

螺旋藻多糖对果蝇抗氧化能力的影响

穆文静, 张永明*

内蒙古师范大学生命科学与技术学院, 呼和浩特 010022

摘要: 本实验采用水提法提取了 S₁、S₂ 两种螺旋藻多糖, 以黑腹果蝇为实验动物, 设计了 A、B、C、D、E 五组不同剂量的螺旋藻多糖培养基来培养果蝇, 测定了不同浓度雌雄果蝇体内过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CTA)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 活性和丙二醛 (MDA) 含量五个指标。结果表明, 添加一定剂量的螺旋藻多糖后, 果蝇体内 CAT、POD、SOD 和 GSH 活性都显著提高, 而 MDA 含量则明显降低, 雄性果蝇体内 SOD、CAT、POD、GSH-PX 活性和 MDA 含量水平较雌性果蝇的略高一些。

关键词: 螺旋藻多糖; 果蝇; 抗氧化能力

中图分类号: Q599; R961

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.S.029

Effect of *Spirulinaplantensis* Polysaccharide on Antioxidant Ability of *Drosophila*

MU Wen-jing, ZHANG Yong-ming*

College of Life Science and Technology, Inner Mongolia Normal University, Hohhot 010022, China

Abstract: In this study, two polysaccharides of *Spirulinaplantensis* called S1 and S2 were prepared by water extraction. The polysaccharides of *Spirulinaplantensis* were selected from A, B, C, D and E by different concentrations. We used *Drosophila melanogaster* as experimental animals to mensurate Peroxidase (POD), catalase (CTA), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH) and malondialdehyde (MDA) contents of different sex in medium given above. The results showed that the activities of CAT, POD, SOD and GSH in *Drosophila melanogaster* were significantly increased, but the content of MDA decreased obviously. And the activities of SOD, CAT, POD, GSH-PX and the content of MDA in male *Drosophila* are slightly higher than those of female fruit flies.

Key words: spirulina polysaccharide; drosophila; antioxidant capacity

螺旋藻多糖 (PSP) 是一种自螺旋藻藻体、培养液及干粉中得到的重要天然生物活性物质。其参与了细胞的多种调节作用, 具有抗氧化、抗肿瘤、抗辐射、调节机体免疫功能, 在降低血糖、血脂以及促进细胞生长方面都有较好的作用, 是国内外海洋药物研究的热点之一^[1,2]。

张洪泉等人^[3]在臭氧照射小鼠的同时给予其螺旋藻多糖处理, 发现小鼠的肝与脑组织形态损伤较轻, 过氧化物歧化酶活性上升, 而丙二醛 (MDA) 的含量下降。张小强等^[4]采用 CCl₄ 建立了急性化学性肝损伤动物模型, 连续 25 天给予小鼠螺旋藻混悬液, 测定发现实验组小鼠肝组织丙二醛含量降低, 而谷胱甘肽 (GSH) 和超氧化物歧化酶水平有所升

高。表明螺旋藻具有抑制急性化学性肝损伤小鼠肝组织脂质过氧化的作用。左绍远^[5]从云南产的螺旋藻中分离纯化出螺旋藻多糖, 发现一定剂量和浓度下, 小鼠心、肝、脑组织中的丙二醛含量降低, 而 RBC 及脑 SOD 的活力增加, 进而全血及肝区 GSH-Px 活性和 GSH 含量升高。还发现 PSP 可提高血清 LDH 活力, 降低运动后的血乳酸水平, 延长小鼠的游泳时间, 说明 PSP 具有较明显的抗氧化抗疲劳作用。

本研究采用水提法提取螺旋藻多糖, 以果蝇作为实验动物, 测定螺旋藻多糖对果蝇体内过氧化物酶、过氧化氢酶、超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶活力和丙二醛含量五个指标的影响。比较 2 个不同生态种 Chad 湖钝顶螺旋藻 (S₂) 和鄂尔多斯高原碱湖钝顶螺旋藻 (S₁) 螺旋藻多糖对果蝇抗氧化作用的效果, 为这 2 种螺旋藻多糖的工业化生产与应用提供基础实验数据。

收稿日期: 2017-12-27 接受日期: 2018-03-26

基金项目: 国家自然科学基金 (31360214)

* 通讯作者 Tel: 86-015304715955; E-mail: zhangyongming@imnu.edu.cn

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

Chad 钝顶螺旋藻粉购自内蒙古鄂尔多斯市加力螺旋藻业有限责任公司;鄂尔多斯钝顶螺旋藻由内蒙古师范大学生化实验室培养;黑腹果蝇由内蒙古师范大学遗传学实验室赠予。

1.2 实验方法

1.2.1 螺旋藻多糖提取

水提法提取螺旋藻多糖。Chad 钝顶螺旋藻中提取的多糖为 S₂ 多糖,鄂尔多斯钝顶螺旋藻中提取的多糖为 S₁ 多糖。

1.2.2 果蝇抗氧化能力研究

1.2.2.1 果蝇取样及匀浆液制备

本研究设计 5 个实验组,其中 4 个为剂量组(B、C、D、E),1 个为对照组(A)。B、C、D 剂量组果蝇分别饲养于添加了 S₂ 多糖的培养基中,多糖添加量依次为 0.1% (低剂量)、0.3% (中剂量) 和 0.5% (高剂量),E 组为添加 S₁ 多糖的比较组,培养基中 S₁ 多糖剂量为 0.3% (中剂量);对照组(A)果蝇的培养采用基础培养基,将上述实验组果蝇置于温度(25 ± 1)℃ 培养箱中进行培养,每 4 天更换 1 次新鲜培养基,连续培养 20 天。

待果蝇生长至 20 日龄时,乙醚麻醉后将雌雄果蝇分开,每 40 mg 果蝇为 1 个样本,组织研磨棒研磨,制成匀浆,将其置于 1.5 mL 离心管中,后加入 1 mL 生理盐水,6000 rpm 离心 10 min,取上清液备用。

1.2.2.2 果蝇抗氧化能力各指标测定

本研究通过对果蝇过氧化物酶活力、过氧化氢酶活力、超氧化物歧化酶活力、谷胱甘肽过氧化物酶活力和丙二醛含量的测定来反应其抗氧化的能力。均采用相应试剂盒进行测定。

1.2.2.3 数据统计分析

采用 SPSS 13.0 软件对试验数据进行双因素方差分析,各组数据以 $\bar{x} \pm s$ (均数 ± 偏差) 表示;组间差异用 Duncan 检验。

2 结果与分析

表 1 可见,就性别而言,只有 GSH 在雌雄间差异不显著,其它四者差异显著。其中 MDA 含量表现为雄性略低于雌性,SOD、POD、GSH 和 CAT 则正好相反,表现出不同的酶,性别间的反应也有所差异。而对于不同浓度来讲,五项指标均达到显著或极显著水平,因此对浓度进行多重比较,比较结果见表 2。

表 1 性别与amp;浓度对酶活性影响的方差分析结果

Table 1 Variance analysis about effect of sex and concentration on the activity of enzyme

	SOD	GSH	CAT	POD	MDA
性别 Sex	0.0200	0.2890	0.0003	0.0020	0.0479
浓度 Concentration	0.0001	0.0020	0.0200	0.0000	0.0067

注:表中的数据为概率 P, P < 0.05 为差异显著, P < 0.01 为差异极显著,否则为差异不显著。

Note: The data in the table is the probability P, P < 0.05 is a significant difference, P < 0.01 is a more significant difference, otherwise the difference is not significant.

由表 2 和图 1 可知,就谷胱甘肽过氧化物酶活力而言,与对照组 A 相比,加入 0.1% S₂ 多糖的 B 组 GSH 活力与对照差异较小,而加入 0.3% S 组织研磨棒研磨,制成匀浆,2 多糖的 C 组,0.3% S 组织研磨棒研磨,制成匀浆,1 多糖的 E 组和 0.5% S 组织研磨棒研磨,制成匀浆,2 多糖的 D 组则极显著地高于对照组和剂量 B 组,而剂量 C、E、D 组间差异不显著。说明螺旋藻多糖的剂量分别为 0.3% 和 0.5% 时均可提高果蝇的 GSH-PX 活性,而两种螺旋藻 S₁ 和 S₂ 则对 GSH-PX 活性的影响没有显著差异。

对果蝇体内 CAT 活力的分析表明, D 组明显的高于 A 组和 B 组,差异显著;但 D 组与 C 组、E 组相

比差异不显著,而 C 组、E 组分别与 B 组和 A 组相比差异也不显著。说明实验组中当螺旋藻多糖添加浓度为 0.5% 时可明显提高果蝇体内 CAT 活性,达到显著水平,螺旋藻 S₁ 和 S₂ 对 CAT 活性的影响差异不显著(见表 2 和图 2)。

对果蝇体内 POD 活性分析表明,加入不同剂量螺旋藻多糖的实验组与对照组相比均有显著差异,大小顺序为 D > C > E > B > A,果蝇体内 POD 活性与螺旋藻多糖的添加量成正比,并且 A、B、E、D 间差异达到极显著(P < 0.01), C 与 D、C 与 E 间差异显著但未达到极显著,说明螺旋藻 S₁ 较 S₂ 可以使 POD 维持相对较高的活性,螺旋藻多糖剂量为 0.5% 时 POD 活性最高(见表 2 和图 3)。

表2 五种酶不同浓度抗氧化能力的比较 ($n=5, \bar{x} \pm s$)Table 2 Compare with different concentration of four enzyme on activity of anti-oxidant ($n=5, \bar{x} \pm s$)

	A	B	C	D	E
GSH	7632 ^{bB} ± 67.88	8080 ^{bB} ± 656.19	9904 ^{aA} ± 22.63	10368 ^{aA} ± 135.76	9952 ^{aA} ± 90.51
CAT	4.071 ^b ± 1.157	4.187 ^b ± 1.110	4.529 ^{ab} ± 1.082	5.081 ^a ± 0.728	4.627 ^{ab} ± 1.016
POD	0.128 ^{cd} ± 0.005	0.408 ^{dC} ± 0.008	0.432 ^{bAB} ± 0.006	0.438 ^{aA} ± 0.005	0.426 ^{cB} ± 0.003
SOD	0.9225 ^{Dd} ± 0.0159	0.9998 ^{Cc} ± 0.0201	1.1192 ^{Bb} ± 0.0048	1.2135 ^{Aa} ± 0.021	1.1270 ^{Bb} ± 0.0049
MDA	0.512 ^{aA} ± 0.011	0.479 ^{aB} ± 0.004	0.429 ^{bB} ± 0.027	0.415 ^{bC} ± 0.027	0.423 ^{bB} ± 0.023

注:表中的字母标记为多重比较的结果,每行中两两之间若有一个字母相同,表示两者差异不显著,反之差异显著。如果为大写字母,显著性水平为0.01,如果为小写字母,显著性水平为0.05。

Note: The letters in the table are marked by multiple comparisons. If there is a same letter in each line, the difference between the two is not significant and the difference is significant. The capital letter is a significant difference ($P < 0.05$), the lowercase is a more significant difference ($P < 0.01$), otherwise the difference is not significant.

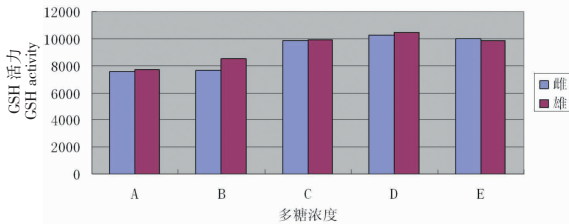


图1 螺旋藻多糖对雌雄果蝇 GSH 活力的影响

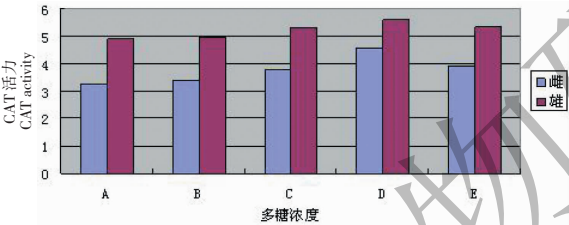
Fig. 1 Effect of PSP on GSH Activity in *Drosophila melanogaster*

图2 螺旋藻多糖对雌雄果蝇 CAT 活力值的影响

Fig. 2 Effect of PSP on CAT Activity in *Drosophila melanogaster*

对果蝇体内 SOD 活性分析表明,加入不同剂量螺旋藻多糖的实验组与对照组相比差异极显著 ($P < 0.01$),剂量组 B、C、D 间也显示差异极显著 ($P < 0.01$),当螺旋藻多糖剂量为 0.5% 时 SOD 活性最高,果蝇体内 SOD 活性与螺旋藻多糖的添加量成正比;但 C 与 E 间却无显著差异,说明螺旋藻 S_1 与 S_2 在影响 SOD 活性方面的作用相当(见表 2 和图 4)。

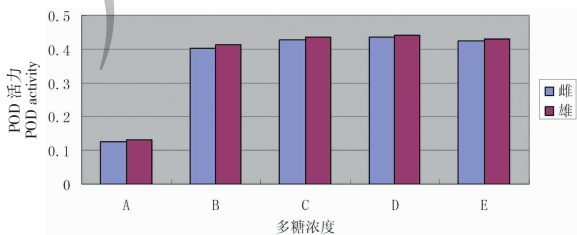


图3 螺旋藻多糖对雌雄果蝇 POD 活力的影响

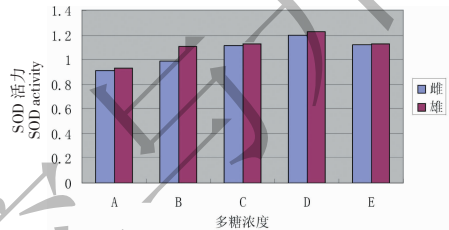
Fig. 3 Effect of PSP on POD Activity in *Drosophila melanogaster*

图4 螺旋藻多糖对雌雄果蝇 SOD 活力的影响

Fig. 4 Effect of PSP on SOD Activity in *Drosophila melanogaster*

对果蝇体内 MDA 活性分析表明,加入螺旋藻多糖剂量为 0.1% 的 B 组与 A 组相比不显著。而螺旋藻多糖剂量为 0.1% 的 B 组和 0.3% 的 C 组间差异不显著, A 组与螺旋藻多糖添加量为 0.3% 和 0.5% 的实验组 C、E、D 间差异极显著,且 C 与 D 间差异极显著,可见,当螺旋藻多糖添加剂量为 0.5% 时果蝇体内 MDA 含量水平最低;由于 C、E 间无显著差异,说明螺旋藻 S_1 和 S_2 对于 MDA 含量水平的影响作用较接近(见表 2 和图 5)。

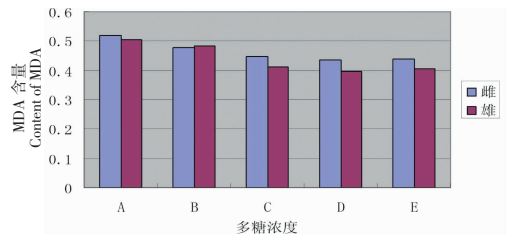


图5 螺旋藻多糖对雌雄果蝇 MDA 含量的影响

Fig. 5 Effect of PSP on content of MDA in *Drosophila melanogaster*

3 讨论

近年来,众多的实验研究都表明机体内脂质过氧化生成过多是衰老的主要原因之一,在这些脂类分解产物中,一些是无害的,另一些则能引起细胞代谢及功能障碍,而且还可以通过脂氢过氧化物的

分解产物引起细胞损伤。而 SOD、CAT 和 POD 等都能清除超氧阴离子自由基,保护细胞免受损伤,因此,酶活力的高低反应了机体清除氧自由基的能力,间接反应了机体内脂质过氧化的程度,从而指示细胞损伤的程度;GSH-PX 的活性中心是硒半胱氨酸,硒是必需部分,该酶催化还原型谷胱甘肽对过氧化氢的还原反应,可以起到保护细胞膜结构和功能完整的作用。本研究的实验数据表明添加一定剂量的螺旋藻多糖后,果蝇体内 CAT、POD、SOD 和 GSH 活性都显著提高,而 MDA 含量则明显降低,与刘玉兰、孔鹏^[6]等人的研究结果相吻合。中剂量组的 S₁、S₂ 两种螺旋藻多糖无显著差异。因此推测螺旋藻多糖通过提高一系列抗氧化酶活性,而减少脂质过氧化物的生成,是其抗氧化、衰老的途径之一。

在测定实验组和对照组的各指标中,雄性果蝇体内 SOD、CAT、POD、GSH-PX 活性和 MDA 含量水平较雌性果蝇的略高一些,这与海带多糖抗氧化作用的研究中雄性果蝇 SOD 和 CAT 活性也均较雌性果蝇高^[7],具体原因还有待于进一步研究。

参考文献

1 Liu ZW(刘志伟),,Shao XL(邵学良). Research progress of spirulina polysaccharides[J]. *Food Nutr China*(中国食物

与营养),2007,11:18-21.

- 2 Wang SY(王苏仪),Chang XY(常雪莹),Zhao S(赵帅), et al. Effects of spirulina polysaccharide on blood glucose and antioxidation in diabetic rats[J]. *Occupation and Health*(职业与健康),2015,31:3229-3235
- 3 Zhang HQ(张洪泉),Deng YM(邓杨梅). Study on protective effects of polysaccharide from spirulina on mouse liver and brain damage induced by ozone[J]. *Chin J Geriatr*(中华老年医学杂志),2002,21:214.
- 4 Zhang XQ(张小强),Lu ZM(陆琮明),Zhai CK(翟成凯). Effects of Spirulina on lipid peroxidation in liver of mice with acute chemical liver injury[J]. *Nanjing J Railway Med Coll*(南京铁道医学院学报),2000,19:105-106.
- 5 Zuo SY(左绍远). Experimental study on antioxidant and anti-fatigue effects of Spirulina polysaccharides produced in Yunnan[J]. *Chin J Biochem Pharm*(中国生化药物杂志),1995,16:255-258.
- 6 Liu YL(刘玉兰),Mu XS(牟孝硕),Yan M(颜鸣),et al. Anti-aging effects of polysaccharide from Spirulina platensis [J]. *Chin Pharmacol Bull*(中国药理学通报),1998,14:362-364.
- 7 Kong P(孔鹏),Yao Cl(姚翠鸾),Qi LW(齐丽薇),et al. Study on anti-aging effects and mechanism of Laminaria japonica polysaccharides[J]. *J Agric Univ Hebei*(河北农业大学学报),2007,30(4):63-66.

(上接第 50 页)

- 12 Yin SZ, Jin HK, Jin BY, et al. Studies on alkaloids in the seeds of *Zizyphus jujuba* Mill[J]. *China J Chin Mater Med*, 1997,22:296-297.
- 13 Tripathi M, Pandey MB, Jha RN, et al. Cyclopeptide alkaloids from *Zizyphus jujube*[J]. *Fitoterapia*,2001,72:507-510.
- 14 Han BH, Park MH. Alkaloids are the sedative principles of the seeds of *Zizyphus vulgaris* var. *spinosa* [J]. *Arch Pharmacol Res*,1987,10:203-207.
- 15 Han BH, Park MH, Park JH. Chemical and pharmacological studies on sedative cyclopeptide alkaloids in some Rhamnaceae plants[J]. *Pure Appl Chem*,1989,61:443-448.
- 16 Li YF(李永芳). Review on Alkaloid extraction and separation methods[J]. *J Gra Sun Yat-Sen Univ; Nat Sci, Med*(中山大学研究生学刊:自科医学版),2015,36(2):7-13.
- 17 Fan JP(范洁平),Qin Y(秦玉). Optimization of ultrasound-

assisted extraction of alkaloids from nelumbinis folium by response surface methodology [J]. *J Nanchang Univ; Eng & Tech*(南昌大学学报:工科版),2014,36(1):1-6.

- 18 Wang Y(王婴),Wang Y(王岩),Wu XR(吴新荣). Research progress on extraction technology of alkaloids in mulberry leaves[J]. *Guangdong Chem Ind*(广东化工),2014,41(19):94.
- 19 Li J(李军),Chen HY(陈海燕),Guo HY(郭鸿雁),et al. The extraction process of alkaloids from *Sophora alopecuroides* L. [J]. *Jiangsu Agric Sci*(江苏农业科学),2014,42:250-252.
- 20 Li ZZ(李赞忠),Li FW(李发旺),Qiao ZR(乔子荣). New development of the methods of extracting and separating for alkaloids[J]. *Chem Ind Eng Prog*(化工进展),2010,29:293-299.