

保健食品的果蝇生存试验评价指标及影响因素的研究

厉曙光 张欣文
徐思红

上海铁道大学医学院 (200070)

摘 要 为完善果蝇生存试验的指标,对 23 种保健食品的黑腹果蝇生存试验进行评价中,发现有延缓衰老作用的占 65.2%,改用修改后的评价标准则其阳性率降至 52.5%。建议设 1 个对照组和 4 个浓度组,每组果蝇数增至 200 只,组间的浓度含量相差 3 倍为宜。

关键词 果蝇,黑腹 衰老 保健食品

黑腹果蝇属多细胞生物,具有生存期短、繁殖量大、饲养简便、反应灵敏等优点,且其代谢系统、生理功能、生长发育等同哺乳动物基本相似,因而国内有用果蝇进行衰老、寿命方面的研究报道。^[1~3]在卫生部颁布的《保健食品功能学评价程序和检验方法》(以下简称“方法”)中,果蝇生存试验已被作为延缓衰老作用的检测方法之一。1997 年以来,我们用果蝇生存试验对 23 种保健食品的延缓衰老作用进行了研究,现将其评价指标作一小结,以期使评价指标的量化更臻完善。

1 材料与方法 实验程序参照文献 [4]。本实验均采用 Oregon K 雄性黑腹果蝇。实验设 1 个对照组和 4 个浓度组,每组 200 只果蝇,雌雄各半,每管 20 只。实验采用在 8 小时内所收集的羽化未交配的果蝇。培养基煮沸冷却后再加丙酸,pH 调至 5。

2 结果

2.1 将 23 种保健食品的测定数据进行比较,从表 1 中可见半数死亡天数试样组比对照组延长寿命最高达 16 d,最低的仅为 2 d,其中有 4 个试样为阴性结果。平均寿命指标中雌雄果蝇均为阳性的仅有 5 种保健食品,单一性别阳性的为 7 种,平均最高寿命为阳性的有 12 种,其中单一性别的为 7 种。

2.2 表 2 显示 23 种保健食品果蝇生存试验评价指标的量化情况。表中的半数死亡数为试样组分别比对照组多存活 3、4、5 d 的保健食品数,当半数死亡天数为 3 d 时雌雄果蝇的阳性率分别为 52%和 69%,当延长到 5 天以上时分别降至 30%和 43%。平均寿命和平均最高寿命指标所显示的阳性保健食品数量,呈明显的递减趋势。

2.3 将 21 种保健食品的果蝇生存试验的对照组评价指标进行统计分析(表 3)。

3 讨论

3.1 按现行“方法”进行试验结果判定,果蝇生存试验中有 8 个试样为阴性,可能有以下原因:(1)试样本身不具有延缓衰老的作用。(2)阴性的试样中有 4 种是含乙醇的酒类,有些指标还有降低的趋势。(3)第 13 号试样是油状液体,因其粘稠性较大,导致果蝇寿命降低,而呈现阴性结果。(4)只有直径小于 5 μm 的颗粒物才能通过果蝇的消化道,而第 16 号试样溶解性差,颗粒直径大(1~2 mm),使果蝇无法摄入也呈现阴性结果。(5)此外还有浓度组设计是否合理等因素。

3.2 如果用不同的评判标准来判定表 1 的试验指标,将会出现不同的结果。

3.2.1 两种性别的平均寿命指标均有阳性才能判定该保健食品具有延缓衰老作用,符合这一标准的仅 5 个试样,占 21.7%。

3.2.2 单一性别的平均寿命与平均最高寿命均阳性来判定具有延缓衰老作用,可使保健食品阳性数增加 5 种,达到 43.5%。

3.2.3 单一性别的平均寿命与半数死亡天数均阳性;半数死亡天数试样组超过对照组几天为宜?如果分别用 3 天、4 天、5 天及以上来判定,则阳性率分别为 78%、73%、52%。考虑到半数死亡天数试样组大于对照组的时间由 3 天增加到 4 天,其阳性率仅降低 5%,且综合其他指标评价时其影响可忽略,因此我们认为该指标

的阳性定量数值以 4 天为宜。

表 1 23 种保健食品的果蝇生存试验评价指标比较

试样 序号	半数死亡数 d		平均寿命 组		平均最高寿命 组		结果 判定 ⁽¹⁾
	雌	雄	雌	雄	雌	雄	
1	3	0	0	0	0	0	-
2	0	0	0	0	0	0	-
3	2	2	2	2	2	2	+
4	8	8	4	2	2	2	+
5	0	0	0	0	0	0	-
6	5	16	0	1	1	0	+
7	8	4	1	0	0	0	+
8	2	6	0	3	2	0	+
9	13	8	2	1	4	0	+
10	0	4	0	1	1	3	+
11	0	4	0	0	0	0	-
12	8	5	1	1	2	3	+
13	0	4	0	0	0	0	-
14	4	13	1	2	0	0	+
15	0	0	0	0	2	0	+
16	0	0	0	0	0	0	-
17	4	3	0	0	1	2	+
18	3	9	0	0	0	0	-
19	0	4	0	0	0	0	-
20	16	0	3	0	1	0	+
21	5	8	0	4	1	0	+
22	4	5	0	3	0	0	+
23	0	6	0	0	0	2	+

注:(1)结果“+”为阳性,“-”为阴性。

表 2 23 种保健食品果蝇生存试验不同评价指标的阳性情况

性别	半数死亡数 d ⁽¹⁾			平均寿命 组 ⁽²⁾				最高平均寿命 组 ⁽²⁾			
	3	4	5	+	++	+++	++++	+	++	+++	++++
雌	12	10	7	3	2	1	1	5	5	0	1
雄	16	15	10	4	3	2	1	0	4	2	0

注:(1)试样组比对照组多存活 5 天及 5 天以上。

(2)“+”表示有 1 个浓度组为阳性,“++”表示有 2 个浓度组为阳性,以下类推。

3.3 我们将 21 个试样的对
照组 8 400 只果蝇的几项指
标进行了分析以观察其总体
分布情况,发现表 3 中雌蝇
的寿命都比雄蝇长,其标准
差也比较大。就 Oregon K
果蝇而言,我们在历年实验

表 3 21 个试样果蝇生存试验对照组的评价指标⁽¹⁾

	半数死亡数		平均寿命		平均最高寿命		体重 ⁽²⁾ mg	
	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄
$\bar{x}$	64.56	49.08	58.6	48.86	80.97	75.89	1.0185	0.7102
SD	7.7988	9.0212	7.5469	6.6993	8.0885	6.2333	0.0940	0.0506

注:(1)8400 只果蝇的数据;(2)50000 只果蝇的数据。

中累积收集的 50 000 只未交配果蝇统计结果表明其雌雄果蝇的体重分别为每只 1.0185 ±0.0940 mg 和 0.7162 ±0.0506 mg,一般来说果蝇体重若超出此范围则可能已交配并受孕,而已交配果蝇用于生存试验则会

明显影响果蝇寿命,因此应该在 8 h 甚至 6 h 以内收集羽化的未交配的果蝇以保证实验结果的准确性。

3.4 在诸多用于生存试验的果蝇品种中,Oregon K 因其寿命长、代表性好而较广泛地被采用,^[5~8]果蝇的不同品种在寿命指标方面有较大的差异,因此在检测报告中应予以标明。由于果蝇对受试物的敏感性、生理反应、生化代谢等方面存在差异,因此扩大试样浓度组数量,科学地计算各组的含量等是提高果蝇生存试验阳性率的重要手段。实验结果表 1 显示了在 23 个保健食品中平均寿命的单一性别 4 个浓度组都为阳性的仅 2 个,而大多数试样均在第 2,3 浓度组显示阳性结果,有些保健食品在最高浓度还呈现出果蝇寿命降低的现象,这表明减少和增加试样组会导致假阴性的产生或增加工作量及实验成本,而设计 4 个浓度组,两组间的含量以 3 倍的比例是比较合理的,减少了假阳性和假阴性的产生。

3.5 在实验中发现,当用每组 100 只果蝇进行生存试验时,首先会出现寿命指标呈偏态分布,根据试样的不同有时呈正偏态,有时呈负偏态,其次实验结果的重现性比较差,加大样本量时这些现象可以消除。因此将每组果蝇数量增加到 200 只虽然增大了工作量,但实验的准确性得到了保证。

4 小结

4.1 对 23 种保健食品进行了果蝇生存试验,按现“办法”评价有 15 种具有延缓衰老作用。阳性率为 65.2 %。

4.2 如按建议的评价标准:即两个性别平均寿命均阳性,单一性别平均寿命与最高寿命或半数死亡天数两个指标均阳性才能判断具有延缓衰老作用,则阳性率为 52.5 %。

4.3 对 50 000 只果蝇进行研究发现 Oregon K 雌雄黑腹果蝇的体重分别为每只 1.0185 ± 0.0940 mg 和 0.7162 ± 0.0506 mg。

4.4 建议果蝇生存试验设 1 个对照组、4 个浓度组,每组果蝇数增至 200 只,两浓度组间含量相差 3 倍。

5 参考文献

- 1 阮家超,黄贤玉,等.沙棘的急性毒性及抗衰老试验.新药与临床,1995,14(6):325~326
- 2 陈淑清,等.竹节参总皂甙、枸杞、当归及银耳对果蝇寿命及脂褐素影响的初步探讨.华西药理学杂志,1988,3(1):28~31
- 3 高清芳,等.中药抗衰老抗老作用的药理学研究.贵阳中医学院学报,1991,29(4):91~93
- 4 中华人民共和国卫生部.保健食品功能学评价程序和检验方法. GB 15193.1994 —08 —10
- 5 艾裕和,叶恩赐.果蝇寿命指标的实验研究.上海铁道医学院学报,1988,2(1):51~55
- 6 吴国忠,许士凯,等.回春口服液对果蝇性活力及寿命影响的药理实验研究.中成药,1994,16(10):448~452
- 7 黄国城,施少捷,郑强.莲子对果蝇寿命的影响.现代应用药学,1994,11(2):14
- 8 Guo J S,Cai G M,Li H T,et al. The nutritional composition of the mixture of rice pulmule and its effect on prolonging lifespan of drosoph:la melanogaster. Acta Nutr Sci,1989,11:350

Indexes and effect factors of drosophila living test for health foods/ Li Shuguang Zhang Xinwen Xu Sihong/ / Chinese Journal of Food Hygiene. - 1999,11(1):6~8

23 kinds of health foods were offered the drosophila living test for perfecting the indexes of the test. Samples showing anti - aging effect decreased from 65.2 % to 52.5 % when it were evaluated under the revised standards. It was suggested that one control group and four different concentrate groups(every group had 200 drosophila melanogasters) were established, and the concentrate difference between groups is 3 times.

Author's address Li Shuguang, Medical College of Shanghai Railway Univercity, 200070 PRC.

Key words Drosophila melanogaster Aging Health foods