

月柿果醋改善 D-半乳糖致衰老小鼠的学习记忆能力

俞小珍, 赵琴, 梁莹莹, 王子程, 李晶晶

(桂林医学院公共卫生学院, 广西桂林 541004)

摘要: 探讨月柿果醋对 D-半乳糖致衰老模型小鼠学习记忆能力的影响, 并分析其主要成分。采用 Morris 水迷宫实验检测衰老小鼠的学习记忆能力, 并测定小鼠脑组织总超氧化物歧化酶(T-SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性以及总抗氧化能力(T-AOC)和丙二醛(MDA)含量。结果表明, 月柿果醋中含有丰富的多糖、单宁和黄酮类物质, 其中多糖含量为(2918.92±38.31) mg/100 mL, 单宁含量为(29.60±0.52) mg/100 mL, 黄酮含量为(0.75±0.00) mg/100 mL。高剂量的月柿果醋能够缩短衰老小鼠找到隐藏平台的时间($p<0.05$)和增加衰老小鼠穿越平台次数; 显著提高小鼠海马体中 T-SOD 酶活性($p<0.05$)和 T-AOC 活力($p<0.05$)以及小鼠大脑中 GSH-Px 酶活性($p<0.05$); 同时显著降低小鼠海马体和大脑中 MDA 含量($p<0.05$)。因此, 月柿果醋具有显著改善衰老模型小鼠学习记忆能力的作用, 其作用机制可能与减少脑组织氧化损伤有关。

关键词: 月柿果醋; 衰老; 学习记忆能力; 多糖; 单宁; 黄酮

文章编号: 1673-9078(2020)04-25-30

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.4.004

Learning and Memory Abilities Improvement of D-galactose-induced Aging Mice of Persimmon Vinegar

YU Xiao-zhen, ZHAO Qin, LIANG Ying-ying, WANG Zi-zeng, LI Jing-jing

(School of Public Health, Guilin Medical University, Guilin 541004, China)

Abstract: The aim of this study was to investigate the effects of persimmon vinegar (PV) on learning and memory abilities in D-galactose-induced aging mice and to analyze its main composition. Morris water maze test was used to detect the learning and memory abilities of aging mice, and the enzyme activity of superoxide dismutase (T-SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px), as well as the total antioxidant capacity (T-AOC) and malondialdehyde (MDA) level in brain tissue of aging mice were determined. The results showed that persimmon vinegar was rich in polysaccharides, tannins and flavonoids, and the contents of polysaccharide, tannins and flavonoids were (2918.92±38.31) mg/100 mL, (29.60±0.52) mg/100 mL and (0.75±0.00) mg/100 mL, respectively. Pre-treatment with high concentration of PV significantly reduced the time spent on finding platforms by aging mice ($p<0.05$) and increased the number of aging mice crossing the platform, which also significantly increased the enzyme activity of SOD ($p<0.05$) and T-AOC activity ($p<0.05$) in hippocampus, and significantly increased the enzyme activity of GSH-Px ($p<0.05$) in brain of aging mice, meanwhile, significantly decreased MDA production in hippocampus ($p<0.05$) and brain ($p<0.05$). Therefore, persimmon vinegar has significant improvement effect on learning and memory ability in D-galactose-induced aging mice, and its mechanism may be related to reduce oxidative damage in brain tissues of mice.

Key words: persimmon vinegar; aging; learning and memory ability; polysaccharide; tannins; flavonoid

引文格式:

俞小珍,赵琴,梁莹莹,等.月柿果醋改善 D-半乳糖致衰老小鼠的学习记忆能力[J].现代食品科技,2020, 36(4):25-30

YU Xiao-zhen, ZHAO Qin, LIANG Ying-ying, et al. Effects of persimmon vinegar on learning and memory abilities in D-galactose-induced aging mice [J]. Modern Food Science and Technology, 2020, 36(4): 25-30

收稿日期: 2019-11-02

基金项目: 桂林医学院大学生创新创业训练计划项目(201722); 广西大学生创新创业训练计划项目(201810601112); 国家自然科学基金资助项目(31760530)

作者简介: 俞小珍(1994-), 女, 本科, 研究方向: 食品营养及功能性食品

通讯作者: 李晶晶(1983-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品营养及功能性食品

衰老是由遗传因素和内外环境等多种复杂因素相互作用引起的生物学过程。“衰老的自由基损伤学说”^[1]认为衰老过程中的退行性变化是由细胞正常代谢过程中产生的自由基的有害作用造成的。机体衰老时,由于线粒体功能紊乱^[2],对氧的利用率下降,破坏ATP合成,导致活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生增加,此外,抗氧化防御能力下降^[3],使ROS在体内大量堆积,引起氧应激。目前认为^[4],衰老和多种神经退行性疾病如阿尔茨海默病(AD)、帕金森氏病(PD)、缺血性脑血管病等都与氧应激有直接关系。实验证明,天然抗氧化剂可以预防和治疗神经系统退行性疾病,茶多酚可以预防和治疗帕金森氏综合症,山楂黄酮可以预防和治疗中风,大豆异黄酮可以预防和治疗老年痴呆症^[5,6]。因此,补充富含外源性抗氧化生物活性物质,清除体内有害的自由基,保护细胞膜和DNA不被伤害,可以达到延缓衰老和防治老年性疾病的作用。

柿(*Diospyros kaki*)属于柿科Ebenacea 柿属*Diospyros*植物,中国是柿的原产国之一,也是世界上柿树栽培面积最大和柿果产量最多的国家。以柿果为原料酿制果醋在国内外的柿子产区有着悠久的历史。柿果醋富含多酚类化合物,其中没食子酸和儿茶素含量最为丰富^[7]。已有研究表明柿果醋具有抗氧化^[7,8]、减肥、抗炎、预防酒精性肝损伤^[9,10]和调节肠道免疫系统^[11]等功效,但关于柿果醋预防脑老化、改善记忆认知能力的研究目前未见报道。恭城月柿主要种植于广西桂林市恭城县的莲花、西岭和嘉会等乡镇一带,有“中华名果”之称。每年约有15%~20%的恭城月柿为生理落果和次果,这些柿果可利用程度低,绝大多数被丢弃,尚未得到很好的开发利用,造成了环境污染和资源的过度浪费。以恭城月柿落果、残次果酿制的月柿果醋为研究对象,采用分光光度法测定月柿果醋主要成分;Morris水迷宫测试月柿果醋对衰老模型小鼠学习记忆能力的影响;并从小鼠脑组织氧自由基损伤方面探讨其作用机制,以期为月柿果醋的研究与开发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

月柿果醋:以桂林恭城月柿落果、次果为原料,置于缸内密闭自然发酵8个月,经6层纱布过滤,装入玻璃瓶内,经85℃杀菌20min,得到月柿果醋成品;D-半乳糖:北京索莱宝生物科技有限公司;总超氧化物歧化酶(T-SOD)试剂盒、谷胱甘肽过氧化物

酶(GSH-Px)试剂盒、总抗氧化能力(T-AOC)试剂盒、丙二醛(MDA)和考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒:南京建成生物工程研究所;芦丁标准品:上海源叶生物科技有限公司;没食子酸标准品:北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司;其余试剂均为国产分析纯。

实验动物:雄性3周龄SPF级KM(昆明)小鼠50只(体质量14~17g),购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司,动物许可证号:SCXK(湘)2016-0002。

1.2 仪器与设备

Biomate3S型紫外可见光分光光度仪,美国Thermo Fisher Scientific公司;L600台式低速自动平衡离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;LUX型多功能性酶标仪,美国Thermo Fisher Scientific公司;数显式三用电热恒温水浴箱,上海跃进医疗器械有限公司;101-2AB型电热鼓风干燥箱,天津市泰斯特仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 月柿果醋主要成分测定

总酸含量采用GB/T 12456-2008测定^[12];还原糖含量测定采用GB/T 5009.7-2008滴定法^[13]。

1.3.2 多糖含量测定

根据参考文献^[14]的方法测定月柿果醋中多糖含量。精确称取葡萄糖50mg,用蒸馏水定容至500mL,配成100μg/mL的葡萄糖标准溶液。分别吸取0、0.2、0.4、0.6、1.0、1.4mL葡萄糖标准溶液,加蒸馏水至2mL,加入1mL6%苯酚溶液,混合后迅速加入5mL浓硫酸,混匀,静置20min,在波长490nm处测定吸光度,以蒸馏水代替葡萄糖溶液作为空白对照。以葡萄糖含量(μg)为横坐标,吸光度为纵坐标,制作标准曲线为 $y=0.0074x+0.0002$ ($R^2=0.9998$)。

准确吸取1mL月柿果醋,按上述标准曲线制备步骤操作,于490nm波长处测定吸光度,根据标准曲线计算样品液多糖含量。

1.3.3 单宁含量的测定

分别吸取0、10、20、30、40和50mg/L的没食子酸标准液1mL,加入5mL蒸馏水,1mL钨酸钠-钼酸钠混合溶液和3mL碳酸钠溶液,混匀,显色,静置2h。以标准液0mg/L为空白,在765nm波长下测定吸光度,以没食子酸(mg/L)为横坐标,吸光度值为纵坐标,绘制标准曲线,所得回归方程为 $y=0.1392x+0.0042$ ($R^2=0.9994$)。

准确吸取1mL月柿果醋,重复上述操作步骤,在765nm波长下测定样品溶液的吸光度^[15]。

1.3.4 黄酮含量的测定

参考宗春燕等的方法^[16],称取芦丁标准品 20 mg,用无水乙醇溶解后定容至 100 mL 容量瓶中,配成 200 $\mu\text{g/mL}$ 的芦丁标准液。分别准确吸取芦丁标准液 0、0.2、0.4、0.6、0.8 和 1.0 mL 移入比色管中,各加 0.1 mol/L 三氧化铝溶液 2 mL、加水至刻度,摇匀,放置 20 min。以零管为空白,于波长 420 nm 处测定吸光度。以芦丁含量 (μg) 为横坐标,以吸光度值为纵坐标,绘制标准曲线为 $y=29.4x-0.0017$ ($R^2=0.9962$)。

精确吸取月柿果醋 2 mL,重复上述操作步骤,于 420 nm 测定样品溶液的吸光度值。

1.3.5 月柿果醋对 D-半乳糖致衰老模型小鼠学习记忆能力的影响

1.3.5.1 小鼠分组及给药处理

将 KM 小鼠 (14~17 g) 置于 SPF 级动物房适应环境 (25 $^{\circ}\text{C}\pm 1$ $^{\circ}\text{C}$, 湿度 60%, 光照 12 h) 饲养 1 周后随机分为五组,即正常组、衰老对照组、维生素 C 灌胃组 (阳性对照组)、柿果醋低剂量灌胃组、柿果醋高剂量灌胃组,每组 10 只。实验开始后,每日给小鼠腹腔注射一次 D-半乳糖 (120 mg/kg),正常组注射生理盐水。造模 4 周,每周称重一次,根据末次称重的小鼠体质量调整给药剂量。第 4 周末,分别选取正常组和衰老模型组小鼠各 2 只,用乙醚将小鼠麻醉到理想状态,深静脉采血,分离血清,测定小鼠血清中 T-SOD 和 MDA 含量,以验证小鼠的衰老情况,衰老对照组与正常组小鼠指标相比具有统计学意义 ($p<0.05$),表示造模成功。

第 5 周开始,正常组除每日继续注射等体积的生理盐水外,每日灌胃 0.1 mL/10 g 剂量的蒸馏水,衰老对照组每日继续腹腔注射 D-半乳糖 (120 mg/kg) 和灌胃 0.1 mL/10 g 剂量的蒸馏水,月柿果醋低剂量灌胃组 (稀释 80 倍的月柿果醋)、月柿果醋高剂量灌胃组 (稀释 40 倍的月柿果醋) 和维生素 C 灌胃组 (100 mg/kg) 除每日腹腔注射 D-半乳糖 (120 mg/kg) 外,分别按 0.1 mL/10 g 剂量灌胃低剂量月柿果醋和高剂量月柿果醋及维生素 C 溶液,持续 4 周,每周末称量小鼠体质量,按照体质量变化调整注射及灌胃剂量^[17]。

1.3.5.2 Morris 水迷宫实验

小鼠末次给药后进行 Morris 水迷宫试验。整个水迷宫试验包括定位航行实验和空间探索实验两部分^[18,19]。定位航行试验 (Place navigation): 评价小鼠空间学习记忆能力。实验开始前,让小鼠自由游泳 2 min 适应周围环境。实验开始后,每天在固定时间段内将小鼠面向池壁从固定的入水点放入水中,记录其寻找

并爬上平台所需时间即逃避潜伏期 (Escape latency)。若小鼠找到平台后任其在平台上停留 20 s; 如果小鼠在 120 s 内未找到平台,将其引至平台,逃避潜伏期记为 120 s。然后取出小鼠擦干,待休息 30 s 后,从下一个入水点再次将小鼠放入水中,每只小鼠每天从 4 个特定的入水点被放入水中,共持续 4 d。

空间探索实验 (Spatial probe): 评价小鼠空间位置记忆保持能力。在定位航行实验结束后撤去平台,任选一个入水点将小鼠面向池壁放入水池中,记录其在 60 s 内的游泳轨迹,记录并统计小鼠穿越原平台次数、初始角度 (小鼠躯体长轴指向与站台中心的夹角)、原平台象限游泳时间与总时间之比、原平台象限游泳路程与总路程之比。

1.3.5.3 脑组织中 T-SOD 和 GSH-Px 酶活性及 T-AOC、MDA 水平测定

水迷宫试验结束后,对所有小鼠禁食 24 h,用乙醚将小鼠麻醉,深静脉采血,颈椎脱臼处死后迅速取出小鼠脑组织和海马体并称量组织重量,计算脏器指数: 脑组织器官指数 (g/kg) = 脑组织质量 (g) / 小鼠体质量 (kg)。分别将小鼠海马体和脑组织按质量 (g): 体积 (mL) = 1:9 的比例加入生理盐水,制成 10% 的组织匀浆后 (4 $^{\circ}\text{C}$, 3500 r/min, 15 min) 离心,取上清液按试剂盒说明书测定小鼠海马体和脑组织中 T-SOD、GSH-Px 酶活性和 T-AOC、MDA 水平。

1.4 数据处理

采用 Excel 2010 和 SPSS 18.0 软件对数据进行处理,测定结果均以“平均值 \pm 标准误”表示,各组间的比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 法分析差异显著性,以 $p<0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 月柿果醋的主要成分

由表 1 可以看出,由于微生物的发酵和代谢作用,还原糖含量迅速降低,总酸含量增加。发酵结束时,月柿果醋中多糖、单宁和总黄酮含量分别达到 2918.92 mg/100 mL、29.60 mg/100 mL 和 0.75 mg/100 mL。与宋慧等^[20]报道的山楂复合果醋相比,月柿果醋多糖含量与山楂复合果醋中多糖含量 2905 mg/100 mL 相近;而月柿果醋总黄酮含量是山楂复合果醋总黄酮含量 (0.19 mg/100 mL) 的 3.9 倍。说明月柿果醋富含的多糖、单宁和黄酮类物质,是生物活性物质的良好来源。

表 1 月柿果醋的主要成分

Table 1 The main composition of persimmon vinegar (X±SD, n=3)

样品	总酸/%	还原糖/(g/100 mL)	多糖(mg/100 mL)	单宁(mg/100 mL)	黄酮(mg/100 mL)
月柿果醋	4.13±0.00	0.16±0.00	2918.92±38.31	29.60±0.52	0.75±0.00

2.2 月柿果醋对小鼠体质量的影响

小鼠体质量的变化情况是反映其生长发育和健康状况的重要指标之一。在造模期间，D-半乳糖诱导的衰老模型小鼠会出现体质量增长缓慢的现象^[18]。如图 1 所示，在整个实验过程中，与正常组相比，衰老对照组小鼠体质量有所下降，但两者间无显著性差异，与文献报道^[21]的研究结果一致。从第 5 周开始，经过月柿果醋灌胃处理后，月柿果醋高、低剂量灌胃组小鼠体质量与正常组相比都有增加，但无显著性差异，说明月柿果醋对小鼠生长发育无不良影响；与衰老对照组小鼠相比，月柿果醋高、低剂量灌胃组小鼠体质量均有一定的升高，但无明显差异。

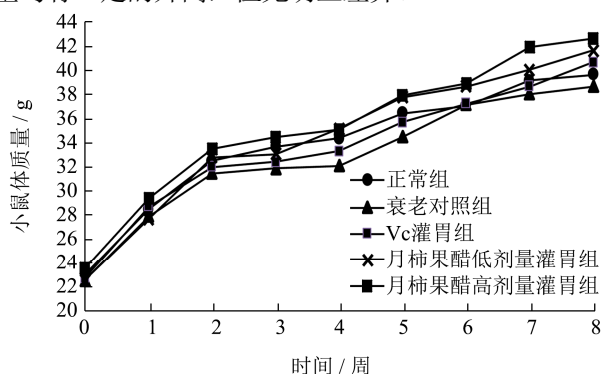


图 1 实验期间各组小鼠体质量变化

Fig.1 Changes of body weight of mice in each group during the experiment (n=8)

2.3 月柿果醋对小鼠脑指数的影响

由表 2 可知，与正常组相比，衰老对照组小鼠海马体指数、脑指数均显著下降 ($p<0.05$)，表明 D-半

表 3 月柿果醋对小鼠寻找平台潜伏期的影响

Table 3 Effect of persimmon vinegar on escape latency of mice (X±SD, n=8)

组别	逃避潜伏期/s			
	第 1 d	第 2 d	第 3 d	第 4 d
正常组	48.84±6.70	40.25±8.53	34.01±6.89	30.34±9.79
衰老对照组	49.21±6.31	43.66±3.08	38.46±10.65	32.25±7.93
Vc 灌胃组	46.96±5.79	38.12±5.69	29.01±8.31	26.26±9.59
月柿果醋低剂量灌胃组	48.34±9.73	41.27±10.83	30.54±9.97	26.75±8.09
月柿果醋高剂量灌胃组	45.69±7.05	40.03±5.79	27.95±11.30*	20.47±4.92*

2.4.2 月柿果醋对小鼠空间探索能力的影响

表 4 数据显示，与正常组相比，衰老对照组初始角度更大 ($p<0.05$)，平台象限游泳时间比、平台象限

乳糖致衰老模型小鼠的海马体和脑明显萎缩，造模成功。月柿果醋高剂量灌胃组小鼠的海马体指数、大脑指数与衰老对照组相比均显著升高 ($p<0.05$)，且提升效果优于维生素 C 灌胃组，表明月柿果醋可以有效抑制 D-半乳糖诱导造成的脑组织损伤，缓解模型小鼠海马体和大脑的萎缩，并存在一定的量效关系。

表 2 各组小鼠海马体指数和脑指数

Table 2 Hippocampus indexes and brain indexes of mice in each group (X±SD, n=8)

组别	海马体指数/(g/kg)	脑指数/(g/kg)
正常组	1.55±0.33	13.63±0.95
衰老对照组	0.87±0.18#	9.48±1.15#
Vc 灌胃组	1.02±0.22#	11.14±1.50#
月柿果醋低剂量灌胃组	1.00±0.21#	11.87±1.55**
月柿果醋高剂量灌胃组	1.28±0.21##▲	13.93±1.26*▲

注：#表示与正常组相比差异显著 ($p<0.05$)；*表示月柿果醋灌胃组与衰老对照组相比差异显著 ($p<0.05$)；▲表示月柿果醋灌胃组与维生素 C 灌胃组相比差异显著 ($p<0.05$)，下表同。

2.4 月柿果醋对小鼠学习记忆能力的影响

2.4.1 月柿果醋对小鼠寻找平台潜伏期的影响

由表 3 可知，随着训练时间延长，各组小鼠逃避潜伏期逐渐缩短。与衰老对照组相比，月柿果醋高剂量灌胃组小鼠从第 3 d 开始找到隐蔽平台所需时间明显缩短 ($p<0.05$)，至第 4 d 作用最明显，说明月柿果醋对 D-半乳糖诱导的衰老小鼠的学习记忆力有改善作用，并且作用随剂量增加而增强。

游泳路程比均显著减少 ($p<0.05$)，而穿越平台次数虽有所减少，但无显著性差异 ($p>0.05$)。月柿果醋高剂量灌胃组小鼠穿越的初始角度 ($p<0.05$) 比衰老对照

组明显减小,平台象限的游泳时间比例 ($p<0.05$) 和平台象限的游泳路程比例 ($p<0.05$) 均比衰老对照组显著延长;月柿果醋低剂量灌胃组小鼠穿越的初始角度 ($p<0.05$) 比衰老对照组明显减小,平台象限的游

泳时间比例 ($p<0.05$) 比衰老对照组显著延长;月柿果醋低剂量和高剂量灌胃组穿越平台次数比衰老对照组有所增加,但无显著性差异 ($p>0.05$)。说明月柿果醋具有提升衰老模型小鼠记忆保持能力的作用。

表4 月柿果醋对小鼠空间探索能力的影响

Table 4 Effect of persimmon vinegar on spatial probe abilities of mice ($X\pm SD, n=8$)

组别	穿越平台次数/次	初始角度/ $^{\circ}$	平台象限游泳时间比例/%	平台象限游泳路程比例/%
正常组	1.50 \pm 0.84	0.64 \pm 0.48	38.55 \pm 11.60	39.61 \pm 9.49
衰老对照组	1.00 \pm 0.00	1.39 \pm 0.36 [#]	21.63 \pm 7.90 [#]	24.37 \pm 6.68 [#]
Vc 灌胃组	1.83 \pm 0.98	0.64 \pm 0.41	41.79 \pm 7.52	37.82 \pm 7.31
月柿果醋低剂量灌胃组	1.83 \pm 0.98	0.90 \pm 0.22 [*]	31.90 \pm 7.85 ^{*▲}	28.76 \pm 5.39 ^{*▲}
月柿果醋高剂量灌胃组	2.14 \pm 1.35	0.68 \pm 0.54 [*]	32.18 \pm 6.89 ^{*▲}	33.48 \pm 6.58 [*]

2.5 月柿果醋对小鼠脑组织 T-SOD、GSH-Px

酶活性与 T-AOC、MDA 水平的影响

高志明等^[22]在 D-半乳糖致衰老小鼠体内实验发现,荸荠皮果醋可以明显提高小鼠血清、肝脏和肾脏中 SOD 和 GSH-Px 酶活力,同时降低小鼠血清、肝脏和肾脏中 MDA 含量,表明荸荠皮果醋具有很好的延缓衰老作用。但目前有关果醋预防脑老化、改善记忆认知能力的研究鲜有报道。由表 5 数据可以看出,与

衰老对照组相比,月柿果醋高剂量灌胃组小鼠海马体中 T-SOD 酶活性和 T-AOC 活力显著升高 ($p<0.05$),且改善效果优于维生素 C 灌胃组 ($p<0.05$);同时能显著降低小鼠海马体中 MDA 水平 ($p<0.05$)。与衰老对照组小鼠相比(表 6),月柿果醋高浓度灌胃组小鼠脑中 GSH-Px 酶活力显著升高 ($p<0.05$),同时 MDA 浓度显著降低 ($p<0.05$)。上述结果说明月柿果醋能够提高 D-半乳糖致衰老模型小鼠脑组织中抗氧化酶的活力,明显改善 D-半乳糖对脑组织造成的氧化损伤。

表5 小鼠海马体中 T-SOD、GSH-Px 酶活性与 T-AOC、MDA 水平

Table 5 The enzyme activities of T-SOD and GSH-Px, T-AOC activity and MDA level in hippocampus of D-galactose-induced aging mice ($X\pm SD, n=8$)

组别	T-SOD/(U/mL)	GSH-Px/(mol/mL)	T-AOC/(U/mL)	MDA/(nmol/mL)
正常组	28.32 \pm 8.63	457.30 \pm 100.55	3.61 \pm 1.00	18.09 \pm 6.79
衰老对照组	19.75 \pm 5.69 [#]	275.39 \pm 60.63 [#]	1.17 \pm 0.55 [#]	20.48 \pm 7.84
Vc 灌胃组	23.73 \pm 3.84	320.06 \pm 100.20 [#]	3.94 \pm 0.55	7.23 \pm 2.91 [#]
月柿果醋低剂量灌胃组	19.19 \pm 4.81 [#]	303.87 \pm 90.52 [#]	2.39 \pm 0.26 ^{*▲}	8.22 \pm 3.58 ^{*▲}
月柿果醋高剂量灌胃组	41.18 \pm 4.39 ^{*▲}	351.19 \pm 86.80 [#]	2.53 \pm 0.57 ^{*▲}	3.20 \pm 1.87 ^{*▲}

表6 小鼠大脑中 T-SOD、GSH-Px 酶活性与 T-AOC、MDA 水平

Table 6 The enzyme activities of T-SOD and GSH-Px, T-AOC activity and MDA level in brain of D-galactose induced aging mice ($X\pm SD, n=8$)

组别	T-SOD/(U/mL)	GSH-Px/(mol/mL)	T-AOC/(U/mL)	MDA/(nmol/mL)
正常组	12.09 \pm 3.29	532.35 \pm 87.97	2.56 \pm 0.78	8.03 \pm 1.76
衰老对照组	9.03 \pm 1.87 [#]	289.67 \pm 47.14 [#]	2.30 \pm 0.64	15.17 \pm 4.51 [#]
Vc 灌胃组	13.13 \pm 3.10	473.55 \pm 33.77	2.69 \pm 0.43	7.43 \pm 1.72
月柿果醋低剂量灌胃组	9.05 \pm 1.69 ^{#▲}	290.02 \pm 39.71 ^{#▲}	2.56 \pm 0.59	7.09 \pm 0.93 [*]
月柿果醋高剂量灌胃组	9.25 \pm 2.26 ^{#▲}	416.38 \pm 71.19 ^{#*}	2.66 \pm 0.56	6.12 \pm 1.48 [*]

3 讨论

D-半乳糖诱导衰老模型动物机体和细胞产生过量自由基,造成细胞损伤及抗氧化酶活力下降、过氧化产物增多,模型小鼠血液、大脑和肝脏中的各氧化

生物指标与自然衰老动物相似,是一种较为理想的衰老模型^[21]。Morris 水迷宫是由 Richard Morris 于 1984 年开发并逐步完善,广泛应用于学习记忆、老年痴呆、智力与衰老、抗衰老药物筛选的一种行为学测试方法^[23]。丙二醛(MDA)是自由基攻击生物体的降解产物,

能反映组织细胞受自由基损伤的程度。超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)是机体清除自由基的主要抗氧化酶,测定SOD与GSH-Px的含量可间接反映机体清除自由基的能力。因此,通过建立D-半乳糖衰老小鼠模型, Morris水迷宫测试月柿果醋对衰老小鼠学习记忆能力的影响,以其体质量、脑指数和脑组织中抗氧化酶T-SOD和GSH-Px以及T-AOC和MDA含量为评价指标,全面考查月柿果醋对衰老小鼠学习记忆能力的影响。

已有研究发现柿果醋含有多酚、黄酮和多糖等多种活性物质,具有清除自由基和抑制脂质过氧化的作用^[8,11,24]。柿果醋多酚能显著改善过氧化氢诱导的氧化损伤以及HepG2细胞的脂质过氧化,可能通过Nrf2信号通路发挥保肝作用^[7];柿果醋多糖可能通过影响生长因子(TGF)- β 1和白介素6(IL)-6水平,调节小鼠肠道免疫系统^[11]。本研究首次探讨了月柿果醋对D-半乳糖致衰老小鼠学习记忆能力的影响及其作用机制。研究表明月柿果醋能有效改善D-半乳糖致衰老小鼠的学习记忆能力,提升衰老小鼠空间学习记忆能力和空间位置记忆保持能力;月柿果醋还能够抑制D-半乳糖诱导的小鼠海马体和大脑的萎缩,显著提高衰老小鼠脑组织中T-SOD和GSH-Px酶活性以及T-AOC活力,降低MDA含量,有效减轻衰老小鼠脑组织氧化应激水平,延缓脑老化。

4 结论

综上所述,月柿果醋含有丰富的多糖、单宁和黄酮类物质,是天然抗氧化物质的良好来源,具有明显改善D-半乳糖致衰老小鼠学习记忆障碍的作用,其机制可能与减少脑组织自由基损伤有关,其作用机制值得进一步研究。

参考文献

- [1] HARMAN D. Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry [J]. *Journal of Gerontology*, 1956, 11: 298-300
- [2] Shigenaga Mk, Hagen Tm, Ames Bn. Oxidative damage and mitochondrial decay in aging [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1994, 91(23): 10771-10778
- [3] Erdinçler Ds, Seven A, İnci F, et al. Lipid peroxidation and antioxidant status in experimental animals: Effects of aging and hypercholesterolemic diet [J]. *Clinica Chimica Acta*, 1997, 265(1): 77-84
- [4] Morrison Jh, Hoffman Pr. Life and death of neurons in the aging brain [J]. *Science*, 1997, 278: 412-415
- [5] NIE Guang-jin, JIN Chao-fang, CAO Yuan-lin, et al. Distinct effects of tea catechins on 6-hydroxydopamine-induced apoptosis in PC12 cells [J]. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2002, 397(1): 84-90
- [6] JIAO Hong-li, Ye Ping, Zhao Bao-lu. Protective effects of green tea polyphenols on human HepG2 cells against oxidative damage of fenofibrate [J]. *Free Radical Biology Medicine*, 2003, 35(9): 1121-1128
- [7] ZOU Bo, XIAO Geng-sheng, XU Yu-juan, et al. Persimmon vinegar polyphenols protect against hydrogen peroxide-induced cellular oxidative stress via Nrf2 signalling pathway [J]. *Food Chemistry*, 2018, 255: 23-30
- [8] Sakanaka S, Ishuhara Y. Comparison of antioxidant properties of persimmon vinegar and some other commercial vinegars in radical-scavenging assays and on lipid oxidation in tuna homogenates [J]. *Food Chemistry*, 2008, 107(2): 739-744
- [9] Moon Yj, Cha Ys. Effects of persimmon vinegar on lipid metabolism and alcohol clearance in chronic alcohol-fed rats [J]. *Medicinal Food*, 2008, 11(1): 38-45
- [10] Lee Hm, Park My, Kim Jh, et al. Persimmon vinegar and its fractions protect against alcohol-induced hepatic injury in rats through the suppression of CYP2E1 expression [J]. *Pharmaceutical Biology*, 2016, 54(11): 2437-2442
- [11] Lee My, Kim H, Shin Ks. *In vitro* and *in vivo* effects of polysaccharides isolated from Korean persimmon vinegar on intestinal immunity [J]. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 2015, 58(6), 867-876
- [12] GB/T 12456-2008. 食品中总酸的测定[S]
GB/T 12456-2008. Determination of total acid in foods [S]
- [13] GB/T5009.7-2008. 食品中还原糖的测定[S]
GB/T5009.7-2008. Determination of reducing sugar in foods [S]
- [14] 文良娟,毛慧君,张元春,等.西番莲果皮成分分析及其抗氧化活性的研究[J].*食品科学*,2008,29(11):54-58
WEN Liang-juan, MAO Hui-jun, ZHANG Yuan-chun, et al. Study on compositions and antioxidant activity of *Passiflora edulis* rind [J]. *Food Science*, 2008, 29(11): 54-58
- [15] NY/T 1600-2008. 水果、蔬菜及其制品中单宁含量的测定[S]
NY/T 1600-2008. Determination of tannin in fruits, vegetables and their products [S]

(下转第 8 页)