

两种多糖复配物的抗氧化性研究

邹雨叶,王 雪,王雪梅,朱亚男,陶明煌

(南京师范大学食品与制药工程学院,江苏 南京 210097)

[摘要] 研究香菇、苦瓜两种多糖复配物的抗氧化性. 采用水提醇沉法获得香菇多糖、苦瓜粗多糖,用 Sevage 试剂除去蛋白质得到精多糖. 比较两种多糖及其复配物对羟基自由基($\cdot\text{OH}$)、超氧阴离子自由基($\cdot\text{O}^{2-}$)、DPPH 自由基的清除能力. 香菇多糖和苦瓜多糖复配比例为 1:1、1:2、1:3、2:1、2:3、3:1、3:2. 实验结果表明,两种多糖及其不同比例复配物对 3 种自由基均具有良好的清除能力,当复配比为 2:1 时,复配物对羟基($\cdot\text{OH}$)、超氧阴离子($\cdot\text{O}^{2-}$)、DPPH 3 种自由基的清除率的 IC_{50} 值分别为 3.447、2.006、0.500 mg/mL,其清除效果优于两种多糖单独使用或其他比例复配时,此时其抗氧化能力最强.

[关键词] 香菇多糖,苦瓜多糖,抗氧化,复配比

[中图分类号] TS201.4 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1672-1292(2019)02-0087-06

Study on the Antioxidant Activity of Two Kinds of Polysaccharides Compound

Zou Yuye, Wang Xue, Wang Xuemei, Zhu Yanan, Tao Mingxuan

(School of Food Science and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

Abstract: The paper studies the antioxidation of the polysaccharides of *Lentinus edodes* and *Momordica charantia*. The water extraction and alcohol precipitation method are used to obtain the crude polysaccharides of *Lentinus edodes* and *Momordica charantia*, and the protein is removed with Sevage reagent to obtain the refined polysaccharide. The scavenging activities of hydroxyl radical ($\cdot\text{OH}$), superoxide anion radical ($\cdot\text{O}^{2-}$) and DPPH radical are compared between two polysaccharides and their complexes. The compounding ratio of polysaccharides of *Lentinus edodes* and *Momordica charantia* is 1:1, 1:2, 1:3, 2:1, 2:3, 3:1, and 3:2. Both polysaccharides and their different proportions of complexes had good scavenging abilities for all three kinds of free radicals. When the compounding ratio is 2:1, the IC_{50} values of the clearance rates of hydroxy ($\cdot\text{OH}$), superoxide anion ($\cdot\text{O}^{2-}$) and DPPH three radicals are 3.447 mg/mL, 2.006 mg/mL, and 0.500 mg/mL respectively, and their clearance effects are better than those of the two polysaccharides and other ratios. Lentinan and momordica charantia polysaccharides has the strongest antioxidant capacity when the compounding ratio is 2:1.

Key words: lentinan, momordica charantia, antioxidant, compounding ratio

1965 年由英国人 Harman D 提出的自由基学说指出,衰老过程中的退行性变化是由于细胞正常代谢过程中产生的自由基的有害作用造成的. 在人体生命过程中,自由基是一种必需的物质,其在体内处于不断产生和不断清除的平衡状态. 当自由基过多或清除过慢时,多余的自由基就会对机体产生伤害^[1]. 过多的自由基会使细胞膜上的脂质过氧化,破坏细胞膜的结构,还会损伤蛋白质和 DNA,引起细胞和个体的衰老,清除自由基可以增加细胞的抗氧化性^[2-3].

香菇(*Lentinula edodes*)属光茸菌科的真菌,富含蛋白质、脂肪、碳水化合物、矿物质、维生素等多种营养物质^[4]. 香菇多糖具有免疫调节、抗感染、抗肿瘤、抗衰老、抗病毒及抗氧化等作用^[5-6]. 苦瓜(*Momordica charantia*)是葫芦科果实,有特殊的苦味. 苦瓜中含有苦瓜素、苦瓜皂苷、苦瓜多糖、植物胰岛素等成分,这些活性成分使苦瓜具有降血糖、降血脂、抗氧化等功效^[7-10]. 已有研究证明苦瓜多糖具有抗氧化、降血脂

收稿日期:2018-06-07.

基金项目:江苏省大学生创新训练计划(201710319047Z)、江苏省研究生科研创新计划(KYCX18-1219).

通讯联系人:陶明煌,副教授,研究方向:生物活性物质与保健功能因子. E-mail:45017@njnu.edu.cn

的功效^[10-12].

目前国内外对多糖的抗氧化性有深入的研究,但对多糖复配及复配多糖的抗氧化性研究较少^[13-14]. 经倪焱等^[13]研究发现金针菇多糖和平菇多糖进行复配,不同比例复配物的抗氧化性均比单一多糖抗氧化性强. 本试验拟通过测定香菇多糖、苦瓜多糖及其复配物对超氧阴离子自由基($\cdot\text{O}^{2-}$)、羟基自由基($\cdot\text{OH}$)、DPPH 自由基的清除能力,研究香菇多糖和苦瓜多糖及两种多糖不同比例复配物的抗氧化性,比较两种多糖及其不同比例复配物的抗氧化性强弱,为复配多糖在抗氧化方面的应用提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 材料

新鲜香菇及苦瓜,购于江苏南京上海路副食品中心市场.

1.2 试剂

乙醇、三氯甲烷、正丁醇、抗坏血酸、硫酸亚铁、水杨酸均为国产分析纯,所有试剂均购于南京化学试剂有限公司.

1.3 仪器

DHG-9140 电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司),HH-8 数显恒温水浴锅(金坛市富华仪器有限公司),JY92 亚超声波细胞破碎机(宁波新芝生物科技有限公司),RE-52A 旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂),SHB-III 水循环真空泵(武汉常仪实业有限公司),GL-22M 高速冷冻离心机(湖南赛特湘仪离心机仪器有限公司),722 可见分光光度计(上海精密科学仪器有限公司).

1.4 方法

1.4.1 香菇苦瓜和苦瓜多糖的提取及纯化

参考钟耀广^[11]和李艳红^[15]方法,将样品原材料分别清洗、切片,于 60 ℃ 低温烘干至恒重,粉碎,过 80 目筛. 分别准确称取 5.0 g 样品干粉,加入 20 倍体积蒸馏水,冰水浴中进行超声波细胞破碎,热水浸提后,8 000 r/min 离心 15 min 取上清液,重复提取 3 次,合并上清液,抽滤,合并滤液,减压浓缩,浓缩液加 4 倍体积的 95% 乙醇,4 ℃ 下醇析 12 h,离心取沉淀,60 ℃ 干燥得香菇粗多糖和苦瓜粗多糖.

分别取 5% 香菇多糖和苦瓜粗多糖溶液 50 mL,加入 0.2 倍体积 Sevage 试剂,400 r/min 振荡 30 min,4 000 r/min 离心 15 min,取上层多糖溶液,在其中加入 0.2 倍其体积的 Sevage 试剂,重复 5~6 次,直至中间无蛋白层. 将脱蛋白后的多糖溶液减压旋转蒸发,透析两昼夜后冷冻干燥得到香菇多糖和苦瓜精多糖.

多糖得率公式为:

$$\begin{aligned}\text{粗多糖得率} &= \frac{\text{粗多糖质量}}{\text{干物质质量}} \times 100\%; \\ \text{精多糖得率} &= \frac{\text{精多糖质量}}{\text{干物质质量}} \times 100\%.\end{aligned}$$

1.4.2 对羟基自由基($\cdot\text{OH}$)清除能力的测定

参考樊梓鸾^[16]的测定方法.

1.4.3 对超氧阴离子自由基($\cdot\text{O}^{2-}$)清除能力的测定

参考张贺^[17]的测定方法

1.4.4 对 DPPH 自由基清除能力的测定

参考李湘利^[18]的测定方法.

1.5 数据统计分析

采用 DPS 13.5 统计软件对实验数据进行分析.

2 结果与分析

2.1 香菇多糖和苦瓜多糖的得率

香菇粗多糖和苦瓜粗多糖的得率分别为 11.89% 和 8.20%;香菇精多糖和苦瓜精多糖的得率分别为 1.53% 和 1.50%.

2.2 香菇多糖和苦瓜多糖及其复配物对羟基自由基($\cdot\text{OH}$)的清除作用

2.2.1 香菇多糖和苦瓜多糖对羟基自由基的清除作用

由图1可知,香菇多糖和苦瓜多糖对羟基自由基均具有较好的清除能力,且随浓度的增大而增强.香菇多糖和苦瓜多糖的半数抑制率 IC_{50} 分别为 4.189、5.310 mg/mL,清除能力香菇多糖强于苦瓜多糖,但均不及 VC.

2.2.2 香菇多糖和苦瓜多糖复配物对羟基自由基的清除作用

由图2可知,不同比例的复配物对羟基自由基均有清除能力.香菇多糖与苦瓜多糖不同复配比(1:1、1:2、1:3、2:1、2:3、3:1、3:2,下同)的 IC_{50} 值分别为 3.920、3.726、4.072、3.447、3.776、4.102、3.998 mg/mL.当复配比为 2:1 时,复配物对羟基自由基的清除率最高,其效果比香菇多糖和苦瓜多糖及其他复配比的清除作用强,表明当香菇多糖和苦瓜多糖复配物的复配比为 2:1 时,对羟基自由基的清除作用更好,具有更强的抗氧化能力.

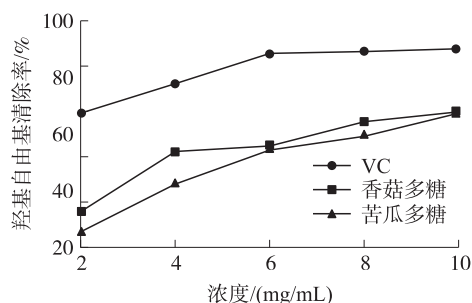


图1 香菇多糖和苦瓜多糖对羟基自由基的清除率

Fig. 1 The hydroxyl radical scavenging rate of the polysaccharides of *Lentinus edodes* and *Momordica charantia*

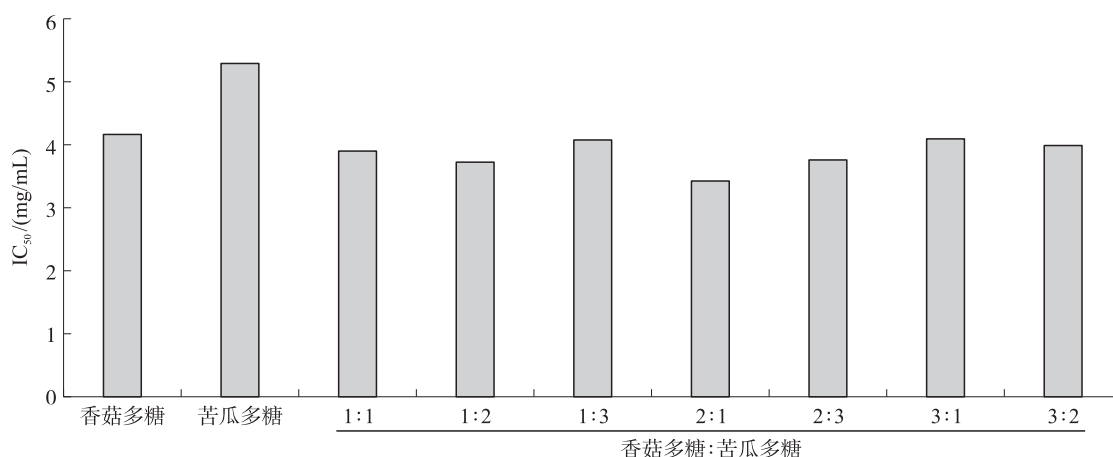


图2 香菇多糖和苦瓜多糖复配后对羟基自由基的半抑制浓度 IC_{50} 值

Fig. 2 IC_{50} value of hydroxyl radical scavenging after combined the polysaccharides of *Lentinus edodes* and *Momordica charantia*

2.3 香菇多糖和苦瓜多糖对超氧阴离子自由基($\cdot\text{O}_2^-$)的清除作用

2.3.1 香菇多糖和苦瓜多糖对超氧阴离子自由基的清除作用

由图3可知,香菇多糖和苦瓜多糖对超氧阴离子自由基均有较好的清除能力,且随浓度的增大而增强.香菇多糖和苦瓜多糖的 IC_{50} 分别为 2.456 和 2.488 mg/mL,二者对超氧阴离子自由基的清除能力相近,但均不及 VC.

2.3.2 香菇多糖和苦瓜多糖复配物对超氧阴离子自由基的清除作用

由图4可知,不同比例的复配物对超氧阴离子自由基均有清除能力.不同复配比的 IC_{50} 值分别为 2.343、2.367、2.309、2.006、2.429、2.234、2.356 mg/mL.当复配比为 2:1 时,复配物对超氧阴离子的清除率最高,其效果比香菇多糖和苦瓜多糖及其他复配比的清除作用强,表明香菇多糖和苦瓜多糖复配比为 2:1 时,复配物对超氧阴离子自由基的清除作用更好,具有更强的抗氧化能力.

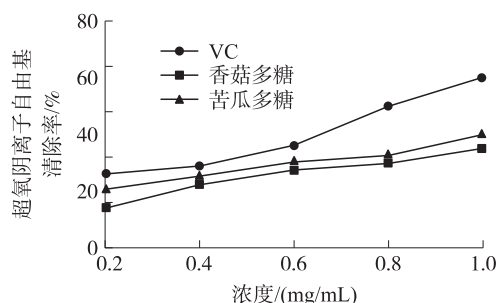


图3 香菇多糖和苦瓜多糖对超氧阴离子自由基的清除率

Fig. 3 Superoxide anion radical scavenging rate of the polysaccharides of *Lentinus edodes* and *Momordica charantia*

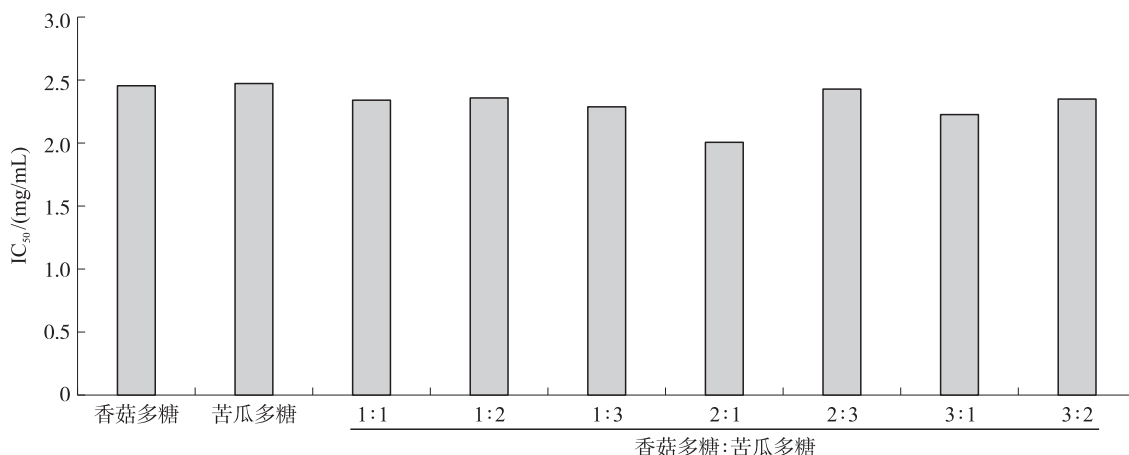


图 4 香菇多糖和苦瓜多糖复配后对超氧阴离子自由基半抑制浓度 IC₅₀ 值

Fig. 4 IC₅₀ value of Superoxide anion radical scavenging after combined the polysaccharides of *Lentinus edodes* and *Momordica charantia*

2.4 香菇多糖和苦瓜多糖对 DPPH 自由基的清除作用

2.4.1 香菇多糖和苦瓜多糖对 DPPH 自由基的清除作用

由图 5 可知,香菇多糖和苦瓜多糖对 DPPH 自由基均有较好的清除能力,且随浓度升高而加强. 香菇多糖和苦瓜多糖的 IC₅₀ 分别为 0.794 和 1.194 mg/mL,香菇多糖对 DPPH 自由基的清除能力大于苦瓜多糖,但均不及 VC.

2.4.2 香菇多糖和苦瓜多糖复配物对 DPPH 自由基的清除作用

由图 6 可知,不同比例的复配物对 DPPH 自由基均有清除能力. 不同复配比的 IC₅₀ 值分别为 0.774、0.796、0.698、0.500、0.789、0.792、0.679 mg/mL. 当复配比为 2:1 时,复配物对 DPPH 自由基的清除作用最高,其效果比香菇多糖和苦瓜多糖及其他复配比的清除作用强,表明香菇多糖和苦瓜多糖复配比为 2:1 时,对 DPPH 自由基的清除作用更好,具有更强的抗氧化能力.

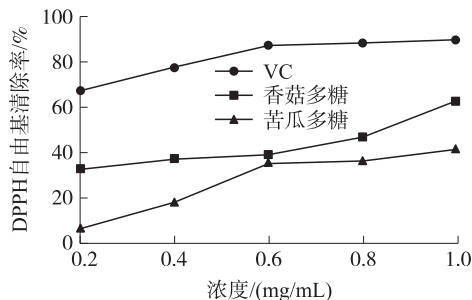


图 5 香菇多糖和苦瓜多糖对 DPPH 自由基的清除率

Fig. 5 DPPH radical scavenging rate of the polysaccharides of *Lentinus edodes* and *Momordica charantia*

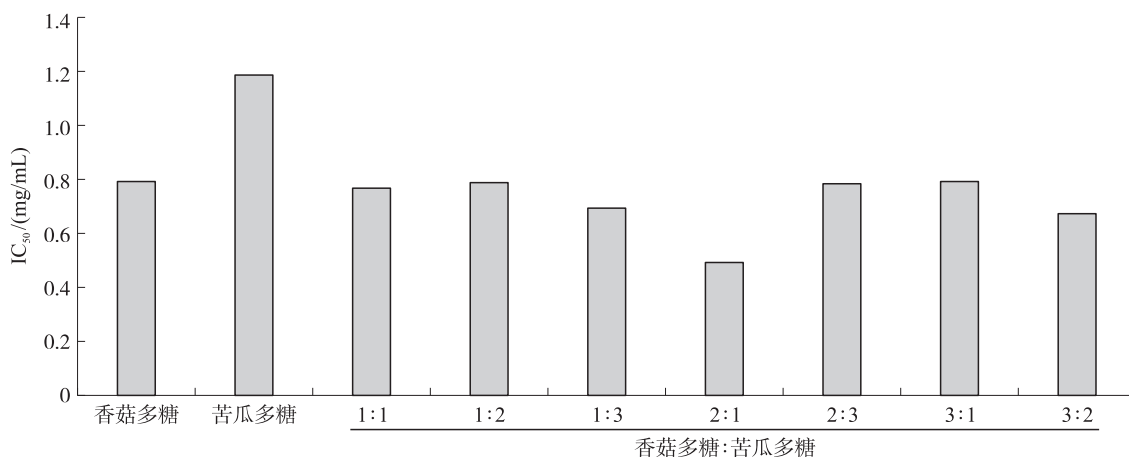


图 6 香菇多糖和苦瓜多糖复配后对 DPPH 自由基半抑制浓度 IC₅₀ 值

Fig. 6 IC₅₀ value of DPPH radical scavenging after combined *Lentinus edodes* and *Momordica charantia* polysaccharides

3 结语

多糖是由多个单糖以糖苷键连接而成的高分子碳水化合物,其碳氢链上的氢原子可与羟基自由基结合生成稳定的化合物水,达到直接清除自由基、阻断自由基反应链的目的^[19]. 此外,多糖上的羟基可以络

合产生活性氧所必须的金属离子,抑制自由基的生成,阻止脂质过氧化物的分解。

在机体代谢过程中会产生大量的活性氧(ROS),如羟基自由基、超氧阴离子自由基等^[20]。超氧阴离子自由基属于活性氧的一种,具有非常强的氧化性,对机体危害性很大。这些自由基氧化能力极强,可破坏体内氧化体系动态平衡,极易造成氧化应激、破坏脂质氧化—抗氧化进程,导致生物膜严重受损,促进脂质氧化过程^[21]。自由基还会导致蛋白质、DNA等生物大分子发生修饰、交联,破坏其正常结构和功能,导致细胞的功能性与完整性被破坏,对诸多器官均存在一定危害^[22]。

本试验通过测定香菇多糖和苦瓜多糖以及不同比例复配物对羟基自由基、超氧阴离子自由基、DPPH自由基的清除率,并利用其半抑制浓度 IC_{50} 值来比较抗氧化性强弱。经过复配后,不同比例的复合物对自由基均具有一定的清除能力,当香菇多糖和苦瓜多糖配比为2:1时,对羟基自由基、超氧阴离子自由基和DPPH自由基清除作用均达到最强,均强于单个香菇多糖或苦瓜多糖的清除效果。

综上所述,香菇多糖和苦瓜多糖及其复配物可有效清除自由基,自由基清除率与香菇多糖和苦瓜多糖有一定的量—效关系,和多糖浓度呈正相关,说明香菇多糖和苦瓜多糖及其复配物具有较好的抗氧化作用,因此有望被开发成一种较好的抗氧化剂。

[参考文献](References)

- [1] 高文庚. 自由基理论在营养保健研究中的作用[J]. 运城学院学报, 2003, 21(5): 42-43.
GAO W G. The role of free radical theory in nutritional health research[J]. Journal of Yuncheng university, 2003, 21(5): 42-43. (in Chinese)
- [2] 贺淼, 黄鑫, 李彪, 等. 自由基清除物质的研究进展[J]. 中国饲料, 2015(1): 41-42.
HE M, HUANG X, LI B, et al. Research progress in free radical scavenging substances[J]. China feed, 2015(1): 41-42. (in Chinese)
- [3] 陈瑗, 周玫, 刘尚喜, 等. 营养、衰老与自由基理论[J]. 营养学报, 2005, 27(3): 180-183.
CHEN Y, ZHOU M, LIU S X, et al. Nutrition, aging and free radical theory[J]. Acta nutrimenta sinica, 2005, 27(3): 180-183. (in Chinese)
- [4] 张松. 食用菌学[M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2000: 153.
ZHANG S. Edible fungi[M]. Guangzhou: South China University of Technology Press, 2000: 153. (in Chinese)
- [5] 吕国英, 范雷法, 张作法, 等. 香菇多糖研究进展[J]. 浙江农业学报, 2009, 21(2): 183-188.
LÜ G Y, FAN L F, ZHANG Z F, et al. Development of research on lentinan[J]. Acta agriculturae Zhejiangensis, 2009, 21(2): 183-188. (in Chinese)
- [6] HOBBS C. Medicinal values of *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. (A-garicomycetideae). A literature review[J]. Int J Med Mush, 2000, 2: 287-297.
- [7] 张伟敏, 霍建聪, 张保顺. 苦瓜素性质及其生理功能研究概况[J]. 粮食与油脂, 2005(9): 44-46.
ZHANG W M, HUO J C, ZHANG B S. Research survey of properties and biological function of momorcharin[J]. Cereals & oils, 2005(9): 44-46. (in Chinese)
- [8] 邹美南, 魏云, 陈军, 等. 苦瓜素降血糖作用试验研究[J]. 中国药业, 2006, 15(4): 5-6.
ZOU M N, WEI Y, CHEN J, et al. Study on hypoglycemic action of momordica charantia extracts[J]. China pharmaceuticals, 2006, 15(4): 5-6. (in Chinese)
- [9] 石雪萍, 姚惠源. 苦瓜皂甙降糖机理研究[J]. 食品科学, 2008, 29(2): 366-368.
SHI X P, YAO H Y. In vivo study on hypoglycemic mechanism of momordica charantia L. Saponins[J]. Food science, 2008, 29(2): 366-368. (in Chinese)
- [10] 陈红漫, 李寒雪, 阚国仕, 等. 苦瓜多糖的抗氧化活性与降血糖作用相关性研究[J]. 食品工业科技, 2012, 33(18): 349-351.
CHEN H M, LI H X, KAN G S, et al. Correlation study between antioxidant activity and lowering blood glucose of momordica polysaccharide[J]. Science and technology of food industry, 2012, 33(18): 349-351. (in Chinese)
- [11] 钟耀广, 林楠, 王淑琴, 等. 香菇多糖的抗氧化性能与抑菌作用研究[J]. 食品科技, 2007, 7(40): 141-144.
ZHONG Y G, LIN N, WANG S Q, et al. Study on antioxidative and antimicrobial activities of Lentinan[J]. Food science and technology, 2007, 7(40): 141-144. (in Chinese)

- [12] 陈敬鑫,张子沛,罗金凤,等. 苦瓜保健功能的研究进展[J]. 食品科学,2012,33(1):271-273.
CHEN J X,ZHANG Z P,LUO J F,et al. Research advances in healthy functions of bitter gourd[J]. Food science,2012,33(1):271-273.(in Chinese)
- [13] 倪焱,张雄飞,王仲. 2种常用食用菌中多糖化合物复配的体外抗氧化活性研究[J]. 安徽农业科学,2016,44(27):89-92.
NI Y,ZHANG X F,WANG Z. Antioxidant activity of the compound polysaccharides of two common edible fungus[J]. Journal of Anhui agricultural sciences,2016,44(27):89-92(in Chinese)
- [14] 冯娟. 复配天然多糖的筛选及其降血脂作用[D]. 西安:第四军医大学,2007.
FENG J. The screening of different ratio polysaccharide gum and the effects on decreasing the serum cholesterol and triglyceride level[D]. Xi'an:The Fourth Military Medical University,2007.(in Chinese)
- [15] 李艳红. 山楂多糖的提取、分离纯化及结构研究[D]. 太原:山西大学,2016.
LI Y H. Study on the extraction,isolation,purification and structure research of Hawthorn fruit polysaccharide[D]. Taiyuan: Shanxi University,2016.(in Chinese)
- [16] 樊梓鸾,林秀芳,王振宇. 黑木耳多糖与浆果多酚的协同抗氧化研究[J]. 现代食品科技,2015,31(12):166-171.
FAN X L,LIN X F,WANG Z Y. Synergistic antioxidative effect of berry polyphenols with auricularia auricular polysaccharides[J]. Modern food science and technology,2015,31(12):166-171.(in Chinese)
- [17] 张贺,王倩雯,曹龙奎. 玉米皮多糖的提取及抗氧化性研究[J]. 粮食与油脂,2015,28(6):47-49.
ZHANG H,WANG Q W,CAO L K. Study on extraction of corn peel polysaccharides and its antioxidation[J]. Cereals & oils,2015,28(6):47-49.(in Chinese)
- [18] 李湘利,刘静,燕伟,等. 芡实多糖的抗氧化性及抑菌特性[J]. 食品与发酵工业,2014,40(11):104-108.
LI X L,LIU J,YAN W,et al. Antioxidant and antibacterial properties of Euryale ferox polysaccharide[J]. Food and fermentation industries,2014,40(11):104-108.(in Chinese)
- [19] 赵琳静,宋小平,黎方雅. 多糖及其衍生物抗氧化性质的研究进展[J]. 上海工程技术大学学报,2008,22(1):44-47.
ZHAO L J,SONG X P,LI F Y. Research progress on anti-oxidation of polysaccharide and its derivatives[J]. Journal of Shanghai university of engineering science,2008,22(1):44-47.(in Chinese)
- [20] GRASSELLI E,COMPALATI A D,VOCI A,et al. Altered oxidative stress/antioxidant status in blood of alcoholic subjects is associated with alcoholic liver disease[J]. Drug and alcohol dependence,2014,143:112-119.
- [21] CHEN L H,ZHAO Y,CIECIA R,et al. Effects of alcohol feeding and thiamin decieny on antioxidant defenses in the liver and spleen of rats[J]. Biochemical archives,1999,15(2):103-116.
- [22] 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]. 高校理论研究,2008(34):476-477.
WANG X P,DING Z Y. Research on the influence of free radical on human body and its clearing method[J]. Journal of theoretical research,2008(34):476-477.(in Chinese)

[责任编辑:严海琳]