

不同分子量坛紫菜多糖体内抗氧化活性研究

应苗苗¹, 施文正², 权伟¹

(1. 温州科技职业学院, 浙江 温州 325006; 2. 上海海洋大学, 上海 201306)

摘要: 为了解不同分子量坛紫菜多糖的体内抗氧化活性, 为低值坛紫菜开发利用技术的进一步优化和应用提供理论依据。采用超滤法将坛紫菜粗多糖进行分离, 通过4种不同截留分子量的超滤膜得到5种不同分子量的多糖, 对其体外活性较好的坛紫菜多糖 PPⅡ 和 PPⅣ 进行体内抗氧化活性研究。试验结果表明, 衰老模型组小鼠在连续注射 D-半乳糖 60 d 后, 肝脏组织、脑组织和血液中超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px)、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 活性均显著下降, 丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量显著升高, 说明该试验中的衰老模型建立成功。PPⅡ 和 PPⅣ 的中剂量组和高剂量组均能不同程度显著提高肝脏组织、脑组织和血液中 SOD 活力、GSH-Px 活力和 CAT 活力, 显著降低 MDA 含量, 表现出较好的抗氧化作用, 其中 PPⅣ 组大部分抗氧化指标明显优于 PPⅡ, 研究结果将对坛紫菜的深加工提供理论指导。

关键词: 坛紫菜; 多糖; 超滤; 体内抗氧化活性; 衰老模型

Antioxidant Activity of *Porphyra Haitanensis* Polysaccharide with Different Molecular Weight *in vivo*

YING Miao-miao¹, SHI Wen-zheng², QUAN Wei¹

(1. Wenzhou Vocational College of Science and Technology, Wenzhou 325006, Zhejiang, China;

2. Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The aim of the study is to explore the antioxidant activity of *Porphyra Haitanensis* polysaccharide with different molecular weight *in vivo*, and therefore provide theoretical basis for the optimizations and application of development techniques of low-value *Porphyra Haitanensis*. Through ultrafiltration, five polysaccharides with different molecular masses were extracted from four ultrafiltration membranes with different molecular weight cut, PPⅡ and PPⅣ of them were used in antioxidant activity study as their had strong *in vivo* activity. The results showed that: after 60 days when the mice were injected with D-galactose continuously, the activities of SOD, GSH-Px and CAT in the liver tissue, brain tissue and blood of the mice in the aging model group all decreased significantly. MDA content, on the other hand, significantly increased. Which indicated the aging mice model was suited to the study. Moderate and high dose groups of PPⅡ and PPⅣ could significantly improve the SOD, GSH-Px and CAT activities in the liver tissue, brain tissue and blood to varying degrees. Similar doses also reduced the MDA content. Taken together these data suggest a preferable antioxidant effect. However, most of the antioxidant indexes of PPⅣ group were obviously better than those of PPⅡ group. Above results will benefit to the deep-processing of *Porphyra Haitanensis*.

Key words: *Porphyra Haitanensis*; polysaccharide; ultrafiltration; antioxidant activity *in vivo*; aging model

引文格式:

应苗苗, 施文正, 权伟. 不同分子量坛紫菜多糖体内抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, 2019, 40(10): 43-49

YING Miaomiao, SHI Wenzheng, QUAN Wei. Antioxidant Activity of *Porphyra Haitanensis* Polysaccharide with Different Molecular Weight *in vivo*[J]. Food Research and Development, 2019, 40(10): 43-49

多糖是一种普遍存在于许多植物组织、动物骨骼^[1]及真菌体内^[2]的大分子活性物质,具有降血糖^[3]、抗肿瘤^[4]、抗辐射^[5-6]、抗氧化^[7-8]、增强免疫力^[9]等生理活性,因此多糖作为天然抗氧化剂具很高的医药开发价值。当前,海藻功能性类多糖已经成为一个新的研究领域。

坛紫菜是我国及东南亚地区常见的主要紫菜栽培品种之一,研究表明不同分子量的紫菜多糖具有不同的体外抗氧化活性^[10-11],但有关不同分子量坛紫菜多糖体内抗氧化活性的报道则较少。作者在前期研究基础上,采用超滤法将坛紫菜粗多糖进行分离,通过4种不同截留分子量的超滤膜得到5种不同分子量的多糖:PP I、PP II、PP III、PP IV和PP V,通过对5种不同分子量的多糖进行了体外抗氧化活性分析,实验结果表明坛紫菜多糖PP II和PP IV对自由基清除能力较强,因此本论文通过建立衰老动物模型,主要研究坛紫菜多糖PP II和PP IV不同剂量下对实验小鼠肝脏组织、脑组织和血液中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)、过氧化氢酶(catalase, CAT)活性及丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量的影响,探讨坛紫菜多糖的体内抗氧化活性,以期坛紫菜多糖的利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

坛紫菜样品:产自浙江省温州市洞头县东海海域。

SOD试剂盒(WST-1法)、GSH-PX测试盒(100T/486样)、CAT试剂盒(100T/96样)、MDA(100T/96样)试剂盒:南京建成生物工程研究所;三氯乙酸、无水乙醇、D-半乳糖(分析纯):国药集团化学试剂有限公司。

R206旋转蒸发仪:上海申生科技有限公司;UV/V-16/18-型紫外分光光度计:上海美谱达仪器有限公司;Sartorius天平:北京赛多利斯天平有限公司;HWS-24数显恒温水浴锅:上海慧泰仪器制造有限公司;H2050R-台式高速冷冻离心机:长沙湘仪离心机仪器有限公司;ALPHA 2-4真空冷冻干燥机:德国Christ公司;W100循环水式多用真空泵:上海申胜生物技术有限公司;JYS-M01粉碎机:九阳股份有限公司;Vivaflow 200超滤系统:德国赛多利斯生物技术有限公司;冰箱:青岛海尔电冰箱有限公司。

1.2 方法

1.2.1 不同分子量段坛紫菜多糖的提取与制备

称取一定量的坛紫菜粉末,按液料比50:1(mL/g)

加入蒸馏水,100℃水浴保温2h,减压抽滤后滤渣重复上述操作一次,合并两次多糖提取液,三氯乙酸除蛋白后分别透过分子截留量为100 000、50 000、10 000、5 000 Da的超滤系统(Sartorius stedim, Vivaflow 200),将多糖提取物按分子量大小分为MW≥100 000 Da(PP I)、50 000 Da~100 000 Da(PP II)、10 000 Da~50 000 Da(PP III)、5 000 Da~10 000 Da(PP IV)、MW≤5 000 Da(PP V)五部分。各部分在负压0.01MPa、温度50℃的条件下旋转蒸发浓缩至原提取液的1/5,加入4倍体积无水乙醇,边加边搅拌,沉淀多糖,而后置于4℃冰箱中过夜,析出的絮状物沉淀4 000 r/min离心15 min,收集沉淀物后真空冷冻干燥,得到不同分子量段的多糖样品。

1.2.2 动物模型建立

昆明小鼠90只,饲养一周熟悉环境后将小鼠分为9组,每组10只,随机分为正常对照组、衰老模型组、维生素E组、坛紫菜多糖PP II低剂量组、中剂量组、高剂量组和PP IV低剂量组、中剂量组、高剂量组。除正常对照组外,其余8组每天按时皮下注射D-半乳糖100 mg/(kg·bw·d)建立模型,建模的同时给予相应剂量的多糖溶液灌胃。给药剂量分别为维生素E组200 mg/(kg·bw·d),坛紫菜多糖PP II和PP IV的低剂量组、中剂量组、高剂量组均分别为100、150、200 mg/(kg·bw·d)。正常对照组和衰老模型组根据小鼠体重给予相应体积的生理盐水。每天给药1次,每周称体重1次以调整给药剂量,连续给药60 d。最后一次给药后,所有的小鼠均禁食不禁水24 h,眼眶取血于抗凝血管中放入-80℃冰箱冷冻,断颈处死后取肝脏组织和脑组织在预冷的生理盐水(0.9%)中漂洗,洗净表面的血迹,滤纸吸干水分,称重后放入50 mL离心管中。加入体积是组织块重量9倍的冷生理盐水,用眼科小剪刀迅速剪碎组织,冰水浴组织捣碎机制备组织匀浆液,4℃下3 500 r/min离心10 min,取10%匀浆上清液按照试剂盒说明书测定各抗氧化指标。

1.2.3 各项抗氧化指标的测定

1.2.3.1 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的测定

1)试剂盒的配制。试剂1:贮备液每瓶2 mL,移液枪准确移取0.1 mL,加入9.9 mL双蒸水,稀释100倍,现用现配;试剂2:甲粉剂一瓶,乙液每瓶50 mL,甲粉剂加入预先加热至90℃~100℃的热双蒸水170 mL,充分溶解后加入乙液混合均匀。次为过饱和溶液,取上清进行试验,2℃~8℃保存;试剂3:粉剂,每瓶加双蒸水至200 mL溶解;试剂4:粉剂,每瓶加双蒸水至50 mL溶解,避光冷藏保存;试剂5:粉剂,每支加

10 mL 双蒸水充分溶解,避光冷藏保存;试剂 6:GSH 标准品粉剂,冷藏保存。

2)最佳取样浓度的测定:由于酶的百分抑制率与酶的活力呈抛物线关系,并且样品种类不同,其最佳取样浓度也不同,GSH-Px 的活力也不同。当酶的百分抑制率在 45 %~55 %之间时,样品浓度可认为是最佳取样浓度,所以在测定前要做预实验以确定最佳取样浓度。

分别取 10 %的组织匀浆用生理盐水稀释成 1.0 %、0.5 %、0.4 %、0.3 %、0.25 %、0.2 %、0.1 %、0.05 %一系列不同浓度组织匀浆 0.2 mL 按表 1 进行测定。

表 1 酶反应试剂表 Table 1 Reagent of enzyme reaction		
试剂	非酶管(对照管)	酶管(测定管)
1 mmol/L GSH/mL	0.2	0.2
不同浓度组织匀浆液/mL		0.2
37 ℃水浴 5 min		
试剂 1 应用液/mL	0.1	0.1
37 ℃准确反应 5 min		
试剂 2/mL	2	2
相应浓度匀浆液/mL	0.2	

混匀,3 500 r/min 离心 15 min,取上清液 1 mL 做显色反应,见表 2。

表 2 显色反应试剂表 Table 2 Reagent of color reaction				
试剂	空白管	标准管	非酶管	酶管
GSH 标准品溶剂应用液/mL	1			
20 μmol/LGSH 标准品/mL		1		
上清液/mL			1	1
试剂 3 应用液/mL	1	1	1	1
试剂 4 应用液/mL	0.25	0.25	0.25	0.25
试剂 5 应用液/mL	0.05	0.05	0.05	0.05

充分摇匀,室温静置 15 min 后,在波长 412 nm 下,双蒸水调零,测定各管吸光度值。

抑制率/%=(对照管 OD-测定管 OD)/对照管 OD×100

将测得的各管 OD 值带入上述公式计算抑制率,选取抑制率在 45 %~55 %之间的浓度作为最佳浓度进行后续 GSH-Px 含量的测定。经计算,肝脏组织和脑组织的最佳取样浓度为 0.5 %的匀浆液,全血的最佳取样浓度为 0.67 %。

1.2.3.2 过氧化氢酶(CAT)含量的测定

测定原理:过氧化氢酶(CAT)分解过氧化氢的反应由于钼酸铵的加入而迅速终止,未反应完的过氧化氢与钼酸铵结合产生一种淡黄色的络合物,这种络合

物在波长为 405 nm 处有最大吸收,测定其吸光度值,可以计算出 CAT 的相应活力。

试剂盒的配制:

试剂 1:液体 100 mL,4 ℃冷藏。

试剂 2:底物液体 10 mL,4 ℃冷藏。

试剂 3:显色粉剂,加入 100 mL 双蒸水充分溶解,4 ℃冷藏保存。

试剂 4:液体 10 mL,4 ℃冷藏。

组织样本(肝脏组织、脑组织)操作步骤见表 3。

表 3 组织样本操作表 Table 3 Sample operation of animal tissue		
试剂	对照管	测定管
组织匀浆液/mL		0.05
试剂 1(37 ℃预温)/mL	1.0	1.0
试剂 2(37 ℃预温)/mL	0.1	0.1
各管混匀后,37 ℃准确反应 60 s		
试剂 3/mL	1.0	1.0
试剂 4/mL	0.1	0.1
组织匀浆液/mL	0.05	

混匀后,405 nm 处测定各管吸光度值,0.5 cm 光程,双蒸水调零。

全血的检测:1 %溶血液的制备(取 50 μL 全血加双蒸水至 5 mL 充分混匀后放置 10 min,待测)。操作步骤见表 4。

表 4 组织样本操作表 Table 4 Sample operation of animal blood			
试剂	空白对照管	测定管	自身对照管
双蒸水/mL	0.05		2.1
1 %溶血液/mL		0.05	0.05
试剂 1(37 ℃预温)/mL	1.0	1.0	
试剂 2(37 ℃预温)/mL	0.1	0.1	
各管混匀后,37 ℃准确反应 60 s			
试剂 3/mL	1.0	1.0	

混匀后,波长 405 nm 处测定各管吸光度值,0.5 cm 光程,双蒸水调零。

1.2.3.3 超氧化物歧化酶(SOD)含量的测定

试剂 1:缓冲液,15 mL,2 ℃~8 ℃保存。

试剂 2:底物贮备液,0.15 mL,2 ℃~8 ℃保存。

试剂 3:酶贮备液,0.30 mL,2 ℃~8 ℃保存。

试剂 4:酶稀释液,4 mL,2 ℃~8 ℃保存。

操作步骤见表 5。

混匀,37 ℃孵育 20 min,波长 450 nm,酶标仪测定吸光度值。

表5 SOD测定操作表

Table 5 Operation of SOD determination

试剂	对照孔	对照空白孔	测定孔	测定空白孔
待测样本/ μL			20	20
双蒸水/ μL	20	20		
酶工作液/ μL	20		20	
酶稀释液/ μL		20		20
底物应用液/ μL	200	200	200	200

1.2.3.4 丙二醛(MDA)含量的测定

MDA 各试剂配制:试剂 1(液体 20 mL,室温保存);试剂 2(液体 12 mL,加 170 mL 超纯水混匀,4℃冷藏);试剂 3(粉剂,加入 90℃~100℃的热双蒸水 30 mL,充分溶解后再加入 30 mL 的冰醋酸,混合均匀,避光冷藏);标准品(10 nmol/mL 四乙氧基丙烷 5 mL,4℃冷藏)。

操作步骤见表 6。

表6 MDA测定操作表

Table 6 Operation of MDA determination

试剂	空白管	标准空白管	测定管	测定空白管
10 nmol/mL 标准品/mL		0.1		
无水乙醇/mL	0.1			
测试样品/mL			0.1	0.1
试剂 1/mL	0.1	0.1	0.1	0.1
混匀				
试剂 2/mL	3.0	3.0	3.0	3.0
试剂 3/mL	1.0	1.0	1.0	
50 %冰醋酸/mL				1.0

表7 PP II对衰老模型组小鼠 SOD、CAT、GSH-Px 和 MDA 的影响($\bar{X}\pm S$, n=10)Table 7 Effects of PP II on SOD, CAT, GSH-Px and MDA in tested organs in aged mice($\bar{X}\pm S$, n=10)

参数	项目	正常组	模型组	PP II 低剂量组	PP II 中剂量组	PP II 高剂量组	V_E 组
SOD/(U/mgprot)	肝脏	47.03 $\pm$ 0.11 ^b	36.14 $\pm$ 0.69 ^a	48.00 $\pm$ 0.00 ^b	48.98 $\pm$ 0.96 ^b	49.05 $\pm$ 0.48 ^c	57.64 $\pm$ 1.43 ^c
	脑	48.03 $\pm$ 2.08 ^b	37.83 $\pm$ 1.80 ^a	47.70 $\pm$ 0.40 ^b	49.97 $\pm$ 0.40 ^b	60.13 $\pm$ 1.42 ^c	65.17 $\pm$ 5.29 ^c
	全血	22.96 $\pm$ 1.80 ^a	18.61 $\pm$ 0.06 ^a	25.50 $\pm$ 0.45 ^a	32.99 $\pm$ 5.21 ^b	35.04 $\pm$ 0.30 ^b	43.69 $\pm$ 6.41 ^b
CAT/(U/mgprot)	肝脏	60.56 $\pm$ 4.27 ^c	42.75 $\pm$ 2.70 ^a	53.41 $\pm$ 7.26 ^{ab}	80.67 $\pm$ 6.54 ^d	75.04 $\pm$ 1.56 ^d	79.77 $\pm$ 3.84 ^d
	脑	32.61 $\pm$ 3.98 ^b	28.65 $\pm$ 0.74 ^b	17.30 $\pm$ 1.77 ^a	21.88 $\pm$ 1.77 ^a	45.33 $\pm$ 1.03 ^c	30.63 $\pm$ 1.47 ^b
	全血	28.05 $\pm$ 3.13 ^b	23.68 $\pm$ 5.29 ^b	10.28 $\pm$ 1.12 ^a	29.90 $\pm$ 1.77 ^b	28.16 $\pm$ 2.09 ^b	32.11 $\pm$ 5.89 ^b
GSH-Px/(U/mgprot)	肝脏	124.40 $\pm$ 4.26 ^b	50.20 $\pm$ 14.20 ^a	71.19 $\pm$ 2.58 ^a	141.47 $\pm$ 3.87 ^b	145.13 $\pm$ 4.01 ^b	189.85 $\pm$ 15.49 ^c
	脑	127.64 $\pm$ 14.71 ^{bc}	59.56 $\pm$ 12.03 ^a	88.87 $\pm$ 8.02 ^{ab}	118.18 $\pm$ 6.69 ^{bc}	135.20 $\pm$ 7.74 ^{bc}	156.95 $\pm$ 29.42 ^d
	全血	119.26 $\pm$ 12.17 ^b	90.98 $\pm$ 3.48 ^b	61.48 $\pm$ 10.43 ^a	110.66 $\pm$ 10.43 ^b	116.80 $\pm$ 5.22 ^b	148.77 $\pm$ 5.22 ^c
MDA/(nmol/mgprot)	肝脏	11.48 $\pm$ 2.67 ^b	18.50 $\pm$ 1.00 ^c	10.45 $\pm$ 1.21 ^b	8.57 $\pm$ 0.48 ^b	7.37 $\pm$ 0.73 ^b	2.06 $\pm$ 0.00 ^a
	脑	12.95 $\pm$ 3.26 ^{ab}	21.12 $\pm$ 2.26 ^b	21.47 $\pm$ 3.76 ^b	11.53 $\pm$ 4.27 ^a	6.74 $\pm$ 1.00 ^a	4.97 $\pm$ 0.00 ^a
	全血	15.38 $\pm$ 2.18 ^a	24.62 $\pm$ 2.18 ^{ab}	27.69 $\pm$ 4.35 ^c	21.54 $\pm$ 2.18 ^{ab}	18.46 $\pm$ 2.18 ^a	17.69 $\pm$ 1.09 ^a

注:同一行中不同组别间标以不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.2 坛紫菜多糖 PPIV对衰老模型组小鼠的影响

给小鼠连续皮下注射 D-半乳糖 8 周后,坛紫菜多糖 PPIV对衰老模型组小鼠抗氧化活性的影响,如表 8 所示。与正常对照相比,模型组实验小鼠肝脏组织中

各管充分混匀,置于 95℃水浴锅中保温 40 min,取出后自来水淋洗冷却到室温,4 000 r/min 离心 10 min,取上清液,测定波长 532 nm,1 cm 光径,双蒸水调零,然后测定各管吸光度值。

1.3 数据处理

所有测定结果表示为平均数 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD)($n\geq 3$),采用 SPSS16.0 软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),以 $P<0.05$ 作为差异的显著性水平。

2 结果与分析

2.1 坛紫菜多糖 PP II对衰老模型组小鼠的影响

坛紫菜多糖 PP II对衰老模型组小鼠抗氧化活性的影响,如表 7 所示。给小鼠连续皮下注射 D-半乳糖 60 d 后,与正常对照组相比,模型组小鼠肝脏组织和脑组织中 SOD 和 GSH-Px 活性及肝脏组织中 CAT 活性显著降低($P<0.05$),MDA 含量显著升高($P<0.05$),说明模型建立成功。与模型组相比,坛紫菜多糖 PP II 中剂量组和高剂量组均能显著提高实验小鼠肝脏、脑组织和血液中 SOD 活性,且高剂量组 SOD 活性与 V_E 组活性相当;PP II 中剂量组、高剂量组肝脏组织和脑组织中 CAT 含量显著升高,GSH-PX 活性显著升高,MDA 含量显著下降,差异均有统计学意义($P<0.05$)。坛紫菜多糖 PP II 在低剂量时,与模型组相比,大部分的抗氧化指标均不具有统计学意义的差异,无明显的抗氧化能力。

SOD、GSH-Px 活性和脑组织中 CAT 活性显著降低($P<0.05$),MDA 含量显著增加。与模型组小鼠相比,坛紫菜多糖 PPIV低剂量组、中剂量组、高剂量组肝脏组织和脑组织中 SOD 活性显著升高,且随着剂量的增加,呈现

表 8 PPIV对衰老模型组小鼠 SOD、CAT、GSH-Px 和 MDA 的影响($\bar{X}\pm S$, n=10)
Table 8 Effects of PPIV on SOD, CAT, GSH-Px and MDA in tested organs in aged mice ($\bar{X}\pm S$, n=10)

参数	项目	正常组	模型组	PPIV低剂量组	PPIV中剂量组	PPIV高剂量组	V _E 组
SOD/(U/mgprot)	肝脏	47.03±0.11 ^b	36.14±0.69 ^a	49.39±0.57 ^b	48.92±1.24 ^c	49.32±0.48 ^d	57.64±1.43 ^c
	脑	48.03±2.08 ^b	37.83±1.80 ^a	49.47±0.90 ^b	60.13±3.64 ^c	76.90±3.74 ^d	65.17±5.29 ^c
	全血	22.96±1.80 ^{ab}	18.61±0.06 ^a	26.56±0.55 ^{ab}	41.71±5.00 ^c	46.96±2.12 ^d	43.69±6.41 ^d
CAT/(U/mgprot)	肝脏	60.56±4.27 ^b	42.75±2.70 ^a	46.07±6.26 ^a	68.40±3.70 ^{bc}	94.05±0.28 ^c	79.77±3.84 ^c
	脑	32.61±3.98 ^a	28.65±0.74 ^a	34.38±6.78 ^a	26.57±3.68 ^a	49.70±4.57 ^b	30.63±1.47 ^a
	全血	28.05±3.13 ^{bc}	23.68±5.29 ^{abc}	13.76±0.07 ^a	19.00±1.04 ^{ab}	35.64±0.89 ^d	32.11±5.89 ^d
GSH-Px/(U/mgprot)	肝脏	124.40±4.26 ^c	50.20±14.20 ^a	91.27±7.74 ^b	140.56±12.91 ^c	193.50±10.70 ^d	189.85±15.49 ^d
	脑	127.64±14.71 ^{bc}	59.56±12.03 ^a	93.60±6.69 ^{ab}	171.13±6.69 ^c	177.75±9.04 ^c	156.95±29.42 ^c
	全血	119.26±12.17 ^b	90.98±3.48 ^a	93.60±12.17 ^a	151.23±5.22 ^c	152.46±10.43 ^c	148.77±5.22 ^c
MDA/(nmol/mgprot)	肝脏	11.48±2.67 ^c	18.50±1.45 ^d	9.94±0.48 ^c	6.51±0.48 ^b	3.60±0.73 ^{ab}	2.06±0.00 ^a
	脑	12.95±3.26 ^b	21.12±2.26 ^c	12.60±0.25 ^b	8.34±1.25 ^{ab}	4.79±1.76 ^a	4.97±0.00 ^a
	全血	15.38±2.18 ^{ab}	24.62±2.18 ^{bc}	28.46±5.44 ^d	19.00±0.76 ^b	9.23±2.18 ^a	17.69±1.09 ^b

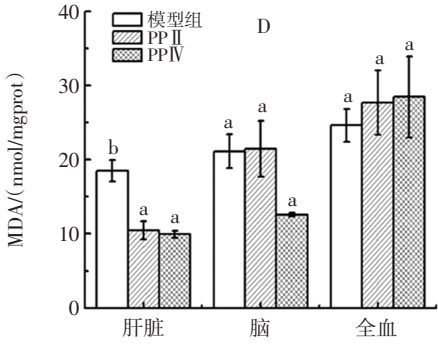
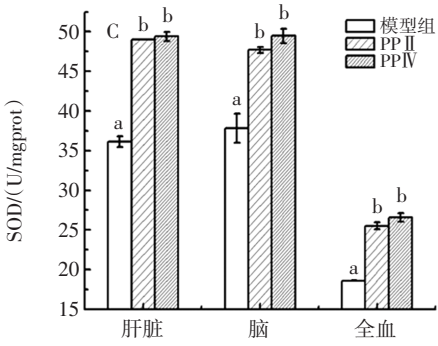
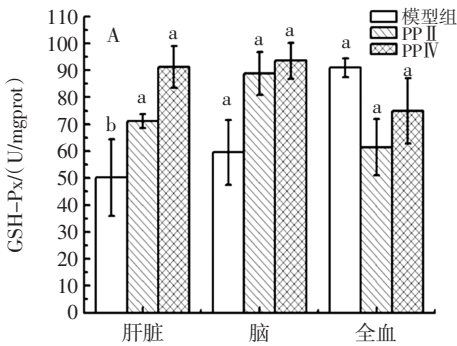
注:同一行中不同组别间标以不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

一定的量效关系;高剂量组肝脏、脑组织和血液中 CAT 含量显著提高;中剂量组和高剂量组肝脏组织、脑组织、血液中 SOD 活性显著升高,MDA 含量显著下降,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。高剂量组各抗氧化活性指标与 V_E 组活性相当,具有较好的抗氧化活性。

2.3 剂量相同时多糖抗氧化活性的比较

2.3.1 低剂量时抗氧化活性的比较

低剂量时各组实验小鼠肝脏组织、脑组织和血液中 GSH-Px 活性、CAT 活性、SOD 活性及 MDA 含量如图 1 所示。



A. GSH-Px 活性; B. CAT 活性; C. SOD 活性; D. MDA 含量; 不同小写字母表示在 $P<0.05$ 水平差异显著。

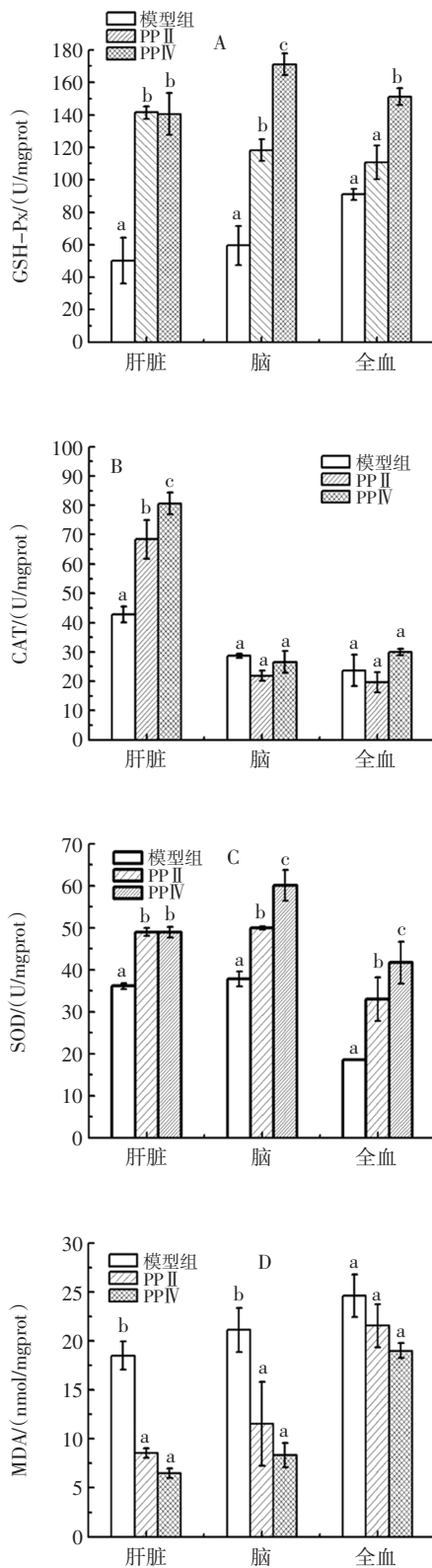
图 1 PP II 和 PPIV 低剂量组抗氧化活性的比较

Fig.1 The antioxidant effect of PP II and PPIV at low dosage

与衰老模型组相比,坛紫菜多糖 PP II 和 PPIV 低剂量组肝脏组织中 GSH-Px、SOD 活性显著升高 ($P<0.05$),MDA 含量显著下降,PP II 和 PPIV 低剂量组两组相比,各组织中大部分抗氧化指标均不具有统计学意义上的差异。

2.3.2 中剂量时抗氧化活性的比较

PP II 和 PPIV 中剂量组抗氧化活性的比较见图 2。



A. GSH-Px 活性; B. CAT 活性; C. SOD 活性; D. MDA 含量; 不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平差异显著。

图2 PP II 和 PPIV 中剂量组抗氧化活性的比较

Fig.2 The antioxidant effect of PP II and PPIV at medium dosage

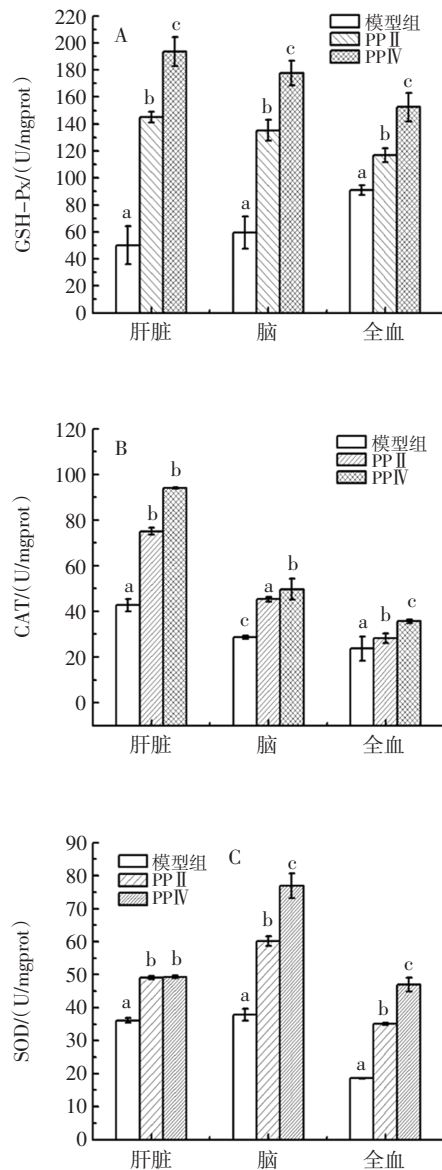
从图2可以看出与衰老模型组相比,坛紫菜多糖

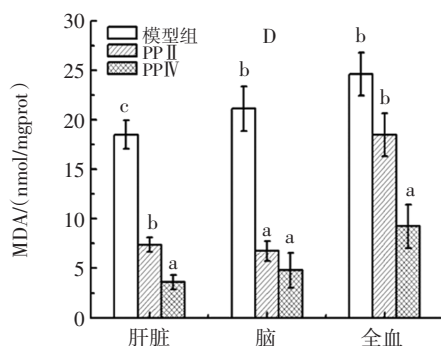
PP II 和 PPIV 中剂量组肝脏组织、脑组织中 GSH-Px、SOD 活性显著升高,MDA 含量显著下降,肝脏组织 CAT 含量显著升高;在相同剂量下,PP IV 中剂量组脑组织和血液中 GSH-Px、SOD 含量显著增加,CAT 和 MDA 含量无显著性差异。可见,在中剂量组,PP IV 组抗氧化活性较高,抗氧化能力显著优于 PP II 组。

2.3.3 高剂量时抗氧化活性的比较

高剂量时,PP II 和 PPIV 组的各项抗氧化指标如图3所示。

与衰老模型组相比,肝脏组织、脑组织和血液中 GSH-Px、CAT、SOD 活性均显著增加,MDA 含量显著下降,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。PP IV 高剂量组和 PP II 高剂量组相比,肝脏组织中 GSH-Px 活性显著升高、MDA 含量显著下降;脑组织中 GSH-Px、CAT、SOD 活性均显著高于 PP II 组;血液中 GSH-Px、CAT、





A. GSH-Px 活性; B. CAT 活性; C. SOD 活性; D. MDA 含量; 不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平差异显著。

图3 PP II 和 PP IV 高剂量组抗氧化活性的比较

Fig.3 The antioxidant effect of PP II and PP IV at high dosage

SOD 活性均显著高于 PP II 组,MDA 含量显著低于 PP II 组,且具有统计学意义上的差异,综上所述,PP IV 组各项抗氧化指标优于 PP II,显示出较好的抗氧化能力。

3 结论与讨论

近年来,抗氧化活性是多糖的研究热点之一;自由基是机体氧化反应中产生的一类有害化合物^[11],一定情况下会对机体的组织和细胞造成损伤,进而引起慢性疾病及衰老效应^[12]。天然多糖作为一种具有抗氧化活性的物质,与化学合成抗氧化剂相比,具有无毒、生物相容性好等优点^[13]。

SOD、GSH-Px、CAT 是生物体内几种重要的抗氧化酶,可以有效清除氧自由基,保护生物体细胞避免氧化损伤;MDA 是生物膜脂质过氧化的降解产物,是反映过氧化损伤的常用指标。抗氧化剂可以提高体内抗氧化酶(SOD、GSH-Px、CAT)的活性,清除体内自由基和脂质过氧化物,从而有效减轻自由基引起机体产生癌变、衰老和慢性疾病,增强机体免疫能力,延缓衰老^[14]。

张全斌等通过建立衰老模型动物试验,研究坛紫菜多糖的抗氧化能力,结果表明,坛紫菜多糖 F1 具有良好的清除自由基的作用,能够明显提高实验小鼠组织内 SOD 活性和 GSH-Px 的活性。

本研究采用超滤法将坛紫菜粗多糖进行分离,通过 4 种不同截留分子量的超滤膜得到 5 种不同分子量的多糖:PP I、PP II、PP III、PP IV 和 PP V,前期实验结果表明坛紫菜多糖 PP II 和 PP IV 对自由基清除能力较强,故本研究主要探讨这两种多糖的体内抗氧化活性。实验结果表明,衰老模型组小鼠在连续注射 D-半

乳糖 60 d 后,肝脏组织、脑组织和血液中 SOD、GSH-Px、CAT 活性均显著下降,MDA 含量显著升高,说明本实验中的衰老模型建立成功。PP II 和 PP IV 的中剂量组和高剂量均组能不同程度显著提高肝脏组织、脑组织和血液中 SOD 活力、GSH-Px 活力和 CAT 活力,显著降低 MDA 含量,表现出较好的抗氧化作用,但是 PP IV 组大部分抗氧化指标明显优于 PP II,坛紫菜多糖抗氧化机制及量效关系还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 范巧云,李朝品,王克霞. 海洋动物多糖生物学作用研究新进展[J]. 中国病原生物学杂志, 2012, 11(7): 876-876
- [2] 聂永心. 黄伞子实体多糖的分离纯化, 结构鉴定及生物活性的研究[D]. 泰安:山东农业大学, 2011
- [3] 周利亘,王春辉,王君虹,等. 紫菜多糖的分离纯化及生物学功能研究进展[J]. 粮油食品科技, 2006, 14(4): 67-69
- [4] 张杰,杨旭东,王崴. 条斑紫菜多糖对人肝癌 Bel7402 抗肿瘤作用的初步研究[J]. 中国食物与营养, 2010(8): 82-84
- [5] Shi J, Cheng C, Zhao H, et al. *In vivo* anti-radiation activities of the *Ulva pertusa* polysaccharides and polysaccharide-iron (III) complex [J]. International journal of biological macromolecules, 2013, 60: 341-346
- [6] 郑飞. 蓝莓多糖对衰老小鼠运动耐力及抗疲劳效果研究[J]. 食品科学, 2014, 35(21): 249-252
- [7] Zhao Z Y, Zhang Q, Li Y F, et al. Optimization of ultrasound extraction of *Alisma orientalis* polysaccharides by response surface methodology and their antioxidant activities[J]. Carbohydrate Polymers, 2015, 119: 101-109
- [8] Zhou C, Yu X, Zhang Y, et al. Ultrasonic degradation, purification and analysis of structure and antioxidant activity of polysaccharide from *Porphyra yezoensis* Ueda[J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 87(3): 2046-2051
- [9] Li C, Huang Q, Fu X, et al. Characterization, antioxidant and immunomodulatory activities of polysaccharides from *Prunella vulgaris* Linn.[J]. International journal of biological macromolecules, 2015, 75: 298-305
- [10] 赵婷婷. 不同分子量坛紫菜多糖的制备及其抗衰老活性研究[D]. 青岛:中国科学院研究生院(海洋研究所), 2007
- [11] 郝杰,查学强,鲍素华,等. 霍山石斛不同分子量多糖体外抗氧化研究[J]. 食品科学, 2009, 30(15): 94-98
- [12] Marx J L. Oxygen free radicals linked to many diseases[J]. Science, 1987, 235(5259): 529-531
- [13] 鲍素华,查学强,郝杰,等. 不同分子量铁皮石斛多糖体外抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2009, 30(21): 123-127
- [14] 李广富,陈伟,范路平,等. 茶树菇多糖酸奶的抗氧化活性与抗衰老研究[J]. 现代食品科技, 2015, 31(10): 140-146