

文章编号:1000-8551(2019)06-1156-09

壳寡糖锌配合物对氧化衰老模型小鼠的抗氧化作用

郝桂娟 张 宾* 章样扬 汤 贺 邓晓影

(浙江海洋大学食品与医药学院/浙江省水产品加工技术研究联合重点实验室,浙江 舟山 316022)

摘 要:为探讨壳寡糖-锌配合物(COS-Zn²⁺)对氧化衰老模型小鼠的抗氧化作用,在体外条件下测定COS-Zn²⁺对O₂⁻、DPPH 自由基的清除能力和Fe³⁺的还原能力,并通过D-半乳糖注射法制备氧化衰老小鼠模型,进而评价COS、ZnSO₄、COS+ZnSO₄及COS-Zn²⁺配合物对模型小鼠血清及各组织中丙二醛(MDA)含量、总抗氧化能力(T-AOC)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和过氧化氢酶(CAT)活性的影响。结果表明,COS-Zn²⁺对O₂⁻清除作用显著优于COS、ZnSO₄及二者混合物组($P<0.05$);当COS-Zn²⁺浓度为10 mg·mL⁻¹时,其对DPPH 自由基清除能力显著优于其他试验组($P<0.05$);COS-Zn²⁺分子中由于-NH₂、-OH等活性基团结合了Zn²⁺,故表现出相对较弱的Fe³⁺还原能力。动物模型试验结果显示,与正常组相比,模型组小鼠体重及脏器指数均发生了显著性变化($P<0.05$),COS-Zn²⁺给药对小鼠体重增加和脏器指数恢复具有一定的帮助作用,且有效降低了模型小鼠体内MDA含量,显著提高了其机体血清、肾脏和肝脏中的SOD、GSH-Px、CAT活性和T-AOC能力,尤其对血清中相关保护酶活性的改善作用显著优于COS、ZnSO₄及COS+ZnSO₄组($P<0.05$)。COS-Zn²⁺表现出较好的体外抗氧化活性,同时能显著增强小鼠对氧化损伤的拮抗能力。综上,COS-Zn²⁺配合物具有较好的抗衰老及增强机体免疫功能作用。本研究结果为海洋壳寡糖及其金属修饰物的活性开发及功能应用提供了一定的理论基础与技术参考。

关键词:氧化衰老;壳寡糖;锌;配合物;抗氧化

DOI:10.11869/j.issn.100-8551.2019.06.1156

壳寡糖(chitosan oligosaccharide, COS),又叫壳聚寡糖、低聚壳聚糖,学名 β -1,4-寡糖-葡萄糖胺,是来源于虾、蟹壳的壳聚糖降解成的带有氨基的小分子寡糖^[1]。壳寡糖作为自然界中唯一呈碱性、带正电、水溶性的可食性动物纤维^[2],不仅具有分子量低、易被人体吸收及生物活性高的特点,还兼有调节肠道菌群、增强免疫力、抗肿瘤、抗氧化以及调节人体pH值等多种生物活性。目前,社会老龄化问题愈加严峻,同时衰老也加速了人体疾病的发生。COS是带正电荷的阳离子基团,作为一种能清除自由基、对人体友好无毒的抗氧化剂,其对体内呈负电的各类有毒物质均有较强的吸附能力,可清除体内自由基进而促进机体新陈代谢^[3],故人体可通过补充COS,活化细胞,进而全面修复受损的糖链。

自由基所造成的氧化损伤被认为是多种疾病的起点,而细胞膜是氧化损伤的主要目标之一^[4]。崔红梅等^[5]研究发现锌离子(Zn²⁺)可与红细胞膜结合,抑制脂质过氧化过程中所产生的自由基,从而降低反应所产生的自由基对细胞膜的损伤,因而可减少细胞膜氧化损伤所引起疾病的发生。研究表明,Zn²⁺在体内发生作用主要以有机物或螯合物形式存在,而非游离的无机锌离子,无机锌在体内需转化为有机物形式后才能发挥作用^[6]。人体补充进去的Zn²⁺大都随着排泄物排出体外,少部分的Zn²⁺主要通过依靠其他的有机物或者以配位产物的形式发挥作用。COS结构中含有大量的羟基(-OH)、氨基(-NH₂)及酰氨基(-NHCOCH₃),这些基团是金属离子的良好配体^[7],如将Zn²⁺和COS进行配位,不仅可以达到补Zn²⁺的目

收稿日期:2017-12-13 接受日期:2018-04-17

基金项目:中国博士后科学基金项目(2016M590663),浙江省自然科学基金项目(Y18C200026)

作者简介:郝桂娟,女,主要从事水产品加工与安全研究。E-mail:1591913740@qq.com

* 通讯作者:张宾,男,副教授,主要从事水产品加工及贮藏研究。E-mail:zhangbinouc@163.com

的,还可得到双重的抗氧化效果。田金花等^[8]在均相反应条件下合成了 COS-Zn^{2+} ,并通过结构表征研究发现, COS 中的 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{OH}$ 基团参与了与 Zn^{2+} 间的配位反应。唐晓琳等^[9]探索了壳寡糖锌对雌性昆明小鼠生长和繁殖性能的影响,发现该配合物显著提高了亲代和子代小鼠的生长发育和部分器官指数的各项指标,并降低了小鼠体内甘油三酯和胆固醇的含量。金月^[10]以小白鼠和蛋用仔鸡为试验对象,比较了 COS-Zn^{2+} 、 ZnSO_4 和 COS+ZnSO_4 对动物部分内脏器官生长的影响,发现 COS-Zn^{2+} 显著提高了小鼠的胸腺指数和脾脏指数,同时也显著提高了肝脏指数和肾脏指数。目前,有关 COS-Zn^{2+} 的制备及其对微生物的抑制活性的研究较多,但 COS-Zn^{2+} 的体内抗氧化活性的研究尚鲜见报道。

本研究以制备的 COS-Zn^{2+} 配合物为研究对象,重点评价其体外对 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 、 DPPH 自由基的清除能力及 Fe^{3+} 的还原能力,以及对氧化衰老模型小鼠的生理指标和相关保护酶活性的影响,旨在为 COS 抗氧化活性的深入研究提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

清洁级健康昆明种雄性小鼠 160 只,体质量 25 ± 2 g,购自广州医学院实验动物中心实验动物中心。小鼠饲养环境温度 $22 \sim 25^\circ\text{C}$,相对湿度 $50\% \sim 55\%$,每日光照 12 h。试验期间自由饮水,饲喂标准饲料(由浙江海洋大学实验动物中心自制)。

壳寡糖(水不溶物 $\leq 0.5\%$,水分 4.13% ,灰分 0.22% ,pH 值 5.47,聚合度 3~6 寡糖,含量 $\geq 90\%$),山东卫康生物医药科技有限公司;硫酸锌、抗坏血酸、D-半乳糖、磷酸二氢钾、邻苯三酚、1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、氯化钠、氢氧化钠、多聚甲醛、铁氰化钾、三氯乙酸、盐酸等,国药集团药业股份有限公司;丙二醛(malondialdehyde, MDA)测定试剂盒、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)测试盒、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)测试盒、过氧化氢酶(catalase, CAT)测试盒和总抗氧化能力(total-antioxidant capacity, T-AOC)测定试剂盒等,南京建成生物工程研究所。

1.2 主要仪器与设备

U-2800 紫外分光光度计,日本日立有限公司;Spectra Plus 384 全波长酶标仪,美国 MD 公司;FD-

1000 冷冻干燥机,日本东京理化器械株式会社;HWS-12 电热恒温水浴锅,上海齐欣科学仪器有限公司;CR21G 冷冻离心机,日本日立有限公司;SHAB 恒温水浴振荡器,常州国华有限公司;AA-6200 原子吸收分光光度计,日本岛津公司;MDF-U53V 超低温冰箱,日本 SANYO 公司;BH2 显微镜,OLYMPUS 公司;Di RECT-Q 超纯水装置,美国 MILLIPORE 公司。

1.3 壳寡糖锌配合物的制备

取 1.0 g 壳寡糖(COS)溶于 10 mL 蒸馏水,另取 1.0 g ZnSO_4 溶于 10 mL 蒸馏水,将两者混合后调节混合液 pH 值为 5.0,恒温(45°C)水浴反应 120 min,取出冷却至室温后,加入过量无水乙醇静置过夜;将过夜放置后的 COS/ZnSO_4 混合液于 $5\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 条件下离心 10 min,保留沉淀并经无水乙醇反复沉淀、离心 3 次,然后置于透析袋中透析 48 h(截流分子量 > 500 Da),即获得 COS-Zn^{2+} 配合物溶液。 COS-Zn^{2+} 配合物溶液再经冷冻干燥,最终制得的成品 COS-Zn^{2+} 配合物。采用原子吸收光谱法,测得配合物中锌量为 $3.25\% \pm 0.13\%$ 。

1.4 氧化衰老小鼠模型的建立及分组试验设计

氧化衰老小鼠模型的建立:以常规饲料(营养成分依据 GB 14924.3-2010^[11])对试验小鼠进行适应性喂养 1 周,采取颈背部皮下注射法制备氧化衰老小鼠模型:D-半乳糖溶液注射量 $120\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,每日 1 次,连续注射 6 周,并定期尾静脉取血检测 MDA 含量,检测方法参照 MDA 测定试剂盒说明书。

试验设计:造模成功试验小鼠,随机分为 7 组,即空白对照(正常小鼠)、模型对照、阳性对照(Vc , $15\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、 COS 灌胃组($500\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、 ZnSO_4 灌胃组($40\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、 $\text{COS} + \text{ZnSO}_4$ 灌胃组($500\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ $\text{COS} + 40\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ZnSO_4)和 COS-Zn^{2+} 配合物灌胃组($500\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)。每组 21 只(7 只/笼),设 3 个平行。

空白对照组(正常组):采用生理盐水(1.0 mL)灌胃试验小鼠并正常饲养。模型组:采用生理盐水灌胃试验小鼠的同时,给予 $120\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ D-半乳糖颈背部皮下注射。试验组:包括 Vc 组、 COS 组、 ZnSO_4 组、 $\text{COS} + \text{ZnSO}_4$ 组、 COS-Zn^{2+} 组,采用对应物质(分别为 Vc 、 COS 、 ZnSO_4 、 $\text{COS} + \text{ZnSO}_4$ 、 COS-Zn^{2+} 配合物各 1.0 mL)灌胃试验小鼠,同时给予 $120\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ D-半乳糖颈背部皮下注射。整个试验过程持续 6 周,6 周后试验小鼠禁食 12 h,然后采用 2%戊巴比妥钠腹腔注射(注射剂量为 $40\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)麻醉,采用颈椎脱臼法处死试验小鼠,

检测分析试验小鼠机体相关氧化指标。

1.5 壳寡糖锌配合物体外抗氧化活性的测定

1.5.1 COS-Zn²⁺配合物体外对 O₂⁻ 的清除能力 采用邻苯三酚自氧化法^[12-13]。取 4.5 mL 50 mmol·L⁻¹ 磷酸缓冲液 (pH 值 8.34) 于试管中,加入 0.5 mL 蒸馏水和 10 μL 45 mmol·L⁻¹ 邻苯三酚溶液,立即混匀并开始计时,于 325 nm 波长处测定吸光度值,并于 1 min 后开始记录数值,每隔 30 s 记一次,一直记到 4 min。以 10 μL 10 mmol·L⁻¹ 盐酸溶液为空白对照。按照公式计算邻苯三酚自氧化速率:

$$S_{\text{自氧化}} = (OD_4 - OD_1) / OD_4 \quad (1)$$

式中, $S_{\text{自氧化}}$ 表示邻苯三酚自氧化速率; OD_4 表示 4 min 时测得的 OD 值; OD_1 表示 1 min 时测得的 OD 值。

对 O₂⁻ 清除率的测定:取不同体积的抗氧化剂溶液,分别加入邻苯三酚溶液,体积不足 0.5 mL 的组用双蒸水补足,具体操作参照 1.5.1。按照公式计算自由基清除物质对 O₂⁻ 清除率:

$$S_{O_2^{2-}} = (S_{\text{自氧化}} - S_{\text{样品}}) \times 100 / S_{\text{自氧化}} \quad (2)$$

式中, $S_{O_2^{2-}}$ 表示自由基清除物质对 O₂⁻ 清除率; $S_{\text{自氧化}}$ 表示邻苯三酚自氧化速率; $S_{\text{样品}}$ 表示加入自由基清除物质后邻苯三酚自氧化速率。

1.5.2 COS-Zn²⁺配合物对 DPPH 自由基的清除能力的测定 参照 Tai 等^[14]的方法。移取 1 mL 待测溶液于 10 mL EP 管中,加入 5.0 mL DPPH 溶液,使总体积为 6.0 mL,摇匀后避光室温放置 30 min。采用光径为 1 cm 的比色皿,于 517 nm 波长处测定其吸光度值。以 1.0 mL 蒸馏水与 5.0 mL DPPH 溶液的混合液为空白对照。按照公式计算抗氧化剂 DPPH 自由基清除率:

$$S_{\text{DPPH}} = (A_{\text{空白}} - A_{\text{样品}}) \times 100 / A_{\text{空白}} \quad (3)$$

式中, S_{DPPH} 表示抗氧化剂对 DPPH 自由基清除率; $A_{\text{空白}}$ 表示空白对照的吸光度值; $A_{\text{样品}}$ 表示 COS-Zn²⁺ 配合物的吸光值。

1.5.3 COS-Zn²⁺配合物对 Fe³⁺还原能力的测定 参照 Yamaguchi 等^[15]的方法。取 3.5 mL 0.2 mol·L⁻¹ (pH 值 6.6) 磷酸缓冲液,加入不同浓度的 COS-Zn²⁺ 配合物溶液和 2.5 mL 10% 铁氰化钾溶液,混匀后于 50℃ 条件下水浴 20 min,然后加入 2.5 mL 10% 三氯乙酸,5 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,保留上清液。取 2.5 mL 上清液,加入 2.5 mL 去离子水和 0.5 mL 0.1% 三氯化铁溶液,混匀后于 700 nm 波长处测定其 OD 值。待测样品的 OD 值越大,表明其对 Fe³⁺ 的还原能力越强。

1.6 COS-Zn²⁺配合物体内抗氧化活性的测定

试验过程中,每周定期称取试验小鼠体重,观察试

验小鼠体重的变化情况。待试验结束后,取小鼠眼球血于 4℃ 下离心分离获得血清,保存备用。低温解剖获得小鼠肝脏、肾脏及脾脏,称重后计算脏器指数 (各器官与体重的比值)。采用试剂盒法测定小鼠血清、肾脏及肝脏组织中 MDA 含量, SOD、GSH-Px、CAT 活性和 T-AOC 能力。

1.7 数据分析

采用 Origin 8.1、SPSS 13.0 统计分析软件进行试验数据处理及绘图。试验结果以平均值 ± 标准偏差表示。

2 结果与分析

2.1 COS-Zn²⁺配合物对 O₂⁻ 的清除能力

氧化危害较大的单线态氧及羟自由基均可由超氧阴离子 (O₂⁻) 诱导产生,同时 O₂⁻ 也能利用过氧化氢间接诱导脂质过氧化反应^[16-17]。邻苯三酚自氧化速率与生成的 O₂⁻ 浓度呈正相关,本试验通过分析不同自由基清除物质 (COS、ZnSO₄、COS+ZnSO₄、COS-Zn²⁺ 配合物) 对邻苯三酚自氧化速度的阻碍作用,反映不同自由基清除物质对 O₂⁻ 的清除效果。由图 1 可知,随着自由基清除物质浓度的增加,各处理组对 O₂⁻ 的清除能力均呈现增强的趋势。当自由基清除物质浓度均为 10 mg·mL⁻¹ 时, COS-Zn²⁺ 配合物处理组 O₂⁻ 清除率为 85.3%, 显著高于 COS+ ZnSO₄ 处理组 (81.7%)、COS 处理组 (77.2%) 和 ZnSO₄ 处理组 (75.4%) ($P < 0.05$)。壳寡糖分子上具有多个羟基、氨基等活性基团,其本身对自由基具有一定的清除能力^[6],而 Zn²⁺ 的加入进一步提高了其清除能力,且配合状态的 COS-Zn²⁺ 优于游离状态的 COS+ ZnSO₄ 混合物。COS-Zn²⁺ 配合物具有较好的自由基清除能力,这可能与 COS-Zn²⁺ 配合物的立体结构有关^[18]。

2.2 COS-Zn²⁺配合物对 DPPH 自由基的清除能力

DPPH 作为一种监测自由基化学反应物质,常用于样品的体外抗氧化性评测。当 DPPH 溶液中加入自由基清除物质后,溶液原本紫色会有不同程度消失,测定其 OD₅₁₇ 值可知样品对 DPPH 清除作用的显著程度^[19]。由图 2 可知, ZnSO₄ 对 DPPH 自由基的清除能力相对较弱,其浓度由 2 mg·mL⁻¹ 增加至 10 mg·mL⁻¹ 时, DPPH 清除率仅从 22.2% 增加至 35.2%。随着自由基清除物质浓度的增加, COS、COS+ ZnSO₄ 和 COS-Zn²⁺ 配合物对 DPPH 自由基的清除能力显著增强 ($P < 0.05$), 当浓度为 10 mg·mL⁻¹ 时, COS-Zn²⁺ 配合物处理

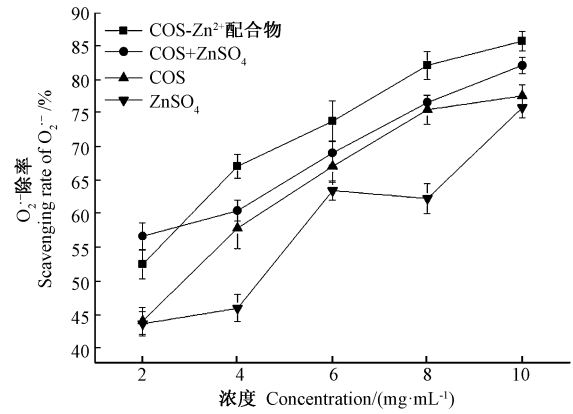


图1 不同物质对O₂^{·-}基清除能力的比较
Fig.1 Comparison of O₂^{·-} scavenging ability among different substances

组DPPH自由基清除率达88.9%,其与COS处理组相比无显著性差异($P > 0.05$),但显著优于其他处理组($P < 0.05$)。DPPH自由基是一种相对稳定的自由基,可接受氢或电子形成较为稳定的分子^[20]。壳聚糖分子链中的活性氨基和羟基可提供氢,并与DPPH自由基相结合,从而实现清除DPPH自由基的目的。当Zn²⁺和COS整合形成配合物后,Zn²⁺主要与COS上的羟基和氨基结合,使得COS上的活性基团(羟基和氨基)数目有所减少,致使糖分子的供氢能力稍有下降,因而COS-Zn²⁺配合物对DPPH自由基的清除能力略低于壳寡糖分子^[21-22]。

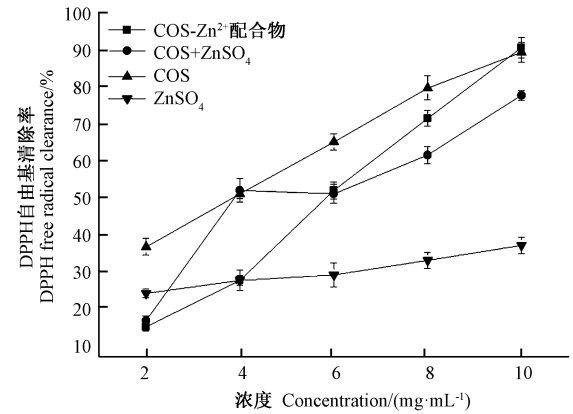


图2 不同物质对DPPH自由基清除能力的比较
Fig.2 Comparison of DPPH free radical scavenging ability among different substances

2.3 COS-Zn²⁺配合物对Fe³⁺的还原能力

由图3可知,随着自由基清除物质浓度的增加,COS对Fe³⁺的还原能力显著提高,且显著优于其他处理组($P < 0.05$)。COS-Zn²⁺配合物和ZnSO₄还原能力

较弱,当浓度为6~10 mg·mL⁻¹时,二者对Fe³⁺的还原能力无显著性变化($P > 0.05$)。因此,Fe³⁺还原能力由大到小顺序依次为COS、COS+ZnSO₄、COS-Zn²⁺配合物、ZnSO₄,且四者之间的差异显著($P < 0.05$)。COS表现出较强Fe³⁺还原能力,可能是由于寡糖分子链较短,其活性羟基和氨基提供电子能力较强,故表现出比COS-Zn²⁺配合物强的Fe³⁺还原能力^[23]。

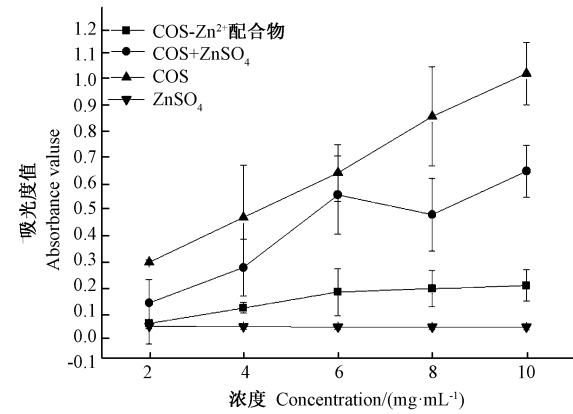


图3 不同物质对Fe³⁺还原能力的比较
Fig.3 Comparison of Fe³⁺ reduction ability among different substances

2.4 COS-Zn²⁺配合物对小鼠体重及脏器指数的影响

由图4可知,在整个试验期内,模型组小鼠体重始终维持在较低的水平,且显著低于其他组($P < 0.05$),这可能主要是D-半乳糖诱导机体氧化损伤所致。饲养1周后,各组小鼠体重波动相对较大,其原因可能是由于造模小鼠初次接触受试物,出现一定的不适应现象,进而引起部分小鼠体重增加缓慢。随着饲养时间的延长,各组小鼠体重明显增加,其中,Vc组、COS+ZnSO₄组、COS-Zn²⁺组和正常组的体重均呈上升趋势,且以正常组上升最快,Vc组次之;COS+ZnSO₄组和COS-Zn²⁺组小鼠体重增加幅度无显著性差异($P > 0.05$),但显著低于正常组($P < 0.05$)。

脏器指数作为毒理评价常用指标,与正常组相比,其数值增大,表示脏器充血、水肿或增生肥大等;数值减小,表示脏器萎缩及其他退行性改变^[24]。由表1可知,与正常组相比,模型组小鼠脏器指数升高,可能是氧化诱导造成机体脏器肿大,其中以脾脏增大幅度较明显。与模型组相比,Vc组和COS组对肝脏、肾脏及脾脏指数均表现出一定的调节作用,而其他各组调节作用不显著。综上所述,Vc和COS对模型小鼠的脏器指数具有一定恢复作用,且修复效果明显优于COS+ZnSO₄和COS-Zn²⁺配合物。

表 1 COS-Zn²⁺ 配合物对小鼠脏器指数的影响
Table 1 Effect of COS-Zn²⁺ on viscera index of mice

| 处理组 Processing group | 脏器指数 Organ index/(mg·g ⁻¹) | | |
|---|--|--------------|--------------|
| | 肝脏 Liver | 肾脏 Kidney | 脾脏 Spleen |
| 模型组 Model group | 33.12±2.97 | 13.82±2.02 | 3.56±1.08 |
| Vc 组 Vc group | 32.02±1.27 | 12.22±0.93 * | 3.13±0.76 |
| COS 组 COS group | 31.20±1.91 | 12.06±1.06 * | 3.15±1.14 |
| ZnSO ₄ 组 ZnSO ₄ group | 31.81±2.24 | 12.36±1.40 | 3.26±1.20 |
| COS+ZnSO ₄ 组 COS+ZnSO ₄ group | 32.87±3.56 | 13.32±2.40 | 3.41±1.31 |
| COS-Zn ²⁺ 组 COS-Zn ²⁺ group | 32.85±3.63 | 13.29±1.76 | 3.31±1.22 |
| 正常组 Normal group | 30.86±3.12 | 12.18±1.57 | 2.10±0.49 ** |

注: * 表示与模型组相比差异显著 ($P < 0.05$); ** 表示与模型组相比差异极显著 ($P < 0.01$)。下同。
Note: * indicates significant difference at 0.05 level between the model group and treatment groups. ** indicates extremely significant difference at 0.01 level between the model group and treatment groups. The same as following.

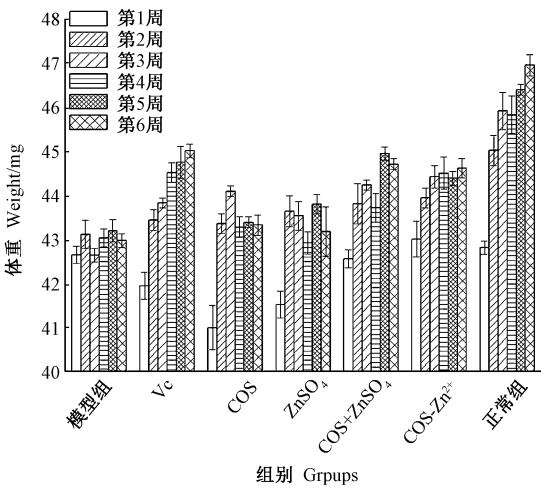


图 4 试验期间试验小鼠体重的变化情况
Fig.4 Changes in body weight of tested mice during the experiment

2.5 COS-Zn²⁺ 配合物对小鼠 MDA 含量的影响

机体内产生的自由基,作用于脂质发生过氧化反应,氧化终产物一般为 MDA^[25],进而引起机体蛋白质、核酸等生命大分子交联聚合,产生细胞毒性。由表 2 可知,与正常组相比,模型组小鼠血清、肾脏及肝脏中 MDA 含量均有极显著增加 ($P < 0.01$),表明 D-半乳糖注射对小鼠机体产生较强的氧化损伤作用,也表明氧化小鼠模型制备成功。与模型组相比,COS-Zn²⁺ 配合物对小鼠血清、肝脏中 MDA 含量下降作用显著 ($P < 0.05$),对肾脏中 MDA 含量下降作用极显著 ($P < 0.01$);COS、ZnSO₄ 和 COS+ZnSO₄ 对小鼠血清中 MDA 降低能力相近 ($P > 0.05$);COS+ZnSO₄ 和 COS-Zn²⁺ 配合物对小鼠肾脏、肝脏中 MDA 的降低能力差异不显著 ($P > 0.05$)。综上,与 COS+ZnSO₄ 相比,COS-Zn²⁺ 配合物可降低小鼠机体中 MDA 含量,主要是降低血清中的 MDA 含量。

表 2 COS-Zn²⁺ 配合物对小鼠血清、肾脏和肝脏中 MDA 含量的影响
Table 2 Effect of COS-Zn²⁺ on MDA content in serum, kidney, and liver of mice, respectively

| 处理组 Processing group | MDA 含量 MDA content | | |
|---|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|
| | 血清 Serum/(nmol·mL ⁻¹) | 肾脏 Kidney/(nmol·mg ⁻¹) | 肝脏 Liver/(nmol·mg ⁻¹) |
| 模型组 Model group | 39.45±4.19 ^{##} | 9.96±0.42 ^{##} | 7.02±0.83 ^{##} |
| Vc 组 Vc group | 24.51±2.87 ^{**} | 6.68±0.31 ^{**} | 2.27±0.30 ^{**} |
| COS 组 COS group | 32.08±4.99 | 8.55±0.87 | 5.01±1.42 |
| ZnSO ₄ 组 ZnSO ₄ group | 32.75±5.12 | 8.81±0.86 | 4.55±1.73 |
| COS+ZnSO ₄ 组 COS+ZnSO ₄ group | 32.01±3.02 | 7.81±0.27 ^{**} | 4.02±0.90 [*] |
| COS-Zn ²⁺ 组 COS-Zn ²⁺ group | 26.64±2.79 [*] | 7.14±0.41 ^{**} | 3.90±0.96 [*] |
| 正常组 Normal group | 22.57±2.80 | 6.20±0.23 | 1.69±0.24 |

注: # 表示与正常组相比差异显著 ($P < 0.05$); ## 表示与正常组相比差异极显著 ($P < 0.01$)。下同。
Note: # indicates significant difference between the normal group and treatment groups at 0.05 level. ## indicates extremely significant difference between the normal group and treatment groups at 0.01 level. The same as following.

2.6 COS-Zn²⁺配合物对小鼠 SOD 活性的影响

SOD 几乎存在于所有生物细胞中,能够催化超氧化物通过歧化反应转化为氧气和过氧化氢,其活性大小可反映机体清除自由基的能力^[26]。由表 3 可知,模型组小鼠血清、肾脏和肝脏中 SOD 活性均极显著低于正常组($P<0.01$),表明已成功建立了小鼠氧化衰老模型。与模型组相比,各处理组对小鼠中 SOD 活性表现出不同程度的影响,其中 ZnSO₄ 组可显著提高肾脏中 SOD 活性($P<0.05$);COS+ ZnSO₄ 组显著提高了小鼠

肝脏的 SOD 活性($P<0.05$),极显著提高了肾脏的 SOD 活性($P<0.01$);COS-Zn²⁺ 配合物组极显著提高了试验小鼠肾脏和肝脏的 SOD 活性($P<0.01$),同时显著改善了血清中 SOD 活性($P<0.05$)。综上,COS-Zn²⁺ 配合物对小鼠血清、肾脏和肝脏中 SOD 活性均表现出较好的调节作用,且优于 COS+ ZnSO₄ 的改善效果,表明仅将 COS 与 ZnSO₄ 混合给药,不能达到 COS-Zn²⁺ 配合物对小鼠机体的改善效果。

表 3 COS-Zn²⁺配合物对小鼠血清、肾脏和肝脏中 SOD 活性的影响
Table 3 Effect of COS-Zn²⁺ on SOD activity in serum, kidney, and liver of mice, respectively

| 处理组 Processing group | SOD 活性 SOD activity | | |
|---|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| | 血清 Serum/(U·mL ⁻¹) | 肾脏 Kidney/(U·mg ⁻¹) | 肝脏 Liver/(U·mg ⁻¹) |
| 模型组 Model group | 102.70±3.31 ^{##} | 30.53±1.89 ^{##} | 77.21±7.15 ^{##} |
| Vc 组 Vc group | 135.39±16.81 ^{**} | 42.29±1.43 ^{**} | 113.19±6.37 ^{**} |
| COS 组 COS group | 106.75±2.68 | 33.10±1.28 | 86.34±3.19 |
| ZnSO ₄ 组 ZnSO ₄ group | 108.26±1.12 | 34.82±0.87 [*] | 90.39±4.25 |
| COS+ZnSO ₄ 组 COS+ZnSO ₄ group | 113.55±5.91 | 37.45±1.22 ^{**} | 103.99±6.90 [*] |
| COS-Zn ²⁺ 组 COS-Zn ²⁺ group | 118.97±6.16 [*] | 39.04±1.61 ^{**} | 107.58±2.20 ^{**} |
| 正常组 Normal group | 122.68±6.63 | 43.44±1.28 | 121.90±7.66 |

2.7 COS-Zn²⁺配合物对小鼠 T-AOC 能力的影响

机体防御体系中总抗氧化能力(T-AOC)的作用,主要是维持内环境活性氧的动态平衡,清除过多的活性氧,从而使机体处于相对稳定的状态^[27]。由表 4 可知,模型组小鼠总抗氧化能力均极显著低于正常组($P<0.01$),主要是 D-半乳糖氧化衰老诱导所致。与模型组相比,COS-Zn²⁺ 组小鼠血清中 T-AOC 能力的改善作用极为明显($P<0.01$),且与 Vc 组无显著性差异($P>0.05$);COS+ ZnSO₄ 混合物组次之($P<0.05$),COS 组和 ZnSO₄ 组的小鼠血清中 T-AOC 能力较模型组也

有所提高。COS-Zn²⁺ 配合物对小鼠肾脏中 T-AOC 能力的提高极显著($P<0.01$),COS 组和 COS+ ZnSO₄ 组对小鼠肾脏中 T-AOC 能力的提高显著($P<0.05$)。ZnSO₄ 组、COS+ ZnSO₄ 组和 COS-Zn²⁺ 组均对小鼠肝脏中 T-AOC 能力表现出较好的改善作用($P<0.05$)。综上,COS-Zn²⁺ 配合物对氧化衰老模型小鼠血清、肾脏和肝脏中 T-AOC 能力均表现出较好的改善作用,其有助于清除小鼠体内自由基、协助修复拮抗氧化损伤对机体造成的危害。

表 4 COS-Zn²⁺配合物对小鼠血清、肾脏和肝脏中 T-AOC 能力的影响
Table 4 Effect of COS-Zn²⁺ on the capacity of T-AOC in serum, kidney, and liver of mice, respectively

| 处理组 Processing group | T-AOC 能力 T-AOC capacity | | |
|---|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| | 血清 Serum/(U·mL ⁻¹) | 肾脏 Kidney/(U·mg ⁻¹) | 肝脏 Liver/(U·mg ⁻¹) |
| 模型组 Model group | 2.60±1.07 ^{##} | 0.37±0.12 ^{##} | 0.97±0.32 ^{##} |
| Vc 组 Vc group | 8.55±0.93 ^{**} | 1.02±0.27 ^{**} | 3.53±0.36 ^{**} |
| COS 组 COS group | 5.02±1.68 | 0.50±0.03 [*] | 1.47±0.20 |
| ZnSO ₄ 组 ZnSO ₄ group | 5.13±2.92 | 0.53±0.10 | 1.76±0.25 [*] |
| COS+ZnSO ₄ 组 COS+ZnSO ₄ group | 6.91±1.28 [*] | 0.72±0.07 [*] | 2.28±0.45 [*] |
| COS-Zn ²⁺ 组 COS-Zn ²⁺ group | 8.26±0.49 ^{**} | 0.75±0.07 ^{**} | 2.84±0.64 [*] |
| 正常组 Normal group | 10.93±1.91 | 1.25±0.24 | 4.16±0.25 |

2.8 COS-Zn²⁺配合物对小鼠 CAT 活性的影响

CAT 普遍存在于生物机体体内,可以催化 H₂O₂ 分解为 H₂O 与 O₂,从而保护机体免受有害物质损伤^[28]。由表 5 可知,模型组小鼠血清、肝脏和肾脏中 CAT 活性均极显著低于正常组 ($P<0.01$)。与模型组相比,Vc 组对恢复小鼠血清、肾脏和肝脏中 CAT 活性表现

出较好的效果;COS+ ZnSO₄ 和 COS-Zn²⁺ 配合物可显著提高小鼠血清和肾脏中 CAT 活性 ($P<0.05$),极显著提高肝脏中 CAT 活性 ($P<0.01$);COS-Zn²⁺ 组小鼠的 CAT 活性与 COS+ ZnSO₄ 组无显著性差异 ($P>0.05$)。

表 5 COS-Zn²⁺配合物对小鼠血清、肾脏和肝脏中 CAT 活性的影响
Table 5 Effect of COS-Zn²⁺ on CAT activity in serum, kidney, and liver of mice, respectively

| 处理组 Processing group | CAT 活性 CAT activity | | |
|---|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| | 血清 Serum/(U·mL ⁻¹) | 肾脏 Kidney/(U·mg ⁻¹) | 肝脏 Liver/(U·mg ⁻¹) |
| 模型组 Model group | 16. 03±2. 74 ^{##} | 26. 24±1. 74 ^{##} | 57. 36±2. 43 ^{##} |
| Vc 组 Vc group | 46. 85±9. 59 [*] | 37. 67±2. 21 [*] | 74. 65±1. 16 [*] |
| COS 组 COS group | 24. 31±4. 55 | 34. 16±1. 11 | 60. 70±1. 09 |
| ZnSO ₄ 组 ZnSO ₄ group | 30. 82±3. 04 [*] | 35. 36±0. 72 | 61. 74±1. 94 |
| COS+ZnSO ₄ 组 COS+ZnSO ₄ group | 33. 28±5. 80 [*] | 35. 96±0. 11 [*] | 65. 32±1. 01 ^{**} |
| COS-Zn ²⁺ 组 COS-Zn ²⁺ group | 37. 6±8. 01 [*] | 36. 46±0. 46 [*] | 68. 38±0. 80 ^{**} |
| 正常组 Normal group | 46. 19±5. 27 | 39. 70±1. 20 | 80. 36±5. 44 |

2.9 COS-Zn²⁺配合物对小鼠 GSH-Px 活性的影响

GSH-Px 是机体内广泛存在的一种重要的过氧化物分解酶,其与清除细胞外的过氧化氢和参与 GSH 运输密切相关^[29]。由表 6 可知,相比于其他试验组,模型组小鼠 GSH-Px 活性极显著降低 ($P<0.01$)。与模

型组相比,COS 和 ZnSO₄ 可显著提高血清中酶的活性 ($P<0.05$);COS+ZnSO₄ 组和 COS-Zn²⁺ 组中小鼠肾脏和肝脏中 GSH-Px 活性变化明显,其中,COS-Zn²⁺ 配合物可极显著提高肾脏中 GSH-Px 活性 ($P<0.01$),显著提高血清和肝脏中的 GSH-Px 活性 ($P<0.05$)。

表 6 COS-Zn²⁺配合物对小鼠血清、肾脏和肝脏中 GSH-Px 活性的影响
Table 6 Effect of COS-Zn²⁺ on GSH-Px activity in serum, kidney and liver of mice, respectively

| 处理组 Processing group | GSH-Px 活性 GSH-Px activity | | |
|---|---------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| | 血清 Serum/(U·mL ⁻¹) | 肾脏 Kidney/(U·mg ⁻¹) | 肝脏 Liver/(U·mg ⁻¹) |
| 模型组 Model group | 107. 78±5. 28 ^{##} | 334. 51±34. 06 ^{##} | 1 060. 15±93. 07 ^{##} |
| Vc 组 Vc group | 137. 50±7. 50 ^{**} | 492. 04±14. 37 ^{**} | 1 434. 97±42. 45 ^{**} |
| COS 组 COS group | 122. 53±5. 96 [*] | 357. 44±13. 60 | 1 127. 82±86. 70 |
| ZnSO ₄ 组 ZnSO ₄ group | 124. 17±3. 82 [*] | 364. 06±11. 42 | 1 184. 37±43. 04 |
| COS+ZnSO ₄ 组 COS+ZnSO ₄ group | 123. 22±10. 78 | 418. 47±15. 47 [*] | 1 286. 79±29. 87 [*] |
| COS-Zn ²⁺ 组 COS-Zn ²⁺ group | 125. 78±6. 21 [*] | 459. 77±28. 18 ^{**} | 1 305. 88±95. 36 [*] |
| 正常组 Normal group | 125. 78±6. 21 | 531. 51±19. 08 | 1 442. 77±45. 23 |

3 讨论

随着生活水平的提高和生活节奏的加快,“三高症”(即高血压、高血糖和高血脂)的发病率越来越高,严重威胁了人类的身体健康。在辅助改善“三高症”方面,具有高效抗氧化活性的壳寡糖及其修饰物应用

前景广泛。常见金属元素中锌是影响机体免疫功能的重要元素之一,其可显著影响机体的免疫机能。研究表明,壳寡糖分子中含有大量游离-NH₂ 和-OH,其能选择性吸附金属离子,并与金属离子发生较为稳定的配位作用^[10]。刘冰等^[30]以壳寡糖和铬、钒、硒为材料,制备了多种壳寡糖金属配合物,并分析其对增殖胰岛细胞、分泌胰岛素是否存在有利作用,结果发现,当受

试物浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, COS、COS-Se 和 COS-Cr 均对胰岛 β 细胞体外增殖具有明显促进作用, 细胞相对增殖率分别为 143.49%、151.71% 和 153.54%; 此外, COS-Cr 和 COS-Se 的促细胞增殖作用, 均显著优于未配位的 COS ($P < 0.05$)。本研究制备了壳寡糖锌 (COS-Zn²⁺) 配合物, 并初步评价了其体外、体内抗氧化活性, 结果表明, COS-Zn²⁺ 配合物对 O₂⁻ 的清除作用, 显著优于 COS、ZnSO₄ 和 COS+ZnSO₄; 同时, 随着 COS、COS-Zn²⁺、COS+ZnSO₄ 浓度的增加, 其对 DPPH 自由基清除能力逐渐增强。有研究指出, 壳寡糖及其金属配合物清除氧自由基的作用机理十分复杂, 不是某一基团或离子单独作用结果, 而是受到各种因素的影响^[7]。可能正是由于多种活性基团或离子的协同作用, 使得金属配合物清除自由基活性得到显著提高。

本研究中 COS-Zn²⁺ 配合物有效降低了模型小鼠体内 MDA 含量, 显著提高了小鼠机体血清、肾脏和肝脏中 SOD、GSH-Px、CAT 活性和 T-AOC 能力, 且其对血清中相关保护酶活性的改善作用显著优于 COS、ZnSO₄ 和 COS+ZnSO₄ ($P < 0.05$), 这表明 COS-Zn²⁺ 配合物通过提高机体抗氧化酶活性和还原性保护物质 GSH 含量, 清除机体中的有毒有害物质和自由基, 从而减轻机体的氧化损伤程度; 另一方面, COS-Zn²⁺ 配合物通过减少机体中的 MDA 含量, 降低脂质过氧化作用形成的脂质过氧化物含量, 减弱机体膜系统受自由基攻击造成损伤, 从而间接增强了机体抵抗自由基攻击的能力^[31-32]。此外, 胸腺、脾脏作为机体的主要免疫器官, 也是 Zn²⁺ 贮存及代谢的主要场所, Zn²⁺ 缺乏可导致机体胸腺、脾脏等器官萎缩, 免疫抗病力显著下降等^[33]。本研究中, 与模型组相比, Vc 组和 COS 组对小鼠肝脏、肾脏及脾脏指数, 均表现出一定的正向调节作用, 而 COS-Zn²⁺ 配合物对氧化衰老小鼠的肝脏指数和脾脏指数的改善效果并不显著, 这与金月^[10]的研究结果相一致, 其原因仍需进一步研究。此外, COS 具有良好的配位能力, 其多种类型的配合物也表现出多种生物功能, 目前该方面的研究报道也较为充分。但关于 COS 配合物的结构方面, 仍存在一定的问題, 如 COS 与金属离子结合方式、配位官能团、整体结构等方面仍需进一步探索。

4 结论

本研究结果表明, COS-Zn²⁺ 配合物表现出较好的体外清除自由基活性, 但其对 Fe³⁺ 的还原能力相对较弱。D-半乳糖氧化诱导致使小鼠体重、脏器指数及机

体保护性酶活性受到显著性影响, COS-Zn²⁺ 可显著降低小鼠体内 MDA 含量, 显著提高 T-AOC 能力和 GSH-Px、SOD 和 CAT 活性, 其效果优于 COS、ZnSO₄ 和 COS+ZnSO₄。综上, COS-Zn²⁺ 配合物具有较好的抗氧化能力, 本研究结果为进一步开发和利用 COS 及其金属修饰物提供了理论参考。

参考文献:

- [1] 琚洋洋. 壳寡糖的制备、分离纯化及生物活性研究[D]. 厦门: 华侨大学, 2016
- [2] 罗福文. 壳寡糖经肠道吸收效率以及与肝癌细胞结合特点和抗肿瘤机制[D]. 大连: 大连医科大学, 2009
- [3] 陈列欢, 文国艺. 免疫向多糖物质看齐[N]. 医药经济报, 2004-05-31(A07)
- [4] 王秀平, 丁仲元. 自由基对人体的影响及其清除方法的研究[J]. 科技信息(学术研究), 2008(34): 476-477
- [5] 崔红梅, 杨月欣, 刘建宇. 锌对红细胞膜氧化损伤的保护作用研究[J]. 营养健康新观察, 1999(1): 11-14
- [6] 邝声耀, 唐凌, 张纯, 曾礼华. 有机锌在动物营养中的应用[J]. 中国畜牧兽医, 2006, 33(7): 18-20
- [7] 刘松. 壳聚糖衍生物金属配合物的制备及其抑菌、抗氧化活性研究[D]. 北京: 中国科学院研究生院, 2004
- [8] 田金花, 杨华, 迟光伟, 黄爱民, 王立升. 壳寡糖锌(II)配合物的合成与结构表征[J]. 高分子通报, 2011(1): 71-74
- [9] 唐晓琳, 丁琳琳, 杨洋, 许青松, 李曙光, 王秀武. 壳寡糖螯合锌对雌性昆明小鼠生长和繁殖性能的影响[J]. 营养学报, 2013, 35(3): 262-267
- [10] 金月. 壳寡糖螯合锌的制备及其营养功能的比较研究[D]. 大连: 辽宁师范大学, 2011
- [11] 全国实验动物标准化技术委员会. GB14924.3-2010 实验动物配合饲料营养成分[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010
- [12] 李艳菊, 杜浩, 李琴山, 刘洋. 贵州产天冬醇提液体外氧自由基清除作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(15): 182-184
- [13] 邹国林, 桂兴芬, 钟晓凌, 朱汝璠. 一种 SOD 的测活方法: 邻苯三酚自氧化法的改进[J]. 生物化学与生物物理进展, 1986, 13(4): 71-73
- [14] Tai Z G, Cai L, Dai L, Dong L H, Wang M F, Yang Y B, Cao Q, Ding Z T. Antioxidant activity and chemical constituents of edible flower of *Sophora viciifolia* [J]. Food Chemistry, 2011, 126(4): 1648-1654
- [15] Yamaguchi T, Takamura H, Matoba T, Terao J. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1, 1-diphenyl - 2-picrylhydrazyl [J]. Bioscience Biotechnology Biochemistry, 1998, 62(6): 1201-1204
- [16] 李国婧. 超氧阴离子的产生及其在植物体内作用的研究[J]. 生物技术世界, 2012(4): 24-25
- [17] Keppler D, Lesch R, Reutter W, Decker K. Experimental hepatitis induced by D-galactosamine[J]. Experimental Molecular Pathology, 1968, 2: 279-283
- [18] 尹学琼. 壳聚糖金属配位控制降解及低聚壳聚糖的应用研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2002
- [19] 刘刚. 琼胶寡糖的制备及生物活性研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2010

- [20] 李姣娟,周尽花,戴瑜,黄克瀛.川桂叶总黄酮清除DPPH·自由基作用的研究[J].中南林业科技大学报,2010,30(10):125-128,132
- [21] Xie W M, Xu P X, Liu Q. Antioxidant activity of water soluble chitosan derivatives [J]. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 2001, 13(11):1699-1701
- [22] 银旭红,孙涛,姚倩,周冬香,毛芳.低聚壳聚糖Zn(II)配合物清除DPPH活性的研究[J].食品与生物技术学报,2009,28(3):329-331
- [23] 姚倩,孙涛,徐轶霞,刘彦洋.壳聚糖/壳寡糖衍生物的制备及其抗氧化性能研究[J].食品与生物技术学报,2009,28(2):188-191
- [24] 袁琛皓,董广通,孙伟越,高永贵,张文婧,王欣,郭伟.理中汤古今不同用量对脾阳虚小鼠脏器系数影响[J].辽宁中医药大学学报,2014,16(6):45-46
- [25] Cui J J, Yuan J F Zhang Z Q. Anti-oxidation activity of the crude polysaccharides isolated from *Polygonum cillinerve* (Nakai) Ohwi in immunosuppressed mice[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2010, 132(2):512-517
- [26] 罗磊,张冰洁,关宇宁,马丽苹,朱文学.金银花叶黄酮对衰老模型小鼠的体内抗氧化作用[J].食品科学,2017,38(19):171-176
- [27] Wang M, Meng X Y, Yang R L. *Cordyceps militaris* polysaccharides can enhance the immunity and antioxidation activity in immunosuppressed mice [J]. Carbohydrate Polymers, 2012, 89(2):461-466
- [28] 迟晓星,张涛,郑丽娜,袁旭,于开源.大豆异黄酮对青年雌性大鼠的抗氧化作用研究[J].中国食品学报,2010,10(5):78-82
- [29] 刘乔,管晓辉,黄翠菊,夏炎,沈明浩. GA 的提取分离工艺优化及其体内抗氧化活性作用[J].食品科学,2015,36(24):89-94
- [30] 刘冰,秦贞奎,林祥梅,梅琳,刘万顺,韩宝芹.壳寡糖及其配合物对胰岛细胞增殖、胰岛素分泌的促进作用[J].中国组织工程研究与临床康复,2009,13(3):513-516
- [31] 宋家乐,李贵节,赵欣.竹盐酿造酱油对H₂O₂诱发LLC-PK1细胞氧化损伤的保护作用[J].食品科学,2015,36(9):176-180
- [32] 杨溢烁,曾德永,刘艳,张丽香,张智.香菇多糖体内抗氧化活性研究[J].中国食物与营养,2016,22(8):72-74
- [33] 李雪竹.锌对动物免疫器官发育和免疫功能的影响[J].中国饲料,2005(11):24-28

Antioxidant Effect of Chitooligosaccharide-zinc Complex on the Oxidative Aging Mice Model

HAO Guijuan ZHANG Bin* ZHANG Yangyang TANG He DENG Xiaoying

(Key Laboratory of Aquatic Products Processing of Zhejiang Province/College of Food and Medicine, Zhejiang Ocean University, Zhoushan, Zhejiang 316022)

Abstract: To investigate the anti-oxidative effect of chitooligosaccharides-zinc complex (COS-Zn²⁺) on the oxidative aging mice model. The ability of COS-Zn²⁺ to scavenge O₂^{·-} and DPPH free radicals and the ability to reduce Fe³⁺ were measured in vitro. The oxidative aging mice model was established by D-galactose injection, and the effects of COS, ZnSO₄, COS + ZnSO₄ and COS - Zn²⁺ on malondialdehyde (MDA) content, superoxide dismutase (SOD), total antioxidant capacity (T-AOC), glutathione peroxidase (GSH-Px) and catalase (CAT) activity were measured. The scavenging effect of COS-Zn²⁺ on O₂^{·-} free radical was significantly better than that of COS, ZnSO₄ and the mixture of both ($P < 0.05$). When the concentration of COS-Zn²⁺ was 10 mg · mL⁻¹, DPPH radical scavenging ability was significantly better than that of other groups ($P < 0.05$); When the concentration of COS-Zn²⁺ was 10 mg · mL⁻¹, DPPH radical scavenging ability was significantly better than that of other groups ($P < 0.05$). It shows a relatively weaker Fe³⁺ reduction ability when incorporate Zn²⁺ into the COS-Zn²⁺. Compared with the normal group, the body weight and viscera index of the model group were significantly changed ($P < 0.05$) in the animal experiment. COS-Zn²⁺ administration was helpful to the body weight gain and organ index recovery in mice; COS-Zn²⁺ effectively reduced the content of MDA in the model mice and significantly increased the activities of SOD, T-AOC, GSH-Px and CAT in the serum, kidney and liver of the model mice, especially the protective effect of the protective enzymes in serum better than the COS, ZnSO₄ and COS+ZnSO₄ mixture group ($P < 0.05$). COS-Zn²⁺ shows better antioxidant activity in vitro and can significantly enhance the antagonistic ability of mice against oxidative damage. Thus, the COS-Zn_n²⁺ showed good anti-aging effect and the enhanced immune function in this study, which can provide a theoretical basis and technical reference for the application and development of maine chitosan oligosaccharides and its metal modifiers.

Keywords: oxidative aging, oligochitosan, zinc, complex, antioxidant