

冷榨葡萄籽饼粕超微粉对衰老小鼠内脏抗氧化功能的影响

刘霞¹, 杨继红^{1,2,3}, 王海瑞⁴, 隋银强¹, 李华^{1,2,3}, 王华^{1,2,3,*}

(1.西北农林科技大学葡萄酒学院, 陕西 杨凌 712100; 2.陕西省葡萄与葡萄酒工程研究中心, 陕西 杨凌 712100; 3.西北农林科技大学葡萄与葡萄酒(合阳)试验站, 陕西 合阳 715300; 4.西安新药评价中心, 陕西 西安 710065)

摘要: 目的: 研究酿酒副产物葡萄籽冷榨提油后饼粕超微粉对衰老小鼠心脏、肾脏和肝脏的抗氧化功能的影响。方法: 60只小鼠随机分为冷榨葡萄籽饼粕超微粉(CP-GSSP)低、中、高剂量组(323、646、1938mg/(kg·d))、VE组(25mg/(kg·d))、衰老模型组和空白组。除空白组腹腔注射等体积生理盐水外, 其他各组腹腔注射D-半乳糖构建亚急性衰老模型, 同时剂量组灌胃给予CP-GSSP, VE组给予油溶性VE, 模型组和空白组均给予同体积食用油。持续45d后, 测定心脏、肾脏和肝脏中丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的活力。结果: 形态水平: CP-GSSP可以抵抗由D-半乳糖所致的衰老表征的出现并且对内脏无不良影响。生化水平: CP-GSSP能够显著降低小鼠心脏、肾脏和肝脏中脂质过氧化物MDA的含量, 提高抗氧化酶SOD和GSH-Px的活力。结论: CP-GSSP具有显著抑制衰老小鼠体内脂质过氧化的作用、能明显提高内源性抗氧化酶活性并且无副作用, 表明其具有较好的抗氧化、抗衰老作用。

关键词: 冷榨; 葡萄籽; 超微粉; 内脏; 抗氧化

Effect of Cold-pressed Grape Seed Superfine Powder (CP-GSSP) on Antioxidative Functions in Aging Mouse Viscera

LIU Xia¹, YANG Ji-hong^{1,2,3}, WANG Hai-rui⁴, SUI Yin-qiang¹, LI Hua^{1,2,3}, WANG Hua^{1,2,3,*}

(1. College of Enology, Northwest A&F University, Yangling 712100, China; 2. Shaanxi Engineering Research Center for Viti-viniculture, Yangling 712100, China; 3. Viti-viniculture Experiment Station (Heyang) of Northwest A&F University, Heyang 715300, China; 4. Xi'an New Drug Evaluation and Research Center, Xi'an 710065, China)

Abstract: Objective: To explore the effect of cold-pressed grape seed superfine powder (CP-GSSP) on visceral anti-oxidative function in aging mice. Methods: Sixty mice were randomly divided into CP-GSSP low, medium and high dose groups (323, 646, 1938 mg/(kg·d)), VE group (25 mg/(kg·d)), aging model group and normal control group. The mice in the normal control group were intraperitoneally injected with physiological saline, whereas, other groups were intraperitoneally injected with D-galactose to establish aging mouse model. Along with intraperitoneal injection, the mice from the CP-GSSP groups, VE group, aging model group and normal control group were intragastrically administered with CP-GSSP at various doses, VE, edible oil and edible oil, respectively. Forty-five days later, the content of MDA, and the activities of SOD and GSH-Px in heart, kidney and liver were detected. Results: CP-GSSP resisted the aging performance caused by D-galactose without causing adverse effects in viscera, and significantly reduced the content of MDA, and improved the activities of SOD and GSH-Px in heart, kidney and liver. Conclusion: CP-GSSP can inhibit lipid peroxidation and improve the activity of endogenous antioxidases in aging mice. Therefore, it has a good antioxidant and anti-aging effect.

Key words: cold-pressed grape seeds; superfine powder; viscera; antioxidation

中图分类号: TS201.4

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2013)17-0299-06

doi:10.7506/spkx1002-6630-201317063

收稿日期: 2012-10-29

基金项目: 科技部农业科技成果转化基金资助项目(K304021001); 国家2008年杨凌葡萄苗木良种繁育基地项目

作者简介: 刘霞(1987—), 女, 硕士研究生, 研究方向为酿酒葡萄皮渣的综合利用。E-mail: 137446107@qq.com

*通信作者: 王华(1959—), 女, 教授, 博士, 研究方向为葡萄与葡萄酒。E-mail: wanghua@nwsuaf.edu.cn

葡萄是世界广泛栽培的四大水果作物之一^[1]。随着葡萄酒市场的不断壮大,随之产生的酿酒副产物逐渐变成了一个不可忽视的环境问题。葡萄籽是酿酒副产物的重要组成部分,含油量大约分布在6%~22%之间^[2],所以利用葡萄籽来获取葡萄籽油是综合利用酿酒副产物的良好选择之一。近年来,葡萄籽油因具有较多的功能性成分、良好的脂肪酸比例而被认为是潜在的食用、保健资源^[3-5]。葡萄籽饼粕是提取过葡萄籽油后的残渣,虽然没有得到很多关注,但根据少数文献^[4,6]以及笔者之前的检测结果可知,葡萄籽饼粕是富含蛋白质、维生素、膳食纤维、矿质元素以及天然抗氧化剂等功能活性物质的潜在资源,尤其是冷榨法榨油后得到的葡萄籽饼粕,由于冷榨法的工艺特性而赋予了其更多的、更完整的有益成分,因此冷榨饼粕具有更高的再利用价值。超微粉碎技术可以实现原料中有效成分最大程度的释放,将葡萄籽饼粕加工成超微粉末,会使其利用价值升高,从而获得更好的经济效益。目前,关于冷榨葡萄籽饼粕超微粉(CP-GSSP)加工以及CP-GSSP的体内抗氧化功能的研究还没有相关报道。

本研究拟利用超微粉碎技术对冷榨法制油后的葡萄籽饼粕进行超微粉碎处理后,将CP-GSSP作为受试物灌胃于D-半乳糖致衰老小鼠模型,通过观察小鼠的体征、内脏形态及其中MDA含量、SOD和GSH-Px活力的变化来判断CP-GSSP的体内抗氧化活性,以期冷榨葡萄籽饼粕的再利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

1.1.1 受试物

西北农林科技大学葡萄酒学院2011年红色品种“媚丽”经小容器单品种酿酒后,收集得到的葡萄籽经冷榨法(温度60℃、压力60MPa、时间2h)榨油后获得葡萄籽饼粕,超微粉碎^[7]后过100目筛备用,约90%的粉末粒度分布在20~150μm。经测定,受试物中功能性成分(以干质量计)包括总多酚8.29%、原花青素2.58%、粗脂肪11.03%、VE 12.19mg/kg、粗纤维37.1%。

1.1.2 动物

由西安交通大学医学院实验动物中心提供的健康昆明种小鼠60只,体质量(29.95±1.59)g,雌性。实验动物许可证号:SCXK(陕)2007-001。动物实验室许可证号:SYKX(陕)2007-002。

1.1.3 试剂

D-半乳糖(分析纯) 美国Amresco公司;VE(分析纯) 美国Sigma公司;食用油 中粮集团;冰乙酸、无水乙醇(均为分析纯) 天津市天力化学试剂有限公

司;丙二醛(MDA)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)试剂盒、考马斯亮蓝试剂盒 南京建成生物工程研究所。

1.1.4 仪器与设备

Allegra X-15R台式冷冻离心机、DU800紫外-可见分光光度计 美国Beckman Coulter公司;PT-MR 2100型匀浆机 瑞士Polytrom公司;XP10002S电子天平 瑞士Mettler-Toledo公司;LG-050B理化干燥箱 上海实验仪器厂有限公司;恒温水浴锅 常州国华电器有限公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组

60只小鼠在清洁级实验室适应3d后,随机分为CP-GSSP低、中、高剂量组,同时设置衰老模型组、VE组和空白组,每组10只,同时用苦味酸对小鼠进行编号。

1.2.2 受试物剂量确定

由于原花青素是葡萄籽中最主要的功能性成分,根据李银平等^[8]原花青素的人体摄入量以及本受试物中的原花青素的含量,确定了以受试物人体摄入量的5、10、30倍作为本实验的低、中、高剂量组。各组小鼠的基本给药情况见表1。

表1 各组小鼠的基本给药情况
Table 1 Administration dose for mice in each group

| 组别 | 给药方式 | 给药类型 | 给药量/(mg/(kg·d)) | 灌胃量/(mL/10g) | 配制溶剂 | 终质量浓度/(g/100mL) | 给药时间/d |
|----|------|---------|-------------------|--------------|------|-----------------|--------|
| L | 灌胃 | CP-GSSP | 323 | 0.200 | 食用油 | 1.615 | 45 |
| M | 灌胃 | CP-GSSP | 646 | 0.200 | 食用油 | 3.230 | 45 |
| H | 灌胃 | CP-GSSP | 1938 | 0.200 | 食用油 | 9.690 | 45 |
| V | 灌胃 | VE | 25 ^[9] | 0.200 | 食用油 | 0.125 | 45 |
| A | 灌胃 | 食用油 | | 0.200 | | | 45 |
| C | 灌胃 | 食用油 | | 0.200 | | | 45 |

注:L.低剂量组;M.中剂量组;H.高剂量组;V.VE组;A.模型组;C.空白组。下同。

1.2.3 D-半乳糖衰老模型的建立

除了空白组外,其余各组在灌胃的同时,根据各实验组每只小鼠的体质量情况,注射D-半乳糖构建衰老模型。D-半乳糖的用量为1000mg/(kg·d),使用时用0.9%的生理盐水配成5g/100mL的D-半乳糖溶液,按0.2mL/10g体质量进行腹腔注射,持续时间为45d。

1.2.4 检测指标

记录给药期间小鼠的体征变化,记录解剖后小鼠的脏器形态与质量,测定心脏、肾脏和肝脏的MDA含量以及SOD、GSH-Px活力。

1.2.5 10%组织匀浆的制备

末次给药后使小鼠禁食过夜,于次日将小鼠断颈处死并解剖,取出心脏、肾脏和肝脏(在冰面上进行)并将其在4℃预冷的生理盐水中漂洗以除去血液,用滤纸吸表

面水分、并快速剔除脏器表面脂肪组织后精确称得脏器质量并记录。然后,将适量脏器组织放入10mL带盖离心管中,加入9倍0.86%生理盐水,将离心管装入有冰水混合物的小烧杯中,用高速组织匀浆机以15000r/min的转速匀浆约10s,间歇30s,反复进行3次,制成10%组织匀浆,接着在4℃条件下,2500r/min离心10min,取上清液待测。

1.3 数据处理方法

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS19.0软件对两组数据间进行独立样本 T 检验: $P < 0.01$ 表示差异极显著, $P < 0.05$ 表示差异显著,采用SPSS19.0软件分析所得结果用Origin软件作图后呈现。

2 结果与分析

2.1 形态水平观察

2.1.1 CP-GSSP对D-半乳糖致衰老小鼠体征的影响

与空白组和各剂量组相比,模型组小鼠在5周后出现明显的毛色暗淡无光泽、皮肤松弛无弹性、反应迟钝、体质量增加缓慢等现象;各剂量组和空白组相比差异不是很明显,尤其是中剂量组的小鼠行动力最强、反应最为灵敏。以上现象说明D-半乳糖亚急性衰老模型构建成功,而且CP-GSSP可以推迟或减缓D-半乳糖所致的衰老体征表现。

2.1.2 CP-GSSP对D-半乳糖致衰老小鼠内脏质量的影响

表2 CP-GSSP对小鼠主要内脏质量的影响
Table 2 Effect of CP-GSSP on mouse visceral weight

| 组别 | 心脏 | 肾脏 | 肝脏 |
|----|-------------|-------------|-------------|
| L | 0.142±0.016 | 0.257±0.028 | 1.296±0.099 |
| M | 0.148±0.023 | 0.284±0.043 | 1.256±0.163 |
| H | 0.145±0.020 | 0.280±0.036 | 1.189±0.149 |
| V | 0.143±0.017 | 0.265±0.023 | 1.241±0.147 |
| A | 0.144±0.016 | 0.252±0.025 | 1.226±0.095 |
| C | 0.139±0.011 | 0.263±0.014 | 1.307±0.182 |

解剖后观察到的各组小鼠的心脏、肾脏和肝脏组织在色泽、形状等方面和空白组比较没有明显差异,在各剂量组中均没有观察到明显的组织病变,如肿大、增生等现象。由表2可知,各剂量组小鼠之间的心脏、肾脏和肝脏的质量和空白组相比没有统计学意义。表明CP-GSSP的摄入不会引起小鼠心脏、肾脏和肝脏的组织病变,无潜在毒副作用。

2.2 CP-GSSP对小鼠内脏MDA含量的影响

由图1a可知,模型组和VE组心脏MDA含量明显高于空白组,差异达极显著水平($P < 0.01$);低、中、高各剂量组心脏MDA含量明显低于模型组,差异达极显著水平

($P < 0.01$),但和空白组相比没有统计学意义,表明各剂量CP-GSSP均可以不同程度的抑制D-半乳糖诱导的心脏脂质过氧化水平,也表明CP-GSSP抗心脏脂质过氧化能力强于本实验剂量的常用抗氧化剂VE。由图1b可知,模型组肾脏MDA含量明显高于空白组,差异达极显著水平($P < 0.01$);低、中剂量组和VE组肾脏MDA含量明显低于模型组,差异达极显著水平($P < 0.01$),但和空白组相比均没有统计学意义,但是高剂量组肾脏MDA含量却明显高于空白组,差异达显著水平($P < 0.05$),表明适当剂量的CP-GSSP可以显著抑制D-半乳糖诱导的肾脏脂质过氧化水平的加剧。由图1c可知,低剂量组、VE组和模型组肝脏MDA含量明显高于空白组,差异达极显著水平($P < 0.01$);中、高剂量组肝脏MDA含量明显低于模型组,差异达极显著水平($P < 0.01$),并且和空白组相比均没有统计学意义,表明较高剂量CP-GSSP可以起到显著抑制肝脏脂质过氧化的作用。

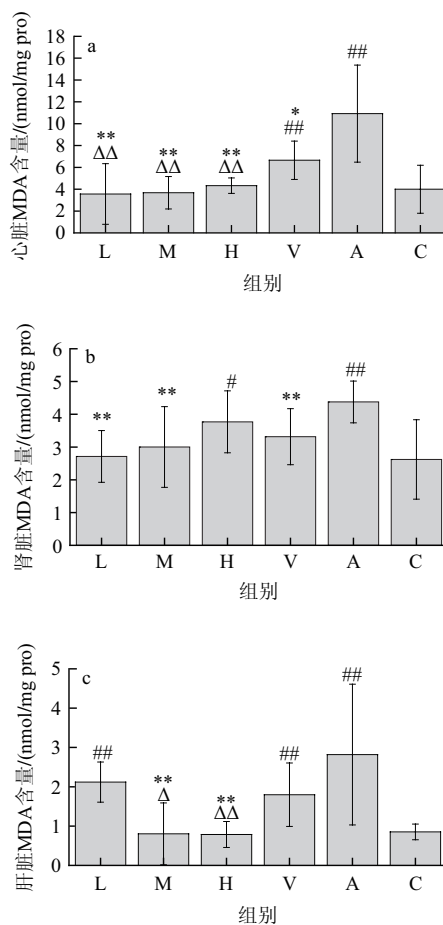


图1 CP-GSSP对小鼠心脏、肾脏和肝脏MDA含量的影响
Fig.1 Effect of CP-GSSP on MDA content in mouse heart, kidney and liver

2.3 CP-GSSP对小鼠内脏SOD活力的影响

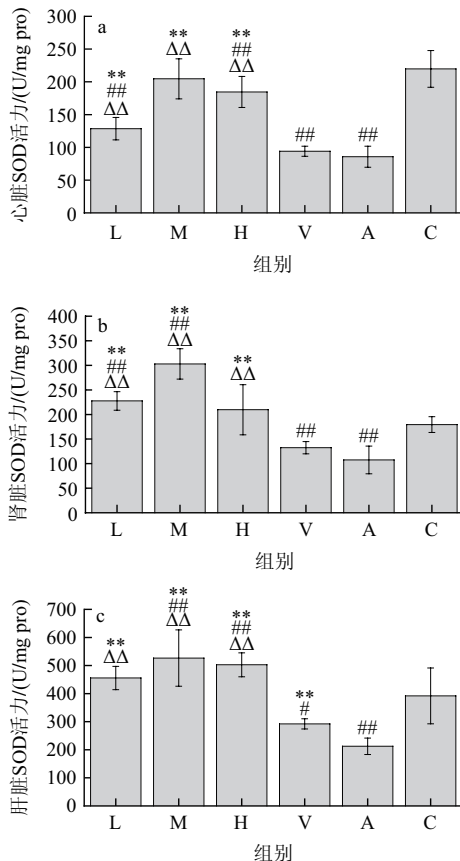


图2 CP-GSSP对小鼠心脏、肾脏和肝脏SOD活力的影响

Fig.2 Effect of CP-GSSP on SOD activity in mouse heart, kidney and liver

由图2a可知,低剂量组、高剂量组、VE组和模型组的心脏SOD活力明显低于空白组,差异达极显著水平($P < 0.01$),而中剂量组和空白组相比没有显著差异;此外,低、中、高剂量组心脏SOD活力均明显高于VE组和模型组,差异达极显著水平($P < 0.01$),表明各剂量CP-GSSP均可以不同程度的抑制D-半乳糖诱导的心脏SOD活力的降低,并且其功能活性强于本实验剂量的VE,具有很好的提高机体抗氧化水平的功效。由图2b可知,模型组肾脏SOD活力明显低于空白组,差异达极显著水平($P < 0.01$);低、中剂量组肾脏SOD活力均明显高于空白组,且VE组肾脏SOD活力明显低于空白组,差异均达极显著水平($P < 0.01$);此外,低、中、高剂量组肾脏SOD活力明显高于VE组和模型组,差异均达极显著水平($P < 0.01$),表明各剂量CP-GSSP均可以不同程度的抑制D-半乳糖诱导的肾脏SOD活力的降低,也说明了CP-GSSP的提高肾脏抗氧化水平的能力强于本实验剂量的VE。由图2c可知,VE组和模型组肝脏SOD活力均明显低于空白组,差异分别达显著水平($P < 0.05$)和极显著水平($P < 0.01$),但是中、高剂量组肝脏SOD活力均明显高于空白组,差异达显著水

平($P < 0.01$);此外,中、低、高各剂量组肝脏SOD活力明显高于模型组和VE组,差异均达极显著水平($P < 0.01$),表明各剂量CP-GSSP均可以不同程度的起到抑制肝脏脂质过氧化的作用,也进一步说明了CP-GSSP的提高肝脏抗氧化水平的能力强于本实验剂量的常用抗氧化剂VE。

2.4 CP-GSSP对小鼠内脏GSH-Px活力的影响

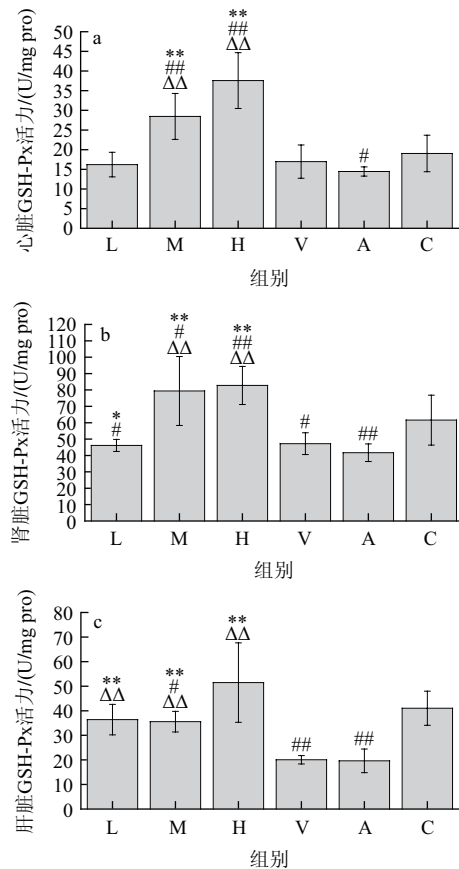


图3 CP-GSSP对小鼠心脏、肾脏和肝脏GSH-Px活力的影响

Fig.3 Effect of CP-GSSP on GSH-Px activity in mouse heart, kidney and liver

由图3a可知,模型组心脏GSH-Px活力明显低于空白组,差异达显著水平($P < 0.05$),而中、高剂量组心脏GSH-Px活力明显高于空白组,差异均达极显著水平($P < 0.01$);此外,中、高剂量组心脏GSH-Px活力均明显高于VE组和模型组,差异达极显著水平($P < 0.01$),表明较高剂量CP-GSSP可以显著抑制D-半乳糖诱导的心脏GSH-Px活力的降低,并且其功能活性强于本实验剂量的VE,具有很好的提高机体抗氧化水平的功效。由图3b可知,低剂量组、VE组和模型组肾脏GSH-Px活力均明显低于空白组,差异分别达显著水平($P < 0.05$)和极显著水平($P < 0.01$),但是中、高剂量组肾脏GSH-Px活力均明显高于空白组,差异分别达显著水平($P < 0.05$)和极显著水平($P < 0.01$);此外,低、中、高剂量组肾脏GSH-Px活力明显高于模型组,

差异分别达显著水平($P<0.05$)和极显著水平($P<0.01$),其中,中、高剂量组肾脏GSH-Px活力也明显高于VE组,差异达极显著水平($P<0.01$),表明各剂量CP-GSSP均可以不同程度地抑制D-半乳糖诱导的肾GSH-Px活力的降低,以较高剂量效果最好,也说明了适当剂量的CP-GSSP提高肾脏抗氧化水平的能力强于本实验剂量的常用抗氧化剂VE。由图3c可知,VE组和模型组肝脏GSH-Px活力均明显低于空白组,差异分别达显著水平($P<0.05$)和极显著水平($P<0.01$);此外,低、中、高剂量组肝脏GSH-Px活力明显高于模型组和VE组,差异均达极显著水平($P<0.01$),表明各剂量CP-GSSP均可以不同程度的起到抑制D-半乳糖诱导的肝脏GSH-Px活力降低的作用,也进一步说明了CP-GSSP的提高肝脏抗氧化水平的能力强于本实验剂量的常用抗氧化剂VE。

3 讨论

3.1 D-半乳糖衰老模型

衰老可以被定义为组织或器官抵抗应激、损害以及疾病能力逐渐减弱的一个复杂的生物变化,这种变化最终导致机体疾病的发生和死亡^[10-11]。抗衰老是人类为实现长寿的目标而不断探索的科学前沿领域,进行抗衰老药物的研究需要借助衰老动物模型,但是自然衰老是个漫长的过程,所以人工复制自然衰老的动物模型成了抗衰老相关研究的非常重要的手段。D-半乳糖致衰老模型是我国学者基于衰老的代谢学说而复制的衰老模型。D-半乳糖致衰老的原因是:当机体摄入大量的D-半乳糖时,会导致机体半乳糖醇的大量积累,该物质不能被细胞进一步代谢,其在细胞中的积累所造成的细胞渗透压升高会引起细胞、组织以及器官的多种功能障碍和代谢紊乱,最终引起衰老反应,比如组织脂质过氧化水平的提高、抗氧化酶活力的降低^[17-18]以及线粒体功能的紊乱^[15-19]等。D-半乳糖造成的机体衰老反应在很大程度上和自然衰老相似,而且具有复制方法简便、价格低廉、耗时短、结果较为稳定、无性别差异等多种优点^[12-13],近年来也逐渐受到了国外学者的广泛青睐^[14-16]。

3.2 CP-GSSP的体内抗氧化活性及其机理

本实验中,模型组小鼠在连续注射D-半乳糖45d后,和空白组相比,小鼠毛色变黯淡、皮肤变松弛、行动能力下降、体质量增长缓慢,心脏、肾脏和肝脏的脂质过氧化产物MDA含量显著升高,抗氧化酶SOD和GSH-Px活力显著下降,这些现象说明本实验中的D-半乳糖亚急性衰老小鼠模型构建成功。

根据国家标准的记载,如果受试物抗氧化酶活性(SOD和GSH-Px)任一指标和过氧化脂质含量(MDA或脂褐质)指标均为阳性,可判定该受试物的抗氧化功能的动物

实验结果为阳性^[20]。本实验中和模型组相比,CP-GSSP各组小鼠活动力较强、各内脏组织中MDA含量降低,SOD以及GSH-Px活力提高且无明显组织病变,表明了CP-GSSP的抗氧化动物实验结果为阳性,证明其具有较强的体内抗氧化活性,而且无毒副作用。和VE组相比,CP-GSSP中剂量组的抗氧化活性显著增强,这表明适当剂量的CP-GSSP具有显著抗氧化、抗衰老作用。因此,CP-GSSP具有较强的体内抗氧化作用,以本实验中的CP-GSSP中剂量的抗氧化与抗衰老效果最佳。

CP-GSSP的体内抗氧化作用是由于CP-GSSP中富含的多酚、VE等天然成分发挥了抗氧化剂的功效所致。VE是被普遍认可的天然抗氧化剂之一,多酚类物质的强抗氧化功效也已经被广泛证实^[21-23]。所以,CP-GSSP的体内抗氧化机理可能是其中的有效抗氧化物质通过抑制脂质过氧化产物的生成以及上调内源性抗氧化酶的活力来实现的。

3.3 CP-GSSP的研究与应用展望

随着新世界国家(美国、澳大利亚、南非、智利、阿根廷、新西兰等)以及中国葡萄酒市场的不断壮大,酿酒副产物——葡萄籽的产生也应该受到社会的广泛关注。对于葡萄籽再利用的途径与方法中,生产富含不饱和脂肪酸和更多天然香气(花香和果香)的冷榨葡萄籽油^[5,24]是较优的选择,然后再对冷榨饼粕进行再利用以实现经济与生态效益的最大化。因此,在未来的研究中,应该以“循环经济”的原则出发,在葡萄酒产业链中达到污染低排放甚至零排放目标的同时,创造更可观的经济效益。

在实际生产中,具有显著抗氧化功能的CP-GSSP可以被开发为食品添加剂,其中富含的VE、多酚(主要是原花青素类)等物质可以延长食品货架期,富含的不饱和脂肪酸、蛋白质、膳食纤维、矿物质等物质可以提高食品的营养价值;也可以开发为保健品,为特殊人群提供良好的健康保障。

参考文献:

- [1] LI Yinping, SKOUROUMOUNIS G K, ELSEY G M, et al. Microwave-assistance provides very rapid and efficient extraction of grape seed polyphenols[J]. Food Chem, 2011, 129(2): 570-576.
- [2] PARDO J E, RUBIO M, PARDO A, et al. Improving the quality of grape seed oil by maceration with grinded fresh grape seeds[J]. Eur J Lipid Sci Technol, 2011, 113(10): 1266-1272.
- [3] KIM D J, JEON G, SUNG J, et al. Effect of grape seed oil supplementation on plasma lipid profiles in rats[J]. Food Sci Biotech, 2010, 19(1): 249-252.
- [4] LUTTERODT H, SLAVIN M, WHEN M, et al. Fatty acid composition, oxidative stability, antioxidant and antiproliferative properties of selected cold-pressed grape seed oils and flours[J]. Food Chem, 2011, 128(2): 391-399.
- [5] SABIR A, UNVER A, KARA Z. The fatty acid and tocopherol constituents of the seed oil extracted from 21 grape varieties (*Vitis* spp.)[J]. J Sci Food Agr, 2012, 92(9): 1982-1987.

- [6] LUTHER M, PARRY J, MOORE J, et al. Inhibitory effect of chardonnay and black raspberry seed extracts on lipid oxidation in fish oil and their potential radical scavenging and antimicrobial properties[J]. Food Chem, 2007, 104: 1065-1073.
- [7] 李华, 袁春龙, 沈洁. 超微粉碎技术在葡萄籽加工中的应用[J]. 南理工学报: 自然科学版, 2007, 35(4): 123-126.
- [8] 李银平, 薛雪萍, 袁春龙, 等. 葡萄籽成分与营养评价[J]. 食品与发酵工业, 2006, 32(12): 108-113.
- [9] 马挺军, 任贵兴. 金黄米抗氧化活性研究[J]. 中国食品学报, 2011, 11(4): 96-101.
- [10] FRISARD M, RAVUSSIN E. Energy metabolism and oxidative stress: impact on the metabolic syndrome and the aging process[J]. Endocrine, 2006, 29(1): 27-32.
- [11] HARMAN D. Origin and evolution of the free radical theory of aging: a brief personal history, 1954—2009[J]. Biogerontology, 2009, 10(6): 773-781.
- [12] 朱亚珍, 朱虹光. *D*-半乳糖致衰老动物模型的建立及其检测方法[J]. 复旦学报: 医学版, 2007, 34(4): 617-619.
- [13] 雷鸣, 朱祖健. *D*-半乳糖致衰老的研究进展[J]. 解剖科学进展, 2011, 17(1): 83-85.
- [14] WEI Haifeng, LI Lin, SONG Qiuji, et al. Behavioural study of the dgalactose induced aging model in C57BL/6J mice[J]. Behav Brain Res, 2005, 157(2): 245-251.
- [15] KUMAR A, PRAKASH A, DOGRA S. Naringin alleviates cognitive impairment, mitochondrial dysfunction and oxidative stress induced by *D*-galactose in mice[J]. Food Chem Toxicol, 2010, 48(2): 626-632.
- [16] AYDIN S, YANAR K, ATUKEREN P, et al. Comparison of oxidative stress biomarkers in renal tissues of *D*-galactose induced, naturally aged and young rats[J]. Biogerontology, 2012, 13: 251-260.
- [17] LU Jun, WU Dongmei, ZHENG Yuanlin, et al. Purple sweet potato color alleviates *D*-galactose-induced brain aging in old mice by promoting survival of neurons via PI3K pathway and inhibiting cytochrome C-mediated apoptosis[J]. Brain Pathol, 2010, 20(3): 598-612.
- [18] CAKATAY U, AYDIN S, YANAR K, et al. Gender-dependent variations in systemic biomarkers of oxidative protein, DNA, and lipid damage in aged rats[J]. Aging Male, 2010, 13(1): 51-58.
- [19] HUA X, LEI M, ZHANG Y, et al. Long-term *D*-galactose injection combined with ovariectomy serves as a new rodent model for Alzheimer's disease[J]. Life Sci, 2007, 80(20): 1897-1905.
- [20] 黄雨三. 保健食品检验与评价技术规范实施手册[M]. 北京: 清华同方电子出版社, 2003.
- [21] 鲍俊竹, 陈月坤, 徐桂花. 测定葡萄籽提取物中的原花青素含量的方法[J]. 农业科学研究, 2005, 26(1): 43-45.
- [22] KOLECKAR V, REHAKOVA Z, BROJEROVA E, et al. Proanthocyanidins and their antioxidation activity[J]. Chemicke Listy, 2012, 106(2): 113-121.
- [23] 吕禹泽, 宋钰, 吴国宏, 等. 葡萄多酚的抗氧化活性[J]. 食品科学, 2006, 27(12): 213-216.
- [24] BENDINI A, BARBIERI S, VALLI E, et al. Quality evaluation of cold pressed sunflower oils by sensory and chemical analysis[J]. Eur J Lipid Sci Technol, 2011, 113(11): 1375-1384.