



天津科技大学学报

Journal of Tianjin University of Science & Technology

ISSN 1672-6510, CN 12-1355/N

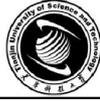
《天津科技大学学报》网络首发论文

题目: 复配发酵黏液乳杆菌和短乳杆菌的抗衰老功效
作者: 郑萌萌, 刘思萌, 贾晓珂, 梁武, 韩雪梅, 何红鹏
DOI: 10.13364/j.issn.1672-6510.20250018
收稿日期: 2025-01-26
网络首发日期: 2025-07-29
引用格式: 郑萌萌, 刘思萌, 贾晓珂, 梁武, 韩雪梅, 何红鹏. 复配发酵黏液乳杆菌和短乳杆菌的抗衰老功效[J/OL]. 天津科技大学学报.
<https://doi.org/10.13364/j.issn.1672-6510.20250018>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。



DOI: 10.13364/j.issn.1672-6510.20250018

复配发酵黏液乳杆菌和短乳杆菌的抗衰老功效

郑萌萌¹, 刘思萌¹, 贾晓珂¹, 梁武², 韩雪梅², 何红鹏¹

(1. 天津科技大学生物工程学院, 天津 300457;

2. 天津市食用益生菌重点实验室, 天津市创源生物技术有限公司, 天津 300301)

摘要: 为探究发酵黏液乳杆菌 (*Limosilactobacillus fermentum*) IOB 802 和短乳杆菌 (*Lactobacillus brevis*) IOB 824 的抗氧化衰老作用, 体外实验分别检测活菌和灭活菌的 DPPH 自由基清除率, 通过每日颈背部皮下注射 200 mg/(kg·d) D-半乳糖 (D-gal) 构建小鼠衰老模型, 并每日灌胃 0.2 mL 低剂量 (1×10^8 CFU/mL) 或高剂量 (1×10^9 CFU/mL) 1:1 复配发酵黏液乳杆菌 IOB 802 及短乳杆菌 IOB 824 活菌或其灭活菌进行干预, 连续 6 周。结果表明, IOB 802 和 IOB 824 活菌及灭活菌 1, 1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 清除率达到 81.27%~94.86%。与模型组相比, 活菌组及灭活菌组小鼠在水迷宫实验中搜台潜伏期缩短, 空间探索能力增强, 在旷场实验中移动路程长度和平均移动速度增加, 提示灌胃复配发酵黏液乳杆菌 IOB 802 及短乳杆菌 IOB 824 活菌或其灭活菌可改善小鼠学习能力、记忆力和运动能力。活菌或灭活菌灌胃均促进衰老小鼠血清和肝脏的丙二醛 (MDA) 含量下降, 总抗氧化能力 (T-AOC) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性升高, 且低剂量活菌功效更好。总之, 发酵黏液乳杆菌 IOB 802 和短乳杆菌 IOB 824 活菌及其灭活菌具有抗氧化衰老功效, 可作为抗衰老微生态制剂或功能性食品生产的优良菌株。

关键词: 乳杆菌; D-半乳糖; 抗氧化; 抗衰老; 小鼠行为学

中图分类号: Q819

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510 (0000)00-0000-00

Anti-aging Efficacy of *Limosilactobacillus fermentum* and *Lactobacillus brevis*

Mixture

ZHENG Mengmeng¹, LIU Simeng¹, JIA Xiaoke¹, LIANG Wu², HAN Xuemei², HE Hongpeng¹

(1. College of Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China;

2. Tianjin Key Laboratory of Edible Probiotics, Tianjin InnoOrigin Biological Biotechnology Co., Ltd., Tianjin 300301, China)

Abstract: To explore the antioxidant and anti-aging effects of *Limosilactobacillus fermentum* IOB 802 and *Lactobacillus brevis* IOB 824, the DPPH free radical scavenging activity was measured in vitro. Then an aging mouse model was constructed by subcutaneous injection of D-galactose (D-gal, 200 mg/kg·d), meanwhile, low dose (1×10^8 CFU/mL) or high dose (1×10^9 CFU/mL) of live or dead *Limosilactobacillus fermentum* IOB 802 and *Lactobacillus brevis* IOB 824 mixed at 1:1 ratio were gavaged daily for 6 weeks. The antioxidant aging efficacy was evaluated from four aspects: mouse behavior, changes of body weight, serum antioxidant index, and liver antioxidant index. The results showed that the DPPH free radical scavenging activity of the live or dead *Limosilactobacillus fermentum* IOB 802 and *Lactobacillus brevis* IOB 824 ranged from 81.27% to 94.86%. Compared with the model group, in all the *Lactobacillus* groups, the platform searching period was shortened and the spatial exploration ability was enhanced in water maze experiments, the length of the moving distance and the average moving speed increased in the open field experiments, indicating the intake of mixed *Lactobacillus* sp. improved

收稿日期: 2025-01-26; 修回日期: 2025-05-21

基金项目: 济南市“新高校 20 条”资助项目 (202228040); 国家重点研发计划项目 (2017YFD0400304)

作者简介: 郑萌萌 (1999—), 女, 山东潍坊人, 硕士研究生; 通信作者: 何红鹏, 副教授, hehongpeng@tust.edu.cn

the leaning activity, memory and moving activity of mice. In particular, low dose live *Lactobacillus* mixture generated the optimum effect. Furthermore, the serum and liver MDA levels were reduced, and the T-AOC and GSH-Px activity were increased in mice gavaged with the mixture of live or dead IOB 802 and IOB 824. In conclusion, the combination of live *Limosilactobacillus fermentum* IOB 802 and *Lactobacillus brevis* IOB 824 or their inactivated bacteria are good antioxidant anti-aging reagents, and are potential strains for the manufacture of anti-aging pro-/postbiotics or functional foods.

Key words: lactobacillus; D-galactose; antioxidant; anti-aging; ethology

衰老是随着年龄增长而发生的机体结构和功能进行性退化的生理过程。机体衰老的主要原因之一是自由基清除能力逐渐下降,导致活性氧自由基(ROS)和其它氧化产物在细胞内积累,最终引起细胞氧化损伤增加^[1-2]。ROS的积累会对大脑功能造成损伤,表现为学习能力下降、记忆力衰退等特征。此外,氧化应激也引起肝脏等器官的病理改变^[3]。

用D-半乳糖(D-galactose, D-gal)诱导建立小鼠衰老模型具有造模方法简便稳定、省时高效、重复性好等优点,是广泛使用的衰老动物造模方法^[4]。D-gal是一种还原单糖,在较低浓度下它可以被机体完全代谢,但在较高浓度下会升高组织的渗透压、产生氧化应激和导致炎症反应的发生,进而引起机体器官出现功能障碍,这些变化与自然衰老一致^[5]。

乳酸菌是胃肠道中的重要益生菌。已有多种乳杆菌和双歧杆菌被证实具有抗氧化、改善肠道菌群构成、降血脂等益生功能^[6-7]。乳酸菌抗氧化功能日渐成为研究的热点。Li等^[8]研究证明植物乳植杆菌C88能够清除羟自由基和DPPH自由基。林祥娜等^[9]研究发现短乳杆菌AR 247能够清除机体内的自由基和活性氧,并且能缓解衰老小鼠的器官功能退化。除活菌之外,某些灭活益生菌也被证明具有抗氧化等多种生物活性^[10-12]。研发具有抗氧化衰老功效的益生菌有助于提高我国人口健康水平。

实验室前期分离纯化了2株具有良好生长活性和潜在抗氧化活性的乳酸菌,即发酵黏液乳杆菌(*Limosilactobacillus fermentum*) IOB 802和短乳杆菌(*Lactobacillus brevis*) IOB 824,通过体外和体内实验检测其活菌及灭活菌的抗氧化、抗衰老效果。

1 材料与方法

1.1 材料

发酵黏液乳杆菌(*Limosilactobacillus fermentum*) IOB 802和短乳杆菌(*Lactobacillus brevis*) IOB 824由天津市创源生物技术有限公司实验室保藏。

SPF级雄性昆明小鼠,北京斯贝福生物技术有限公司,实验动物生产许可证号为SCXK(京)2019-0010,实验动物伦理审批号为SWXY-20231019105。

D-半乳糖,北京索莱宝科技有限公司;维生素C,石药集团维生药业(石家庄)有限公司;1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH),上海麦克林生化科技有限公司;丙二醛(MDA)测定试剂盒、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)测定试剂盒、总抗氧化能力(T-AOC)检测试剂盒,南京建成生物工程研究所有限公司。

Morris水迷宫视频分析系统,天津润科佳仪科技有限公司;旷场仪,北京智鼠多宝生物科技有限公司;多功能酶标仪,上海美谷分子仪器有限公司;离心机,湖南湘仪实验室仪器开发有限公司;电子天平,美国康州HZ电子科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 自聚集率的测定

分别将发酵黏液乳杆菌 IOB 802、短乳杆菌 IOB 824 活菌和灭活菌重悬于 MRS 培养基,调整浓度为 1×10^8 CFU/mL。分别取 500 μ L 重悬液加入 1.5 mL EP 管中,涡旋 1 min 混匀,37 $^{\circ}$ C 静置培养,每间隔 2 h 吸取上清液测定 600 nm 处吸光度,每组做 3 次重复。按照式(1)计算自聚集率(R)。

$$R = (1 - A_t / A_0) \times 100\% \quad (1)$$

式中: A_0 为初始 600 nm 处的吸光度, A_t 为 t 时刻 600 nm 处的吸光度。

1.2.2 DPPH 自由基清除率的测定

用生理盐水调整活菌和灭活菌为 1×10^9 CFU/mL, 10 倍梯度稀释备用。取稀释的菌悬液 0.1 mL, 加入 0.2 mmol/L DPPH-乙醇溶液 0.1 mL, 将液体充分混匀, 室温避光静置反应 30 min, 测定 517 nm 处的吸光度, 每组做 3 次重复。以生理盐水为空白, 以用无水乙醇代替 DPPH-乙醇溶液为对照, 按照式(2)计算 DPPH 自由基清除率 (R_{DPPH})。

$$R_{\text{DPPH}} = \frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中: A_0 、 A_1 、 A_2 分别为空白、样品、对照的吸光度。

1.2.3 D-gal 致小鼠衰老模型的建立及乳酸菌灌胃处理

56只4周龄SPF级雄性昆明小鼠,体重(18±2)g。在SPF级环境中饲养,温度20~26℃,湿度40%~60%,光暗周期12h/12h,提供普通小鼠维持饲料,通过饮水器给予饮用水。适应性饲喂7d后,将小鼠随机分为7组,每组8只:正常组、模型组、维生素C阳性对照组、发酵黏液乳杆菌与短乳杆菌活菌低剂量组(活菌低剂量组)、发酵黏液乳杆菌与短乳杆菌活菌高剂量组(活菌高剂量组)、发酵黏液乳杆菌与短乳杆菌灭活菌低剂量组(灭活菌低剂量组)和发酵黏液乳杆菌与短乳杆菌灭活菌高剂量组(灭活菌高剂量组)。

除正常组外,其余小鼠每日颈背部皮下注射200mg/(kg·d) D-gal 构建衰老模型,正常组小鼠每日注射等体积生理盐水。造模的同时,活菌低剂量组和高剂量组每日灌胃0.2mL按1:1复配发酵黏液乳杆菌与短乳杆菌活菌。灭活菌低剂量组和高剂量组每日灌胃0.2mL按1:1复配发酵黏液乳杆菌与短乳杆菌灭活菌。低剂量组和高剂量组的菌体总浓度分别为 1×10^8 CFU/mL和 1×10^9 CFU/mL。维生素C阳性对照组每日灌胃0.2mL 1mmol/L维生素C。正常组和模型组每日灌胃0.2mL生理盐水。实验连续6周,期间小鼠自由摄食饮水,每周记录1次小鼠体重。

1.2.4 行为学评价

水迷宫测试: Morris水迷宫实验是经典的行为学测试方法,用于评估小鼠的空间学习能力和记忆能力^[13]。在小鼠给药5周后进行连续5d的探索平台训练,训练结束后,第6天撤掉平台,对小鼠进行空间探索测试,此训练期间正常给药及进食。

旷场实验: 旷场实验可以用于检测小鼠的自主运动行为和探索行为^[14]。在小鼠给药6周后,将小鼠置于旷场实验箱进行旷场实验测试,每只小鼠先适应1min后进行5min观察,用红外摄像系统记录小鼠的运动轨迹,包括中心区域运动时间、停留时间、总移动路程、平均速度,每只小鼠观察结束后,需及时清理实验箱,以免干扰下一只小鼠的实验^[15]。

1.2.5 小鼠检测样品的采集

末次灌胃后,小鼠禁食和禁水12h,摘取小鼠眼球取血,血液室温静置1h,4℃、3000r/min离心15

min,血清分装储存于-80℃冰箱。取血后颈椎脱臼法处死小鼠,肝脏储存于-80℃冰箱。

1.2.6 小鼠血清和肝脏抗氧化能力的测定

将小鼠血清和肝脏逐步解冻,按照试剂盒说明书的方法分别检测小鼠血清和肝脏中的T-AOC、MDA含量及GSH-PX活性。

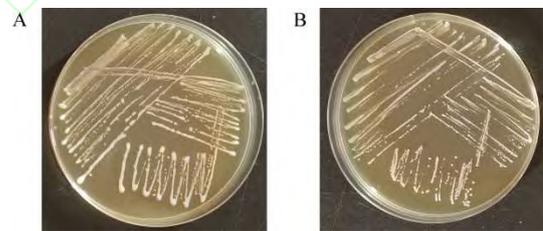
1.3 数据处理

数据采用Graph Pad Prism 8软件进行作图和分折,数据以“平均值±标准差”表示,两组间比较采用非配对t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。#表示模型组与正常组比较,*表示实验组与模型组比较;#和*表示 $P < 0.05$,##和**表示 $P < 0.01$,###和***表示 $P < 0.001$ 。

2 结果与分析

2.1 乳杆菌及其灭活菌形态

发酵黏液乳酸杆菌IOB 802和短乳杆菌IOB 824在MRS固体培养基上三区划线分离纯化后,可以观察到菌落颜色为乳白色,菌落表面光滑,边缘规则,单个菌落较小,形状呈现为圆形凸起。发酵黏液乳杆菌IOB 802菌落比短乳杆菌IOB 824质地更为黏稠湿润(图1)。

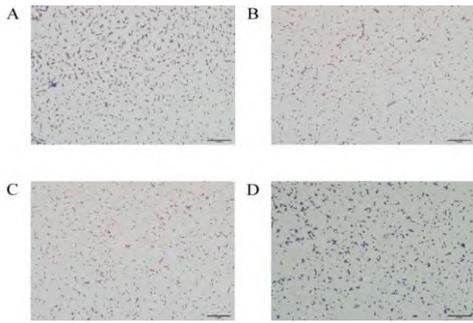


A, 发酵黏液乳杆菌 IOB 802; B, 短乳杆菌 IOB 824

图1 菌落形态

Fig. 1 Morphology of colony

对发酵黏液乳杆菌IOB 802及短乳杆菌IOB 824活菌和灭活菌进行革兰氏染色,显微镜油镜下观察(图2)。菌种为革兰氏阳性,符合乳酸菌特征。发酵黏液乳杆菌IOB 802活菌和灭活菌呈杆状,而短乳杆菌IOB 824活菌和灭活菌呈短杆状,可见灭活菌形态完整与相应活菌相比无明显差别。



注: A, 发酵黏液乳杆菌 IOB 802 活菌; B, 发酵黏液乳杆菌 IOB 802 灭活菌; C, 短乳杆菌 IOB 824 活菌; D, 短乳杆菌 IOB 824 灭活菌

图 2 乳杆菌及其灭活菌形态 (100×)

Fig. 2 The morphology of live or inactivated lactobacillus

2.2 自聚性

自聚性是益生菌的基本特性之一,反映益生菌的黏附肠道上皮能力^[16, 17]。发酵黏液乳杆菌 IOB 802 活菌及灭活菌和短乳杆菌 IOB 824 活菌及灭活菌的自聚集结果如图 3 所示。

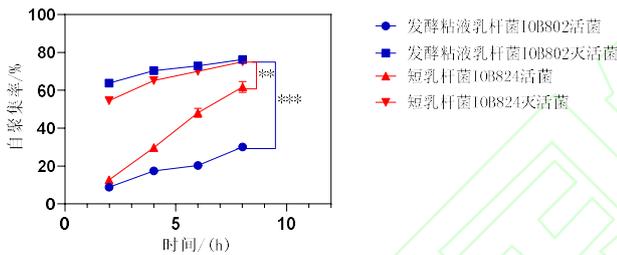


表 1 乳杆菌及其灭活菌的 DPPH 自由基清除能力

Tab. 1 DPPH free radical clearance activity of live and inactivated *Lactobacillus*

菌液浓度 / (CFU / mL)	DPPH 自由基清除率/%			
	IOB 802 活菌	IOB 802 灭活菌	IOB 824 活菌	IOB 824 灭活菌
1×10 ⁹	94.86 ± 0.79	89.26 ± 0.60	92.02 ± 0.76	81.27 ± 0.80
1×10 ⁸	40.42 ± 0.52	34.25 ± 0.69	92.66 ± 0.70	77.80 ± 0.60
1×10 ⁷	21.22 ± 0.80	22.30 ± 0.20	23.45 ± 1.75	11.88 ± 0.17
1×10 ⁶	22.94 ± 0.36	21.11 ± 0.88	5.64 ± 0.46	3.50 ± 0.95

2.4 行为学评价

2.4.1 Morris 水迷宫实验结果

衰老的重要生理特征之一是记忆力的衰退^[20],小

鼠给药 5 周后进行 Morris 水迷宫测试,根据小鼠测试成绩对其体现在记忆能力方面的衰老程度进行评价,结果如图 4 所示。

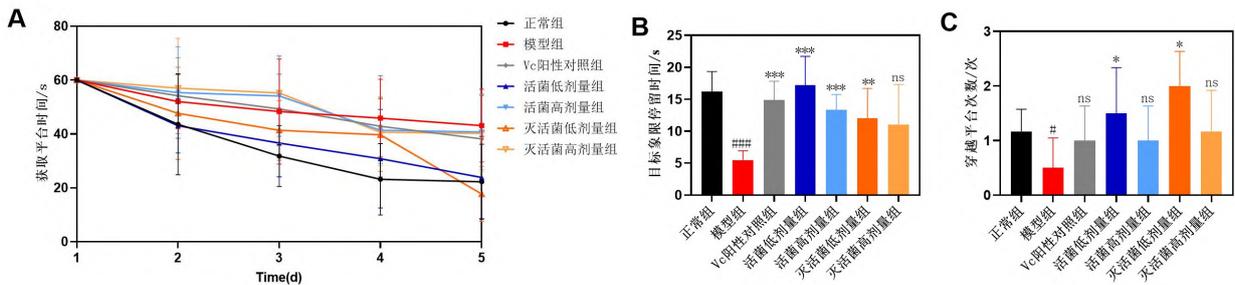


图 3 乳杆菌的自聚集

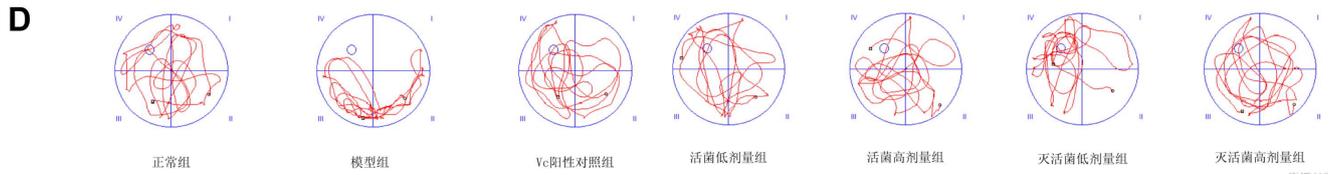
Fig. 3 Autoaggregation of *Lactobacillus*

菌液静置 8 h 后,发酵黏液乳杆菌 IOB 802 活菌的自聚集率达到 30%,其灭活菌的自聚集率达到 76%明显高于活菌。短乳杆菌 IOB 824 活菌的自聚集率达到 62%,其灭活菌的自聚集率为 75%也高于活菌。

2.3 体外抗氧化活性

DPPH 清除率是反应抗氧化能力的主要指标之一^[18-19]。发酵黏液乳杆菌 IOB 802 和短乳杆菌 IOB 824 活菌及其灭活菌的 DPPH 自由基清除能力见表 1。

发酵黏液乳杆菌 IOB 802 和短乳杆菌 IOB 824 不仅均有抗氧化活性,而且活菌的抗氧化活性整体上优于相应的灭活菌,并随着菌液浓度降低而呈现下降趋势。当菌液浓度低于 1×10⁷ CFU/mL 时,两种活菌及其灭活菌的 DPPH 清除率均低于 30%,所以在后续小鼠实验中采用菌液浓度为 1×10⁸ CFU/mL (低剂量)和 1×10⁹ CFU/mL (高剂量)。在菌液浓度为 1×10⁹ CFU/mL 时,IOB 802 活菌及灭活菌的 DPPH 清除率与 IOB 824 接近;在菌液浓度为 1×10⁸ CFU/mL 时,IOB 802 的抗氧化性明显低于 IOB 824,表明两株乳杆菌具有不同的抗氧化特性。为了取得更好的抗氧化效果,小鼠实验采用两种菌按 1 : 1 复配方式灌胃。



注: A, 小鼠获取平台时间; B, 小鼠在目标象限停留时间; C, 小鼠穿越平台次数; D, 小鼠在水迷宫移动轨迹

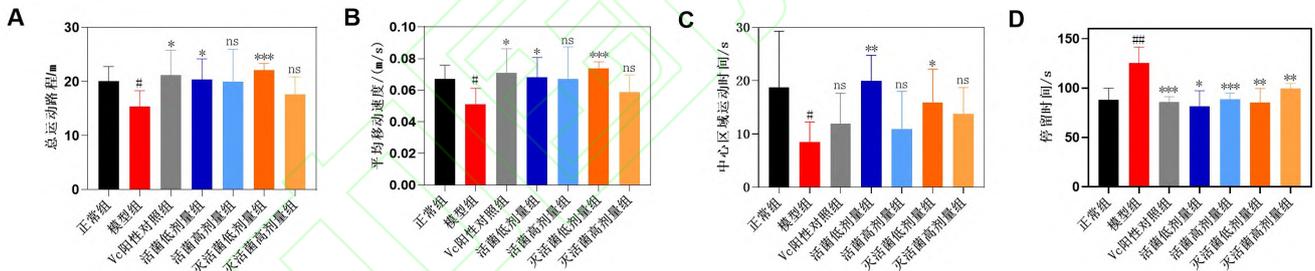
图 4 乳杆菌对小鼠记忆力的影响

Fig. 4 Effect of *Lactobacillus* on mouse memory

由图 4 A 可知, 各组小鼠的潜伏期整体呈现下降趋势, 从第 4 天开始, 各组小鼠寻找平台的潜伏期均低于模型组, 活菌低剂量组和灭活菌低剂量组最为明显。经过 5 d 训练后, 与正常组相比, 模型组小鼠目标象限停留时间短 (图 4 B), 穿越平台次数少 (图 4 C), 行动轨迹范围局限 (图 4 D), 证明模型组小鼠的空间学习能力和记忆能力均有所下降。与阳性药物维生素 C 对照组相似, 经发酵黏液乳杆菌 IOB 802 及短乳杆菌 IOB 824 活菌或灭活菌灌胃后, 小鼠目标象限停留时间、穿越平台次数和行动轨迹均不同程度改善, 以活菌低剂量组最为明显 (图 4), 说明小鼠的学习和记忆能力均有不同程度的提升。由此可见, 灌胃发酵黏液乳杆菌 IOB 802 及短乳杆菌 IOB 824 活菌或灭活菌均可以减轻 D-gal 造成的记忆力减退。

2.4.2 旷场实验结果

旷场实验能够衡量小鼠的行为学能力, 为评价乳杆菌对小鼠行为学影响, 在给药 6 周后进行旷场实验, 结果如图 5 所示。与正常组相比, 模型组衰老小鼠的总运动路程 (图 5 A)、平均移动速度 (图 5 B) 以及中心区域运动时间 (图 5 C) 均降低, 而停留时间 (图 5 D) 则增加, 说明衰老小鼠的自主运动能力下降, 对新环境的探究行为减少。与模型组相比, 经发酵黏液乳杆菌 IOB 802 及短乳杆菌 IOB 824 活菌或活菌处理后, 小鼠的旷场实验各项指标均呈现优于模型组的趋势, 特别是低剂量活菌和灭活菌效果相对明显。由此可见, 发酵黏液乳杆菌 IOB 802 及短乳杆菌 IOB 824 活菌和灭活菌可增强衰老小鼠自主运动和探究行为, 具有延缓衰老进程的潜力。



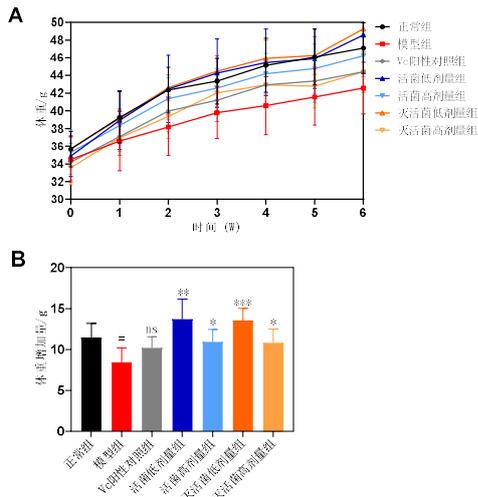
注: A, 小鼠在旷场中总运动路程; B, 小鼠在旷场中平均移动速度; C, 小鼠在旷场中心区域运动时间; D, 小鼠在旷场中停留时间

图 5 乳杆菌对小鼠运动能力的影响

Fig. 5 Effect of *Lactobacillus* on the active movement of mice

2.5 乳杆菌对小鼠体重的影响

小鼠体重增长情况是反应小鼠健康状况的一个重要指标, 实验期间每周称量一次小鼠体重并记录, 小鼠体重变化情况如图 6 所示。由图 6 可以看出, 在实验过程中, 各组小鼠的体重稳定增长, 各组间无统计学差异。模型组小鼠体重增加量相对最少, 而活菌和灭活菌低剂量组小鼠体重增长相对最多, 证明发酵黏液乳杆菌 IOB 802 及短乳杆菌 IOB 824 活菌和灭活菌对小鼠生长发育没有产生不良影响, 低剂量灌胃活菌和灭活菌有促进体重增长趋势。



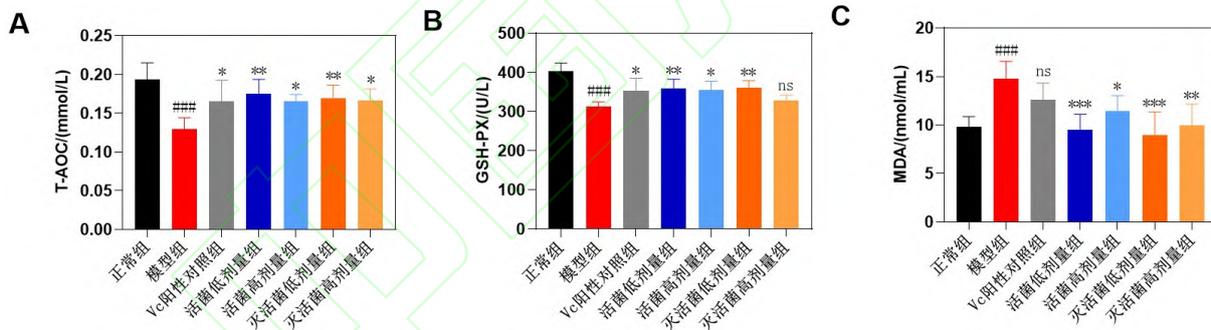
注：A，乳酸菌灌胃过程小鼠体重变化曲线；B，乳酸菌灌胃 6 周后小鼠体重增加量

图 6 乳杆菌对小鼠体重变化的影响

Fig. 6 Effect of *Lactobacillus* on the change of mouse body weight

2.6 乳杆菌对小鼠血清的抗氧化系统的影响

为了验证乳杆菌在体内的抗氧化作用，检测了给药 6 周后小鼠的血清抗氧化指标，包括 T-AOC、GSH-PX 和 MDA。各组小鼠血清抗氧化指标测定结



注：A，小鼠血清 T-AOC 活性；B，小鼠血清 GSH-PX 活性；C，小鼠血清 MDA 含量

图 7 乳杆菌对小鼠血清抗氧化指标的影响

Fig. 7 Effects of *Lactobacillus* on serum antioxidant indexes in mice

2.7 乳杆菌对小鼠肝脏抗氧化指标的影响

乳杆菌对小鼠肝脏抗氧化指标的影响如图 8 所示。由图 8 A 可知，模型组小鼠肝脏组织中 T-AOC 活性相较于正常组显著降低，与模型组相比，维生素 C 阳性对照组显著增加。同时，活菌低剂量组、活菌高剂量组、灭活菌低剂量组和灭活菌高剂量组小鼠肝脏组织中 T-AOC 活性也显著增加。由图 8 B 可知，与正常组相比，模型组小鼠肝脏组织中 GSH-PX 活性显著降低，与模型组相比，维生素 C 阳性对照组小鼠肝脏组织中 GSH-PX 活性显著增加。与维生素 C 组相似，

果如图 7 所示。

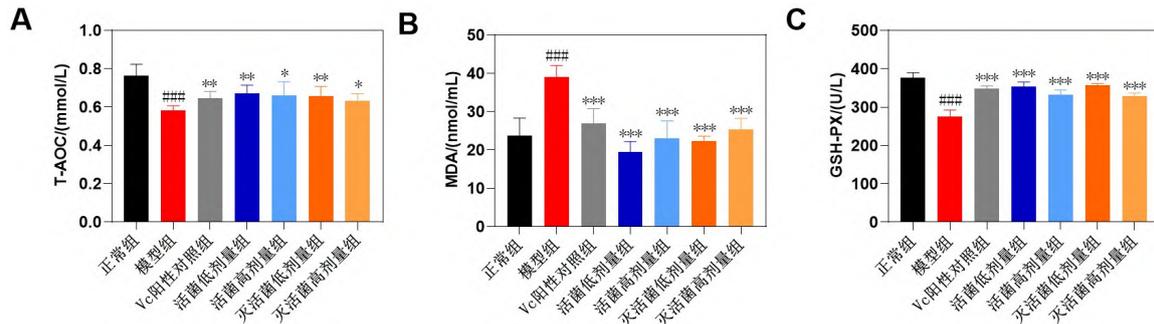
由图 7 A 可知，模型组小鼠血清中 T-AOC 活性相较于正常组显著降低，与模型组相比，维生素 C 阳性对照组 T-AOC 活性显著增加。与维生素 C 组相似，活菌低剂量组、活菌高剂量组、灭活菌低剂量组和灭活菌高剂量组小鼠血清中 T-AOC 活性均显著增加。

由图 7 B 可知，与正常组相比，模型组小鼠血清中 GSH-PX 活性显著降低，与模型组相比，维生素 C 阳性对照组 GSH-PX 活性显著增加。与维生素 C 组相似，活菌低、高剂量组和灭活菌低剂量组小鼠血清中 GSH-PX 活性均显著增加，灭活菌高剂量组与模型组相比无显著性差异。

由图 7 C 可知，与正常组相比，模型组小鼠血清中 MDA 含量显著增加，与模型组相比，活菌低、高剂量组和灭活菌低、高剂量组小鼠血清中 MDA 含量均显著降低，维生素 C 阳性对照组 MDA 含量较模型组降低，但无显著性差异。

综上所述，灌胃 1 : 1 复配的发酵黏液乳杆菌 IOB 802 及短乳杆菌 IOB 824 的活菌或灭活菌均可以发挥抗氧化作用，且低剂量活菌组抗氧化效果略优于其余各组。

活菌或灭活菌低、高剂量组小鼠肝脏组织中 GSH-PX 活性均显著增加。由图 8 C 可知，与正常组相比，模型组小鼠肝组织中 MDA 含量显著增加。维生素 C 阳性对照组小鼠肝脏组织中 MDA 含量较模型组显著降低，活菌或灭活菌低、高剂量组小鼠肝脏组织中 MDA 含量也均显著降低。这表明灌胃 1 : 1 复配的发酵黏液乳杆菌 IOB 802 和短乳杆菌 IOB 824 活菌或灭活菌提高小鼠肝脏抗氧化作用，进而延缓了小鼠的衰老，且低剂量活菌抗氧化效果最明显。



注: A, 小鼠肝组织 T-AOC 活性; B, 小鼠肝组织 GSH-PX 活性; C, 小鼠肝组织 MDA 含量

图 8 乳杆菌对小鼠肝脏抗氧化指标的影响

Fig. 8 Effects of *Lactobacillus* on liver antioxidant indexes in mice

3 讨论

本研究通过体外和体内实验分析了发酵黏液乳杆菌 IOB 802 和短乳杆菌 IOB 824 活菌及灭活菌的抗氧化活性, 并利用衰老小鼠模型, 分别从行为学、体重变化等方面评价其抗衰老功效。本研究结果显示小鼠灌胃 1:1 复配的发 酵黏液乳杆菌 IOB 802 和短乳杆菌 IOB 824 活菌或灭活菌均可减轻衰老症状、促进健康, 且菌液浓度为 1×10^8 CFU/mL 的活菌功效最好, 优于 1 mmol/L 的阳性对照药物维生素 C。

具有益生作用的乳酸菌通常具有良好的自聚集活性, 利于其在肠道定植^[21-22]。在体外实验中, 发酵黏液乳杆菌 IOB 802 活菌的 8 h 自聚集率相对较低, 为 30%, 其灭活菌自聚集率达到 76%, 短乳杆菌 IOB 824 活菌和灭活菌的自聚集率分别为 62% 和 75%。可见灭活菌虽然在显微镜下与活菌无明显区别, 但灭活后可能由于乳酸菌表面蛋白等大分子结构改变, 暴露疏水基团, 促进了菌体间的黏附。

DPPH 自由基清除率结果显示两株乳酸菌的体外抗氧化活性, 活菌优于灭活菌且随菌体浓度降低而下降, 但是在小鼠实验中, 低剂量活菌组的抗氧化衰老效果最好, 说明乳酸菌在体内和体外的抗氧化机制不同。乳酸菌的抗氧化作用涉及菌体成分对自由基的直接清除, 如乳酸菌活菌和灭活菌对 DPPH 自由基的清除作用; 活菌和灭活菌与宿主细胞表面受体结合, 通过 TLR2/Nrf2 等信号通路增强宿主抗氧化能力^[23]。此外, 活菌产生的超氧化物歧化酶 (SOD) 等抗氧化酶也增强活菌的抗氧化能力^[24-25]。

乳酸菌活菌在肠道内定植, 既可以通过蛋白和多糖等菌体成分发挥作用, 也可以持续产生有机酸等抗氧化代谢产物, 同时直接影响肠道菌群构成, 多途径协同增强益生作用。正常的肠道微生态群落由厚壁菌

门、拟杆菌门、变形菌门、放线菌门以及梭杆菌门等多种微生物共同构成^[26], 补充乳酸菌的剂量过高会通过竞争营养和空间抑制其它微生物, 影响肠道菌群平衡。这可能是本研究中低剂量活菌的效果优于高剂量活菌的原因。在下一步工作中将通过代谢组分析、肠道微生态检测以及宿主细胞信号通路分析进一步阐明低剂量活菌作用的分子机制。

随着人口老龄化问题越来越突出, 人们对于抗衰老产品的需求显著增加。研究表明, 具有抗氧化作用的食物或药物多数也有较好的抗衰老效果^[21-22]。抗氧化药物可以经口服或静脉注射给药, 而口服抗氧化食品不仅具有良好的安全性, 接受度也更高。以乳酸菌为代表的益生菌可以制成口服菌粉、压片糖果, 也可以作为发酵剂制备发酵果蔬、乳品等功能性食品, 具有广阔的应用前景和重要的经济价值。

本研究证明了口服发酵黏液乳杆菌 IOB 802 和短乳杆菌 IOB 824 对小鼠氧化衰老的延缓作用, 为其应用于延缓衰老的微生态制剂或功能性食品开发提供了依据。

参考文献:

- [1] FORMAN H J. Redox signaling: an evolution from free radicals to aging[J]. Free radical biology and medicine, 2016, 97: 398-407.
- [2] KUMAR H, BHARDWAJ K, VALKO M, et al. Antioxidative potential of *Lactobacillus* sp. in ameliorating D-galactose-induced aging[J]. Applied microbiology and biotechnology, 2022, 106(13-16): 4831-4843.
- [3] ZHAO Y, LIAO A M, LIU N, et al. Potential anti-aging effects of fermented wheat germ in aging mice[J]. Food bioscience, 2021(9):101182.
- [4] CUI X, ZOU P, ZHANG Q, et al. Chronic systemic D-

- galactose exposure induces memory loss, neurodegeneration, and oxidative damage in mice: protective effects of R- α -lipoic acid[J]. *Journal of neuroscience research*, 2006, 84(3): 647-654.
- [5] ISHAQ M, KHAN A, BACHA A S, et al. Microbiota targeted interventions of probiotic *Lactobacillus* as an anti-ageing approach: a review[J]. *Antioxidants*, 2021, 10(12): 1930.
- [6] 赵佳,赵飞燕,沈馨,等.乳酸菌抗氧化活性及其应用研究进展[J].*生物技术通报*,2023,39(11):182-190.
- [7] LEW L C, HOR Y Y, JAAFAR M H, et al. *Lactobacillus* strains alleviated hyperlipidemia and liver steatosis in aging rats via activation of AMPK[J]. *International journal of molecular sciences*, 2020, 21(16): E5872.
- [8] LI S, ZHAO Y, ZHANG L, et al. Antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from traditional Chinese fermented foods[J]. *Food chemistry*, 2012, 135(3): 1914-1919.
- [9] 林祥娜,王光强,杨映津.短乳杆菌 AR247 的抗氧化成分及其抗衰老作用[J].*中国食品学报*,2020,20(3):38-45.
- [10] THORAKKATTU P, KHANASHYAM A C, SHAH K, et al. Postbiotics: current trends in food and pharmaceutical industry[J]. *Foods*, 2022, 11(19): 3094.
- [11] VINDEROLA G, SANDERS M E, SALMINEN S, et al. Postbiotics: the concept and their use in healthy populations[J]. *Frontiers in nutrition*, 2022, 9: 1002213.
- [12] LIANG B, XING D. The current and future perspectives of postbiotics[J]. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 2023, 15(6): 1626-1643.
- [13] D'HOOGHE R, DEYN P P D. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory[J]. *Brain research reviews*, 2001,36(1): 60-90.
- [14] 尉强,杨楠,刘雁勇.常见啮齿类动物行为学实验在抑郁症研究中的应用[J].*西藏科技*,2020,6:10-13.
- [15] 李达,刘鹏,纪海玉,等.坦洋工夫红茶多糖对 D-半乳糖致衰老小鼠的抗氧化作用[J].*食品研究与开发*,2022,43(8):68-72.
- [16] DARMASTUTI A, HASAN P N, WIKANDARI R, et al. Adhesion properties of *Lactobacillus plantarum* Dad-13 and *Lactobacillus plantarum* Mut-7 on sprague dawley rat intestine[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(11): 2336.
- [17] LEE J, JO J, WAN J, et al. In vitro evaluation of probiotic properties and anti-pathogenic effects of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains as potential probiotics[J]. *Foods*, 2024, 13(14): 2301.
- [18] KIM H, KIM J S, KIM Y G, et al. Antioxidant and probiotic properties of lactobacilli and bifidobacteria of human origins[J]. *Biotechnology and bioprocess engineering*, 2020, 25(3): 421-430.
- [19] WANG H, LI L. Comprehensive evaluation of probiotic property, hypoglycemic ability and antioxidant activity of lactic acid bacteria[J]. *Foods*, 2022, 11(9):1363.
- [20] LOAIZA V M. An overview of the hallmarks of cognitive aging[J]. *Current opinion in psychology*, 2024, 56: 101784.
- [21] DU N, YANG R, JIANG S, et al. Anti-aging drugs and the related signal pathways[J]. *Biomedicines*, 2024, 12(1):127.
- [22] GUO X, LUO J, QI J, et al. The role and mechanism of polysaccharides in anti-aging[J]. *Nutrients*, 2022, 14(24): 5330.
- [23] KIM K T, KIM J W, KIM S I, et al. Antioxidant and anti-inflammatory effect and probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from canine and feline feces[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(9): 1971.
- [24] SATO A, WATANABE A, MURAKI K, et al. Novel indirect antioxidant activity independent of Nrf2 exerted by lactic acid bacteria[J]. *International journal of molecular sciences*, 2024, 25(19): 10648.
- [25] VOUGIOUKLAKI D, TSIRONI T, TSANTES A G, et al. Probiotic properties and antioxidant activity in vitro of lactic acid bacteria[J]. *Microorganisms*, 2023, 11(5): 1264.
- [26] 周耀亮,周静妍,马嘉辉,等.中等海拔低氧环境暴露对中国健康人群肠道菌群的影响[J].*中国病理生理杂志*,2024,40(11):2124-2134.