

发酵祛湿汤体外抗氧化活性及对秀丽隐杆线虫抗衰老作用

利树婵¹, 陈扬¹, 李雅琪¹, 曾文燊¹, 赵文俊¹, 梁泓波¹, 黎攀^{1,2}, 杜冰^{1,2*}

(1. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510642)

(2. 岭南现代农业科学与技术广东省实验室, 广东广州 510642)

摘要: 利用自由基清除能力评价发酵祛湿汤 (Fermented Qushi Decoction, FQD) 的体外抗氧化活性; 结果显示, 与未发酵祛湿汤 (Qushi Decoction, QD) 相比, 高剂量 FQD 组的总抗氧化能力显著提高, 其中 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼自由基清除率、羟自由基清除率和总还原能力分别提高了 24.38%、11.98%、11.76%。FQD 对线虫总产卵量无显著影响, 并能促进线虫的运动; 与 QD 相比, FQD 干预后线虫平均寿命延长了 8.02%~26.36%; 在热应激条件下, FQD 组最长存活时间提高了 25%, 在氧化应激下, FQD 组线虫的生存时间较 QD 提高了 16.67%。此外, FQD 作用后, 线虫体内抗氧化酶活性显著增强 ($P<0.05$), 脂褐质的堆积水平降低。综上, FQD 通过提高体外抗氧化能力, 延长线虫寿命, 提升抵抗应激能力和抗氧化酶活性来延缓线虫的抗衰老作用。该研究初步表明发酵祛湿汤具有抗衰老作用, 为保健品开发和利用提供理论基础。

关键词: 发酵祛湿汤; 秀丽隐杆线虫; 抗衰老; 抗氧化

文章编号: 1673-9078(2024)03-39-47

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2024.3.0414

In Vitro Antioxidant Activity of Fermented Qushi Decoction and Its Anti-aging Effects on *Caenorhabditis elegans*

LI Shuchan¹, CHEN Yang¹, LI Yaqi¹, ZENG Wenshen¹, ZHAO Wenjun¹, LIANG Hongbo¹, LI Pan^{1,2}, DU Bing^{1,2*}

(1. College of Food Science, South China Agriculture University, Guangzhou 510642, China)

(2. Guangdong Laboratory for Lingnan Modern Agriculture University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The *in vitro* antioxidant activity of fermented qushi decoction (FQD) was evaluated based on the free radical scavenging capacity. The results showed that the total antioxidant capacity of the high-dose FQD group was significantly higher than that of the unfermented qushi decoction (QD) group. In particular, the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and hydroxyl radical scavenging rates and the total antioxidant capacity significantly increased by 24.38%, 11.98%, and 11.76%, respectively, in the high-dose FQD group. FQD showed no significant effects on the total egg production of *Caenorhabditis elegans*. However, the average lifespan of *C. elegans* increased by 8.02% to 26.36% after FQD intervention. Under heat

引文格式:

利树婵, 陈扬, 李雅琪, 等. 发酵祛湿汤体外抗氧化活性及对秀丽隐杆线虫抗衰老作用[J]. 现代食品科技, 2024, 40(3): 39-47.

LI Shuchan, CHEN Yang, LI Yaqi, et al. *In vitro* antioxidant activity of fermented qushi decoction and its anti-aging effects on *Caenorhabditis elegans* [J]. Modern Food Science and Technology, 2024, 40(3): 39-47.

收稿日期: 2023-04-06

基金项目: 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系资助 (CARS-21)

作者简介: 利树婵 (1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品生物技术, E-mail: 18998723735@163.com

通讯作者: 杜冰 (1973-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 功能性原料的研究及评价, E-mail: dubing@scau.edu.cn

stress and oxidative stress conditions, the maximum survival time of *C. elegans* was extended by 25% and 16.67% in the FQD groups, respectively. In addition, the antioxidant enzyme activity of *C. elegans* was significantly enhanced ($P < 0.05$) and the level of lipofuscin accumulation was reduced after FQD intervention. In conclusion, FQD provides anti-aging effects on *C. elegans* by increasing the *in vitro* antioxidant capacity, prolonging the lifespan of *C. elegans*, enhancing stress resistance, and improving the antioxidant enzyme activity. This study tentatively indicates that FQD has anti-aging effects, and the findings provide a theoretical basis for the development and utilization of related nutraceuticals.

Key words: fermented qushi decoction; *Caenorhabditis elegans*; anti-aging; antioxidant

衰老是生命的必然过程, 表现为细胞、组织和器官发生功能障碍。它伴随着器官功能衰退、抗压力和能量代谢能力下降以及许多与年龄相关的疾病^[1,2]。研究表明, 机体的新陈代谢速度会随着年龄的增长而减慢, 大量的活性氧自由基, 会引发氧化应激, 破坏细胞大分子, 从而加快衰老的进程, 最终导致人们的健康状况下降^[3,4]。人们通过使用人工合成的抗氧化剂来增强抗氧化酶的活性, 可以有效地清除体内自由基, 从而延缓衰老。近年来, 研究表明中药具有显著的抗衰老作用^[5-7], 但是其疗效有限, 而且长期服用可能会带来不良反应。因此, 开发一款具有显著抗衰老作用, 并且毒副作用小的天然活性药方有十分重要意义。

茯苓具有健脾祛湿的功效, 广泛存在于众多药方中^[8,9]。已有研究表明, 茯苓多糖能够增强大鼠血清抗氧化酶活性^[10]、通过清除自由基来保护生物膜和延缓衰老^[11]。另外, 薏米、杏仁、甘草、茯苓、白扁豆等药食同源材料均是参苓白术散、赤小豆薏仁汤等有名的祛湿方剂的主要成分, 含有丰富的多糖^[12]、蛋白质^[13]、黄酮^[14]等成分, 具有很好的健脾祛湿的功效^[15-17]。有研究表明, 健脾祛湿中药可通过调控氧化和抗氧化信号通路减少氧化应激^[18]。因此, 对上方剂进行配伍加减, 得到以茯苓、白扁豆、薏米、杏仁、甘草为原料的祛湿汤, 并推测该祛湿汤具有一定的抗氧化能力和延缓衰老的作用。发酵是增强中草药药效, 降低毒性的中药辅助手段^[19], 如赵丹等^[20]利用黄酒酵母发酵葛根, 结果表明, 经过发酵的葛根其自由基能力清除显著提高, 并且能够上调延缓衰老基因 *daf-16* 的表达, 来延长线虫寿命。本课题组前期的研究表明, 经复合益生菌发酵处理的祛湿汤显著提高了多糖、蛋白、黄酮等有效成分的含量^[21]。

因此, 本研究以秀丽隐杆线虫为模型, 探究发酵祛湿汤对秀丽隐杆线虫寿命的延长作用, 并探讨发酵祛湿汤的抗衰老作用机制, 为发酵祛湿汤抗衰老功效研究及开发利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

茯苓、白扁豆、杏仁、甘草、薏米, 广州仲正中药饮片有限公司; 植物乳杆菌、乳酸芽孢杆菌 (*Bacillus sp.*)DU-106, 保藏于华南农业大学新资源食品及功能性原料评价中心, 保藏号: GDMCC No: 60621; 野生型 N2 秀丽隐杆线虫, 美国秀丽隐杆线虫遗传中心; 大肠埃希氏菌 OP50, 上海南方模式生物科技股份有限公司; 白砂糖, 南字牌食品; 磷酸氢二钠、磷酸氢二钾、磷酸缓冲溶液、胰蛋白酶、氯化钠、硫酸镁、氯化钙、链霉素硫酸盐、技术琼脂粉, 广州齐湘生物科技有限公司; 胡桃醌, 上海源叶生物有限公司; 超氧化物歧化酶 (Superoxide Dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (Catalase, CAT)、谷胱甘肽 (Glutathione, GSH) 生化试剂盒, 南京城建生物工程研究所。

1.2 仪器与设备

FA2204 万分天平, 上海舍岩仪器有限公司; LD-SY96S 多功能酶标仪, 美谷分子仪器有限公司; SPX-150B-Z 型生化培养箱, 上海博迅实业有限公司; MF53-N 荧光显微镜, 上海蔡康光学仪器有限公司; JIDI-17R 冷冻离心机, 广州吉迪仪器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 祛湿汤的制备及发酵

原料洗净烘干后, 准确称取茯苓、白扁豆、薏米各 20.0 g、杏仁 8.0 g、甘草 5.0 g, 加 1 200 mL 蒸馏水煮 40 min, 转至发酵罐后灭菌 30 min; 在发酵罐中加入质量分数为 3% 白砂糖和添加质量分数为 3.3% 菌种活化液, 28 °C 下密封发酵 7 d^[21]。在超净工作台环境下, 发酵第 0 天和第 7 天取样用无菌离心管, 置于 -20 °C 冰箱中冻存, 即可制备得到祛湿汤 (QD) 和发酵祛湿汤 (FQD)。

1.3.2 体外抗氧化活性的测定

1.3.2.1 实验分组

QD 为发酵第 0 天的祛湿汤无需稀释。LFQD、MFQD、HFQD 分别为发酵祛湿汤的低、中、高剂量组；分别是样品与超纯水体积比为 1:3、1:1 和发酵原液制得。

1.3.2.2 DPPH 自由基清除率测定

王杰等^[22]方法修改，0.2 mmol/L DPPH 溶液、样品溶液等体积混合，室温、避光下静置 30 min，每组平行 3 次，在 517 nm 波长下测量吸光值，以 1 mg/mL 的抗坏血酸作为对照组。按式 (1) 计算清除率。

$$A_{C1} = \left(1 - \frac{A_{i1} - A_{j1}}{A_1}\right) \times 100\% \quad (1)$$

式中：

A_{C1} ——DPPH 自由基清除率，%；

A_{i1} ——2 mL 样品 + 2 mL DPPH 为实验组吸光度；

A_{j1} ——用无水乙醇替代 DPPH 溶液的对照组吸光度；

A_1 ——用无水乙醇替代样品溶液的空白组吸光度。

1.3.2.3 羟自由基清除能力测定

王雪梅等^[23]方法修改，FeSO₄ 溶液、H₂O₂ 溶液、样品溶液等体积混匀，静置片刻，加入样品等体积的水杨酸-乙醇溶液，室温放置 0.5 h，每组平行 3 次，在 510 nm 波长处测吸光值，以 1 mg/mL 的抗坏血酸作为对照组。按式 (2) 计算清除率。

$$A_{C2} = \left(1 - \frac{A_{i2} - A_{j2}}{A_2}\right) \times 100\% \quad (2)$$

式中：

A_{C2} ——羟自由基清除率，%；

A_{i2} ——实验组吸光度；

A_{j2} ——用一级水替代水杨酸-乙醇的对照组吸光度；

A_2 ——用一级水替代样品溶液的空白组吸光度。

1.3.2.4 总还原能力

具体方法参照张玉锋等^[24]，所有试管室温静置 15 min，每组平行 3 次。测量 700 nm 处的吸光值，以 1 mg/mL 的抗坏血酸作为对照组。按式 (3) 计算总还原能力。

$$A_{C3} = A_{i3} - A_{j3} \quad (3)$$

式中：

A_{C3} ——总还原能力；

A_{i3} ——实验组吸光度；

A_{j3} ——0.5 mL 无水乙醇替代样品溶液的空白组吸光度。

1.3.3 线虫抗衰老模型研究

1.3.3.1 线虫的传代培养与同期化

在 20 °C 恒温条件下，线虫在涂有大肠杆菌的固体培养基 (Nematode Growth Medium, NGM) 中生长。

采用高氯酸漂白法对线虫进行同期化：将线虫虫卵冲洗至无菌 EP 管中，裂解液 (NaOH、NaClO、H₂O 按照体积比 1:1:5 混匀) 裂解线虫，离心后迅速用 M9 冲洗稀释裂解液，防止裂解液裂解虫卵，离心后的沉淀为线虫虫卵。在超净工作台上，将虫卵滴于的 NGM 培养基无菌区上，20 °C 恒温培养 2 d，得到同期化 L4 期线虫。

1.3.3.2 线虫实验分组

实验分为 5 组：将线虫分别转移至涂布 100 μL 含祛湿汤的 OP50 菌液的 NGM。制备方法如下：空白对照组 (CD)：初期涂布或每天饲喂 100 μL OP50 菌液。未发酵组 (QD)：祛湿汤与 OP50 菌液 (V/V, 1:1)；LFQD、MFQD、HFQD 分别为发酵祛湿汤的低、中、高剂量组；分别是发酵第 7 天的祛湿汤与 OP50 菌液体积比为 1:3、1:2 和 1:1 制得。

1.3.3.3 线虫寿命及运动能力的测定

挑取 1.3.3.1 同期化幼虫到涂布有样品的 NGM，20 °C 恒温培养。每组 3 个平板，每个平板含 30 条线虫。每隔 1 d 将线虫转到新板上。每天记录线虫生存数，线虫全部死亡时试验结束。最后生成线虫生存曲线图。

在培养第 1、4、8、12、16 和 20 天观察线虫的行动力，记录标准参照 Huang 等^[25]的方法。

1.3.3.4 线虫产卵量的测定

每组设 3 个平板，每个板有 2 条线虫，具体方法参照王凤等^[26]，即得到每组线虫的总产卵量。

1.3.3.5 线虫热应激寿命实验

L4 期线虫经样品干预 7 d 后，将平板转移到 37 °C 环境，每隔 2 h 记录线虫的生存数量，线虫全部死亡时实验结束。每组设 5 个平板，每个板有 15 条线虫。

1.3.3.6 线虫氧化应激寿命

L4 期线虫经样品干预 3.5 d 后，将线虫转移至 500 μmol/L 胡桃醌氧化环境，每隔 2 h 记录线虫的生存和死亡数量，所有线虫死亡时实验结束。每组 4 个平板，每个板 15 条线虫。

1.3.3.7 线虫体内抗氧化酶活性测定

参考迟东泽等^[27]方法稍作修改，每组平行

3次,用M9缓冲溶液冲洗样品连续干预5d后的培养板,收集所有板上线虫,制成体积分数为5%的线虫匀浆,参照相关试剂盒进行抗氧化酶活力的测定。

1.3.3.8 线虫体内脂褐质水平测定

根据安苗青等^[28]的方法稍作修改,将L4期线虫分别以各组样品连续干预7d,每组平行3次,线虫麻醉后转移到质量分数为2%琼脂糖凝胶垫片,在荧光显微镜下获取荧光图像。

1.4 数据统计与分析

实验结果均用平均数±标准差表示,采用Excel 2003和GraphPad(Windows 8.00版)进行数据处理和作图,使用log-rank检验、*t*检验、one-way ANOVA分析法进行显著性分析, $P<0.05$ 表示统计学差异显著。

2 结果与分析

2.1 发酵祛湿汤体外抗氧化活性评价

DPPH自由基清除率是衡量物质抗氧化活性的指标。羟自由基是最活泼的自由基之一^[29]。本研究探讨了不同剂量FQD的自由基清除能力,如图1所示,LFQD、MFQD、HFQD组的自由基清除能力逐渐增大。由图1a和图1b可知,与QD对比,发酵祛湿汤中、高剂量组自由基清除率显著提高($P<0.05$),MFQD、HFQD组的DPPH清除率与Vc阳性对照组的相当;HFQD组DPPH、羟自由基清除率最大,分别为92.60%、89.82%,比QD组分别提高了24.38%、11.98%。图1c所示,物质的吸光值越高,说明还原力越强,抗氧化活性就越高。HFQD组的总还原能力较高,较QD组还原能力提高了11.76%。虽然发酵祛湿汤的总还原能力明显低于Vc,但发酵祛湿汤的总还原能力与祛湿汤的浓度呈正相关,发酵祛湿汤依然可以认为具有一定的总还原能力。因此,经过发酵的祛湿汤有较好的自由基清除能力,体外抗氧化能力显著提升。吕晨豪等^[30]认为发酵陈皮水提物具有较强抗氧化性的原因是可能是经过乳酸芽孢杆菌发酵过程中黄酮含量和放出电子增加所致。赵丹等^[20]研究证明6.8%体积浓度的葛根发酵液的清除羟自由基和超氧阴离子的能力均高于葛根水提液。其中葛根发酵液与葛根

水提液清除羟自由基清除能力的 IC_{50} 分别为5.66%、11.35%;清除超氧阴离子的 IC_{50} 分别为4.21%和6.68%。 IC_{50} 值越小说明清除自由基的能力越强。莫秋婷等^[31]实验发现丹参水提液 IC_{50} 值为10.3%,丹参发酵液 IC_{50} 值为2.9%。结果表明丹参水提液和发酵液均具有抗氧化能力,丹参发酵液抗氧化能力更强。以上结果一致证明发酵可以提高样品原本的抗氧化能力。

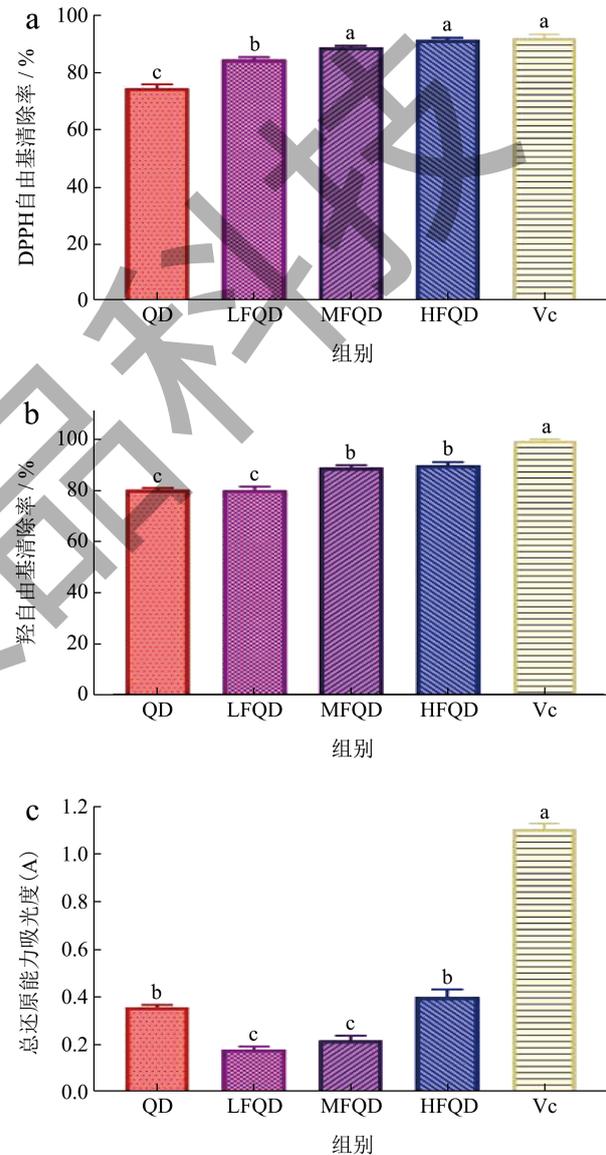


图1 发酵祛湿汤对自由基清除能力的影响

Fig.1 Effect of fermented Qushi decoction on free radical scavenging ability

注: QD为祛湿汤, LFQD、MFQD、HFQD分别为发酵祛湿汤低、中、高剂量组,柱上不同小写字母表示组间差异显著, $P<0.05$ 。

表 1 发酵的祛湿汤对线虫寿命的影响 (d)

Table 1 Effect of fermented Qushi decoction on longevity of *C. elegans*

寿命	CD	QD	LFQD	MFQD	HFQD
中位生存时间	11.00±1.41 ^b	11.50±0.00 ^b	12.00±1.08 ^b	20.40±0.41 ^a	20.43±1.31 ^a
平均寿命	12.09±1.01 ^b	13.21±0.17 ^b	14.27±0.17 ^b	17.30±0.30 ^a	17.94±1.45 ^a
最长寿命	20.22±1.50 ^b	21.44±0.54 ^b	22.22±0.42 ^{ab}	24.56±0.78 ^a	24.78±0.42 ^a

注: 同行小写字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

2.2 发酵祛湿汤对秀丽隐杆线虫寿命的作用

寿命实验能够比较直观反映秀丽线虫衰老程度。结果如图 2、表 1 所示, 用经过祛湿汤干预后, 明显延长线虫寿命; QD 组线虫平均寿命是 13.21 d, HFQD 组线虫平均寿命是 17.94 d, FQD 组线虫平均寿命延长了 8.02%~26.36%; 此外, FQD 有效延长秀丽线虫的中位生存时间, 且发酵中、高剂量组的中位生存时间显著高于 CD 组 ($P < 0.05$), 同时 CD 组秀丽线虫的最长寿命为 21 d, 而 HFQD 组最长寿命达 26 d, 其延缓效果显著 ($P < 0.05$)。结果表明, 发酵祛湿汤中、高剂量组延缓线虫的平均寿命呈现增加趋势。赵丹等^[20]研究表明经过葛根发酵液有效提高线虫的抗氧化性和耐热性, 进而延缓线虫衰老, 增加寿命。

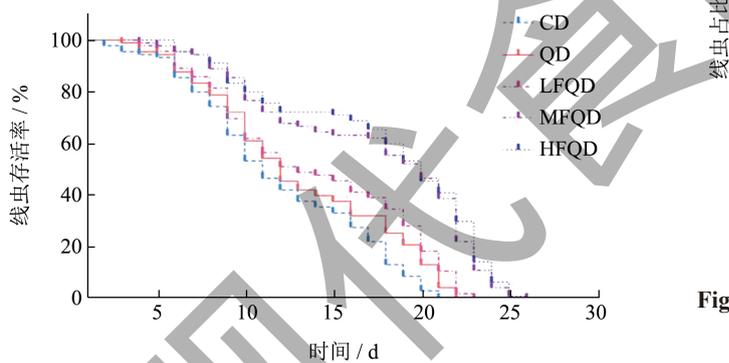


图 2 发酵的祛湿汤对线虫寿命的影响

Fig.2 Effect of fermented Qushi decoction on longevity of *C. elegans*

注: CD 为空白组, QD 为祛湿汤, LFQD、MFQD、HFQD 分别为发酵祛湿汤低、中、高剂量组。下同。

2.3 发酵祛湿汤对秀丽隐杆线虫行动能力的影响

线虫行动力可作为评价机体的衰老速度的指标^[32]。机体的衰老和肌肉老化僵持会影响线虫运动能力。图 3 是不同剂量发酵祛湿汤对线虫第 1、4、8、12、16 和 20 天运动能力的影响。在第 4 天时, 各组均有 95% 的线虫处在 A 状态; 第 8 天, CD 组和 QD 组处在 A 状态的线虫减少, FQD 组线

虫在 A 状态仍有 90% 以上; 到第 12 天, MFQD、HFQD 组 A 状态线虫数量远远大于 CD 组, QD 组的 A 状态有 76.50%, LFQD 组 A 状态的线虫有 72.34%, 说明提高线虫的行动能力与剂量有一定的关系; 在第 16 d, QD 组有 27.59% 的线虫保持在运动 A 状态, LFQD、MFQD、HFQD 组线虫处于 A 状态分别有 39.47%、68.42%、79.03%, 与 QD 组相比分别提高 11.47%、40.42%、51.03%; 在第 20 天, FQD 组仍然有 70% 以上线虫处于 A 状态。因此发酵祛湿汤可以显著提高线虫的运动能力, 延长线虫寿命。

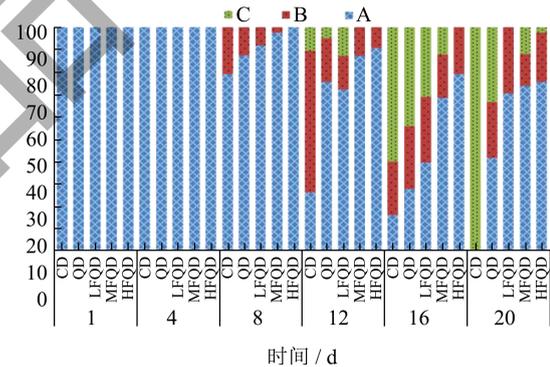


图 3 发酵的祛湿汤对线虫行动力的影响

Fig.3 Effects of fermented Qushi decoction on the movement of *C. elegans*

注: A 为线虫自发运动, 不需要触碰刺激; B 为线虫必须受到触碰刺激才运动; C 为线虫受到触碰刺激后只摆头或尾。

2.4 发酵祛湿汤对秀丽隐杆线虫生殖能力的影响

生殖能力是与衰老相关的因素。L4 期线虫的前 4 d 产卵量比较高, 图 4a 显示, 线虫生长过程中产卵量减少。线虫在第 1 天产卵量最高。如图 4b 结果显示, FQD 组与 CD 组对比, 总产卵量无明显变化 ($P > 0.05$)。因此在发酵后祛湿汤的干预下, 延长了秀丽线虫寿命的同时, 并没有减少线虫的产卵量。赵丹等^[20]研究表明葛根发酵液亦对线虫总产卵量没有显著变化。

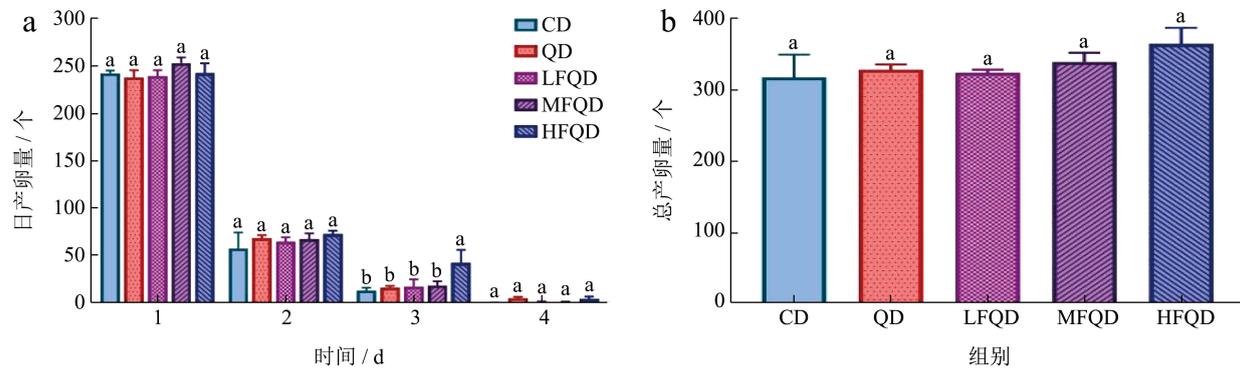


图4 发酵的祛湿汤对线虫生殖能力的影响

Fig.4 Effects of fermented Qushi decoction on reproductive ability of *C. elegans*

注: 柱上不同小写字母表示组内差异显著, $P < 0.05$ 。

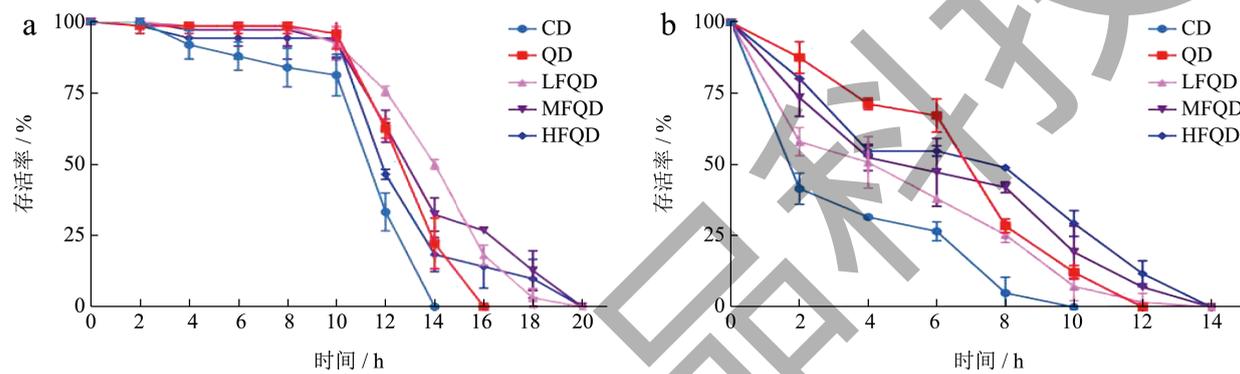


图5 发酵祛湿汤对线虫应激能力的影响

Fig.5 Effect of fermented Qushi decoction on stress ability of *C. elegans*

注: (a) 热应激; (b) 胡桃醌应激。

2.5 发酵祛湿汤对秀丽隐杆线虫抵抗应激能力的影响

本研究探讨了发酵祛湿汤对秀丽线虫抵抗热应激和氧化应激能力的影响。如图 5a 所示, 与空白组相比, 经 FQD 干预后, 线虫抗热应激能力显著升高, 与 QD 组对比, FQD 的秀丽隐杆线虫最长存活时间达到 20 h, 最长存活时间提高了 25%。有研究表明, 线虫在胡桃醌的作用下, 会引起氧化应激, 造成线虫急性氧化损伤^[33]。如图 5b 所示, 经 FQD 样品干预后的线虫生存寿命明显提升, 线虫的生存时间较 CD 组提高了 40%, 较 QD 组提高了 16.67%。结果表明, 发酵祛湿汤对热应激损伤具有保护作用, 并能够提高线虫抵御胡桃醌氧化应激的能力, 达到延长线虫寿命作用。这可能与发酵祛湿汤中的活性成分含量和种类的提高有关^[21]。Wang 等^[34]研究发现, 酵母发酵后提取的枸杞多糖热应激和氧化应激能力均高于热水法提取的枸杞多糖, 与空白组比较, 发

酵提取的枸杞多糖在氧化应激和热应激条件下线虫寿命分别提高 26.04%、14.92%。

2.6 发酵祛湿汤对秀丽隐杆线虫脂褐质水平的影响

线虫体内的脂褐素含量是线虫生存状态的一个重要参考依据。吖啶橙与凋亡细胞的 DNA 结合, 在蓝色激发光照射下, 形成黄绿色致密荧光或碎片颗粒, 因此可以通过判断荧光强度来确定线虫体内细胞凋亡程度, 进一步表明线虫体内的脂褐质含量^[35,36], 如图 6 所示, 与 CD 组比较, LFQD、MFQD、HFQD 组线虫体内脂褐质水平显著降低 ($P < 0.05$), MFQD、HFQD 组脂褐质水平较 CD 组降低了 25.73% 和 23.35%, 作用效果比较显著 ($P < 0.05$)。FQD 与 QD 相比, 线虫体内脂褐质水平的减少没有显著影响。结果表明发酵祛湿汤在一定程度上可以减少脂褐质在线虫体内水平, 起到减缓线虫衰老的作用。

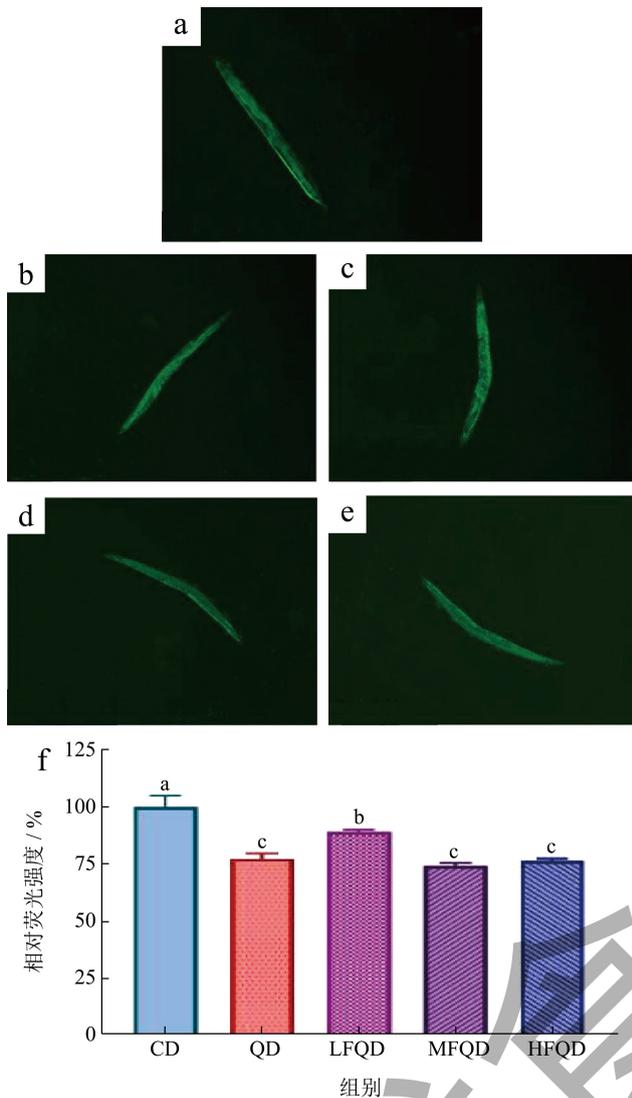


图6 发酵祛湿汤对秀丽隐杆线虫脂褐质水平的影响
Fig.6 Effects of fermented Qushi decoction on lipofuscin level of *C. elegans*

注: a: CD; b: QD; c: LFQD; d: MFQD; e: HFQD。
f 图柱上不同小写字母表示组内差异显著, $P < 0.05$ 。

2.7 发酵祛湿汤对秀丽隐杆线虫抗氧化指标的影响

活性氧自由基是引起衰老最重要的因素之一, 活性氧的过量堆积会引起氧化应激, 加速衰老^[37]。SOD 和 CAT 可清除线虫体内过量的自由基, 达到抗衰老的作用, 抗氧化酶的酶活力提高代表着线虫的抗氧化能力增强, 延缓衰老的能力增强^[35]。秀丽隐杆线虫经过发酵祛湿汤干预后, 其体内抗氧化指标检测的结果如图 7 所示, 与空白组相比, 饲喂不同剂量的祛湿汤线虫体内 SOD、CAT 和 GSH 活性均显著提高 ($P < 0.05$), 其中发酵祛湿汤高剂量组抗氧化酶活力显著提高 ($P < 0.05$)。与 QD 对比,

高剂量组 SOD 活性提高了 31.11%, CAT 活性提高了 141.42% GSH 活性提高了 28.77%。因此, 祛湿汤在一定程度上能提高线虫体内抗氧化酶活性, 其中发酵祛湿汤高剂量组抗氧化酶清除自由基的作用效果更明显, 能够更好减少氧化损伤来延缓线虫衰老。Zeng 等^[38]研究证明健脾养胃方可以提高 SOD 活性, 促进抗衰老基因 *daf-16*、*skn-1*、*sir-2.1* 表达, 并减少衰老基因 *clk-2* 表达。

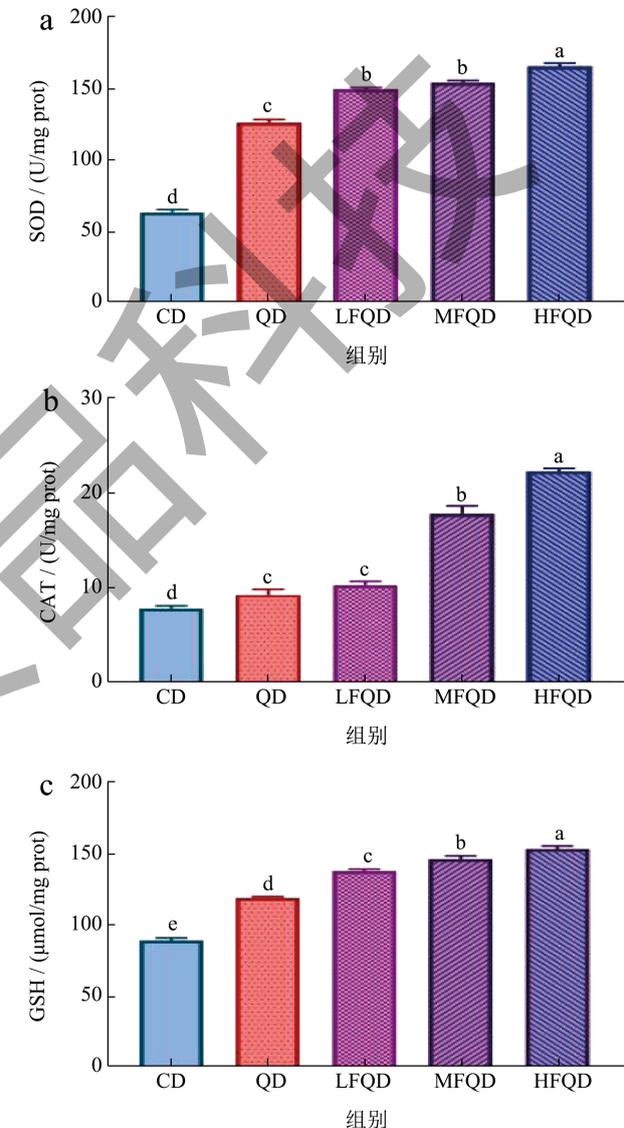


图7 发酵祛湿汤对秀丽隐杆线虫抗氧化水平的影响
Fig.7 Effects of fermented Qushi decoction on antioxidant levels of *C. elegans*

注: 柱上不同小写字母表示组内差异显著, $P < 0.05$ 。

3 结论

本实验采用 DPPH 清除能力、羟自由基清除能力和总还原能力为指标, 评价发酵祛湿汤的体外抗氧化活性, 结果表明, 发酵祛湿汤高剂量组较未发

醇祛湿汤在 DPPH 自由基清除能力、羟自由基清除能力上分别提升了 24.38%、11.98%。因此,祛湿汤具有良好的体外抗氧化活性,且经过发酵后的祛湿汤的抗氧化活性优于未发酵的祛湿汤。益生菌发酵还提高了祛湿汤的体内抗氧化活性和对秀丽隐杆线虫的抗衰老功效。与空白对照组相比,两种水提物均能提高秀丽隐杆线虫寿命和提升线虫抵抗热应激和氧化应激能力,提高运动能力的同时不影响生殖能力,提升线虫体内抗氧化防御体系和减少体活性氧自由基的积累,发酵后的祛湿汤具有更加显著的效果,说明乳酸芽孢杆菌 DU-106 与植物乳杆菌双菌发酵提高了线虫的体内抗氧化活性以及对秀丽隐杆线虫的抗衰老功效。本研究初步表明发酵祛湿汤作为一款具有抗衰老作用的保健食品,但是其抗衰老作用详细机制尚未清楚,有待进一步研究。

参考文献

- [1] 杨巍,路遥平,王放.免疫衰老——人类疾病的助推器[J].国际老年医学杂志,2023,44(2):129-134.
- [2] 梅健,王艳丽,雷莹,等.衰老相关认知障碍的研究进展[J].海南医学,2020,31(15):2014-2017.
- [3] POURBAGHER-SHAHRI A M, ZIA A, SAEED S, et al. The roles of mitochondrial dysfunction and reactive oxygen species in aging and senescence [J]. Current Molecular Medicine, 2022, 22(1): 37-49.
- [4] BALLARD J W O, TOWARNICKI S G. The gut microbiome and ROS [J]. Cellular Signalling, 2020, 75: 109737.
- [5] WANG L X, ZUO X, OUYANG Z E. A systematic review of antiaging effects of 23 traditional Chinese medicines [J]. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2021; 2021(15): 5591573.
- [6] CHO S Y, LEE H G, KWON S, et al. A systematic review of *in vivo* studies of the efficacy of herbal medicines for anti-aging in the last five years [J]. Pharmaceuticals, 2023, 16(3): 448.
- [7] SHIBU M A, LIN Y J, CHIANG C Y, et al. Novel anti-aging herbal formulation Jing Si displays pleiotropic effects against aging associated disorders [J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2022, 146: 112427.
- [8] 田双双,赵晓梅,刘勇,等.茯苓药材和饮片质量标准研究[J].中国中药杂志,2020,45(8):1734-1744.
- [9] 程玥,丁泽贤,张越,等.茯苓多糖及其衍生物的化学结构与药理作用研究进展[J].中国中药杂志,2020, 45(18): 4332-4340.
- [10] KE R D, LIN S F, CHEN Y, et al. Analysis of chemical composition of polysaccharides from *Poria cocos* Wolf and its anti-tumor activity by NMR spectroscopy [J]. Carbohydrate Polymers, 2010, 80: 31-34.
- [11] 张璐,刘强.茯苓多糖制备工艺及药理作用研究进展[J].中国实验方剂学杂志,2006,4:61-64.
- [12] ZHOU X B, ZHANG Y X, JIANG Y Q, et al. *Poria cocos* polysaccharide attenuates damage of nervus in Alzheimer's disease rat model induced by D-galactose and aluminum trichloride [J]. Neuro Report, 2021, 32(8): 727-737.
- [13] SHEN X G, QIU Z Z, WANG Y Q, et al. Exploring the potential pharmacological mechanism of Coix seed on pneumonia based on network pharmacology and molecular docking [A]. Asia-Pacific Association of Science, Engineering and Technology, Bahri Dagdas International Agricultural Research Institute, 2020: 705(1): 012020.
- [14] 杨瑞,李文东,马永生,等.不同基原甘草的分子鉴定及市售甘草药材的质量评价[J].药学学报,2017,52(2):318-326.
- [15] 张平,谭琰,高峰,等.三仁汤中三焦理论的临床应用及优势探讨[J].中国实验方剂学杂志,2021,27(7):193-200.
- [16] 蔡朝霞.参苓白术散治疗慢性泄泻脾胃虚弱证的临床效果[J].内蒙古中医药,2021,40(10):45-46.
- [17] 蒋晨.脾湿肥胖试试薏米赤小豆汤[N].中国中医药报, 2015,6:006.
- [18] 曹慧雅,李凯文,李阁,等.健脾祛湿中药治疗高尿酸血症的作用机制研究进展[J].中南药学,2022,20(9):2110-2116.
- [19] 苗艳,朱庆贺,兰世捷,等.中药益生菌发酵在兽医临床中的研究进展[J].现代畜牧科技,2021,9:14-17,22.
- [20] 赵丹,吴迪,李萌,等.发酵葛根与水提葛根的抗氧化活性与延缓线虫衰老的作用研究[J].天然产物研究与开发, 2022,34(4):639-646.
- [21] 陈扬,梁泓波,李雅琪,等.双菌发酵对祛湿汤理化特性及风味的影响[J].食品工业科技,2022,43(24):160-170.
- [22] 王杰,刘瑞珍,刘东超,等.槐角多糖抗氧化活性研究[J].食品研究与开发,2020,41(1):25-29.
- [23] 王雪梅,龙叶峰,林勇涛,等.羊肚菌多糖含片的研制及其体外抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2021,42(19):163-172.
- [24] 张玉锋,陈颖娴,温远芬,等.椰子吸器多糖的结构和体外生物学活性分析[J].食品工业科技,2021,42(17):78-84.
- [25] HUANG Q, LI R H, YI T, et al. Phosphorothioate-DNA bacterial diet reduces the ROS levels in *C. elegans* while improving locomotion and longevity [J]. Communications Biology, 2021, 4(1): 1335.
- [26] 王凤,肖楚翔,刘淑珍,等.榴莲核黄酮的提取及其对秀丽隐杆线虫氧化和衰老的影响[J].食品科学,2021, 42(9):123-129.
- [27] 迟东泽,何源,刘芳芳,等.鹿鞭醇提物对秀丽隐杆线虫衰老的影响[J].食品工业科技,2021,42(10):327-335.
- [28] 安苗青,徐雅囡,卓倩婷,等.鹿二仙胶对秀丽隐杆线虫体内抗衰老作用研究[J].广州中医药大学学报,2022, 39(8):1863-1870.
- [29] 张芳艺,张瑜萍,罗小芳,等.草菇子实体多肽的分离纯化及其结构分析[J].菌物学报,2023,42(8):1775-1784.
- [30] 吕晨豪,李俊健,陈昶安,等.发酵陈皮水提物体外抗氧

- 化活性及对秀丽隐杆线虫抗衰老作用[J].食品工业科技, 2023,44(17):428-437.
- [31] 莫秋婷,李萌,王冬冬,等.丹参发酵液的体外抗氧化和美白功效评价[J].日用化学工业,2021,51(10):981-989.
- [32] DUNN S E, KARI F W, FRENCH J, et al. Dietary restriction reduces insulin-like growth factor I levels, which modulates apoptosis, cell proliferation, and tumor progression in p53-deficient mice [J]. *Cancer Research*, 1997, 57(21): 4667-4672.
- [33] 张晓寒,赵江,韩英,等.根皮素对秀丽隐杆线虫寿命的影响[J].食品科学,2021,42(1):187-196.
- [34] WANG Z W, SUN Q R, FANG J X, et al. The anti-aging activity of *Lycium barbarum* polysaccharide extracted by yeast fermentation: *in vivo* and *in vitro* studies [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2022, 209: 2032-2041.
- [35] 田柬昕,钟碧玺,梁杉,等.红鲮鱼胶对秀丽隐杆线虫的体内抗衰老作用[J].现代食品科技,2023,39(3):37-44.
- [36] 杜星芳,贾艳丽,韩紫薇,等.菜芙蓉多糖对秀丽隐杆线虫抗氧化作用的研究[J].河北科技大学学报,2022, 43(3): 308-318
- [37] WANG C, AN J, BAI Y C, et al. Tris (1,3-dichloro-2-propyl) phosphate accelerated the aging process induced by the 4-hydroxynon-2-enal response to reactive oxidative species in *Caenorhabditis elegans* [J]. *Environmental Pollution*, 2019, 246(MAR.): 904-913.
- [38] ZENG L L, YANG Z M, YUN T C, et al. Antiaging effect of a Jianpi-yangwei formula in *Caenorhabditis elegans* [J]. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2019, 19(1): 313.

现代食品科技