAT 活力提高 76.51%、57.21% 和 50.15%、33.66%。结论: 茶树菇多糖酸奶可发挥茶树菇多糖和益生菌酸奶在清除自由基的体外抗氧化能力及小鼠抗衰老功能的协同作用。

关键词: 茶树菇多糖; 益生菌酸奶; 体外抗氧化; 抗衰老; 协同作用

文章编号: 1673-9078(2015)10-140-145

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.10.024

In Vitro Antioxidative and Anti-aging Effects of *Agrocybe aegerita* Polysaccharide Yogurt

LI Guang-fu, CHEN Wei, FAN Lu-ping, QI Hui-ying

(College of Food Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

Abstract: The *in vitro* antioxidant activities and anti-aging effects of probiotic yogurt incorporated with *Agrocybe aegerita* polysaccharides in D-galactose-induced aging mouse model were determined to provide a basis for the anti-aging mechanism of *A. aegerita* polysaccharide yogurt. The results showed that the *A. aegerita* polysaccharide yogurt could effectively remove hydroxyl free radicals, 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical 2,2-Diphenyl-1-(2,4,6-trinitrophenyl)hydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid diammonium salt (ABTS) free radicals, and their scavenging capabilities were positively correlated with the amount of added polysaccharides within a certain concentration range. *A. aegerita* polysaccharide probiotic yogurt also significantly increased the activities of SOD, CAT, and GSH-PX and reduced MDA content in the aging mouse model in different tissues and serum ($P < 0.05$), and the high-dose group (1200 mg/kg/d) had the strongest effect. Compared with the aging model group and the yogurt group, the SOD activity of high dose group in the serum, liver, and brain tissues increased by 55.87%, 79.09%, and 58.08%, and 27.48%, 15.52%, and 22.36%, respectively. The serum and liver GSH-PX activity increased by 60.86% and 41.37%, and 21.07% and 21.63%, respectively. The MDA content in the serum, liver, and brain tissues decreased by 78.75%, 65.48%, and 44.93%, and 65.48%, 46.23% and 31.77%, respectively. The CAT activity in the brain and the liver increased by 76.51% and 57.21%, and 50.15% and 33.66%, respectively. Conclusion: *A. aegerita* polysaccharide yogurt possesses the synergistic *in vitro* antioxidative capacity via scavenging free radicals and anti-aging function in mice consuming *A. aegerita* polysaccharides and probiotic yogurt.

Key words: *Agrocybe aegerita* polysaccharides; probiotic yogurt; *in vitro* anti-oxidative; anti-aging; synergistic effect

氧化自由基学说认为, 衰老是机体自由基代谢失去平衡的结果, 随着年龄增长, 氧自由基产生增多, 而机体清除能力下降, SOD、GSH-PX、CAT 酶等活性降低, 自由基过剩, 并与机体细胞中不饱和脂肪酸结合产生 MDA 等有害化合物, 引起机体产生癌变、

收稿日期: 2014-12-22

作者简介: 李广富 (1990-), 女, 硕士研究生, 主要从事食品微生物研究

通讯作者: 陈伟 (1970-), 女, 博士, 研究方向为微生物与食品发酵。

衰老和慢性疾病^[1]。茶薪菇是一种子实体多糖含量远高于香菇和灵芝的食、药兼用的珍稀食用菌, 素有“中华神菇”之称^[2], 长期食用可起到抗衰老及美容作用。徐静娟等^[3]在茶树菇提取物的组分分析中证明多糖质量分数最高达到 43.6%, 王宗君、胡晓倩等^[4-5]对茶树菇多糖抗氧化活性的研究表明, 其具有较强的清除 OH 和 O²·、脂过氧自由基的作用, 陈少英等^[6]提取茶树菇多糖对衰老模型小鼠试验, 显示不同方法提取

多糖均能显著提高小鼠血清中 SOD 的活力,并使肝组织中的 MDA 含量显著降低。茶树菇多糖作为天然抗氧化剂,可应用于抗机体衰老的新型保健食品中。

植物乳杆菌作为植物性益生菌,发酵生产的酸奶具有良好的美容养颜、延缓衰老功效而成为乳制品生产中的新宠^[7]。周兰姜^[8]对茶树菇子实体添加酸奶发酵工艺进行初步探索,获得风味独特的保健型酸奶,然而由植物乳杆菌益生发酵的酸奶作为功能成分的载体,添加由茶树菇发酵液中提取的茶树菇多糖制备的功能性酸奶研究领域未有报道,益生菌酸奶和茶树菇多糖在抗氧化、抗衰老方面发挥的协同作用成为研究新热点。

本文拟利用茶树菇液体发酵液中提取的茶树菇多糖,按照不同比例添加到植物乳杆菌、保加利亚乳杆菌、嗜热链球菌混菌发酵的酸奶作为受试物,灌胃于 D-半乳糖致衰老模型,检测小鼠脏器指数,血清、肝脏和脑等组织中 SOD 活力、GSH-PX 活性、MDA 含量、CAT 活性的变化来评价益生菌多糖酸奶抗衰老能力,以茶树菇多糖酸奶清除 DPPH 和 ABTS 自由基、抑制羟自由基能力评价其体外抗氧化活性,为茶树菇多糖植物乳杆菌益生发酵酸奶抗衰老机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 受试动物

20±2 g 左右的健康 SPF 级雌性小白鼠 30 只,由山东泰山医学院实验中心提供(实验动物生产许可证号:SYXK(鲁)2012 0005)。

1.1.2 材料与试剂

茶树菇菌种,植物乳杆菌发酵剂(植物乳杆菌:保加利亚乳杆菌:嗜热链球菌菌种比例 3:1:1)由生科

学院微生物实验室提供;茶树菇多糖(纯度约 68.00%左右),实验室自制;D-半乳糖(分析纯),美国 Amresco 公司;GSH-PX 试剂盒、SOD 试剂盒、MDA 试剂盒、CAT 试剂盒,BCA 蛋白质测定试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供,DPPH 标准品,东京化成工业株式会社;ABTS 标准品,AmrescoA0400。

1.1.3 仪器设备

SMP500-17805-2BF0 酶标仪,上海闪谱生物科技有限公司;SW-CJ-1CU 洁净工作台,苏州安泰空气技术有限公司;BS 124S 电子天平,赛多利斯科学仪器有限公司;DH-6000 电热恒温培养箱,天津市泰斯特仪器有限公司;RE52CS-1 旋转蒸发器,上海亚荣有限公司。

1.2 方法

1.2.1 茶树菇多糖酸奶制备

鲜牛乳中以 6% (质量分数,下同)蔗糖的添加比例溶解,茶树菇多糖添加比例分别为 0、0.03%、0.06%、0.09%、0.12%,95 °C 水浴 5 min 进行巴氏杀菌,待冷却至 45 °C 左右,接种 1% 植物乳杆菌发酵菌粉,制备茶树菇多糖益生菌酸奶产品,42 °C 恒温培养发酵 6 h,后熟 12 h,4 °C 贮存备用。

1.2.2 体外抗氧化活性实验

选择 0%、0.03%、0.06%、0.09%、0.12% 茶树菇多糖酸奶为测定样品,清除 DPPH 自由基能力测定:参照 Moure 等^[9]的方法。清除羟自由基能力测定 参照 Sun 等^[10]的方法。清除 ABTS 能力测定参照 Ozgen 等^[11]的方法。

清除率计算公式:

$$\text{清除率}(\%) = \frac{A_{\text{对照}} - (A_{\text{样品}} - A_{\text{样品对照}})}{A_{\text{对照}}} \times 100\%$$

1.2.3 小鼠抗衰老实验

1.2.3.1 动物分组及给药

表 1 各组小鼠的基本给药情况

Table 1 Dose administration of mice in various groups

分组数目	给药情况	给药剂量(茶树菇多糖计) /[mg/(kg d)]	
对照组	10	0.9%生理盐水 0.2 mL	0
衰老模型组	10	0.9%生理盐水 0.2 mL	0
酸奶组	10	植入物杆菌发酵酸奶 0.2 mL	0
低剂量组	10	茶树菇多糖添加量 0.03%酸奶 0.2 mL	300
中剂量组	10	茶树菇多糖添加量 0.06%酸奶 0.2 mL	600
高剂量组	10	茶树菇多糖添加量 0.12%酸奶 0.2 mL	1200

小鼠随机分 6 组,每组 5 只,除正常对照组外,各鼠每天在皮下注射 D-半乳糖(1200 mg/kg d),普通

饲料常规喂养建立 D-半乳糖衰老模型。45 d 后,每日灌喂相应样品,共给药 30 d,分组及给药剂量如表 1

所示。

1.2.3.2 小鼠血清及组织样品制备

小鼠血清的处理：摘除小白鼠眼球，并取得眼眶血，添加适量抗凝剂，置于离心管内 3500 r/min 离心 10 min，取上清液，4 °C 条件贮存备用。

小鼠肝脏、脑组织匀浆的制备：迅速取出脏器组织用预冷的生理盐水洗去残留血，除去血液，滤纸拭干，称重。按质量体积比为 1 g 组织：9 mL 生理盐水制成 10% 组织匀浆液，4 °C 条件贮存备用。

1.2.3.3 生化指标的测定

按南京建成生物工程测试盒说明书所示测定 SOD、GSH-PX、CAT 活性、MDA 含量及脏器组织中蛋白质含量。小鼠脏器指数测定：采用小鼠处死后，按每组称取最后体重，对脑组织、心脏、脾脏、肝脏、胰腺称取质量，计算各器官系数。

1.2.4 统计学分析

数据采用 SPSS19.0 软件包完成统计分析，结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示，列表中试验结果纵列进行比较，组间均数比较采用 t 检验。

2 结果与分析

2.1 茶树菇多糖酸奶体外抗氧化活性

多糖的 DPPH 自由基清除能力取决于多糖的供氢能力，供氢物质能与自由基反应转化为稳定产物，从而终止自由基链反应^[12]，而酸奶中小分子肽类、氨基酸及乳酸菌对 DPPH 均具有一定的清除作用^[13-15]。茶树菇多糖酸奶对 DPPH 自由基的清除能力随着多糖添加量的增加而持续增强，普通酸奶达到 31.23%，当多糖添加量在 0.03%~0.12% 范围内清除 DPPH 自由基的活性为 34.34%~77.70% (表 2)，提示茶树菇多糖组分和酸奶中含有供氢物质，可作为良好的 DPPH 自由基

清除剂。

表 2 茶树菇多糖酸奶体外抗氧化指标测定

Table 2 In vitro antioxidant indexes of AAP yogurt

茶树菇多糖添加量/%	DPPH 自由基清除率/%	羟自由基清除率/%	ABTS 自由基清除率/%
0	31.23±0.81 ^{cC}	41.32±1.38 ^{dC}	38.57±0.78 ^{dD}
0.03	34.34±1.21 ^{cBC}	50.25±3.13 ^{cC}	40.56±2.08 ^{dD}
0.06	66.71±2.51 ^{bB}	67.67±2.21 ^{bBC}	52.84±1.62 ^{cC}
0.09	77.31±1.66 ^{aA}	75.48±3.24 ^{abB}	66.94±3.54 ^{bB}
0.12	77.70±1.89 ^{aA}	83.46±2.61 ^{aA}	76.85±1.03 ^{aA}

注：不同小写字母表示不同样品之间差异显著 ($P < 0.05$)，不同大写字母表示不同样品之间差异极显著 ($P < 0.01$)。

羟自由基是一种具有极强活性的自由基，毒性极大，在生物条件下与细胞中任何分子发生反应，损伤细胞^[16]。由表 2 可见，酸奶均能有效地清除羟自由基，清除能力与多糖添加量呈正相关，普通酸奶羟自由基清除率为 41.32%，当茶树菇多糖添加量范围在 0.03%~0.12% 时，羟自由基清除率活性达到 50.25%~83.46%，表明茶树菇多糖与益生菌酸奶可发挥协同作用，成为一种较好的羟自由基清除剂。

抗氧化物质存在时，ABTS⁺被还原程度和反应时间取决于抗氧化物质抗氧化能力以及浓度。普通酸奶对 ABTS 清除率高达 38.57%，茶树菇多糖添加量在 0.03%~0.12% 的酸奶样品中 ABTS 自由基清除能力比空白酸奶分别提高 1.99%、14.26%、28.37%、38.28%，表明茶树菇多糖的添加有利于酸奶样品抗氧化活性增强，提高保健功能。

2.2 茶树菇多糖酸奶对小鼠脏器指数的影响

表 3 茶树菇多糖酸奶对小鼠脏器指数的影响

Table 3 Influence of AAP yogurt on viscera indexes in mice

组号	脑组织/%	肝脏/%	心脏/%	肾脏/%	脾脏/%
对照组	1.30±0.09 ^{cdBC}	4.57±0.52 ^{aAB}	0.57±0.05 ^{aA}	1.55±0.10 ^{aA}	0.39±0.07 ^{aA}
衰老组	1.27±0.13 ^{dC}	3.73±0.41 ^{bB}	0.53±0.12 ^{aA}	1.65±0.29 ^{aA}	0.39±0.08 ^{aA}
酸奶组	1.33±0.07 ^{bcdBC}	3.76±0.37 ^{bC}	0.54±0.03 ^{aA}	1.46±0.12 ^{aA}	0.43±0.08 ^{aA}
低剂量组	1.43±0.11 ^{abABC}	4.02±0.19 ^{abABC}	0.63±0.10 ^{aA}	1.52±0.16 ^{aA}	0.38±0.11 ^{aA}
中剂量组	1.47±0.10 ^{abAB}	4.07±0.15 ^{abABC}	0.58±0.08 ^{aA}	1.45±0.03 ^{aA}	0.38±0.08 ^{aA}
高剂量组	1.57±0.10 ^{aA}	4.59±0.67 ^{aA}	0.56±0.10 ^{aA}	1.43±0.05 ^{aA}	0.38±0.09 ^{aA}

注：不同小写字母表示不同样品之间差异显著 ($P < 0.05$)，不同大写字母表示不同样品之间差异极显著 ($P < 0.01$)。

与对照组相比，衰老组小鼠脑组织脏器指数变化极显著 ($P < 0.01$)，肝脏脏器指数变化显著 ($P < 0.05$)，D-半乳糖对小鼠脑组织和肝脏具有一定的损伤作用

^[17]，心脏、肾脏、脾脏脏器指数则无显著性变化 ($P > 0.05$) (表 3)；与衰老组相比，酸奶组和茶树菇多糖低、中、高添加酸奶组小鼠脑组织和肝脏脏器指数均有增加，

且高剂量组小鼠增长极显著 ($P<0.01$), 分别提高了 23.63% 和 23.06%, 其余脏器指数与衰老模型组相比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

2.3 茶树菇多糖酸奶小鼠血清、脑组织、肝组织中 SOD 活性的影响

表 4 茶树菇多糖酸奶对小鼠 SOD 活性的影响

Table 4 Influence of AAP yogurt on the SOD activity in mice

组号	血清/(U/mL)	脑组织/(U/mg prot)	肝脏/(U/mg prot)
对照组	76.45±1.55 ^{cC}	216.73±9.69 ^{eD}	129.26±6.86 ^{cD}
衰老模型组	65.83±6.48 ^{dD}	172.42±9.95 ^{dE}	105.07±10.95 ^{dE}
酸奶组	80.49±5.57 ^{cC}	267.29±5.74 ^{cC}	135.74±4.71 ^{cCD}
低剂量组	92.37±0.95 ^{bB}	277.02±10.83 ^{bcBC}	147.35±5.36 ^{bBC}
中剂量组	95.73±3.13 ^{bAB}	286.74±9.99 ^{bB}	151.40±6.73 ^{bB}
高剂量组	102.61±3.45 ^{aA}	308.78±8.43 ^{aA}	166.09±3.11 ^{aA}

注: 不同小写字母表示不同样品之间差异显著 ($P<0.05$), 不同大写字母表示不同样品之间差异极显著 ($P<0.01$)。

与对照组比较, 衰老组小鼠血清、脑组织、肝脏组织中 SOD 活性降低, 差异达极显著水平 ($P<0.01$), 表明在 D-半乳糖可对小鼠体内 SOD 活性具有严重破坏作用, 衰老模型构建成功 (表 4)。与衰老组相比, 酸奶组、低、中、高茶树菇添加酸奶组小鼠血清、脑组织、肝脏组织中 SOD 活力依次上升, 且随着茶树菇多糖添加量的增加, 效果更加明显, 高剂量酸奶组 SOD 活力分别提高了 55.87%、79.09%、58.08%, 表明茶树菇多糖酸奶可有效提高小鼠血清、脑、肝组织中 SOD 活性, 以延缓 D-半乳糖所致的衰老现象。

2.4 茶树菇多糖酸奶对小鼠血清、脑肝组织中 GSH-PX 活性的影响

表 5 茶树菇多糖酸奶对小鼠 GSH-PX 活性的影响

Table 5 Influence of AAP yogurt on the GSH-PX activity in mice

组号	血清/(U/mL)	脑组织/(U/mg prot)
对照组	227.46±5.59 ^{eE}	328.46±10.64 ^{eE}
衰老模型组	180.08±2.83 ^{fF}	273.10±12.75 ^{fF}
酸奶组	239.26±7.80 ^{dD}	317.42±6.71 ^{dD}
低剂量组	253.03±7.76 ^{cC}	338.84±4.32 ^{cC}
中剂量组	266.15±3.97 ^{bB}	350.53±13.14 ^{bB}
高剂量组	289.67±0.98 ^{aA}	386.08±9.61 ^{aA}

注: 不同小写字母表示不同样品之间差异显著 ($P<0.05$), 不同大写字母表示不同样品之间差异极显著 ($P<0.01$)。

衰老组小鼠血清、脑组织中 GSH-PX 活性明显低

于对照组, 差异达显著水平 ($P<0.01$), 说明衰老组小鼠机体清除自由基能力降低, D-半乳糖致使小鼠体内 GSH-PX 活性降低 (表 5)。与衰老组相比, 普通酸奶、茶树菇多糖酸奶对小鼠血清、肝组织中 GSH-PX 活性显著提高 ($P<0.01$), 其中高剂量组 GSH-PX 活性分别增加了 109.59 U/mL、112.98 U/mgprot, 说明植物乳杆菌发酵酸奶与茶树菇多糖结合形成的产品具有协同作用, 可有效的激活 GSH-PX, 以清除体内的自由基等氧化性物质, 延缓衰老。

2.5 茶树菇多糖酸奶对小鼠血清、肝组织、脑组织中 MDA 含量的影响

表 6 茶树菇多糖酸奶对小鼠 MDA 含量的影响

Table 6 Influence of AAP yogurt on the MDA content in mice

组号	血清/(U/mL)	肝脏/(U/mg prot)	脑组织/(U/mgprot)
对照组	7.53±0.43 ^{cC}	23.83±2.26 ^{bB}	3.86±0.37 ^{bB}
衰老模型组	12.94±0.38 ^{aA}	28.13±2.16 ^{aA}	5.03±0.27 ^{aA}
酸奶组	8.97±0.34 ^{bB}	18.06±1.65 ^{cC}	4.06±0.27 ^{bB}
低剂量组	4.59±0.42 ^{dD}	15.97±0.99 ^{dCD}	3.29±0.17 ^{cC}
中剂量组	3.43±0.28 ^{eE}	13.54±1.10 ^{eD}	3.04±0.09 ^{bcBC}
高剂量组	2.75±0.27 ^{fF}	9.71±0.51 ^{fE}	2.77±0.19 ^{dD}

注: 不同小写字母表示不同样品之间差异显著 ($P<0.05$), 不同大写字母表示不同样品之间差异极显著 ($P<0.01$)。

衰老组小鼠血清、肝脏、脑组织 MDA 含量与对照组相比, 均极明显水平增加 ($P<0.01$), 说明经 D-半乳糖诱导, 小鼠体内脂质过氧化物明显增多, 小鼠抗衰老能力降低 (表 6)。与衰老组相比, 酸奶组及茶树菇多糖添加酸奶组小鼠血清、肝脏、脑组织中 MDA 含量显著降低 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 且随着茶树菇多糖添加量的增加, MDA 含量越低, 其中高剂量组小鼠在血清、脑组织、肝脏中 MDA 含量依次降低 78.75%、65.48%、44.93%, 表明茶树菇多糖酸奶可发挥茶树菇多糖和益生菌酸奶在抑制 D-半乳糖致衰老小鼠体内脂质过氧化方面的协同作用, 抗小鼠衰老 [18]。

2.6 茶树菇多糖酸奶对小鼠肝脏、脑组织中 CAT 活力的影响

由表 7 可见, 衰老组小鼠肝脏、脑组织中 CAT 活力均明显低于对照组, 差异达极显著水平 ($P<0.01$), 说明经 D-半乳糖诱导, 小鼠体内 CAT 活性下降, 清除羟自由基能力降低, 小鼠衰老水平提高; 与衰老组相比, 茶树菇多糖低、中、高添加量的酸奶可极显著

提高小鼠脑组织和肝脏的 CAT 活力 ($P<0.01$), 酸奶组、茶树菇多糖酸奶 CAT 活力分别提高了 17.56%、29.88%、72.21%、76.51% 和 17.63%、27.32%、37.12%、57.21%, 表明茶树菇多糖益生菌酸奶对提高小鼠肝、脑脏组织 CAT 活力, 提高机体免疫力和延缓衰老方面具有重要的作用。

表 7 茶树菇多糖酸奶对小鼠 CAT 活力的影响

Table 7 Influence of AAP yogurt on the CAT activity in mice

组号	脑组织/(U/mg prot)	肝脏/(U/mg prot)
对照组	10.12 \pm 0.85 ^{DD}	36.01 \pm 1.08 ^{DD}
衰老模型组	8.60 \pm 0.36 ^{EE}	31.55 \pm 0.55 ^{EE}
酸奶组	10.11 \pm 0.33 ^{DD}	37.11 \pm 0.50 ^{DD}
低剂量组	12.03 \pm 0.35 ^{CC}	40.17 \pm 0.22 ^{CC}
中剂量组	14.81 \pm 0.14 ^{BB}	43.26 \pm 0.82 ^{BB}
高剂量组	15.18 \pm 0.67 ^{AA}	49.60 \pm 2.04 ^{AA}

注: 不同小写字母表示不同样品之间差异显著 ($P<0.05$), 不同大写字母表示不同样品之间差异极显著 ($P<0.01$)。

3 结论

3.1 已有研究表明, 抗氧化剂一般通过两条途径实现抗氧化, 一是直接清除过量的自由基, 二是通过增强体内的抗氧化系统, 抑制自由基的产生。目前已被证实的抗氧化生物活性成分主要包括维生素类、类黄酮类、多糖类、多肽蛋白质和微量元素等物质^[19], 其中食用菌多糖通过抗氧化损伤和免疫调节发挥延缓衰老作用^[20], 作为理想的天然抗氧化剂, 如灵芝多糖、云芝多糖、香菇多糖等广泛应用于保健食品领域。益生菌酸奶则通过清除自由基, 抗脂质过氧化能力及产生 SOD、GSH-PX、CAT、NADH 氧化酶、金属硫蛋白等特殊活性物质表现其抗氧化特性, 酸奶中乳酸菌分泌的胞外多糖有很好的抗氧化功效^[20], 成为美容养颜、延缓衰老的良好饮品。

3.2 本研究中, 结合不同添加比例茶树菇多糖益生菌酸奶体外抗氧化活性与对 D-半乳糖致衰老模型小鼠的衰老效果, 表明茶树菇多糖酸奶体外抗氧化活性明显高于普通酸奶, 且与茶树菇多糖添加量呈正相关, 原因可能是茶树菇多糖在清除有害自由基, 延缓小鼠机体衰老方面发挥了显著作用, 同时真菌多糖的添加通过提高酸奶营养价值, 促进益生菌增殖及其分泌胞外多糖含量提高, 以增强茶树菇多糖益生菌酸奶协同抗衰老方面效果, 该趋势与胡晓倩等^[5]研究结果一致。与对照组相比, 模型组小鼠脑组织极显著降低, 原因是 D-半乳糖致衰老模型小鼠脑组织细胞数量明显减少, 脑皮层神经细胞可见空泡变性, 组织萎缩, 脑质减轻^[21]。肝脏是生物体最主要的解毒器官, 也是生物

氧化的主要部位, 已有研究表明小鼠肝组织的细胞凋亡促进衰老进程, 衰老组小鼠肝脏受损伤, 脏器指数显著降低。茶树菇多糖益生菌酸奶组小鼠对肝脏、脑组织的脏器指数均有显著性提高 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$), 可增加脑、肝脏组织数量和形态, 对脏器损伤具有修护作用, 陈少英等 (2007) 指出茶树菇多糖能显著提高小鼠的脾脏指数和吞噬百分率, 在本实验中表现不明显。

3.3 SOD 催化超氧阴离子自由基 (O_2^-) 生成 H_2O_2 , 再由如 GSH-PX 酶和 CAT 酶等抗氧化酶作用生成水, 这样可以清除超氧阴离子自由基对细胞的毒害作用。益生菌酸奶和茶树菇多糖酸奶可显著提高小鼠血清及不同组织中 SOD、GSH-PX、CAT 活性 ($P<0.05$), 且以高剂量组 (1200 mg/kg d) 效果最优, 与衰老组和酸奶组相比, 小鼠血清、肝脏、脑组织中 SOD 活力分别提高了 55.87%、79.09%、58.08% 和 27.48%、15.52%、22.36%, 小鼠血清、肝脏中 GSH-PX 活力提高 60.86%、41.37% 和 21.07%、21.63%, 小鼠脑组织、肝脏中 CAT 活力提高 76.51%、57.21% 和 50.15%、33.66%, 结合茶树菇多糖酸奶体外清除自由基能力, 说明茶树菇多糖酸奶可有效清除机体内堆积的自由基, 保护细胞组织免受自由基毒害, 以降低 D-半乳糖对小鼠机体损伤。高剂量组分别与衰老组和酸奶组相比, 小鼠血清、肝脏、脑组织中 MDA 含量降低 78.75%、65.48%、44.93% 和 69.34%、46.23%、31.77%, 原因是茶树菇多糖酸奶可减少自由基的形成, 增加体内过氧化脂质的排泄, 增强体内抗氧化作用的能力, 束盈慧 (2007) 也研究表明茶树菇子实体多糖对衰老小鼠具有显著抗脂质过氧化能力^[22]。综上所述, 添加茶树菇多糖的酸奶对小鼠抗衰老效果明显高于益生菌酸奶, 且添加量越多, 抗衰老效果越明显, 趋势与茶树菇多糖酸奶体外抗氧化趋势相吻合, 说明茶树菇多糖添加入植物乳杆菌益生发酵酸奶通过清除机体内有害自由基, 发挥良好的体外抗氧化活性, 有助于推动茶树菇多糖功能型酸奶结合茶树菇多糖和酸奶在抗衰老功能方面的协同作用, 增强机体抗衰老能力, 为真菌多糖类功能性乳制品的开发推广提供数据支持和理论指导。

参考文献

- [1] 蒋万志, 张洪泉. 枸杞多肽对 D-半乳糖诱导小鼠的抗衰老作用及其可能机制[J]. 国际药学研究杂志, 2010, 2(1): 47-50
JIANG Wan-zhi, ZHANG Hong-quan. Anti-aging effect of polypeptides from *Fructus Lycii* on D-gal induced aging model mice and the possible mechanism [J]. Journal of International Pharmaceutical Research, 2010, 2(1): 47-50

- [2] 徐学忠,田果廷.茶树菇生理特性及高产栽培技术[J].中国食用菌,2006,25(4):60-61
XU Xue-zhong, TIAN Guo-ting. Physiological characteristics and high-yielding practices of *Agrocybe Cylindracea* [J]. Edible Fungi of China, 2006, 25 (4): 60-61
- [3] 徐静娟,王树英,贡小清,等.茶树菇提取物的组分分析[J].食品工业科技,2006,27(12):137-165
XU Jing-juan, WANG Shu-ying, GONG Xiao-qing, et al. The composition analysis of *Agrocybe Cylindracea* extract [J]. Food Industry Science and Technology, 2006, 27 (12): 137-165
- [4] 王宗君,廖丹葵.茶树菇多糖抗氧化活性研究[J].食品研究与开发,2010,1:50-55
WANG Zong-jun, LIAO Dan-kui. Study on the anti-oxidant activity of polysaccharide in *Agrocybe Aegerita*[J]. Food Research and Development, 2010, 1: 50-55
- [5] 胡晓倩,唐洪华,程安阳.茶树菇多糖提取及其抗氧化性能的研究[J].湖北农业科学,2011,5(21):5565-4468
HU Xiao-qian, TANG Hong-hua, CHENG An-yang, et al. Study on extraction of polysaccharides from *Agrocybe cylindracea* and its antioxidant activity [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2011, 5(21): 5565-4468
- [6] 陈少英,王卫东,石鹤.茶树菇粗多糖体内抗氧化活性研究[J].湖北师范学院学报:自然科学版,2007,27(1):84-87
CHENG Shao-yin, WANG Wei-dong, SHI He. Studies on the anti-oxidative activities of *Agrocybe Aegerita* rough polysaccharides (AAP) in vivo [J]. Journal of Hubei Normal University (Natural Science), 2007, 27(1): 84-87
- [7] 马千里,刘东,顾瑞霞.植物乳杆菌的益生特性及其在乳制品中的应用[J].中国奶牛,2014,1:36-40
MA Qian-li, LIU Dong, GU Rui-xia. Probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* and its application in dairy products [J]. Chinese Journal of Cows, 2014, 1: 36-40
- [8] 周兰姜.茶树菇保健酸奶的研制[J].才智,2011,13:62
ZHOU Lan-jiang. The development of *Agrocybe Cylindracea* health yogurt [J]. Intelligence, 2011, 13: 62
- [9] Moure A, Franco D, Sineiro J, et al. Antioxidant activity of extracts from *Gevuina avellana* and *Rosa rubiginosa* defatted seeds [J]. Food Research International, 2001, 34(2):103-109
- [10] Sun Yongxu, Li Xia, Yang Jingfeng, et al. Water-soluble polysaccharide from the fruiting bodies of *Chroogomphus rutilus* (Schaeff.: Fr.) O. K. Miller: Isolation, structural features and its scavenging effect on hydroxyl radical [J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 80(3):720-724
- [11] Oegen M, Reese RN, Tulio JAZ, et al. Modified 2,2-azino-Bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006, 54(4):1151-1157
- [12] Yamaguchi T, Takamura H, Matoba T, et al. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl [J]. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 1998, 62(6):1201-1204
- [13] Farvin K H S, Baron C P, Nielsen N S, et al. Antioxidant activity of yogurt peptides: Part I - *in vitro* assays and evaluation in ω -3 enriched milk [J]. Food Chemistry, 2010, 123(4):1081-1089
- [14] Farvin K H S, Baron C P, Nielsen NS, et al. Antioxidant activity of yogurt peptides: Part II - Characterization of peptide fractions [J]. Food Chemistry, 2010, 123(4):1090-1097
- [15] 何书美,刘敬兰,刘会敏.用清除有机自由基法评价酸奶的抗氧化活性[J].中国乳品工业,2010,38(10):18-20,38
HE Shu-mei, LIU Jin-lan, LIU Hui-min. Study on anti-oxidative of yogurt by scavenging DPPH [J]. Dairy Industry, 2010, 38(10): 18-20,38
- [16] Murcia M A, Jimenez A M, Mart nez-Tome M. Evaluation of the antioxidant properties of Mediterranean and Tropical fruits compared with common food additives [J]. Journal of Food Protection, 2001, 64(12):2037-2046
- [17] 陈俊,杨光,刘文群.小鼠抗衰老实验及微生物抗衰老研究概况[J].中国酿造,2011,6:13-16
CHEN Jun, YANG Guang, LIU Wen-qun. Anti-aging research with mice and microbes [J]. China Brewing, 2011, 6: 13-16
- [18] Parameshwaran K, Irwin MH, Steliou K, et al. D-Galactose effectiveness in modeling aging and therapeutic antioxidant treatment in mice[J]. Rejuvenation Res. 2010, 13:729-735
- [19] 彭金刚.抗氧化生物活性物质研究进展[J].科技信息,2011,1(27):479
PENG Jin-gang. Advances in studies on antioxidant bioactive components [J]. Science&Technology Information, 2011, 1(27):479
- [20] Pan D D, Mei X M. Antioxidant activity of an exopolysaccharide purified from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 12 [J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 10:1-7
- [21] 蒋伟,屈海琪,袁丹华,等.金莲花中苾草昔和牡荆昔对 D-半乳糖致衰老小鼠脑损伤的保护作用[J].中草药,2012,43(7):

1376-1380

JIANG Wei, QU Hai-qi, YUAN Dan-hua, et al. Protection of orientin and vitexin from flowers and flower buds of *trolliuschinensis* on brain injury in aging mice induced by D-galactose [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2012, 43(7): 1376-1380

[22] 束盈慧.茶树菇多糖提取方法研究及其结构和对小鼠生理活性影响的初步探索[D].南昌大学,2007

SHU Ying-hui. Polysaccharides from *Agrocybe Aegirita*: study on its isolation and preliminary research on its Structure and influence on physiological activity of mice [D]. Nanchang University, 2007

现代食品科技