

胶原蛋白肽复合银耳多糖对 *D*-半乳糖致衰小鼠的改善作用

徐晓飞^{1,2,3}, 赵明月², 钟兴伟², 何瑞琪³

¹广东海洋大学食品科学与工程学院 广东阳江 529599

²华南协同创新研究院 广东东莞 523808

³几何细胞生物研究中心 广东东莞 523808)

摘要 目的:探讨胶原蛋白肽复合银耳多糖对 *D*-半乳糖致衰小鼠老化皮肤的抗衰作用。方法:建立 *D*-半乳糖衰老小鼠模型,分为模型组(灌胃生理盐水)、胶原蛋白肽(CP)组【830 mg/(kg·d)】以及胶原蛋白肽复合银耳多糖(CPTP)组【CP 830 mg/(kg·d)+银耳多糖 100 mg/(kg·d)】,同时设正常对照组(灌胃生理盐水),实验持续 8 周。实验结束处死小鼠,测定各组小鼠皮肤中羟脯氨酸和透明质酸含量、体内抗氧化酶活力、炎症因子(IL-1 β 、TNF- α)浓度及肠道内短链脂肪酸(SCFAs)水平。结果:CP 组、CPTP 组均可显著增加小鼠老化皮肤中羟脯氨酸和透明质酸水平($P < 0.01$),提高衰老小鼠血清、肝脏和心脏组织中 GSH-Px、SOD 活力,并降低 MDA 浓度($P < 0.01$),降低血清中 IL-1 β 、TNF- α 水平($P < 0.01$),然而对肠道内 SCFAs 水平无显著影响。CPTP 在改善皮肤老化和降低血清炎症因子水平上,显著优于 CP($P < 0.01$)。结论:相比单一 CP, CPTP 可更有效缓解皮肤老化,其作用机理可能是通过降低机体氧化压力和抑制炎症因子分泌而实现。本实验结果为胶原蛋白肽复合银耳多糖应用于美容功能食品提供数据支持。

关键词 *D*-半乳糖衰老小鼠模型; 羟脯氨酸; 透明质酸; 氧化压力; 炎症因子

文章编号 1009-7848(2022)10-0134-09 **DOI**: 10.16429/j.1009-7848.2022.10.015

皮肤中胶原蛋白分布于真皮层,含量约为 70%,主要为 I 型胶原蛋白(85%),其网状结构为真皮提供了支撑和保护^[1]。胶原蛋白可被基质金属蛋白酶(Matrix metallo-proteinase, MMPs)降解,紫外线和自由基会使胶原蛋白变性,美拉德反应使糖类和胶原蛋白发生反应形成糖基化产物,在皮肤中表现为纹路紊乱、发黄和失去弹性等衰老表现^[2]。胶原蛋白降解成胶原蛋白肽,分子质量范围从数百到上万道尔顿不等。在体外试验中,胶原蛋白肽对多种自由基具有清除作用^[3-4]。在动物实验中,补充的胶原蛋白水解物通过抑制 MMP2 酶活性来提高皮肤胶原蛋白含量^[5],以及提高机体抗氧化酶系统活性,如超谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GSH-Px)、氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(Catalase, CAT),以降低皮肤光老化损伤^[6]。在 2 项随机双盲、安慰剂对照设计考察补充胶原蛋白肽作用的研究中,年龄介于 35~65 岁的女性人群日常补充

胶原蛋白肽,能改善皮肤健康状态,如增加弹性和水分,提高 I 型胶原蛋白原和弹性蛋白含量,减少皱纹^[7-8]。这些生理功能特性,使胶原蛋白肽成为广泛使用的美容功能原料,以及日常保健抵抗皮肤老化的手段。在美容功能食品中,胶原蛋白肽常与其它成分,如果汁、中药、透明质酸等,配伍使用^[9-11],其目的包括增强美容效果,使功效面更广或产品差异化。

银耳(*Tremella fuciformis* Berk.)又称白木耳、雪耳,是一种高等大型食用真菌。中医认为银耳具有滋阴润肺、益气和血的作用,是公认具有美容养颜作用、有悠久食用历史的食材。银耳多糖(*T. fuciformis* polysaccharides)是银耳中含量丰富的活性成分,研究表明银耳多糖具有免疫调节与抗肿瘤,抗氧化和抗衰老,神经细胞保护等多种活性^[12]。因其来源天然、活性突出,故银耳多糖在功能性食品领域具有广阔的应用前景^[13]。

胶原蛋白肽和银耳多糖为大众熟知、功效突出的美容抗衰老食品原料。然而,两者配伍的功效研究却少见。基于此,本文将 2 种成分按一定比例复合,研究其对 *D*-半乳糖致衰老小鼠模型皮肤中羟脯氨酸和透明质酸含量,组织中氧化应激压力

收稿日期: 2021-10-27

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFC1602106)

作者简介: 徐晓飞(1979—),男,博士,高级工程师

E-mail: xfxufe@gdou.edu.cn

和炎症因子水平的影响,并分析肠道 SCFAs 变化,探索可能作用机理,为银耳多糖和胶原蛋白肽配伍用于美容抗衰老功能性食品提供实验证据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 体质量(18±2)g、4周龄的SPF级昆明雄性小鼠,采购自广东省医学实验动物中心[合格证号SCXK(粤)2018-0002]。

1.1.2 试剂 胶原蛋白肽(型号PEPTIPLUS XB),嘉莉达明胶有限公司;银耳多糖(平均分子量500 ku),博士生物科技(广州)有限公司;D-半乳糖(99%)、乙酸(99.8%)、丙酸(99.5%)、异丁酸(99.5%)、丁酸(99.5%)、异戊酸(99%)、戊酸(99%),上海麦克林公司;SOD、GSH-Px、MDA(Malondialdehyde)测定试剂盒,南京建成生物科技有限公司;小鼠透明质酸、羟脯氨酸、IL-1β、TNF-α试剂盒(ELISA法),江苏酶免实业有限公司,磷酸盐(PBS)缓冲液,Gibco公司;二辛可宁酸(BCA)蛋白定量试剂盒、蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂、RIPA裂解液,北京康为世纪生物科技有限公司;其它试剂为国产分析纯级。

1.2 仪器和设备

高速冷冻离心机(型号SIGMA3-18K),德国SIGMA公司;酶标仪(型号ELx800),美国BioTek公司;中低通量组织研磨器(型号TissueLyser LT),德国QIAGEN;气相色谱仪(型号GC-2010PLUS),岛津仪器公司;毛细管色谱柱(型号DB-FATWAX),安捷伦仪器公司;pH计(型号Five Easy Plus),瑞士梅特勒;恒温水浴箱,富华仪器有限公司;电子天平(型号BS224S),赛多利斯科学仪器(北京)有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 动物实验方法 动物在SPF实验室(GB 14925-2010):室温(22±2)℃、60~80%RH、12 h光/暗循环(许可证编号为SYXK(粤)2018-0085)。实验程序符合中国有关实验动物使用和护理的法规,实验伦理经广州中医药大学伦理委员会批准。小鼠摄入标准饲料、自由饮水,适应SPF环境2周后,32只小鼠随机分4组:正常组(Normal, n=8)灌胃生理盐水,模型组(Model, n=8)灌胃生理盐水,

胶原蛋白肽组(CP, n=8)灌胃胶原蛋白肽剂量830 mg/(kg·d),胶原蛋白组复合银耳多糖组(Collagen peptide combined with TFPs, CPTP)灌胃剂量:胶原蛋白肽830 mg/(kg·d)+银耳多糖100 mg/(kg·d), n=8。Model组、CP组和CPTP组每天上午腹腔注射D-半乳糖120 mg/kg^[14-15], Normal组腹腔注射生理盐水;实验组每天下午灌胃实验样品, Model组及Normal组灌胃生理盐水。实验持续8周。最后一次灌胃样品后,小鼠禁食12 h、自由饮水。第2天麻醉后眼眶取血,在4℃下5 000×g离心15 min获得血清。最后安乐死处死小鼠,小鼠背部脱毛后,取皮肤组织约1 cm²(避免带入白色脂肪组织),放入液氮中速冻;快速剖取心、肝组织用预冷的PBS漂洗去除血液,然后放入液氮中速冻;在冰上收集小肠和结肠内容物,放入液氮中速冻。所有样品-80℃保存,在2个月内完成检测。

取血清样本按SOD、GSH-Px、MDA试剂盒和小鼠IL-1β、TNF-α ELISA试剂盒操作说明分别测定相应指标。

取小鼠肝、心脏组织用组织匀浆器加4℃ PBS制备成10%匀浆液,4℃下以5 000×g离心15 min取上清,用蛋白定量试剂盒进行定量,再分别按照试剂盒操作说明测定上清液中SOD、GSH-Px活力和MDA浓度^[15]。

取小块小鼠皮肤组织用丙酮-乙醚(1:1)脱除脂肪、切碎、晾干,然后精密称取20 mg,按小鼠透明质酸、羟脯氨酸试剂盒操作说明测定样本中羟脯氨酸和透明质酸水平^[15]。

1.3.2 小肠、结肠内容物pH检测 用超纯水分别将解冻后的小肠、结肠内容物以质量比1:1稀释,然后用pH计测定^[15-16]。

1.3.3 小肠、结肠内容物中SCFAs测定 参考文献[15]和[17]报道方法,用1.5 mL磷酸盐缓冲液(pH 7.4)将100 mg肠道内容物均质,并于5 000×g离心10 min,取1 mL上清液添加0.5 mL体积分数50%的硫酸酸化,随后加入2 mL乙醚进行有机萃取,在5 000×g下离心5 min,取上清液过0.22 μm滤膜后注入气相色谱仪。色谱柱为DB-FATWAX毛细管柱(30 m)。气相色谱设置:初始温度120℃,保持2 min,5℃/min升至140℃保持3 min,然后10℃/min升至170℃保持5 min;进样

口 250 ℃, 检测器 250 ℃, 分流比 25:1, 高纯氮气 (99.99%) 设定流量为 1.8 mL/min。乙酸、丙酸、正丁酸、异丁酸、正戊酸、异戊酸标准品用超纯水分别制备标准品溶液, 同法测定。

1.4 数据处理

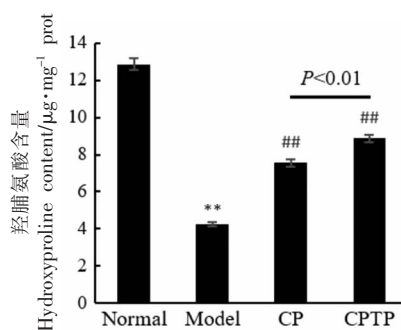
数据以“平均值±标准差”表示。组间比较采用 one-way ANOVA 和 Tukey 检验, 采用 SPSS 20.0 进行统计学分析, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 对小鼠一般体征的影响

在整个实验期间, 各组小鼠摄食、日常活动正常, 各半乳糖注射组的小鼠皮毛光泽相比 Normal 组小鼠较差, 而 CP 组和 CPTP 组小鼠皮毛光泽比 Model 组小鼠好。在 8 周内, 各组小鼠体质量缓慢增加, 组间体质量无明显差别 ($P > 0.05$), 表明造模药物和样品对小鼠机能无明显副作用 (图 1)。

2.2 对小鼠皮肤中羟脯氨酸和透明质酸含量的影响



注: ** 与 Normal 组比较, $P < 0.01$; ## 与 Model 组比较, $P < 0.01$ 。

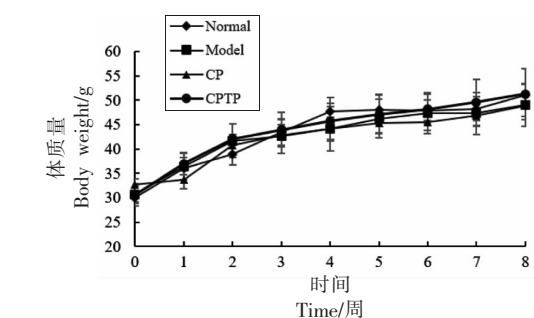


图 1 实验期间各组小鼠体质量的变化

Fig.1 Changes in body weight during the period of experiment

连续 8 周 D-半乳糖处理极显著降低了 Model 组小鼠皮肤中羟脯氨酸和透明质酸含量 ($P < 0.01$) (见图 2), 加速了皮肤衰老, 而 CP、CPTP 灌胃后极显著提高了模型小鼠老化皮肤中羟脯氨酸和透明质酸含量 (CP vs. Model, CPTP vs. Model, $P < 0.01$)。特别地, CPTP 组小鼠皮肤中羟脯氨酸和透明质酸含量极显著高于 CP 组 (CPTP vs. CP, $P < 0.01$), 表明胶原蛋白肽复配银耳多糖后抗皮肤衰老活性明显提升 (图 2)。

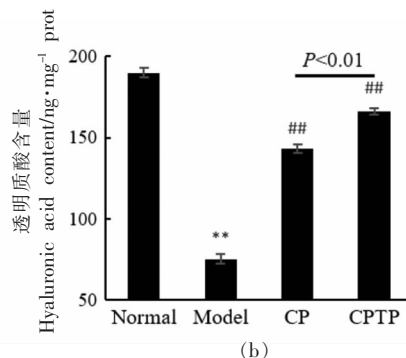


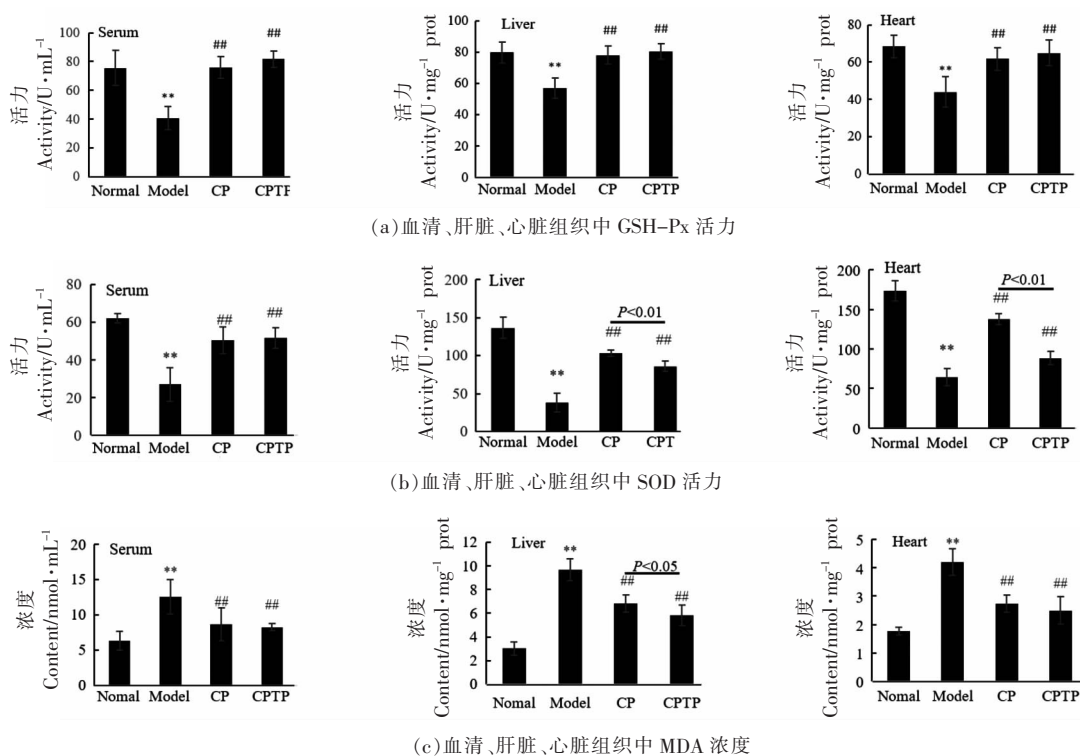
图 2 实验样品对小鼠皮肤羟脯氨酸(a)和透明质酸(b)含量的影响

Fig.2 Influences of experiment samples on the contents of hydroxyproline (a) and hyaluronic acid (b) in skin

2.3 对组织中 GSH-Px、SOD 活性和 MDA 含量的影响

如图 3 所示, 与 Normal 组相比, Model 组的 GSH-Px 和 SOD 活力极显著降低, 而 MDA 极显著增加 ($P < 0.01$) (在血清、肝脏、心脏组织), 进一步证明 D-半乳糖处理后衰老小鼠造模成功。显然, CP 组、CPTP 组则可以明显提高衰老小鼠体内 GSH-Px 活性 (CP vs. Model, CPTP vs. Model, $P < 0.01$), 而两者作用效果无差异 (图 3a)。同样地, CP

组和 CPTP 组能极明显提高衰老小鼠各组织中 SOD 活力 ($P < 0.01$); 然而在肝脏、心脏组织中, CPTP 组的 SOD 活力却比 CP 组更低 ($P < 0.01$) (图 3b)。对脂质过氧化物 MDA 浓度的比较, CP 组和 CPTP 组的组织中 MDA 浓度均比 Model 组极显著降低 ($P < 0.01$), 与组织中 GSH-Px、SOD 活力上升结相吻合; 在肝脏部位, CPTP 组的 MDA 浓度比 CP 组更低 ($P < 0.05$)。



注:**. 与 Normal 组比较, $P < 0.01$; ##. 与 Model 组比较, $P < 0.01$ 。

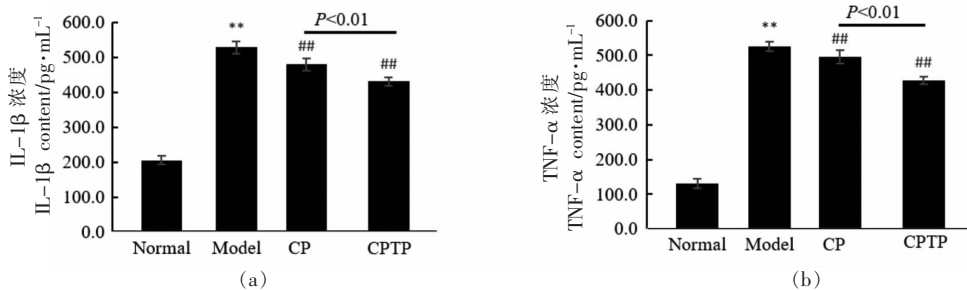
图 3 实验样品对血清、肝脏、心脏组织氧化压力的影响

Fig.3 Influences of experiment samples on oxidative stress in serum, liver, and heart tissues in mice

2.4 对 IL-1 β 和 TNF- α 浓度的影响

由图 4 可知,相比 Normal 组小鼠,Model 组小鼠炎性细胞因子 IL-1 β 、TNF- α 水平极显著上升 ($P < 0.01$),表明 Model 组小鼠体内有高水平炎症。CP 组和 CPTP 组灌胃处理明显降低了小鼠血清中

IL-1 β 、TNF- α 浓度 (CP vs. Model, CPTP vs. Model, $P < 0.01$); 特别地,相比 CP 组, CPTP 组的 IL-1 β 、TNF- α 浓度更低 ($P < 0.01$),表明 CPTP 组对炎性细胞因子分泌抑制作用比 CP 组强(图 4)。



注:**. 与 Normal 组比较, $P < 0.01$; ##. 与 Model 组比较, $P < 0.01$ 。

图 4 实验样品对小鼠 IL-1 β 、TNF- α 含量的影响

Fig.4 Influences of experiment samples on the contents of IL-1 β , TNF- α in serum in mice

2.5 小鼠肠道 pH 值和 SCFAs 的变化

pH 值表明小鼠小肠环境内呈弱碱性,且各组小肠内 pH 值无明显差别(图 5);在结肠内则表现

为弱酸性($pH < 7$),Model 组小鼠结肠内 pH 值显著低于 Normal 组小鼠 ($P < 0.01$),而 CP 组、CPTP 组小鼠极显著高于 Model 组小鼠 ($P < 0.01$),表明 CP

组、CPTP组能提高衰老小鼠结肠内pH值。进一步利用气相色谱检测肠道中6种主要SCFAs的浓度,在小肠内没有检出SCFAs,在结肠内乙酸和丙酸是主要的SCFAs,其次是正丁酸,而异丁酸、正戊酸、异戊酸浓度均较低(图6)。在总SCFAs方面,Model组小鼠总SCFAs浓度显著升高(Model vs. Normal, $P < 0.05$),这个结果与Model组在结肠内低pH值的趋势吻合;而CP组、CPTP组总SC-

FAs与Model组并无明显差异。与Normal组比较,Model组异丁酸含量明显升高($P < 0.01$),而其余5种SCFAs含量无明显差异(图6)。与Model组比较,CP组乙酸浓度提高($P < 0.05$),提示胶原蛋白肽能增加衰老小鼠结肠内乙酸浓度,而其余SCFAs浓度各组间并无明显差别(图6),这些结果提示CP组、CPTP组对结肠内SCFAs浓度无明显调节作用。

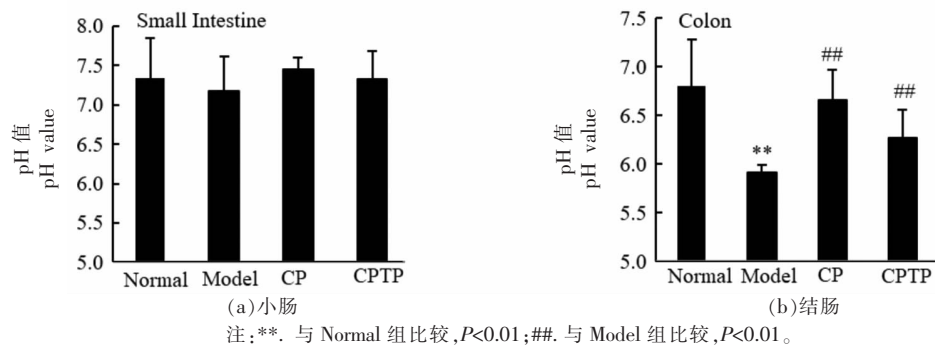


图5 实验样品对小肠和结肠pH值的影响

Fig.5 Influences of experiment samples on pH value in small intestine and colon in mice

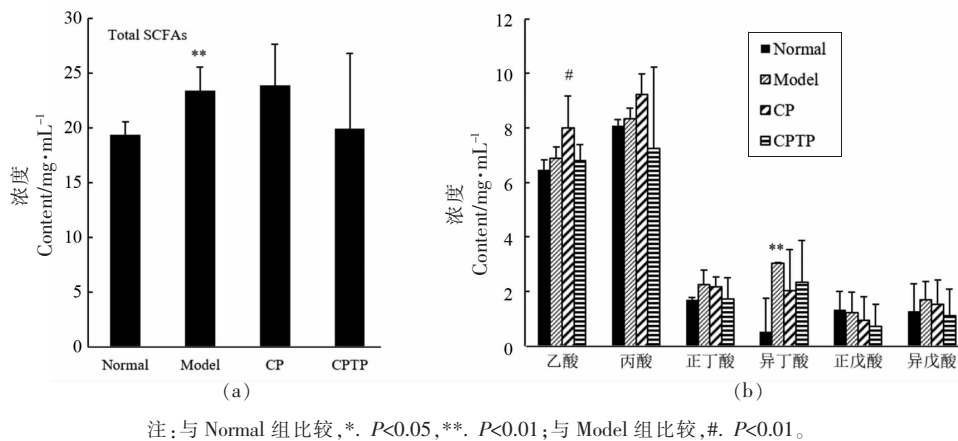


图6 实验样品对结肠总SCFAs(a)和6种SCFAs(b)含量的影响

Fig.6 Influences of experiment samples on the contents of total SCFAs (a) and six subtypes of SCFAs (b) in colon in mice

3 讨论

在本研究中,利用D-半乳糖致衰小鼠模型,发现胶原蛋白肽复合银耳多糖对小鼠衰老皮肤中羟脯氨酸(胶原蛋白特征氨基酸)和透明质酸含量改善作用优于胶原蛋白肽,同时可明显提高机体的抗氧化能力,降低机体炎症水平,表明胶原蛋白肽复合银耳多糖后,具有明显抗衰老活性优势。

衰老是自然界中生物遵循的普遍规律。在机体

衰老进程中,机体抗氧化系统能力下降(包括抗氧化酶和抗氧化物质),从而对ROS(Reactive oxygen species)清除能力降低,造成ROS在细胞内堆积,损害细胞结构完整和功能发挥,并进一步加速衰老^[18]。人体衰老伴随皮肤胶原蛋白和透明质酸含量的下降^[19-20]。胶原蛋白肽具有良好的ROS清除作用^[21],以及通过抑制内源性抗氧化酶的耗竭,表现出抗氧化活性^[22]。同时,人体临床研究发现口

服胶原蛋白肽能提高皮肤胶原蛋白原的含量^[8]。这些研究报道与本实验结果一致。此外,已有研究表明银耳多糖可提高衰老小鼠体内抗氧化酶,如 SOD、GSH-Px 的活力,增加衰老皮肤中羟脯氨酸和透明质酸含量^[14]。在本研究中,对 *D*-半乳糖致衰老小鼠模型皮肤中羟脯氨酸和透明质酸含量检测结果表明,CPTP 对衰老皮肤中羟脯氨酸和透明质酸含量提升作用明显优于单一胶原蛋白肽,表明胶原蛋白肽复配银耳多糖可能具有一定协同作用,值得进一步深入研究。相比胶原蛋白肽,胶原蛋白肽复合银耳多糖对机体中 GSH-Px 活力并没有进一步提升,甚至反而使得 SOD 活力出现下降现象,一方面表明 CPTP 组小鼠体内的 ROS 积累水平可能低于 CP 组,另一方面也提示实验组小鼠衰老皮肤中羟脯氨酸和透明质酸含量的增加并非提升机体抗氧化能力的单独作用。

除 ROS 过量积累外,慢性炎症也是加速机体衰老的元凶之一,衰老机体伴随着高水平的炎症细胞因子^[23]。基质金属蛋白酶(MMPs)是一类受 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 调控的蛋白水解酶,MMPs 具有降解细胞外基质所有成分,如胶原、黏性蛋白、纤维黏连蛋白等的功能^[24]。机体在炎症状态下,MMPs 活性增加^[24],造成胞外基质降解增加。在 *D*-半乳糖所致衰老小鼠模型中,炎症因子 IL-1 β 和 TNF- α 水平显著增加,表明衰老模型小鼠处于炎症状态。在本实验中,胶原蛋白肽表现出一定的抗炎活性,作用机理可能与其调控细胞内信号抑制 NF- κ B 的表达有关^[22]。当胶原蛋白肽复合银耳多糖后,衰老小鼠体内炎症细胞因子水平大大降低,证明实验复合物抗炎效果优于单一胶原蛋白肽。据报道,在体外实验中,发现银耳多糖可抑制 NF- κ B 信号通路和 miR155 转录,从而降低 LPS 处理的 RAW264.7 免疫细胞内 ROS 水平和抑制炎症细胞因子分泌^[25]。由此提示,CPTP 可以通过多种方式发挥抗衰老(降低氧化压力,抑制炎症,提高免疫功能等作用),从而有利于提升衰老皮肤中胶原蛋白和透明质酸含量。

在衰老模型小鼠肠道中,结肠部位 pH 值下降、SCFAs 浓度增加。然而,有研究报道,与成年人相比,老年人肠道中 SCFAs 浓度降低^[26],提示 *D*-半乳糖所致衰老小鼠模型并不能完全模拟自然衰

老状态。虽然胶原蛋白肽能增加模型小鼠肠道中乙酸浓度,但胶原蛋白肽和银耳多糖对模型小鼠肠道中其它类型 SCFAs 和总 SCFAs 浓度并没有明显影响,表明胶原蛋白肽复合银耳多糖可能通过非依赖 SCFAs 途径,提高衰老小鼠抗氧化酶活性和发挥抗炎作用。尽管有许多研究指出非消化性多糖经肠道菌群代谢产生的 SCFAs 能调控免疫细胞发育、分化和免疫功能响应,以及抑制组蛋白脱乙酰酶活(Histone deacetylases)而调节细胞转录因子表达^[27]。原因可能在于本实验所使用的银耳多糖剂量太低,仅 100 mg/(kg·d)。有学者报道,杏鲍菇多糖(Pleurotus eryngii polysaccharide)在 400 mg/(kg·d)及以上剂量时,才能明显提高肠道中 SCFAs 的浓度^[28]。因此,胶原蛋白肽复合银耳多糖提高组织抗氧化酶活性的分子机理需要进一步研究。

4 结论

利用 *D*-半乳糖致衰小鼠模型,发现相比单一 CP,CPTP 能更有效提高模型小鼠衰老皮肤中羟脯氨酸和透明质酸含量,其作用机理可能是通过非 SCFAs 依赖途径,保护机体抗氧化酶活性和抑制炎症因子表达作用而实现。本研究为胶原蛋白肽配伍银耳多糖应用于美容和抗氧化功能性食品,提供数据支撑。

参 考 文 献

- [1] GELSE K, POESCHL E, AIGNER T. Collagens - structure, function, and biosynthesis [J]. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2003, 55(12): 1531-1546.
- [2] VERSCHOORE M, 刘玮, 甄雅贤. 现代美容皮肤科学基础[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 61.
VERSCHOORE M, LIU W, ZHEN Y X. The basis of modern cosmetic skin science[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2011: 61.
- [3] 邢瀚文, 韩玮, 施文正, 等. 固态发酵法制备罗非鱼皮胶原蛋白肽及其抗氧化活性研究[J]. *食品与发酵工业*, 2020, 46(19): 104-110.
XING H W, HAN W, SHI W Z, et al. Tilapia skin collagen peptides prepared by solid-state fermentation and its antioxidant activity[J]. *Food and*

- Fermentation Industries, 2020, 46(19): 104–110.
- [4] 杨玉亮, 衣大龙, 刘春雨, 等. 体外模拟消化对牦牛骨胶原蛋白肽抗氧化活性的影响[J/OL]. 食品与发酵工业, 2021, 47(13): 79–84.
YANG Y L, YI D L, LIU C Y, et al. Effects of *in vitro* simulated digestion on the antioxidant activity of yak bone collagen peptides[J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(13): 79–84.
- [5] ZAGUE V, DE FREITAS V, DA COSTA R M, et al. Collagen hydrolysate intake increases skin collagen expression and suppresses matrix metalloproteinase 2 activity [J]. Journal of Medicinal Food, 2011, 14(6): 618–624.
- [6] HOU H, LI B F, ZHAO X, et al. Effect of pacific cod (*Gadus macrocephalus*) skin gelatin polypeptides on UV radiation-induced skin photoaging in ICR mice[J]. Food Chemistry, 2012, 115(3): 945–950.
- [7] PROKSCH E, SEGGER D, DEGWERT J, et al. Oral supplementation of specific collagen peptides has beneficial effects on human skin physiology: A double-blind, placebo-controlled study[J]. Skin Pharmacology and Physiology, 2014, 27: 47–55.
- [8] PROKSCH E, SCHUNCK M, ZAGUE V, et al. Oral intake of specific bioactive collagen peptides reduces skin wrinkles and increases dermal matrix synthesis [J]. Skin Pharmacology and Physiology, 2014, 27: 113–119.
- [9] 初鑫, 宋韶乾, 司磊磊, 等. 鳕鱼皮胶原蛋白肽果汁饮料抗紫外线照射引起的皮肤光老化[J]. 食品工业科技, 2018, 39(22): 287–292.
CHU X, SONG S Q, SI L L, et al. Effect of fruit juice drink containing collagen polypeptides from pacific cod (*Gadus macrocephalus*) skin on UV irradiation-induced skin photoaging [J]. Science and Technology of Food Industry, 2018, 39(22): 287–292.
- [10] 张素文, 张佳红, 张一舒, 等. 酸枣仁胶原蛋白肽果汁饮品的助眠及美容功效研究[J]. 现代食品, 2020(14): 220–225.
ZHANG S W, ZHANG J H, ZHANG Y S, et al. Study on the sleep improvement and beauty effect of semen Ziziphi collagen juice drink[J]. Modern Food, 2020(14): 220–225.
- [11] 查圣华, 张兴龙, 王俊亮, 等. 透明质酸胶原蛋白冰糖燕窝饮品安全性及有效性评价[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(20): 6886–6892.
ZHA S H, ZHANG X L, WANG J L, et al. Safety and effectiveness evaluation of hyaluronic acid collagen rock candy bird's nest drink[J]. Journal of Food Safety and Quality, 2019, 10(20): 6886–6892.
- [12] WU Y J, WEI Z X, ZHANG F M, et al. Structure, bioactivities and applications of the polysaccharides from *Tremella fuciformis* mushroom: A review[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2019, 121: 1005–1010.
- [13] 高磊, 张帆, 王毅飞, 等. 银耳多糖研究进展[J]. 安徽农业科学, 2020, 48(24): 13–16, 19.
GAO L, ZHANG F, WANG Y F, et al. Research advances of *Tremella fuciformis* polysaccharides [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2020, 48(24): 13–16, 19.
- [14] 张泽生, 孙东, 徐梦莹, 等. 银耳多糖抗氧化作用的研究[J]. 食品研究与开发, 2014, 35(18): 10–15.
ZHANG Z S, SUN D, XU M Y, et al. Study on the antioxidation effect of *Tremella* polysaccharide[J]. Food Research and Development, 2014, 35(18): 10–15.
- [15] 徐晓飞, 钟兴伟, 赵明月, 等. 胶原蛋白肽与银耳多糖对衰老小鼠皮肤改善作用及机理研究[J]. 食品工业科技, 2022, 43(8): 357–364.
XU X F, ZHONG X W, ZHAO M Y, et al. Research on the improvement effects of collagen peptides and *Tremella fuciformis* polysaccharides on the skin texture of aging mice and its mechanism [J]. Science and Technology of Food Industry, 2022, 43(8): 357–364.
- [16] 左伟勇, 陈伟华, 邹思湘. 伴大豆球蛋白胃蛋白酶水解肽对小鼠免疫功能及肠道内环境的影响[J]. 南京农业大学学报, 2005, 28(3): 71–74.
ZUO W Y, CHEN W H, ZOU S X. Effects of conglycinin peptides on immunity and intestinal ecosystem in mice[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2005, 28(3): 71–74.
- [17] 邵鑫. 人体胃肠道微生态消化模拟系统的构建及其稳定性评估[D]. 广州: 暨南大学, 2016.
SHAO X. Development of the *in-vitro* human gastrointestinal microbial ecosystem and its stability evaluation[D]. Guangzhou: Jinan University, 2016.
- [18] 李萌茹, 周玉枝, 杜冠华, 等. 中药黄酮类化合物抗衰老作用及其机制研究进展[J]. 药学报, 2019, 54(8): 1382–1391.
LI M R, ZHOU Y Z, DU G H, et al. Research progress about the anti-aging effect and mechanism

- of flavonoids from traditional Chinese medicine [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica*, 2019, 54(8): 1382–1391.
- [19] CASTELO-BRANCO C, PONSB F, GRATACOS E, et al. Relationship between skin collagen and bone changes during aging[J]. *Maturitas*, 1994, 18(3): 199–206.
- [20] 康尔恂, 陈宏泉, 吕全兴, 等. 女性皮肤透明质酸含量及角质层含水量与年龄的关系[J]. *中国麻风皮肤病杂志*, 2010, 26(6): 449–450.
- KANG E X, CHEN H Q, LV Q X, et al. The relationship between the contents of hyaluronic acid in skin and water in stratum corneum and age in female[J]. *China Journal of Leprosy and Skin Diseases*, 2010, 6: 449–450.
- [21] 王传幸, 李国英. 小分子鱼鳞胶原蛋白肽的制备及其抗氧化性测定[J]. *食品科技*, 2019, 44(4): 141–145.
- WANG C X, LI G Y. Preparation and antioxidant activities measurement of scales collagen peptide with low molecular weight [J]. *Food Science and Technology*, 2019, 44(4): 141–145.
- [22] 胡佳妮, 李勇. 海洋胶原肽活性及其应用研究进展[J]. *食品工业科技*, 2021, 42(18): 407–412.
- HU J N, LI Y. Research progress of peptide activity and application of marine collagen peptides [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2021, 42(18): 407–412.
- [23] FURMAN D, CAMPISI J, VERDIN E, et al. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span[J]. *Nature Medicine*, 2019, 25(12): 1822–1832.
- [24] 刘明明, 李爱玲, 修瑞娟. 基质金属蛋白酶的研究进展[J]. *中国病理生理杂志*, 2018, 34(10): 1914–1920.
- LIU M M, LI A L, XIU R J. Research progress on matrix metalloproteinases[J]. *Chinese Journal of Pathophysiology*, 2018, 34(10): 1914–1920.
- [25] RUAN Y, LI H, PU L M, et al. *Tremella fuciformis* polysaccharides attenuate oxidative stress and inflammation in macrophages through miR-155 [J]. *Analytical Cellular Pathology*, 2018, 2018: 5762371.
- [26] SALAZAR N, ARBOLEYA S, FERNANDEZ-NAVARRO T, et al. Age-associated changes in gut microbiota and dietary components related with the immune system in adulthood and old age: A cross-sectional study[J]. *Nutrients*, 2019, 11: 1765.
- [27] KAYAMA H, OKUMURA R, TAKEDA, K. Interaction between the microbiota, epithelia, and immune cells in the intestine [J]. *Annual Review of Immunology*, 2020, 38(1): 23–48.
- [28] MA G, KIMATU B M, ZHAO L, et al. *In vivo* fermentation of a *Pleurotus eryngii* polysaccharide and its effects on fecal microbiota composition and immune response[J]. *Food & Function*, 2017, 8(5): 1810–1821.

The Improving Effect of the Complex of Collagen Peptides Combined with *Tremella fuciformis* Polysaccharides on D-galactose-induced Ageing Mice

Xu Xiaofei^{1,2,3}, Zhao Mingyue², Zhong Xingwei², He Ruiqi³

¹College of Food Science and Engineering, Guangdong Ocean University, Yangjiang 529599, Guangdong

²South China Institute of Collaborative Innovation, Dongguan 523808, Guangdong

³Geometry Cell Biology Research Center, Dongguan 523808, Guangdong

Abstract Objective: To investigate the anti-ageing effects of the complex of collagen peptides combined with *Tremella fuciformis* polysaccharides (CPTP) on skin aging in D-galactose induced aging animal model and its mechanism. Method: D-galactose-induced aging mouse model were divided into three groups; Model group (administration of physiological saline), CP group [administration of collagen peptide in a dose of 830 mg/(kg·d)], and CPTP group [administration of a complex of collagen peptide and *T. fuciformis* polysaccharides in a dose of 830 mg/(kg·d) and 100 mg/(kg·d), respectively]. Adult mice were set as normal group. Intraperitoneal injection (i.p.) daily with physiological saline were conducted for mice in Normal group, while i.p. daily with D-galactose in a dosage of 120 mg/(kg·d) were performed for those in remaining groups. All mice were given intragastric administration for eight weeks and then killed. The concentrations of hydroxyproline (HYP) and hyaluronic acid (HA) in skin, the activities of anti-oxidant enzymes and the production of

MDA in tissues, the contents of inflammatory cytokines in serum, the productions of intestinal SCFAs as well as the pH value were measured. Results: CPTP remarkably improved the contents of HYP and HA in skin ($P < 0.01$) and its efficacy were better than that of collagen peptide alone ($P < 0.01$), obviously increased the activities of GSH-Px and SOD in serum, liver and heart, while reduced the concentrations of MDA ($P < 0.01$), and inhibited the secretions of IL-1 β and TNF- α ($P < 0.01$), but had no significant effects on the concentrations of SCFAs in the colon though alterations in pH in colon were observed, compared with model group. Conclusion: The improvements of the loss of HYP and HA in aging skin in *D*-galactose induced aging mice in response to CPTP treatment might be due in part to an increase in the activities of antioxidant enzymes and a reduction in secretion of inflammatory cytokines. These findings may help to facilitate the application of CPTP in functional foods for beauty.

Keywords *D*-galactose induced-ageing mouse; hydroxyproline; hyaluronic acid; oxidative stress; inflammatory cytokines