

黄缘盒龟多肽对 *D*-半乳糖致亚急性衰老小鼠抗氧化能力的影响

万全¹, 王艳梅², 林琳², 魏静², 闫虹², 叶应旺², 姜绍通², 陆剑锋²

(1. 安徽农业大学动物科技学院, 安徽合肥 230036) (2. 合肥工业大学生物与食品工程学院, 安徽合肥 230009)

摘要: 为研究黄缘盒龟多肽对 *D*-半乳糖致亚急性衰老小鼠抗氧化能力的影响, 本试验采用连续皮下注射 *D*-半乳糖 (200 mg/kg·d) 建立小鼠亚急性衰老模型, 造模 6 周。建模同时灌胃给予黄缘盒龟多肽 50、100、200 mg/kg·d, 以肌肽 (50 mg/kg·d) 为阳性对照物质。6 周后对小鼠血清、肝组织和脑组织中丙二醛 (MDA) 含量、总抗氧化能力 (T-AOC) 水平、超氧化物歧化酶 (SOD) 活力和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活力进行测定。研究表明, 黄缘盒龟多肽的抗氧化效果与黄缘盒龟多肽的给药剂量呈正相关关系。与模型对照组相比, 黄缘盒龟多肽能极显著提高血清中 SOD 活力 41.71% 和降低血清中 MDA 含量 28.80% ($p < 0.01$); 也能显著提高血清中 T-AOC 水平 31.08%、脑中 SOD 活力 22.08% 及血清和肝组织中 GSH-Px 活力 22.94% 和 14.53% ($p < 0.05$); 同时使肝组织和脑组织中 MDA 含量显著降低 22.03% 和 11.88% ($p < 0.05$)。因此, 黄缘盒龟多肽可以提高 *D*-半乳糖致亚急性衰老模型小鼠的抗氧化能力, 具明显的抗衰老作用。

关键词: 黄缘盒龟; 多肽; *D*-半乳糖; 小鼠; 抗氧化

文章编号: 1673-9078(2013)9-2075-2080

Effect of Yellow-margined Box Turtle Muscle Polypeptides on Antioxidant Activities in *D*-galactose-induced Aging Mice

WAN Quan¹, WANG Yan-mei², LIN Lin², WEI Jing², YAN Hong², YE Ying-wang², JIANG Shao-tong², LU Jian-feng²

(1. College of Animal Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

(2. College of Biotechnology and Food Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 30009, China)

Abstract: The antioxidant activities *in vivo* of yellow-margined box turtle muscle polypeptides were investigated by orally feeding *D*-galactose-induced aging mice. A subacute aging mice model was established by subcutaneous injection of *D*-galactose (200 mg/kg·d) for 6 weeks. Using L-carnosine as positive control, yellow-margined box turtle muscle polypeptides were taken to mice by gavage at three different doses of 50, 100 and 200 mg/kg·d. The mice were slaughtered after 6 weeks, and the activities of total antioxidant capacity (T-AOC), serum superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and the content of malondialdehyde (MDA) in the serum, liver and brain were assayed. The results showed that the antioxidant effects of yellow-margined box turtle muscle polypeptides were positively correlated with the increased dosages. Compared with model control group, yellow-margined box turtle muscle polypeptides could significantly increase SOD activity by 41.71% and reduce MDA level by 28.80% in the serum ($p < 0.01$). An obvious increase of T-AOC activity by 31.08% in the serum and SOD activity by 22.08% in the brain was also observed ($p < 0.05$). Meanwhile, the activity of GSH-Px in the serum and liver exhibited an obvious increase by 22.94% and 14.53% ($p < 0.05$). Furthermore, the content of MDA in the brain and liver revealed a reducing trend by 22.03% and 11.88% ($p < 0.05$), respectively. Therefore, the yellow-margined box turtle muscle polypeptides showed obvious antioxidant activities *in vivo*, and they would have a great prospect for deep development and comprehensive utilization.

Key words: yellow-margined box turtle; polypeptides; *D*-galactose; mice; antioxidant activity

收稿日期: 2013-05-28

基金项目: 国家星火计划重点项目 (2012GA710002); 安徽省 115 产业创新团队计划资助 (2012d5t146)

作者简介: 万全 (1957-), 男, 副教授, 主要从事水产动物资源保护及综合利用研究

通讯作者: 陆剑锋 (1976-), 男, 博士, 教授, 主要从事水产动物资源保护及综合利用研究

近年来,随着人口老龄化的日益加剧,抗衰老问题已成为国际社会共同关注的焦点问题。如何清除自由基,防止氧化对机体细胞和组织的破坏得到广泛的关注。抗氧化肽是能够有效抑制或清除体内过剩自由基的寡肽,抗氧化肽不仅对脂质、蛋白质和DNA等生物大分子的过氧化有抑制作用,还能预防和治疗自由基诱发的疾病,如心血管疾病、糖尿病、癌症等^[1~2]。目前,在食品中常采用的人工合成抗氧化剂如BHA(丁基羟基茴香醚)、BHT(2,6-二叔羟基对甲酚)及TBHQ(特丁基对苯二酚)等,虽然具有较好的抗氧化活性,但由于它们对人体健康存在潜在的危害,所以其用量的限制越来越严格,因此开发安全无毒、高效的天然抗氧化剂逐渐受到人们的重视^[2~3]。

黄缘盒龟(*Cistoclemmys flavomarginata*)属于珍稀龟类,它既是一种营养丰富的高级滋补食品,又是我国特有的一种药用龟,其肉、血、甲、壳、心等均被历代医家作为名贵中药原料,如以龟板、龟壳为原料制成的断板龟注射液、断板片可用于结核、痔瘕,并对化疗引起的白细胞下降有助升的作用,也是治疗癌症的辅助药物^[4]。此外,构成龟机体的是特殊长寿细胞,常食龟能延年益寿^[5]。因此充分开发利用黄缘盒龟制备抗氧化肽具有重要的研究意义。

前期的研究表明,黄缘盒龟多肽在7种体外抗氧化体系(对羟自由基、超氧阴离子自由基、DPPH自由基、过氧化氢的清除能力及还原能力、亚铁离子螯合能力、亚油酸自氧化抑制能力)中均表现出较强的抗氧化活性,且有较显著的量效关系^[6],但体外抗氧化效果并不能直接推断受试物在生物体内的抗氧化效果。为进一步考察黄缘盒龟多肽在体内经消化吸收后是否能够表现出抗氧化的生理功能,本文通过动物试验对其体内抗氧化活性进行研究,旨在为今后黄缘盒龟的精深加工及开发新的功能性食品提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

试验动物: Specific pathogen free (SPF) 级昆明种健康小白鼠 60 只,清洁级,雄性,体质量(20±2)g,购于安徽长临河医药科技有限公司,动物生产合格证号: SCXK(皖)2011-002。

主要试剂: D-半乳糖,上海源聚生物科技有限公司; L-肌肽,合肥博美生物科技有限责任公司; 考马斯亮蓝 G250,中国医药上海试剂公司; 丙二醛(MDA)测试盒; 总抗氧化能力(T-AOC)试剂盒; 超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒; 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)

测试盒,南京建成生物工程研究所。

1.2 仪器与设备

CT15RT 台式高速冷冻离心机,上海天美生化仪器设备有限公司; SA8 自动旋涡振荡混合器,英国 STUART 公司; 722E 可见分光光度计,上海光谱仪器有限公司; SP-752 紫外可见分光光度计,上海光谱仪器有限公司; 5 mL 和 10 mL 玻璃匀浆器,上海精密科学仪器有限公司; DT5-4 低速离心机,北京时代北利离心机有限公司; IMS-20 全自动雪花制冰机,常熟市雪科电器有限公司。

1.3 试验方法

1.3.1 黄缘盒龟多肽的制备

实验室自制^[6]: 首先,用碱性蛋白酶在 pH 值 8.0、酶解温度 55 °C、加酶量(E/S) 3.0%、料液比 1.5:20 g/mL、酶解时间 3 h 的条件下制备黄缘盒龟酶解液; 随后,用截留分子量(MWCO)为 1000 u 的超滤膜对酶解液进行分离,收集分子量小于 1000 u 的多肽酶解液,并冷冻干燥为干粉制剂,冷藏备用。

1.3.2 动物的饲养及模型建立

空调动物房内温度 18~22 °C,自然光照。健康的昆明种小鼠 60 只,适应性饲养 1 周后,随机分为 6 组(正常对照组,模型对照组,肌肽阳性对照组,黄缘盒龟多肽给药低、中、高剂量组),每组 10 只,分笼饲养,自由采食和饮水。正常对照组和模型对照组灌服 0.2 mL 的蒸馏水; 肌肽阳性对照组按照 50 mg/(kg·d) 的剂量灌胃; 黄缘盒龟多肽给药低、中、高剂量组分别按照 50、100、200 mg/(kg·d) 的剂量灌胃。除正常对照组外,其余各组小鼠在灌胃的同时皮下注射 D-半乳糖 200 mg/(kg·d),D-半乳糖以灭过菌的生理盐水配制成 5 g/100 mL 溶液,正常对照组注射等体积的生理盐水。所有溶液在灌服和注射前均用 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌,每日灌服、注射一次,连续 6 周。每周称体质量 1 次,按体质量再调整灌胃量和注射量。

1.3.3 组织样品的制备

试验小鼠在末次给药后,停食停水 1 d,称体质量,摘取眼球采血,分离血清。将小鼠脱颈处死,迅速取出全脑、心、肝、脾、肾脏组织,用 4 °C 生理盐水冲净表面残血,滤纸吸干水分,称质量后计算各脏器指数,计算公式如下:

$$\text{脏器指数} = \frac{\text{脏器质量(g)}}{\text{动物体质量(g)}} \times 100\%$$

脑组织和肝组织快速制成匀浆液。取 0.2~1.0 g 小鼠组织块,在预冷的生理盐水中漂洗,除去血液,用滤纸拭干。称重后放入匀浆器,添加 9 倍质量的预冷

生理盐水, 进行匀浆, 制成 10% 的匀浆液。将制备好的匀浆液迅速放入冷冻离心机(4 ℃)中, 以 3000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 待测。

1.3.4 生化指标的测定

血清、肝组织和脑组织中 MDA 含量、T-AOC 水平、SOD 活力和 GSH-Px 活力均采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒进行测定, 具体操作参照试剂盒所附说明书。

1.3.5 蛋白质含量的测定

采用考马斯亮蓝法^[7]测定的蛋白含量。

1.4 数据处理和统计分析

试验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 19.0 软件进行统计学处理, 单因素方差分析和多重比较检验组间显著性差异, 差异显著性水平为 $p < 0.05$, 极显著性水平为 $p < 0.01$ 。

2 结果与讨论

2.1 小鼠一般行为学观察

试验期间对小鼠的外观、体征和行为活动等进行观察, 发现正常对照组小鼠生长良好, 毛发光亮顺滑, 活泼好动; 而模型对照组小鼠注射 D-半乳糖 2 周后, 毛发枯黄, 精神萎靡, 行动迟缓, 不喜动, 进食量也相应减少, 初步表明造模成功。灌胃相应的受试物后, 低、中、高剂量组和肌肽阳性对照组小鼠的异常情况均得到不同程度的改善。

2.2 黄缘盒龟多肽对小鼠脏器指数的影响

脏器指数能反映动物的整体营养状态和器官的病变情况^[8]。对小鼠的心、肝、脾和肾脏等脏器指数进行分析, 结果列于表 1。

表 1 黄缘盒龟多肽对小鼠脏器指数的影响

Table 1 Effect of polypeptides on organ indexes of mice

组别	脏器指数/%			
	心	肝	脾	肾
正常对照组	0.54±0.13	5.69±0.55	0.56±0.08	1.30±0.17
模型对照组	0.42±0.14	4.70±0.35 ^a	0.35±0.05 ^a	1.26±0.11
肌肽阳性对照组	0.56±0.15	5.56±0.18 ^b	0.49±0.11	1.31±0.20
低剂量组	0.48±0.09	5.14±0.48	0.41±0.16	1.29±0.09
中剂量组	0.46±0.10	5.28±0.70	0.44±0.13	1.31±0.19
高剂量组	0.51±0.12	5.60±0.41 ^b	0.51±0.15	1.33±0.22

注: a-与正常对照组相比有显著性差异($p < 0.05$); b-与模型对照组相比有显著性差异($p < 0.05$)。

由表 1 可知, 在 6 个试验组中, 模型对照组小鼠

心、肝、脾和肾的脏器指数都是最低的, 初步表明 D-半乳糖模型造模较成功。不同剂量的黄缘盒龟多肽对 D-半乳糖引起小鼠各脏器的损伤起到不同程度的修复, 且呈剂量关系。各组间的心和肾的脏器指数无统计学意义($p > 0.05$), 而模型对照组小鼠肝和脾的脏器指数与正常对照组相比均存在显著性差异($p < 0.05$), 分别下降 17.40% 和 37.50%。此外, 高剂量组小鼠肝脏指数与模型对照组相比, 升高 19.15%, 且差异显著($p < 0.05$), 表明一定剂量的黄缘盒龟多肽能显著增强小鼠的肝脏功能。

2.3 黄缘盒龟多肽对小鼠体质量的影响

表 2 黄缘盒龟多肽对小鼠体质量的影响

Table 2 Effect of polypeptides on body weight of mice

组别	体质量/(g/只)			增重率/%
	第 1 d	第 21 d	第 42 d	
正常对照组	20.19±1.35	31.71±2.10	37.13±1.96	83.90
模型对照组	20.09±1.82	26.98±1.96 ^a	30.97±2.29 ^A	54.16
肌肽阳性对照组	20.43±0.95	30.90±2.22 ^b	35.89±2.42 ^b	75.67
低剂量组	20.17±1.36	27.70±1.91	33.35±1.15	65.34
中剂量组	20.26±1.04	28.52±1.84	34.04±2.34	68.02
高剂量组	20.21±1.29	29.89±2.19	35.11±1.77 ^b	73.73

注: A-与正常对照组相比有极显著性差异($p < 0.01$); a-与正常对照组相比有显著性差异($p < 0.05$); b-与模型对照组相比有显著性差异($p < 0.05$)。

由表 2 可知, 试验前各组小鼠初始体质量基本相同, 各组间无显著性差异($p > 0.05$); 给予不同的处理后, 各组小鼠体质量增长速度发生显著改变, 在试验结束时, 模型对照组小鼠的生长明显滞后于其它 5 组, 模型对照组小鼠的体质量下降 16.59%, 极显著小于正常对照组($p < 0.01$), 肌肽阳性对照组、高剂量组与模型对照组小鼠体质量差别显著($p < 0.05$), 分别增重 15.89% 和 13.37%。与初始体重相比较, 肌肽阳性对照组和低、中、高剂量组小鼠体质量的增重率分别为 75.67%、65.34%、68.02% 和 73.73%, 而模型对照组的增重率仅为 54.16%。由此可见, 黄缘盒龟多肽能促进 D-半乳糖致亚急性衰老小鼠的体质量增长, 且高剂量组的效应与肌肽阳性对照组相近。

2.4 黄缘盒龟多肽对小鼠血清、肝组织和脑组织中 MDA 含量的影响

丙二醛(MDA)是氧自由基氧化细胞膜上磷脂形成的脂质过氧化物的稳定存在形式, 可反映机体内脂质过氧化物的程度^[9]。MDA 的增加是脂质过氧化的重要

体现,也是机体衰老的一个标志,MDA 含量的高低可间接反映机体细胞受自由基攻击的严重程度^[10]。

表3 黄缘盒龟多肽对小鼠血清、肝组织和脑组织中 MDA 含量的影响

Table 3 Effect of polypeptides on MDA content in serum, liver and brain of mice

组别	MDA 含量		
	血清/ (nmol/mL)	肝组织/ (nmol/mg prot)	脑组织/ (nmol/mg prot)
正常对照组	7.88±1.13	3.45±0.44	4.89±0.64
模型对照组	14.13±0.84 ^A	4.63±0.52 ^A	6.23±0.29 ^A
肌肽阳性对照组	10.06±0.70 ^B	3.87±0.46 ^b	5.43±0.41 ^b
低剂量组	12.84±1.22	4.42±0.35	6.10±0.47
中剂量组	12.02±0.93 ^b	4.14±0.24	5.87±0.12
高剂量组	10.82±1.42 ^B	3.61±0.41 ^b	5.49±0.29 ^b

注:A.与正常对照组相比有极显著性差异($p<0.01$);B.与模型对照组相比有极显著性差异($p<0.01$);b.与模型对照组相比有显著性差异($p<0.05$)。

由表3可知,与正常对照组相比,模型对照组小鼠血清、肝组织和脑组织中MDA含量明显增加,分别升高79.31%、34.20%和27.40%,且均有极显著差异($p<0.01$),进一步表明造模较成功。不同剂量的黄缘盒龟多肽均能降低血清、肝组织和脑组织中MDA含量,且呈剂量关系。与模型对照组相比,中剂量组血清中MDA含量显著降低14.93%($p<0.05$),高剂量组和肌肽阳性对照组血清中MDA含量极显著降低23.43%和28.80%($p<0.01$),二者效果相当。对于肝组织和脑组织来说,高剂量组和肌肽阳性对照组的MDA含量明显低于模型对照组,其中肝组织分别下降22.03%和16.41%,而脑组织分别下降11.88%和12.84%,且均差异显著($p<0.05$)。

2.5 黄缘盒龟多肽对小鼠血清、肝组织和脑组织中 T-AOC 水平的的影响

机体防御体系的抗氧化能力的强弱与健康程度存在着密切联系,总抗氧化能力(T-AOC)水平是对机体抗氧化能力的总体评价,它的水平下降表明机体整体的抗氧化能力降低了^[11]。

表4可知,模型对照组小鼠血清、肝组织和脑组织中T-AOC水平均明显低于正常对照组,分别下降25.09%、15.93%和19.35%,且均差异显著($p<0.05$),表明模型对照组小鼠体内的氧化与抗氧化平衡已被破坏。黄缘盒龟多肽低、中、高剂量组及肌肽阳性对照组小鼠血清、肝组织和脑组织中T-AOC水平均高于模

型对照组,分别升高7.71~31.08%、3.42~13.53%和3.43~18.35%,且T-AOC水平与黄缘盒龟多肽的给药剂量间呈正相关关系。因此,黄缘盒龟多肽能够提高D-半乳糖致亚急性衰老模型小鼠机体的抗氧化能力。

表4 黄缘盒龟多肽对小鼠血清、肝组织和脑组织中 T-AOC 水平的的影响

Table 4 Effect of polypeptides on T-AOC activity in serum, liver and brain of mice

组别	T-AOC 水平		
	血清/ (U/mL)	肝组织/ (U/mg prot)	脑组织/ (U/mg prot)
正常对照组	5.54±0.87	8.35±0.39	6.15±0.77
模型对照组	4.15±0.22 ^a	7.02±0.46 ^a	4.96±0.51 ^a
肌肽阳性对照组	5.26±0.46 ^b	7.82±0.95	5.87±0.57 ^b
低剂量组	4.47±0.61	7.26±0.78	5.13±0.24
中剂量组	4.82±0.45	7.53±0.96	5.32±0.35
高剂量组	5.44±0.64 ^b	7.97±0.77	5.71±0.17

注:a-与正常对照组相比有显著性差异($p<0.05$);b-与模型对照组相比有显著性差异($p<0.05$)。

2.6 黄缘盒龟多肽对小鼠血清、肝组织和脑组织中 SOD 活力的影响

超氧化物歧化酶(SOD)是存在于细胞液中的抗氧化酶,是体内清除自由基的首要物质,SOD能专一性清除超氧阴离子自由基,催化超氧阴离子自由基化成 H_2 和 O_2 ,保护细胞免受损伤,它对机体的氧化与抗氧化平衡起着重要作用,它的活性高低与衰老、炎症、肿瘤、心血管疾病等都有着密切的联系^[12-13]。

表5 黄缘盒龟多肽对小鼠血清、肝组织和脑组织中 SOD 活力的影响

Table 5 Effect of polypeptides on SOD activity in serum, liver and brain of mice

组别	SOD 活力		
	血清/ (U/mL)	肝组织/ (U/mg prot)	脑组织/ (U/mg prot)
正常对照组	207.53±25.40	81.22±13.65	122.43±17.56
模型对照组	126.12±3.81 ^A	65.68±9.95	94.34±12.45 ^a
肌肽阳性对照组	189.10±19.06 ^B	79.71±3.59	111.58±9.93
低剂量组	133.62±4.41	67.34±8.37	97.83±6.04
中剂量组	152.42±8.20 ^b	79.49±7.84	104.21±12.81
高剂量组	178.72±13.92 ^B	77.25±5.89	115.17±5.61 ^b

注:A-与正常对照组相比有极显著性差异($p<0.01$);a-与正常对照组相比有显著性差异($p<0.05$);B-与模型对照组相比有极显著性差异($p<0.01$);b-与模型对照组相比有显著性差异

($p < 0.05$)。

由表 5 可知, 与正常对照组相比, 模型对照组小鼠血清和脑组织中 SOD 活力明显降低, 分别下降 39.23% 和 22.94%, 差别分别为极显著水平和显著水平 ($p < 0.01$ 和 $p < 0.05$), 出现这种现象的原因是一定时间连续给小鼠注射 D-半乳糖后, 机体会产生过量的 $\cdot\text{OH}$ 、 O_2^- 、 H_2O_2 等自由基, 致使体内 SOD 活力降低。肌肽阳性对照组和高剂量组小鼠血清的 SOD 活力与模型对照组相比, 分别升高 49.94% 和 41.71%, 且均为极显著差异 ($p < 0.01$)。对于小鼠肝组织中 SOD 活力, 各给药组与模型对照组虽差异不显著 ($p > 0.05$), 但 SOD 活力均不同程度地高于模型对照组。而对于小鼠脑组织中 SOD 活力, 高剂量组显著高于模型对照组 22.08% ($p < 0.05$), 且效果略高于肌肽阳性对照组, 但与正常对照组比较, 则差异不显著 ($p > 0.05$), 表明黄缘盒龟多肽对恢复 D-半乳糖致亚急性衰老模型小鼠脑组织 SOD 活性具有一定的作用。

2.7 黄缘盒龟多肽对小鼠血清、肝组织和脑组织中 GSH-Px 活力的影响

谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 是机体内一种重要的抗氧化酶和自由基清除剂, 能清除有害的过氧化物代谢产物, 阻断脂质过氧化链式反应, 从而对细胞膜结构及其功能完整性起到保护作用, 其活力的高低也被作为评价机体抗氧化能力的重要指标之一^[13-14]。

表 6 黄缘盒龟多肽对小鼠血清、肝组织和脑组织中 GSH-Px 活力的影响

Table 6 Effect of polypeptides on GSH-Px activity in serum, liver and brain of mice

组别	GSH-Px 活力		
	血清 (U/mL)	肝组织 (U/mg prot)	脑组织 (U/mg prot)
正常对照组	127.09±8.09	162.37±4.58	61.81±4.19
模型对照组	90.41±14.42 ^A	138.18±13.88 ^a	52.27±1.13 ^a
肌肽阳性对照组	116.60±13.23 ^b	155.16±9.55	59.22±1.64 ^b
低剂量组	91.93±7.96	142.95±7.02	55.19±5.19
中剂量组	95.63±5.52	149.03±8.99	59.81±1.91 ^b
高剂量组	111.15±11.20 ^b	158.26±11.94 ^b	57.94±6.13

注: A. 与正常对照组相比有极显著性差异 ($p < 0.01$); a 与正常对照组相比有显著性差异 ($p < 0.05$); b. 与模型对照组相比有显著性差异 ($p < 0.05$)。

由表 6 可知, 与正常对照组相比, 模型对照组小鼠血清 GSH-Px 活力极显著降低 28.86% ($p < 0.01$), 而模型对照组小鼠肝组织和脑组织中 GSH-Px 活力分

别下降 14.90% 和 15.43%, 且均显著低于正常对照组 ($p < 0.05$), 再次表明造模较成功。与模型对照组比较, 肌肽阳性对照组和高剂量组能显著提高小鼠血清 GSH-Px 活力 ($p < 0.05$), 分别上升 28.97% 和 22.94%。对于肝组织中 GSH-Px 活力, 高剂量组显著高于模型对照组 14.53% ($p < 0.05$), 且效果略高于肌肽阳性对照组, 与正常对照组比较, 差异不显著 ($p > 0.05$)。对于脑组织中 GSH-Px 活力, 黄缘盒龟多肽低、中、高剂量组及肌肽阳性对照组 GSH-Px 活力均高于模型对照组, 表明黄缘盒龟多肽对 D-半乳糖致亚急性衰老模型小鼠脑组织 GSH-Px 水平的恢复有一定促进作用。

3 结论

在 6 个试验组 (正常对照组, 模型对照组, 肌肽阳性对照组, 黄缘盒龟多肽给药低、中、高剂量组) 中, 模型对照组的各脏器指数均最小, 初步表明造模较成功; 模型对照组小鼠血清、肝组织和脑组织中 MDA 含量最高, 而 T-AOC 水平、SOD 活力和 GSH-Px 活力均最低, 进一步表明造模较成功。黄缘盒龟多肽对小鼠血清、肝组织和脑组织的 T-AOC 水平、SOD 活力和 GSH-Px 活力有明显的提高作用, 对 MDA 含量的升高有明显的抑制作用, 且抗氧化效果与黄缘盒龟多肽的给药量呈正相关关系。结果表明, 黄缘盒龟多肽能够提高 D-半乳糖致亚急性衰老模型小鼠的抗氧化能力, 具有明显的抑制衰老作用。

参考文献

- [1] Ryan J T, Ross R P, Bolton D, et al. Bioactive peptides from muscle sources: meat and fish [J]. *Nutrients*, 2011, 3(9): 765-791
- [2] Hartmann R, Meisel H. Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2007, 18(2): 163-169
- [3] Je J Y, Park P J, Kim S K. Antioxidant activity of a peptide isolated from alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) frame protein hydrolysate [J]. *Food Research International*, 2005, 38(1): 45-50
- [4] 郭旭升. 黄缘闭壳龟的拟生态人工养殖技术 [J]. *水产养殖*, 2007, 28(4): 24-25
- [5] Guo X S. Artificial breeding technology of yellow-margined box turtle in simulated ecological condition [J]. *Journal of Aquaculture*, 2007, 28(4): 24-25
- [6] 李修封, 李蓓, 张友谦. 黄缘盒龟的生物学特征和经济价值 [J]. *北京水产*, 2006, 4: 12-15
- [7] Li X F, Li B, Zhang Y Q. Biological characteristic and

- economic value of *Cistoclemmys flavomarginata* [J]. Journal of Beijing Fisheries, 2006, (4): 12-15
- [6] 王艳梅,万全,赖年悦,等.黄缘盒龟肉的酶解工艺优化及其体外抗氧化活性研究[J].水产学报,2013,37(4):622-630
Wang, Y M, Wan Q, Lai N Y, et al. Optimization of enzymatic technology of yellow-margined box turtle muscle and antioxidant abilities of its hydrolysates *in vitro* [J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(4): 622-630
- [7] 王文平,郭祀远,李琳,等.考马斯亮蓝法测定野木瓜多糖中蛋白质的含量[J].食品研究与开发,2008,29(1):115-117
Wang W P, Guo S Y, Li L, et al. The determination of protein content in polysaccharides from *Stauntonia chinensis* with Coomassie brilliant blue method [J]. Food Research and Development, 2008, 29(1): 115-117
- [8] Fu L H, Wang Y P, Wang J J, et al. Evaluation of the antioxidant activity of extracellular polysaccharides from *Morchella esculenta* [J]. Food and Function, 2013, 4(6): 871-879
- [9] Vassalle C, Lubrano V, L'Abbate A, et al. Determination of nitrite plus nitrate and malondialdehyde in human plasma: analytical performance and the effect of smoking and exercise [J]. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2002, 40(8): 802-809
- [10] 陈园,仇农学,熊健.植酸的体内抗氧化活性研究[J].现代食品科技,2011,27(2):131-134
- Chen Y, Qiu N X, Xiong J. *In vivo* antioxidant effect of phytic acid [J]. Modern Food Science and Technology, 2011, 27(2): 131-134
- [11] 徐红艳,刘富国,于阳阳,等.东北山核桃仁油对 D-半乳糖衰老小鼠抗氧化能力的影响[J].食品科学,2012,33(7): 266-269
Xu H Y, Liu F G, Yu Y Y, et al. Effect of oil from juglans mandshurica grown in northeast china on antioxidant abilities in D-galactose-induced aging mice [J]. Food Science, 2012, 33(7): 266-269
- [12] 朱庆磊,杨契,薛桥,等.人工致衰老和自然衰老小鼠抗氧化能力改变的对比研究[J].中国老年学杂志,2003,23(7): 448-450
Zhu Q L, Yang J, Xue Q, et al. Comparative study of the changes in anti-oxidative ability in artificial and natural senile mice [J]. Chinese Journal of Gerontology, 2003, 23(7): 448-450
- [13] Yuzhalin A E, Kutikhin A G. Inherited variations in the SOD and GPX gene families and cancer risk [J]. Free Radical Research, 2012, 46(5): 581-599
- [14] Park E J, Pezzuto J M. Antioxidant marine products in cancer chemoprevention [J]. Antioxidants and Redox Signaling, 2013, 19(2): 115-138w