

# 黑木耳多糖与浆果多酚的协同抗氧化研究

樊梓鸾<sup>1</sup>, 林秀芳<sup>1</sup>, 王振宇<sup>2</sup>

(1. 东北林业大学林学院, 黑龙江哈尔滨 150040) (2. 哈尔滨工业大学食品学院 黑龙江哈尔滨 150090)

**摘要:** 本文在前期试验的基础上, 获得了树莓、红豆越橘、蓝靛果、猕猴桃、山楂和山荆子 6 种多酚以及黑木耳碱性多糖提取物, 检测单一组分和复配物(浆果多酚与黑木耳多糖质量比 1:1)对羟基自由基、ABTS<sup>+</sup> 和 DPPH 的清除能力和总还原能力。通过 Chou-Talalay 联合指数(CI), 分析它们是否具有协同抗氧化作用。树莓与黑木耳多糖的复配物对羟基自由基和 DPPH 清除率达 50% 时,  $CI_{\text{羟基自由基}}$  和  $CI_{\text{DPPH}}$  分别为  $0.56 \pm 0.09$  和  $0.45 \pm 0.19$ , 表明复配后可以提高对这两种自由基的清除效率, 起到协同抗氧化作用。猕猴桃与黑木耳多糖的复配物对 ABTS 清除率和总还原力达 50% 时,  $CI_{\text{ABTS}}$  和  $CI_{\text{总还原力}}$  分别为  $0.48 \pm 0.11$  和  $0.42 \pm 0.05$ , 揭示其复配物的抗氧化能力明显增强。深入研究多成分的协同作用将更有利于开发新的、安全和高效率的天然抗氧化保健品和相关药物, 为植物功能性成分的开发利用提供理论依据。

**关键词:** 黑木耳多糖; 浆果; 多酚; 抗氧化; 协同作用

文章编号: 1673-9078(2015)12-166-171

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.12.025

## Synergistic Antioxidative Effect of Berry Polyphenols with *Auricularia auricular* Polysaccharides

FAN Zi-luan<sup>1</sup>, LIN Xiu-fang<sup>1</sup>, WANG Zhen-yu<sup>2</sup>

(1.School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

(2.College of Food Science and Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China)

**Abstract:** Six types of polyphenols extracts were obtained from raspberry, lingonberry, blue honeysuckle, kiwi fruit, hawthorn, and Siberian apple, as well as an *Auricularia auricular* polysaccharide (AAP) extract. The scavenging capacities of the hydroxyl radicals, [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] (ABTS<sup>+</sup>) and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), as well as the total reducing capacity of a single and compound extract (mass ratio of berry polyphenols and AAPs = 1:1), was measured. The Chou-Talalay combination index (CI) was used to analyze whether there were synergistic antioxidant effects among these extracts. When the clearance rates of the compound extract of raspberry-AAPs on hydroxyl radicals and DPPH reached 50%, the values of  $CI_{\text{hydroxyl radicals}}$  and  $CI_{\text{DPPH}}$  were  $0.56 \pm 0.09$  and  $0.45 \pm 0.19$ , respectively, indicating that compounding could improve the scavenging efficiency of the 2 radicals. There was a synergistic antioxidative effect. When the clearance rate and total reducing power of the compound extract of kiwi fruit-AAPs on ABTS was 50%, the values of  $CI_{\text{ABTS}}$  and  $CI_{\text{TR}}$  were  $0.56 \pm 0.09$  and  $0.45 \pm 0.19$ , respectively, suggesting there was an improved antioxidant capacity of this compound extract. Further investigation of the synergistic effects of multi-components is important for the development of new, safe, and highly efficient natural antioxidant health care products and related compounds, providing a theoretical basis for the development and utilization of plant functional ingredients.

**Key words:** *Auricularia auricular* polysaccharides; berry; polyphenols; antioxidant; synergistic effect

黑木耳属于担子菌纲、木耳科, 在我国有着悠久的栽培历史, 是我国具有特色的大型真菌和良好的保养品。黑木耳是我国重要的药食两用胶质真菌, 具有抗氧化<sup>[1]</sup>、抗衰老、抗疲劳、抗癌<sup>[2]</sup>和降血压等生理作用。

收稿日期: 2015-03-24

基金项目: 国家自然科学基金 (31170510); 黑龙江省应用技术与开发计划项目 (GA13B202)

作者简介: 樊梓鸾 (1981-), 女, 博士研究生, 讲师, 主要研究方向: 天然产物分离纯化及功能活性评价

用。浆果是许多国家的传统水果, 据估计世界上共有 50 种可食用浆果, 各具独特风味, 大部分富含具有生物活性物质多酚类物质。大量研究表明, 浆果多酚可以作为很好的抗氧化剂<sup>[3-4]</sup>。近年来, 浆果多酚的功能活性逐渐成为研究热点, 针对浆果多酚以及食用菌多糖的功能活性研究为食品工业提供了新的应用前景。

若两种或多种抗氧化剂混合后具有比单一抗氧化剂更强的抗氧化活性, 则说明两种抗氧化剂之间存

在协同作用, 反之产生拮抗作用<sup>[5]</sup>。目前, 很多最新的研究发现, 许多抗氧化剂之间存在协同作用。协同抗氧化过程比较复杂, 目前对其机理研究还不十分透彻, 主要有以下三种机制: 1) 再生抗氧化剂, 如抗坏血酸和生育酚的抗氧化系统, 生育酚为主抗氧化剂, 抗坏血酸为增效剂。生育酚提供氢原子给脂类化合物的自由基, 变成没有抗氧化活性的生育酚自由基; 抗坏血酸提供一个氢原子给生育酚自由基使其重新生成生育酚, 而其自身变成脱氢抗坏血酸; 2) 螯合金属离子, 如酚型抗氧化剂与酸性物质(柠檬酸、磷酸)混合使用时, 具有非常显著的抗氧化效果。3) 吸收氧气, 如茶多酚和 Vc 组合时, Vc 可以通过捕获过氧化自由基, 阻断链反应而抑制油脂氧化<sup>[6]</sup>。采用两种或多种抗氧化剂复配的抗氧化效果有时优于单独使用某一种抗氧化剂, 因此, 在选择不同体系的抗氧化剂时, 考虑复合配方是大势所趋, 这不仅提高其抗氧化效果, 还可以节省能源、节约成本。此外, 我国乃至全世界对天然化合物的研究和开发越来越重视。对其抗氧化作用机理及多成分的协同作用研究将更有利于开发新的、安全和高效的天然抗氧化保健品和相关药物, 为植物功能性成分的开发利用提供理论依据, 也将为预防和治疗由于自由基作用引起的癌症、心血管疾病和衰老等慢性疾病做出贡献。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 原料

树莓 (*Rubus kamarowii* N.), 山楂 (*Crataegus pinnatifida* B.), 红豆越橘 (*Vaccinium Vitis-idaea* L.), 蓝靛果 (*Lonicera caerulea* L.), 猕猴桃 (*Actinidia kolomikta* M.), 山荆子 (*Malus baccata* L.), 2014 年 8 月采摘于林都伊春, 速冻冷藏保存。黑木耳, 产于东北东宁县。

所用试剂均为分析纯。

### 1.2 主要仪器设备

SHB 循环水多用真空泵, 郑州长城科工贸有限公司; JJ-2 型组织粉碎机, 常州仪器设备有限公司; FA25 高剪切分散乳化机, 上海弗鲁克流体机械制造有限公司; 722 可见分光光度计, 上海光谱仪器有限公司; 721 紫外可见分光光度计, 上海光谱仪器有限公司; DF204 电热鼓风干燥箱, 北京西城区医疗器械二厂。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 黑木耳多糖的提取

参考文献略作修改<sup>[8]</sup>, 提取工艺流程为: 黑木耳→粉碎→过筛(60目)→石油醚脱脂→烘干→木耳粉→按一定的料水比加蒸馏水→高剪切分散乳化机提取多糖→离心→无水乙醇醇沉→绢布过滤→55℃烘干→黑木耳多糖

#### 1.3.2 黑木耳多糖含量和得率的测定

黑木耳多糖含量的测定采用苯酚-硫酸法, 准确称取醇沉后烘干得到的黑木耳多糖 0.05 g 复溶于 100 mL 容量瓶中, 根据如下公式进行计算黑木耳多糖的含量及得率。

$$H = \frac{C}{m/V_1 \times V_2/V_3}$$

$$h = \frac{H \times m_2}{M}$$

式中, H 为多糖的含量(%);  $m_1$  为复溶的质量;  $V_1$  为定容的体积;  $V_2$  为吸取的体积;  $V_3$  为溶液的总体积; C 为多糖质量浓度( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ); h 为黑木耳得率(%);  $m_2$  为醇沉后的质量(g); M 为样品质量(g)。

#### 1.3.3 多酚活性成分的提取

取 100 g 速冻冷藏的悬钩子浆果, 加入 200 mL 预冷冻丙酮溶液, 先用组织粉碎机匀浆 3 min, 然后转入高剪切分散乳化机均质, 最后抽滤, 收集滤液, 适当稀释进行吸光度测定<sup>[8]</sup>。

#### 1.3.4 多酚含量的测定

本实验用福林-酚法测定总多酚的含量<sup>[3]</sup>。

分别取 125  $\mu\text{L}$  标准溶液或稀释样品, 加入 125  $\mu\text{L}$  FCR 混合静置 6 min, 加入 7%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (1.25 mL), 用水调至 3 mL (加水 1.5 mL), 放置 90 min, 760 nm 测定吸光度。以标准曲线回归方程计算总多酚含量。

总多酚含量 ( $\text{mg}/100\text{g}$ ) = 回归浓度  $\times$  稀释倍数  $\times$  提取液体积/原料鲜重/100

#### 1.3.5 总还原力的测定

参考文献略作修改<sup>[7]</sup>。以 Trolox 作为阳性对照, 准确移取不同浓度梯度的样品溶液 1.0 mL, 随即快速加入 2.5 mL 0.2 mol/L 的 PBS 缓冲溶液(pH 6.6)和 2.5 mL 1% 的铁氰化钾溶液。将混合溶液置于 50℃ 的恒温水浴锅中保温 20 min。取出后, 加入 2.5 mL 10% 的三氯化铁, 若产生浑浊, 则将混合物在室温下 3500 r/min 离心 10 min 吸取 2.5 mL 上清液, 加入 2.5 mL 蒸馏水; 若无浑浊则直接加 2.5 mL 蒸馏水, 最后加入 0.5 mL 0.1% 的三氯化铁, 混匀后反应 10 min。用分光光度计在 700 nm 下测得反应物的吸光值, 空白以蒸馏水代替样液。吸光值和还原能力成正比。

#### 1.3.6 清除羟基自由基能力测定

参考文献略作修改<sup>[9]</sup>。以 Trolox 作为阳性对照, 在试管中加入 1.0 mL 不同浓度的样液, 依次加入 2

mmol/L FeSO<sub>4</sub> 溶液 2 mL, 6 mmol/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 溶液 2 mL, 充分震荡摇匀, 静置 10min, 再依次加入 2 mmol/L 水杨酸钠 2 mL, 混合均匀后置于 37 °C 水浴中静置 30 min, 于 510 nm 波长下测定混合物的吸光值 A<sub>1</sub>; 同法操作, 用等体积蒸馏水代替样液, 测定吸光度 A<sub>0</sub>; 不加水杨酸用等体积蒸馏水代替, 加入不同浓度样液, 同法操作, 测定吸光度 A<sub>2</sub>。以样品溶液浓度为横坐标, 羟基自由基清除率为纵坐标, 建立样品溶液浓度与羟基自由基清除率关系的曲线。

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100$$

### 1.3.7 清除 ABTS<sup>+</sup> 自由基能力的测定

ABTS<sup>+</sup> 工作液的配置: 精确称量 0.0384 g ABTS 试剂并用蒸馏水溶解定容至 10 mL; 精确称取 0.0134 g 过硫酸钾蒸馏水溶解并定容至 10 mL。将上述两种试剂以 1:1 的比例混合, 避光 12 h 得到工作液。取适量 ABTS<sup>+</sup> 工作液, 以磷酸盐缓冲液(0.1mol/L, pH=7.4) 将其稀释, 使工作液的吸光值在 734 nm 下时获得 0.70±0.02。

样品的测定: 在 96 孔板的孔中依次加入样液 50μL, 以及稀释好的 ABTS<sup>+</sup> 工作液 250 μL, 充分混匀于 734 nm 波长下测定吸光值 A<sub>i</sub>, 在另一组加入样液的 50 μL 的孔中加入磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L, pH=7.4)250 μL, 充分混匀于 734 nm 波长下测定吸光值 A<sub>j</sub>, 同时在第三组孔中加入蒸馏水 50 μL 以及 ABTS<sup>+</sup> 工作液 250 μL 作为空白组, 避光反应 6 min, 于 734nm 波长下测吸光值 A<sub>0</sub>。按公式计算黑木耳多糖对 ABTS<sup>+</sup> 的清除能力, 同时以抗坏血酸 V<sub>C</sub>、BHA、Trolox 为阳性对照来评价样品的抗氧化能力。其中 BHA 用 20%乙醇作为空白对照。

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100$$

式中: A<sub>i</sub>-第一组样品液的吸光值; A<sub>j</sub>-第二组样品液的吸光值; A<sub>0</sub>-第三组空白对照的吸光值。

### 1.3.8 清除 DPPH 自由基能力的测定

DPPH 工作液的配置: 精确称取 6.00 mg DPPH 干粉, 并用 95%的乙醇准确定容至 100 mL 容量瓶中, 充分混匀, 即配置成 1×10<sup>-4</sup> mol/L 的 DPPH 溶液。

样品的测定: 在 96 孔板的孔中依次加入不同浓度梯度的样液 100 μL, 以及稀释好的 DPPH 溶液 200 μL, 充分混匀于 517 nm 波长下测定吸光值 A<sub>i</sub>, 在另一组加入样液的 100 μL 的孔中加入 95%的乙醇溶液 200 μL, 充分混匀于 517 nm 波长下测定吸光值 A<sub>j</sub>, 同时在第三组孔中加入 95%的乙醇溶液 100 μL 以及 DPPH 溶液 200 μL 作为空白组, 避光反应 30 min, 于

517 nm 波长下测吸光值 A<sub>0</sub>。按公式计算黑木耳多糖对 DPPH 的清除能力, 同时以抗坏血酸 V<sub>C</sub>、BHA、Trolox 为阳性对照来评价样品的抗氧化能力。其中 BHA 用 20%乙醇作为空白对照。

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_i - A_j}{A_0}\right) \times 100$$

式中: A<sub>i</sub>-第一组样品液的吸光值; A<sub>j</sub>-第二组样品液的吸光值; A<sub>0</sub>-第三组空白对照的吸光值。

### 1.3.9 黑木耳多糖与浆果多酚协同抗氧化

将本实验获得的活性最强的碱性多糖与浆果多酚进行协同复配, 浆果与多糖的体积为 1:1。研究总还原力 (EC<sub>50</sub>)、羟基自由基 (·OH)、ABTS<sup>+</sup> 清除能力和 DPPH 的清除能力的测定, 通过 IC<sub>50</sub> 的计算, 比较 IC<sub>50</sub> 值的大小, 得出相应结论。结论证明哪种浆果多酚与多糖复配的活性更好。

#### 1.3.10 联合指数 (CI)

为了确定黑木耳多糖与浆果多酚的联合抗氧化作用的效果是协同还是拮抗作用, 我们这里采用 Talady 和 Chou 的中效原理联合作用指数 CI。CI = D<sub>1</sub>/D<sub>x1</sub> + D<sub>2</sub>/D<sub>x2</sub>, D<sub>1</sub> 和 D<sub>2</sub> 是药物 1 和药物 2 联合作用抑制率为 50%时的作用浓度; D<sub>x1</sub> 和 D<sub>x2</sub> 是药物 1 和药物 2 单独作用时的作用抑制率为 50%时的作用浓度。根据 Talady 和 Chou 的理论, 如果 CI=1, 表明药物 1 和药物 2 是联合作用效果是具有叠加作用的; 若 CI>1 时, 表明药物 1 和药物 2 联合作用效果是具有拮抗作用的; 若 CI<1, 表明药物 1 和药物联合作用是具有协同作用的。

## 1.4 统计分析

实验中的数据均平行测定 3 次。以下出现的数据均以 (平均值±标准误) 表示。以下数据均用 excel 2010、origin 8.0 和 CalculSyn Demo 等软件处理数据。

## 2 结果与讨论

### 2.1 浆果中多酚成分及抗氧化活性测定

浆果多酚含量极其抗氧化活性的 IC<sub>50</sub> 值, 如表 1 所示。

### 2.1 黑木耳多糖与浆果多酚复配总还原能力的测定

通过计算得出六种浆果多酚及黑木耳多糖清除羟基自由基的 IC<sub>50</sub> 后, 将黑木耳多糖与六种浆果多酚以其 IC<sub>50</sub> 的二倍进行复配, 复配体积比为 1:1, 充分

均匀混合, 得到复配物稀释不同倍数, 按照总还原力能力的测定方法, 计算得出 IC<sub>50</sub> 值, 结果如图 1 所示。

表 1 浆果中多酚含量及其抗氧化活性

Table 1 Polyphenol content and antioxidant activity of six berries

浆果种类	多酚含量 /%	总还原能力 IC <sub>50</sub> /(mg/mL)	清除羟基自由基能力 IC <sub>50</sub> /(mg/mL)	清除 ABTS 自由基能力 IC <sub>50</sub> /(mg/mL)	清除 DPPH 自由基能力 IC <sub>50</sub> /(mg/mL)
红豆越橘	13.34±0.56	6.32±0.10	9.58±0.05	0.15±0.02	5.04±0.15
蓝靛果	9.39±0.23	2.07±0.07	5.32±0.03	0.04±0.00	5.62±0.04
山荆子	3.82±0.14	2.51±0.01	4.12±0.01	0.03±0.00	6.69±0.01
猕猴桃	10.89±0.15	12.02±0.09	36.28±0.11	0.11±0.00	31.81±0.29
树莓	31.59±0.98	15.10±0.23	4.56±0.04	0.19±0.01	3.00±0.02
山楂	9.25±0.12	11.42±0.10	32.78±0.14	0.16±0.03	13.28±0.08

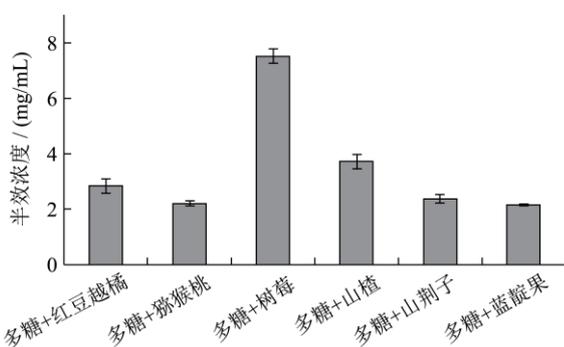


图 1 黑木耳多糖与浆果多酚总还原力作用的测定

Fig.1 Measurement of the total reducing abilities of the polyphenols in six berries and *Auricularia auricular* polysaccharides

由图 1 可知, 黑木耳多糖与六种浆果多酚混合后总还原力能力与所复配的多酚类型有关。由图中所示的 IC<sub>50</sub> 大小可知, 黑木耳多糖与浆果多酚混合物总还原力大小排序如下: 黑木耳多糖+猕猴桃多酚>黑木耳多糖+蓝靛果多酚>黑木耳多糖+山荆子多酚>黑木耳多糖+红豆越橘多酚>黑木耳多糖+山楂多酚>黑木耳多糖+树莓多酚。

表 2 黑木耳多糖与浆果多酚组合物的总还原力 CI 指数

Table 2 CI index of the total reducing power of the combinations of *Auricularia auricular* polysaccharide and polyphenols

组合	CI
黑木耳多糖+红豆越橘多酚	0.43±0.18
黑木耳多糖+蓝靛果多酚	0.98±0.05
黑木耳多糖+山荆子多酚	0.96±0.02
黑木耳多糖+猕猴桃多酚	0.42±0.05
黑木耳多糖+树莓多酚	0.86±0.11
黑木耳多糖+山楂多酚	0.48±0.23

由表 1 可知, 浆果多酚的总还原力大小排序如下: 蓝靛果多酚>山荆子多酚>红豆越橘多酚>山楂多酚>猕猴桃多酚>树莓多酚。二者稍有差异, 初步推测, 黑木耳多糖与猕猴桃多酚的协同效果最好。根据中效原理计算联合作用指数 CI, 可更直观的比较黑木耳多

糖与浆果多酚的协同效果的好坏。

表 2 所示为六种浆果多酚与黑木耳多糖复配时的联合作用指数 CI, 可以看出, 六种浆果多酚与黑木耳多糖混合物总还原能力的 CI 值均小于 1, 这说明均具协同效应, 协同效应大小排序如下: 黑木耳多糖+猕猴桃多酚>黑木耳多糖+红豆越橘多酚>黑木耳多糖+山楂多酚>黑木耳多糖+树莓多酚>黑木耳多糖+山荆子多酚>黑木耳多糖+蓝靛果多酚。其中, 猕猴桃多酚、红豆越橘多酚与山楂多酚分别与黑木耳多糖的复配物, CI<0.7, 表明猕猴桃多酚、红豆越橘多酚与山楂多酚分别与黑木耳多糖之间存在较好的协同作用, 猕猴桃多酚与黑木耳多糖的协同效果最强 CI (0.42±0.05)。其他三种多酚与黑木耳多糖之间总还原力的协同作用不强。

## 2.2 黑木耳多糖与浆果多酚复配清除羟基自

由基 (OH·) 能力

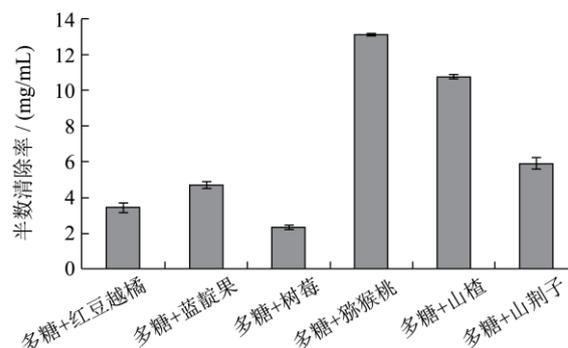


图 2 黑木耳多糖与浆果多酚羟基自由基 (OH·) 清除能力的测定

Fig.2 Measurement of the hydroxyl radical (OH·) scavenging capability of the polyphenols of six berries and *Auricularia auricular* polysaccharide

与测定总还原力方法相似, 得到复配物稀释不同倍数, 测定其清除羟基自由基能力, 计算得出 IC<sub>50</sub> 值,

以此表示复配物清除羟基自由基能力的大小，如图 2 所示。

由图 2 可知，黑木耳多糖与六种浆果多酚混合后清除羟基自由基的能力与所复配的多酚类型有关。由图中所示的 IC<sub>50</sub> 大小可知，其清除羟基自由基能力大小排序如下：黑木耳多糖+树莓多酚>黑木耳多糖+红豆越橘多酚>黑木耳多糖+蓝靛果多酚>黑木耳多糖+山荆子多酚>黑木耳多糖+山楂多酚>黑木耳多糖+猕猴桃多酚。

由表 1 可知，浆果多酚清除羟基自由基能力大小排序如下：山荆子多酚>树莓多酚>蓝靛果多酚>红豆越橘多酚>山楂多酚>猕猴桃多酚。二者有一定的差异，初步推测，黑木耳多糖与树莓多酚的协同效果最佳。

表 3 黑木耳多糖与浆果多酚复配物对羟基自由基 (OH·) 清除能力的 CI 值

Table 3 CI values for the compound extracts of polyphenols and *Auricularia auricular* polysaccharides at 50% inhibition of hydroxyl radicals

组合	CI
黑木耳多糖+红豆越橘多酚	0.34±0.11
黑木耳多糖+蓝靛果多酚	0.65±0.09
黑木耳多糖+山荆子多酚	0.76±0.06
黑木耳多糖+猕猴桃多酚	0.84±0.02
黑木耳多糖+树莓多酚	0.56±0.09
黑木耳多糖+山楂多酚	0.98±0.07

根据 Chou 和 Talady 的中效原理计算联合作用指数 CI，可更直观的比较黑木耳多糖与浆果多酚的协同效果的好坏。如果 CI=1，药物联合作用效果具有叠加效应；CI<1，药物联合作用效果具有协同效应；CI>1，药物联合作用效果具有拮抗效应。这说明 CI 值越小，两种样品的协同效果越好。所得结果如表 3 所示：六种浆果多酚与黑木耳多糖清除羟基自由基的能力均具协同效应，且协同效应大小排序如下：黑木耳多糖+红豆越橘多酚>黑木耳多糖+树莓多酚>黑木耳多糖+蓝靛果多酚>黑木耳多糖+山荆子多酚>黑木耳多糖+猕猴桃多酚>黑木耳多糖+山楂多酚。其中树莓多酚、红豆越橘多酚与蓝靛果多酚分别与黑木耳多糖的复配物，CI<0.7，表明红豆越橘多酚、树莓与蓝靛果多酚分别与黑木耳多糖之间存在较好协同作用，且红豆越橘多酚与黑木耳多糖的协同效果 CI (0.34±0.11) 最低，协同抗氧化效果最强。

### 2.3 黑木耳多糖与浆果多酚复配清除

### ABTS<sup>+</sup>·自由基能力

与复配物清除羟基自由基方法相似，以各自样品 IC<sub>50</sub> 的二倍进行 1:1 复配，将复配物稀释不同浓度，测定其清除 ABTS 自由基能力。并以 IC<sub>50</sub> 的大小表示清除能力大小，如图 3 所示的 IC<sub>50</sub> 大小可知，其清除 ABTS 自由基能力大小排序如下：黑木耳多糖+蓝靛果多酚>黑木耳多糖+红豆越橘多酚>黑木耳多糖+山荆子多酚>黑木耳多糖+树莓多酚>黑木耳多糖+猕猴桃多酚>黑木耳多糖+山楂多酚。

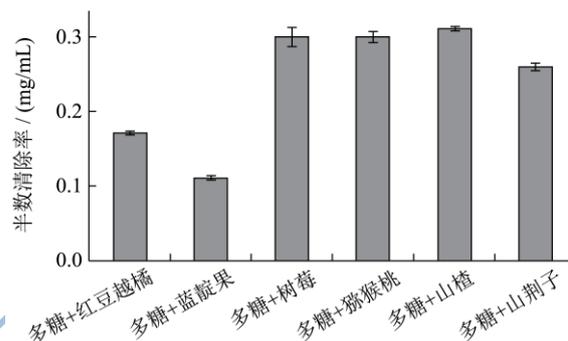


图 3 黑木耳多糖与浆果多酚 ABTS<sup>+</sup> 清除能力的测定

Fig.3 Measurement of ABTS<sup>+</sup> radical scavenging capability of the combinations of polyphenols of six berries and *Auricularia auricular* polysaccharide

表 4 黑木耳多糖与浆果多酚复配物对 ABTS<sup>+</sup>·清除能力的 CI 值

Table 4 CI values for the compound extracts of polyphenols and *Auricularia auricular* polysaccharides at 50% inhibition of ABTS<sup>+</sup> radicals

组合	CI
黑木耳多糖+红豆越橘多酚	0.50±0.06
黑木耳多糖+蓝靛果多酚	0.55±0.10
黑木耳多糖+山荆子多酚	0.98±0.39
黑木耳多糖+猕猴桃多酚	0.48±0.11
黑木耳多糖+树莓多酚	0.83±0.22
黑木耳多糖+山楂多酚	1.34±0.28

由表 1 可知，浆果多酚清除 ABTS 自由基能力大小排序为：山荆子多酚>蓝靛果多酚>猕猴桃多酚>红豆越橘多酚>山楂多酚>树莓多酚。通过黑木耳多糖和浆果多酚单独或复配应用对 ABTS<sup>+</sup> 清除能力的 IC<sub>50</sub>，计算出的联合作用指数 (CI)。如表 4 所示，黑木耳多糖与山楂多酚复配时 CI>1，这说明黑木耳多糖与山楂联合作用清除 ABTS 自由基的效果具有拮抗效应。其他五种浆果多酚与原花青素的清除 ABTS 自由基的能力均具协同效应，协同效应大小排序如下：黑木耳多糖+猕猴桃多酚>黑木耳多糖+红豆越橘多酚>黑木耳

多糖+蓝靛果多酚>黑木耳多糖+树莓多酚>黑木耳多糖+山荆子多酚。

## 2.4 黑木耳多糖与浆果多酚复配清除

### DPPH·自由基能力

与复配物清除羟基自由基方法相似,以各自样品IC<sub>50</sub>的二倍进行1:1复配,将复配物稀释不同浓度,测定其清除DPPH·自由基能力。并以IC<sub>50</sub>的大小表示清除能力大小,如图4所示,其清除ABTS·自由基能力大小排序如下:黑木耳多糖+树莓多酚>黑木耳多糖+蓝靛果多酚>黑木耳多糖+红豆越橘多酚>黑木耳多糖+山荆子多酚>黑木耳多糖+山楂多酚>黑木耳多糖+猕猴桃多酚。

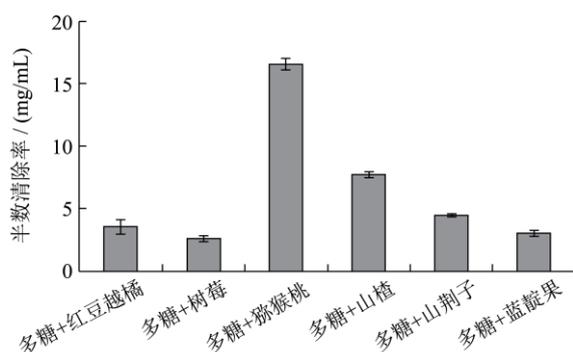


图4 黑木耳多糖与浆果多酚DPPH·自由基清除能力的测定

Fig.4 Measurement of DPPH radical scavenging capability of the combinations of the polyphenols of six berries and *Auricularia auricular* polysaccharides

表5 黑木耳多糖与浆果多酚复配物对DPPH·清除能力的CI值

Table 5 CI Values for the compound extracts of polyphenols and *Auricularia auricular* polysaccharides at 50% inhibition of DPPH·radical scavenging capability

组合	CI
黑木耳多糖+红豆越橘多酚	0.97±0.01
黑木耳多糖+蓝靛果多酚	0.77±0.04
黑木耳多糖+山荆子多酚	0.88±0.07
黑木耳多糖+猕猴桃多酚	0.99±0.04
黑木耳多糖+树莓多酚	0.45±0.19
黑木耳多糖+山楂多酚	0.97±0.01

由表1可知,浆果多酚清除DPPH·自由基能力大小排序如下:树莓多酚>红豆越橘多酚>蓝靛果多酚>山荆子多酚>山楂多酚>软枣猕猴桃多酚。与图4显示的复配物清除DPPH·自由基能力略有不同,初步推测,是由于黑木耳多糖与浆果多酚复配后的结合产物不同。可以推断,黑木耳多糖与树莓多酚的协同效果最佳。

根据Chou和Talady的中效原理计算联合作用指数CI,所得结果如表5所示:六种浆果多酚与原花青素的清除DPPH·自由基的能力均具协同效应,且协同效应大小排序如下:黑木耳多糖+树莓多酚>黑木耳多糖+蓝靛果多酚>黑木耳多糖+山荆子多酚>黑木耳多糖+红豆越橘多酚=黑木耳多糖+山楂多酚>黑木耳多糖+猕猴桃多酚,其中,树莓多酚与黑木耳多糖的协同效果CI(0.45±0.19)最低,协同抗氧化效果最强。

## 3 结论

3.1 综上所述,浆果多酚提取物与碱性黑木耳多糖复配除蓝靛果多酚与黑木耳多糖在清除ABTS·自由基时表现出拮抗作用外,其他各组复配混合物对四种自由基的清除都表现出很好的抗氧化协同作用。树莓多酚能够较好的清除羟基自由基和DPPH·自由基,与碱性黑木耳多糖复配后,通过中效原理计算联合作用指数CI计算,CI<sub>羟基自由基</sub>和CI<sub>DPPH</sub>分别为0.56±0.09和0.45±0.19,表明复配后可以提高对这两种自由基的清除效率,起到协同抗氧化作用。猕猴桃多酚本身并没有表现出较好的清除ABTS(第3位)和总还原力活性(第5位),但与碱性黑木耳多糖复配后,通过CI指数计算,CI<sub>ABTS</sub>和CI<sub>总还原力</sub>分别为0.48±0.11和0.42±0.05,揭示其复配物的抗氧化能力明显增强。

3.2 随着我国对天然化合物的开发越来越重视。对于其抗氧化作用机理及多成分的协同作用研究将更有利于开发新的、安全和高效的天然抗氧化保健品和相关药物,为植物功能性成分的开发利用提供理论依据,也将为预防和治疗由于自由基作用引起的癌症、心血管疾病和衰老等慢性疾病做出贡献。且天然抗氧化物节约成本,能够最大限度的利用该物质的功效,更好的发挥了天然化合物的功效。

## 参考文献

[1] Zhang H, Wang ZY, Yang L, et al. In Vitro Antioxidant Activities of sulfated derivatives of polysaccharides extracted from *auricularia auricular*[J]. Int. J. Mol. Sci., 2011, 12(5): 3288-3302

[2] Zuo LL, Wang ZY, Fan ZL, et al. Evaluation of antioxidant and antiproliferative properties of three actinidia (*actinidia kolomikta*, *actinidia arguta*, *actinidia chinensis*) extracts *in vitro* [J]. Int. J. Mol. Sci., 2012, 13(5): 5506-5518

[3] Fan ZL, Wang ZY, Liu JR. Cold-field fruit extracts exert different antioxidant and antiproliferative activities *in vitro* [J]. Food Chemistry 2011, 129(2): 402-407

[4] 樊梓鸾,王振宇.红豆越橘体外抗氧化和抗细胞增殖活性研

- 究[J].现代食品科技,2010,10(26):1081-1086
- FAN Zhi-luan, WANG Zhen-yu. Antioxidant and antiproliferative activities of lingonberries *in vitro* [J]. Modern Food Science and Technology, 2010, 10(26): 1081-1086
- [5] 白海娜,王振宇,刘瑞海等.白藜芦醇与黑木耳多糖协同清除 ABTS 自由基活性的研究[J].现代食品科技,2014,3(30): 64-68
- BAI Hai-na, WANG Zhen-yu, LIU Rui-hai. Synergistic ABTS radical scavenging activity of resveratrol with *auricularia auricular* polysaccharides [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 3(30): 64-68
- [6] Choi HY, Kim SW, Kim B, et al. Alpha-Fetoprotein, identified as a novel marker for the antioxidant effect of placental extract, exhibits synergistic antioxidant activity in the presence of estradiol [J]. PloS One, 2014, 9(6)
- [7] Sun Y, Yang B, Wu Y, et al. Structural characterization and antioxidant activities of kappa-carrageenan oligosaccharides degraded by different methods [J]. Food Chemistry 2015, 178: 311-318
- [8] Fan ZL, Wang ZY, Zuo LL, et al. Protective effect of anthocyanins from lingonberry on radiation-induced damages [J]. Int. J. Env. Res. Pub. He., 2012, 9(12):4732-4743
- [9] Sun X, Sun Y, Zhang Q, et al. Screening and comparison of antioxidant activities of polysaccharides from *Coriolus versicolor* [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2014, 69:12-19