

Life Prolonging and Antioxidant Effects of *Cordyceps guangdongensis* Wine

Yun Wu, Zhendong Xu, Jianfeng Hu, Jiaqi Shen, Meizhen Fan*

Zhejiang Bioasia Health Food Co., Ltd., Pinghu Zhejiang
Email: zdxu@bioasia.com.cn, *fmz@bioasia.com.cn

Received: Apr. 5th, 2020; accepted: Apr. 19th, 2020; published: Apr. 26th, 2020

Abstract

This paper studied the life prolonging and antioxidant effects of *Cordyceps guangdongensis* wine. Through the life test of fruit fly and the determination of SOD activity and MDA content in the fruit fly, we find that the *Cordyceps guangdongensis* wine had a certain effect on prolonging the average life span, half death time and maximum life span of male and female *Drosophila*, and increasing the SOD activity and reducing the MDA content in *Drosophila*. For female *Drosophila*, the 0.5% dose of *Cordyceps guangdongensis* wine prolonging life and antioxidant effect was significant ($p < 0.05$), and for male *Drosophila*, the effect of 5% dose was more significant ($p < 0.05$). The results show that under this experimental condition, *Cordyceps guangdongensis* wine has obvious life prolonging and antioxidant effects, and the optimal dosage of male and female *Drosophila* is different.

Keywords

Cordyceps guangdongensis Wine, Prolong Life, Antioxidant

广东虫草酒延寿及抗氧化作用的研究

吴云, 徐振栋, 胡建峰, 沈佳奇, 樊美珍*

浙江泛亚保健食品有限公司, 浙江 平湖
Email: zdxu@bioasia.com.cn, *fmz@bioasia.com.cn

收稿日期: 2020年4月5日; 录用日期: 2020年4月19日; 发布日期: 2020年4月26日

摘要

本文探讨了广东虫草酒的延寿及抗氧化作用。通过果蝇寿命实验及果蝇体内SOD活性、MDA含量测定,发现广东虫草酒对雌雄果蝇的平均寿命,半数死亡时间及最高寿命均有一定的延长作用,并且提高了果

*通讯作者。

蝇体内的SOD活性,降低了MDA含量。其中,对于雌果蝇,0.5%剂量的广东虫草酒延寿及抗氧化效果显著($p < 0.05$),而对于雄果蝇,5%剂量的效果更显著($p < 0.05$)。实验结果证明,在该实验条件下,广东虫草酒具有明显的延寿及抗氧化作用,且雌雄果蝇的最适剂量有所不同。

关键词

广东虫草酒, 延长寿命, 抗氧化

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

广东虫草(*Cordyceps guangdongensis*)是2005年在广东发现的,2008年发表的虫草类食用真菌[1]。2013年1月,广东虫草子实体被国家卫生部正式批准为新资源食品。目前的研究发现其具有良好的抗疲劳[2]、延寿[3]、抗氧化[4]、抗禽流感病毒[5]、防治慢性肾衰竭[6]及免疫调节[7]等作用。

本研究将不同剂量广东虫草酒添加到果蝇基础培养基中饲养果蝇,以探究不同剂量广东虫草酒对果蝇寿命的延长作用,随后通过测定各组果蝇组织匀浆中超氧化物歧化酶(SOD)的活性及丙二醛(MDA)的含量来探究广东虫草酒的抗氧化作用。

2. 材料与方法

2.1. 材料

2.1.1. 供试材料

广东虫草酒:由浙江泛亚生物医药股份有限公司提供;黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)由中国科学院上海植物生理生态研究所提供。

2.1.2. 仪器与试剂

H1650-W 高速离心机:湖南湘仪离心机仪器有限公司;ME204 电子天平:梅特勒-托利多国际贸易有限公司;721 型分光光度计:上海佑科仪器仪表有限公司;HPX-300BSH-3 恒温恒湿培养箱:上海新苗医疗器械制造有限公司。

冰醋酸、无水乙醚:上海凌峰化学试剂有限公司;SOD 试剂盒、MDA 试剂盒、TP 试剂盒:南京建成生物工程公司。

2.2. 方法

2.2.1. 果蝇培养基的配置

基础培养基配方:玉米粉 108.5 g、琼脂 8.2 g、蔗糖 81.5 g、酵母粉 9.2 g、冰醋酸 6 ml、水 1000 ml。

配置方法:将琼脂 8.2 g,蔗糖 81.5 g,放入锅中,加入 100 ml 热水,搅拌溶解,然后加入 108.5 g 玉米粉,再加 800 ml 热水,充分搅拌,加热成糊状,关火;再加冰醋酸 5 ml 以及溶于 100 ml 凉水的 9.2 g 酵母粉,搅拌均匀,然后立即悬空装入培养管中,每管培养基高约 2 cm (大约 10 ml),盖上瓶塞,报纸封口,121℃ 高压蒸汽灭菌 30 min,置于超净台自然冷却,放置 2 d 使水汽蒸发,即获得基础培养基。灭菌后在培养基未凝固前加入特定量的样品,制成实验培养基。

2.2.2. 不同含量广东虫草酒对果蝇寿命影响的测定

以在基础培养基中分别添加 0.5%, 1%, 5% 的广东虫草酒样品饲养的果蝇为实验组, 以在基础培养基中分别添加 0.5%, 1%, 5% 的基酒样品饲养的果蝇为对照组, 以仅用基础培养基饲养的果蝇为空白对照组。选取 8 小时内羽化成虫的果蝇, 用乙醚麻醉后挑选出雌雄果蝇, 每个培养管饲喂 10 只果蝇, 雌雄分开, 各设置 3 个重复, 25℃ 恒温 60% 恒湿培养, 每天查看果蝇存活情况进行记录, 最后统计果蝇平均寿命, 半数死亡时间及最高寿命。

2.2.3. 不同含量广东虫草酒对果蝇体内 SOD 活性及 MDA 含量的影响

果蝇 1% 组织匀浆的制备: 以在基础培养基中分别添加 0.5%, 1%, 5% 的广东虫草酒样品饲养的果蝇为实验组, 以在基础培养基中分别添加 0.5%, 1%, 5% 的基酒样品饲养的果蝇为对照组, 以仅用基础培养基饲养的果蝇为空白对照组。选取 8 小时内羽化成虫的果蝇, 用乙醚麻醉后挑选出雌雄果蝇, 每个培养管饲喂 10 只果蝇, 雌雄分开, 各设置 3 个重复, 25℃ 恒温 60% 恒湿培养 30 天后准确称量每组果蝇的质量(精确到 0.001 g), 用 0.9% 的生理盐水充分研磨配制成 1% (w/V) 的果蝇组织匀浆, 并于 4000 r/min 离心 15 min, 取上清液备用。

果蝇组织中可溶性蛋白含量测定: 按照试剂盒说明书进行操作, 每组 3 个重复, 各取 50 ul 的 1% 果蝇组织匀浆, 进行蛋白含量测定。样本蛋白浓度按照下列公式计算。

$$\text{待测样本蛋白浓度(mgprot/ml)} = \frac{OD_{\text{测定}} - OD_{\text{空白}}}{OD_{\text{标准}} - OD_{\text{空白}}} \times \text{标准品浓度(mgprot/ml)}$$

果蝇组织中 SOD 活力的测定: 按照试剂盒说明书进行操作, 每组 3 个重复, 各取 50 ul 果蝇组织匀浆, 进行 SOD 活力测定。SOD 活力按照下列公式计算。

$$\text{SOD活力(U/mgprot)} = \frac{OD_{\text{测定}} - OD_{\text{空白}}}{OD_{\text{标准}} - OD_{\text{空白}}} \div 50\% \times \frac{\text{反应总体积}}{\text{取样量}} \times \text{相同匀浆浓度蛋白含量(mgprot/ml)}$$

果蝇组织中 MDA 含量的测定: 按试剂盒说明书操作, 每组 3 个重复, 各取 100 ul 果蝇组织匀浆, 进行 MDA 含量测定。MDA 含量按照下列公式计算。

$$\text{MDA含量(nmol/ml)} = \frac{OD_{\text{测定}} - OD_{\text{空白}}}{OD_{\text{标准}} - OD_{\text{空白}}} \times \text{标准品浓度(10 nmol/ml)} \times \text{相同匀浆浓度蛋白含量}$$

2.2.4. 数据统计分析

实验数据使用 SPSS Statistics 17.0 软件进行数据处理和分析, 实验结果用平均值±标准差表示。

3. 结果与分析

3.1. 广东虫草酒对果蝇寿命的影响

以在基础培养基中分别添加 0.5%, 1%, 5% 的广东虫草酒样品饲养的果蝇为实验组, 以在基础培养基中分别添加 0.5%, 1%, 5% 的基酒样品饲养的果蝇为对照组, 以仅用基础培养基饲养的果蝇为空白对照组, 按照 2.2.2 的方法评价了广东虫草酒对果蝇寿命的影响。实验结果如表 1 和表 2 所示。

从表 1 的结果来看, 对于雌果蝇来说, 培养基中加入的基酒越多, 果蝇的寿命越短, 甚而低于空白对照组; 而加入虫草后, 其能抵消基酒带来的寿命下降, 果蝇寿命普遍有所提高, 其中 0.5% 和 5% 虫草酒的两组相比于同添加量基酒组对果蝇平均寿命和半数死亡时间有显著提高($p < 0.05$)。而 1% 虫草酒组与 1% 基酒组相比, 对果蝇平均寿命和半数死亡时间的提升不够显著, 但其对果蝇最高寿命的提升具有显著性($p < 0.05$)。

Table 1. Effects of different treatments on the life span of female *Drosophila*
表 1. 不同处理对雌果蝇寿命的影响

处理	雌果蝇♀					
	平均寿命/d	提高率%	半数死亡时间/d	提高率%	最高寿命/d	提高率%
虫草酒 0.5%	78.15 ± 14.36a	18.36	80 ± 2.65a	10.6	94 ± 1.73a	8.46
虫草酒 1%	73.62 ± 11.08ab	11.49	76 ± 1.73ab	5.07	92.67 ± 2.52ab	6.92
虫草酒 5%	73.03 ± 14.2ab	10.6	74.33 ± 2.52b	2.77	91.67 ± 2.52abc	5.77
基酒 0.5%	68.60 ± 14.52bc	3.89	73 ± 1.73b	0.93	89.33 ± 3.79abc	3.07
基酒 1%	67.18 ± 24.34bc	1.74	71.67 ± 2.52bc	-0.91	86 ± 6.24c	-0.77
基酒 5%	63.93 ± 22.57c	-3.18	68.33 ± 3.51c	-5.53	85.67 ± 1.15c	-1.15
空白对照	66.03 ± 13.7bc	-	72.33 ± 1.53bc	-	86.67 ± 2.52bc	-

注: 表中 a、b、c 表示同性果蝇不同处理组间的显著性差异($p < 0.05$)。

与空白对照组比较, 当虫草酒添加量为 0.5% 时, 果蝇平均寿命、半数死亡时间、最高寿命均有显著性提升($p < 0.05$), 分别提高了 18.36%、10.6%、8.46%, 对雌果蝇寿命增加作用最强。

Table 2. Effects of different treatments on the life span of male *Drosophila*
表 2. 不同处理对雄果蝇寿命的影响

处理	雄果蝇♂					
	平均寿命/d	提高率%	半数死亡时间/d	提高率%	最高寿命/d	提高率%
虫草酒 0.5%	65.41 ± 11.84bc	0.53	67.33 ± 1.53c	-3.36	87.33 ± 2.52ab	4.8
虫草酒 1%	72.33 ± 18.25ab	11.17	73.33 ± 2.52ab	5.25	89.67 ± 2.52a	7.61
虫草酒 5%	75.72 ± 13.63a	16.38	76.67 ± 4.16a	10.05	92.33 ± 2.52a	10.8
基酒 0.5%	62.89 ± 16.60c	-3.33	65.67 ± 2.08c	-5.74	82 ± 2.65b	-1.6
基酒 1%	65.85 ± 19.72bc	1.21	69.33 ± 2.08bc	-0.49	83 ± 3b	-0.4
基酒 5%	69.50 ± 16.24abc	6.82	72.67 ± 2.08ab	4.31	84 ± 4b	0.8
空白对照	65.06 ± 13.59bc	-	69.67 ± 1.53bc	-	83.33 ± 3.21b	-

注: 表中 a、b、c 表示同性果蝇不同处理组间的显著性差异($p < 0.05$)。

从表 2 来看对于雄果蝇来说, 培养基中加入基酒越多, 果蝇的寿命越长。而加入虫草酒后, 果蝇寿命有所提高, 加入量越多, 果蝇寿命越长。相同添加量的虫草酒组和基酒组相比, 平均寿命和半数死亡时间均有所提高但未达到显著水平, 而 1%、5% 添加量的虫草酒组与基酒组相比对最高寿命有显著提升($p < 0.05$)。在供试范围内, 当虫草酒添加量为 5% 时, 果蝇平均寿命、半数死亡时间和最高寿命均最高, 且与空白对照组比较有显著性差异($p < 0.05$), 分别提高了 16.38%、10.05% 和 10.8%, 对雄果蝇寿命增加作用最强。

综上所述, 广东虫草酒对果蝇寿命有提升作用。对于雌果蝇, 加入 0.5% 的虫草酒时其寿命提升最高, 对于雄果蝇, 加入 5% 的虫草酒时其寿命提升最高。

3.2. 广东虫草酒对果蝇 SOD 活性和 MDA 含量的影响

以基础培养基饲养的果蝇为空白对照, 将在添加了不同数量样品培养基中培养了 30 d 的果蝇制成 1% 组织匀浆, 按照试剂盒的方法测定组织匀浆的 SOD 活力和 MDA 含量。测定结果如表 3 及表 4 所示。

Table 3. Effects of different treatments on SOD activity of *Drosophila*
表 3. 不同处理对果蝇 SOD 活力的影响

处理	雌果蝇 ♀		雄果蝇 ♂	
	SOD 活力/(U/mgprot)	提高率%	SOD 活力/(U/mgprot)	提高率%
虫草酒 0.5%	175.54 ± 6a	11.35	175.18 ± 9.37bc	1.14
虫草酒 1%	166.15 ± 4.34ab	5.39	181.98 ± 4.91b	5.06
虫草酒 5%	164.57 ± 4.5ab	4.39	193.61 ± 5.57a	11.78
基酒 0.5%	161.94 ± 7.79b	2.72	168.91 ± 3.96c	-2.48
基酒 1%	160.95 ± 9.31b	2.09	169.26 ± 5.37c	-2.28
基酒 5%	156.9 ± 5.28b	-0.48	178.88 ± 8.34bc	3.27
空白对照	157.65 ± 6.47b	-	173.21 ± 5.56bc	-

注：表中 a、b、c 表示同性果蝇不同处理组间的显著性差异($p < 0.05$)。

从表 3 中可以看出, 对于雌果蝇, 只有 0.5%虫草酒组相比于对应的基酒组和空白对照组体内的 SOD 活力有显著提升($p < 0.05$), 其比空白对照组提高了 11.35%, 其它组有所提升但不显著。对于雄果蝇, 1%和 5%虫草酒组均比相对应的基酒组对 SOD 活力有显著提升($p < 0.05$), 但与空白对照相比, 只有 5%虫草酒组 SOD 活力具有显著提升, 提升了 11.78%。

Table 4. Effects of different treatments on MDA content of *Drosophila*
表 4. 不同处理对果蝇 MDA 含量的影响

处理	雌果蝇 ♀		雄果蝇 ♂	
	MDA 含量/(nmol/mgprot)	降低率%	MDA 含量/(nmol/mgprot)	降低率%
虫草酒 0.5%	1.16 ± 0.07c	10.44	1.51 ± 0.08ab	-1.72
虫草酒 1%	1.21 ± 0.04bc	6.22	1.38 ± 0.04c	7.4
虫草酒 5%	1.21 ± 0.04bc	6.06	1.18 ± 0.03d	20.72
基酒 0.5%	1.27 ± 0.07abc	1.79	1.56 ± 0.02a	-4.75
基酒 1%	1.32 ± 0.09ab	-1.97	1.50 ± 0.03ab	-0.79
基酒 5%	1.34 ± 0.05a	-3.67	1.42 ± 0.10bc	4.78
空白对照	1.29 ± 0.05ab	-	1.49 ± 0.08abc	-

注：表中 a、b、c 表示同性果蝇不同处理组间的显著性差异($p < 0.05$)。

从表 4 结果来看, 雌果蝇 5%虫草酒组比相应基酒组对 MDA 含量显著降低, 但与空白对照组相比, 0.5%虫草酒组雌果蝇 MDA 含量降低显著, 降低了 10.44%。

对于雄果蝇, 1%, 5%虫草酒组比相应基酒组 MDA 含量均有显著降低($p < 0.05$), 且 5%虫草酒组雄果蝇的 MDA 含量相比空白对照组差异极显著($p < 0.01$), 降低了 20.72%。

综合 SOD 活力和 MDA 含量的结果来看, 广东虫草酒能提升 SOD 活力并降低 MDA 含量, 表明广东虫草酒具有抗氧化作用。其中 0.5%添加量的广东虫草酒对雌果蝇具有较高的抗氧化作用; 而对于雄果蝇, 5%添加量的广东虫草酒抗氧化作用更显著。

4. 结论与讨论

果蝇是双翅目果蝇属昆虫,因其具有繁殖快、周期短、繁殖多,且代谢途径、生理功能和发育阶段同哺乳动物相似等优势而常常作为模式动物被用于抗衰老研究[8]。超氧化物歧化酶(SOD)对机体氧化与抗氧化平衡起着至关重要的作用,其能清除超氧阴离子自由基(O_2^-)保护细胞免受损伤[9]。氧自由基攻击生物膜中的多不饱和脂肪酸,发生脂质过氧化作用,会形成丙二醛(MDA)等脂质过氧化物[10]。因此 SOD 的测定与 MDA 的测定能相互配合,前者反应机体清除氧自由基的能力,后者反应机体细胞受氧自由基攻击的损伤情况[11]。本研究采用果蝇作为实验动物,研究了广东虫草酒不同添加量对果蝇寿命的影响,并以超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)含量为指标探究了其抗氧化活性。

在对果蝇寿命影响方面,0.5%添加量的广东虫草酒显著提高了雌果蝇的平均寿命、半数死亡时间和最高寿命($p < 0.05$),分别比空白对照组提高了 18.36%、10.6%、8.46%;5%添加量的广东虫草酒显著地提高了雄果蝇的平均寿命、半数死亡时间和最高寿命,分别比空白对照组提高了 16.38%、10.05%和 10.8%;1%添加量的广东虫草酒显著提高了雄果蝇最高寿命。这些结果表明广东虫草酒具有延长果蝇寿命的作用,且雌雄果蝇延寿效果显著时广东虫草酒的添加量有所不同。

在抗氧化作用方面,0.5%添加量的广东虫草酒显著提高了雌果蝇体内 SOD 活力,并显著降低了其 MDA 含量,与空白对照相比分别提升和降低了 11.35%和 10.44%;5%添加量的广东虫草酒则显著提高了雄果蝇体内 SOD 活力,且对雄果蝇体内 MDA 含量降低显著,与空白对照组相比分别提升和降低了 11.78%和 20.72%。该结果表明,广东虫草酒对雌雄果蝇均表现出抗氧化作用,但添加量有所不同。

果蝇培养基内 0.5%, 1%, 5%的虫草酒添加量对应的人体每日推荐量(以体重 60 kg 计) [12]分别为 15 ml, 30 ml, 150 ml。因此,我们的研究结果还能作为制定合适的广东虫草酒每日推荐饮用量的一个依据。

参考文献

- [1] Lin, Q.Y., Li, T.H. and Song, B. (2008) *Cordyceps guangdongensis* sp. nov. from China. *Mycoetaxon*, **103**, 371-376.
- [2] Yan, W.J., Li, T.H., Lao, J.H., et al. (2013) Anti-Fatigue Property of *Cordyceps guangdongensis* and the Underlying Mechanisms. *Pharmaceutical Biology*, **51**, 614-620. <https://doi.org/10.3109/13880209.2012.760103>
- [3] 闫文娟, 李泰辉, 姜子德. 广东虫草抗疲劳及延长寿命作用[J]. 食品研究与开发, 2011, 32(3): 164-166.
- [4] 曾宏彬, 李泰辉, 宋斌, 等. 广东虫草抗氧化活性的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2009, 21: 201-204.
- [5] 闫文娟, 李泰辉, 姜子德. 广东虫草抗禽流感病毒的初步研究[J]. 食用菌学报, 2010, 17(3): 64-66.
- [6] Yan, W.J., Li, T.H. and Jiang, Z.D. (2012) Therapeutic Effects on Chronic Renal Failure of *Cordyceps guangdongensis*. *Mycosystema*, **31**, 432-442.
- [7] 闫文娟, 李泰辉. 广东虫草对免疫功能低下小鼠自然杀伤细胞活性的影响[J]. 食用菌学报, 2014(2): 78-81.
- [8] 王菊凤, 李鹤鸣. 蛹虫草多糖对果蝇种群期望寿命的影响[J]. 湖南农业科学, 2010(9).
- [9] 贾秀英, 陈志伟. 铜、镉对鲫组织超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 水生生物学报, 2003, 27(3): 323-325.
- [10] 刘洋. 不同运动训练强度对小鼠血清 MDA 含量和 SOD 活性的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2016(12): 231-233.
- [11] 楼丹飞, 王骁, 曹敏, 等. 超微细粉小复方对冠脉结扎大鼠血清 SOD、MDA 的影响[J]. 中华中医药学刊, 2012(1): 120-122.
- [12] 龚晨睿, 李新兰. 对保健食品延缓衰老作用实验方法的探讨[J]. 公共卫生与预防医学, 2000(3).