

低分子量琼胶的抗氧化活性研究

吴立根¹, 王岸娜¹, 毛文君²

(1.河南工业大学 食品学院, 河南 郑州 450007;2.中国海洋大学, 山东 青岛 266003)

摘要:采用化学发光法研究了低分子量琼胶清除羟基自由基($\cdot\text{OH}$)和超氧阴离子($\text{O}_2^{\cdot-}$)的活性。结果表明,4个组均有清除自由基的作用,其中 A_3 的清除羟基自由基($\cdot\text{OH}$)的能力比阳性对照硫脲的效果好得多。 S_{2-2} , S_{2-3} , S_{2-4} , A_3 对超氧阴离子($\text{O}_2^{\cdot-}$)和羟基自由基的 IC_{50} 值分别为:3.7,1.3,0.96,0.83 g/L和1.94,1.28,0.85,0.26 g/L。

关键词:低分子量琼胶;抗氧化;自由基;化学发光

中图分类号:R9 文献标识码:A 文章编号:1000-3096(2007)05-0093-04

多糖不仅有抗肿瘤、抗病毒等活性,还有清除自由基的作用。李雪华等^[1]发现大枣多糖有抗氧化作用,张尔贤等^[2]研究表明鼠尾藻多糖对氧自由基有较强的清除活性;龙盛京等^[3]提取的芝麻多糖和毘仕益等^[4]发现膳食纤维均有自由基清除活性。作者通过化学发光法体外实验,研究低分子量琼胶的对两种活性氧的清除作用,为琼胶在抗衰老抗氧化作用方面提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 材料

琼胶粉(AR级,上海化学试剂公司)经过0.03 mol/L的硫酸部分降解后用乙醇分级所获得的琼胶低分子量产物及作者制备的寡糖。产品号为 S_{2-2} , S_{2-3} , S_{2-4} 及 A_3 。它们的相对分子量分别为5 700,3 095,1 463(通过粘度法测定得到),486(HPLC测定)。

1.2 方法

1.2.1 超氧阴离子($\text{O}_2^{\cdot-}$)发光体系采用 Pyrogallol-Luminol 系统

操作步骤:在55 mm×10 mm的硬质玻璃小管中加入pH7.8的PBS(0.05 mol/L)10 μL , Pyrogallol(6.25×10^{-4} mol/L)50 μL ,测本底,转出小管,机外加入Luminol 940 μL ,电动振荡器迅速振摇,再装入小管,定位与测定位置,立即启动记录。检测样品时,相应减少量,总体积保持1 mL。测10 s平行测3管。

实验试剂:Luminol(氨基苯二酰一胍,Merck公司产品)用少量 Na_2CO_3 (0.1 mol/L)溶解后配制成1 mmol/L溶液。Pyrogallol(连苯三酚),分析纯(青岛化工试剂公司产品),以HCl(1 mmol/L)配成0.01 mol/L溶液,冰箱储存,用时以重蒸水稀释至0.625 mmol/L溶液。

1.2.2 羟基自由基($\cdot\text{OH}$)的发光体系采用抗坏血酸-硫酸铜-酵母悬浮液-过氧化氢系统

以pH7.8的PBS(0.05 mol/L)为缓冲系统。操作步骤:在55 mm×10 mm的硬质玻璃小管中加入抗坏血酸(1.8 mmol/L)0.2 mL,酵母悬浮液(75 g/L)0.2 mL,PBS pH7.8(0.05 mol/L)0.6 mL,测本底,转出小管,机外加入过氧化氢(33.3 mmol/L)0.6 mL,电动振荡器迅速振摇,再装入小管,定位与测定位置,立即启动记录。检测样品时,相应减少量,总体积保持2 mL。测30 s平行测3管。

实验试剂:酵母采用湖北省产的高活性的安琪牌干酵母,预先研磨粉碎,用PBS pH6.2(0.01 mol/L)50 mL溶解,搅拌,3 000 r/min离心,弃上清液,煮沸,冷却可用;其他试剂均为国产分析纯。

收稿日期:2004-09-20;修回日期:2005-02-27

作者简介:吴立根(1969-),男,湖南衡东人,副教授,硕士,从事食品安全研究、教学,E-mail:wds7002@163.com;电话:13343862117,E-mail:wds7002@163.com

1.2.3 仪器

采用 WDD-2 型电脑发光测量仪 (北京瑞利分析仪器公司), 数据自动处理。测定样品均重复 3 次, 取平均发光强度计算抑制率。

1.2.4 计算

对 $O_2^{\cdot-}$ 与 $\cdot OH$ 的清除作用, 用抑制发光强度的百分率表示: 抑制率 (%) = [(未加样品时的发光强度 - 加入样品后的发光强度) / 未加样品时的发光强度] $\times 100$, 并以抑制发光强度值达 50% 时的样品浓度 (IC_{50}) 表

示。

2 结果与讨论

2.1 低分子量琼胶对 $O_2^{\cdot-}$ 的清除作用

各低分子量琼胶的清除超氧阴离子的结果表明, S_{2-2} , S_{2-3} , S_{2-4} 及 A_3 样品清除超氧阴离子能力均随加入量增加而增加, 其 IC_{50} 值分别为 3.7, 1.3, 0.96, 0.83 g/L (图 1 ~ 图 4)。阳性对照: 采用 V_C 其 IC_{50} 值为 0.015 3 g/L。

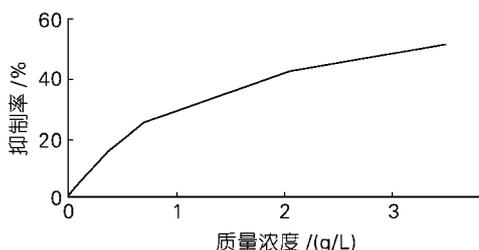


图 1 S_{2-2} 的质量浓度与清除 $O_2^{\cdot-}$ 曲线

Fig.1 Concentration and elimination of $O_2^{\cdot-}$ by S_{2-2}

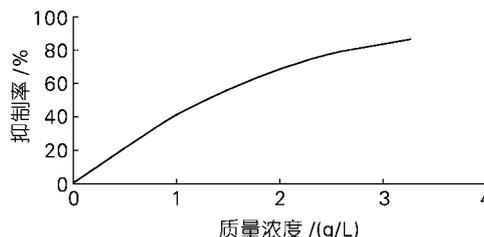


图 2 S_{2-3} 的质量浓度与清除 $O_2^{\cdot-}$ 曲线

Fig.2 Concentration and elimination of $O_2^{\cdot-}$ by S_{2-3}

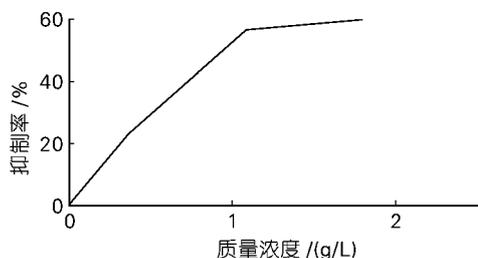


图 3 S_{2-4} 的质量浓度与清除 $O_2^{\cdot-}$ 曲线

Fig.3 Concentration and elimination of $O_2^{\cdot-}$ by S_{2-4}

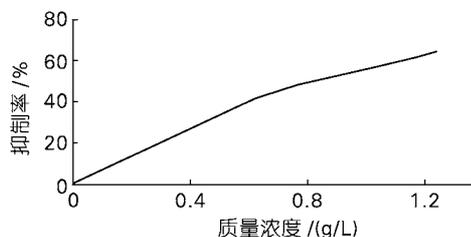


图 4 A_3 的质量浓度与清除 $O_2^{\cdot-}$ 曲线

Fig.4 Concentration and elimination of $O_2^{\cdot-}$ by A_3

由图 1~图 4 可见 4 种低分子量琼胶清除超氧阴离子的能力与其加入量呈正相关。但是各糖的清除超氧阴离子的能力差异较大, S_{2-2} 号样品的 IC_{50} 值为 3.7 g/L, 而 A_3 号样品的 IC_{50} 值仅为 0.83 g/L。从各糖的相对分子质量可以看出, 其清除超氧阴离子的能力与相对分子质量有关, 基本上呈相对分子质量越小其清除能力越强的趋势 (表 1)。

2.2 低分子量琼胶清除 $\cdot OH$ 的作用

各低分子量琼胶的清除 $\cdot OH$ 的结果表明, S_{2-2} ,

表 1 低分子量琼胶相对分子质量与清除 $O_2^{\cdot-}$ 的 IC_{50} 关系

Tab.1 Relative molecular weight— IC_{50} of Agar to $O_2^{\cdot-}$

样品号	IC_{50} (g/L)	相对分子质量
S_{2-2}	3.7	5 700
S_{2-3}	1.3	3 095
S_{2-4}	0.96	1 463
A_3	0.83	486

S_{2-3} , S_{2-4} 及 A_3 样品清除能力均随加入量增加而增加,

其 IC_{50} 值分别为 1.94, 1.28, 0.85, 0.26 g/L (图 5 ~

图 8)。阳性对照：采用硫脲，其 IC_{50} 值为 0.458 g/L。

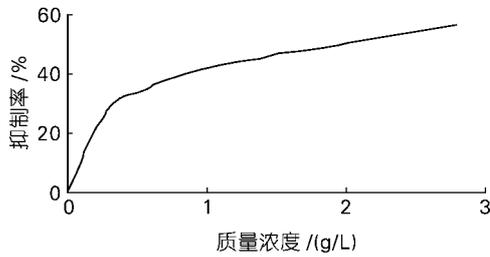


图 5 $S_{2.2}$ 的质量浓度与清除·OH 曲线

Fig.5 Concentration-elimination of ·OH by $S_{2.2}$

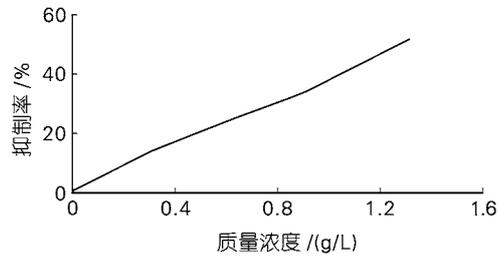


图 6 $S_{2.3}$ 的质量浓度与清除·OH 曲线

Fig.6 Concentration-elimination of ·OH by $S_{2.3}$

图 5~图 8 表明, 4 种低分子量琼胶的清除·OH 的能力与其加入量呈正相关。但是各糖的清除·OH 的能力差异也较大, $S_{2.2}$ 样品的 IC_{50} 值为 1.94 g/L, 而 A_3 号样品的 IC_{50} 值仅为 0.26 g/L。结合各糖的相对分子

质量来看, 其清除·OH 的能力与相对分子质量有关, 基本上呈相对分子质量越小其清除能力越强的趋势 (表 2)。而且, A_3 样品的·OH 的能力明显比阳性对照强的多。硫脲^[5]的 IC_{50} 值为 0.458 g/L, 而 A_3 样品

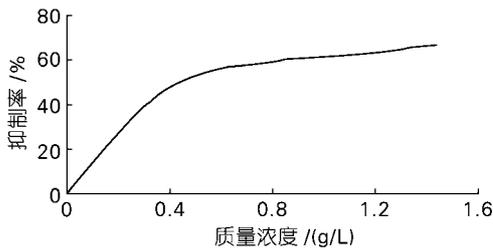


图 7 $S_{2.4}$ 的质量浓度与清除·OH 曲线

Fig. 7 Concentration and elimination of ·OH by $S_{2.4}$

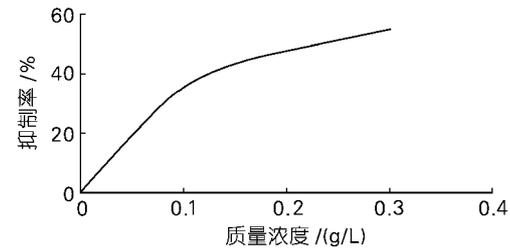


图 8 A_3 的质量浓度与清除·OH 曲线

Fig.8 Concentration and elimination of ·OH by A_3

表 2 低分子量琼胶相对分子质量与清除·OH 的 IC_{50} 关系

Tab.2 Relative molecular weight- IC_{50} of Agar to ·OH

样品号	IC_{50} (g/L)	相对分子质量
$S_{2.2}$	1.94	5 700
$S_{2.3}$	1.28	3 095
$S_{2.4}$	0.85	1 463
A_3	0.26	486

的仅为 0.27 g/L。此外, 各低分子量琼胶的清除羟基自由基的能力比清除超氧阴离子自由基的能力要强。

3 结论

研究表明^[6,7]自由基与体内许多疾病有关, 如:

炎症、肿瘤、缺血再灌注性损伤、糖尿病、衰老等。过量自由基的存在可损伤蛋白质、核酸、脂质以及细胞间质和透明质酸, 其中多价不饱和脂肪酸特别易于受损。其结果较严重, 可引起各种病理变化; 增加血管壁通透性导致组织水肿; 损伤膜通透性导致 Ca^{2+} 内流, 出现 Ca^{2+} 超负荷; 促进膜磷脂分解继发自由基的形成。低分子量琼胶有清除自由基的能力, 尤其是 A_3 具有很强的清除羟基自由基的功效, 提示它可能作为自由基清除剂来延缓人体衰老, 减轻由自由基过量所造成的组织和器官的损伤, 从而缓解相关的病情。琼胶的抗氧化机理尚不清楚, 推测与它的多羟基有关。

参考文献:

- [1] 李雪华,龙盛京.大枣多糖的提取与抗氧化研究[J].广西科学, 2000, 7(1):56.
- [2] 张尔贤,俞丽君,肖湘.鼠尾藻多糖清除自由基作用研究[J].中国海洋药物杂志, 1995, 1:1-5.
- [3] 龙盛京,钱莹.几种黑色与淡色食物抗活性氧效能比较研究[J].营养学报, 1997, 4:470-473.
- [4] 欧仕益,高孔荣,黄惠华.麦麸膳食纤维抗氧化和羟基自由基清除活性氧的研究[J].食品工业科技, 1997, 5:44-45.
- [5] Halliwell B, Gutteridge J M C. Free radicals in biology and medicine[M], 2nd ed. Oxford:Clarendon Press, 1989.28-47.
- [6] Pace G W, Leaf C D. The role of oxidative stress in HIV disease[J].**Free Radical Bio Med**, 1995, 19(4):523.
- [7] Nabel G E, Baltimore D. An inducible transcription factor activates express of human immunodeficiency virus in T cell[J].**Nature**, 1987, 326:711.

Study on the effect of scavenging free radical of low molecular weight agar

WU Li-gen¹, WANG An-na¹, MAO Wen-jun²

(1.Henan Industry University, Zhengzhou 450007, China; 2. Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Received: Sep., 20, 2004

Key words: low molecular weight agar; antioxidant; free-radical; luminescence

Abstract : The effects of S_{2-2} , S_{2-3} , S_{2-4} , and A_3 on clearing superoxide anion radical and hydroxyl radical have been studied on the paper. The results showed that all four principles had scavenging effects on superoxide anion radical and on hydroxyl radical. The intensities of the scavenging effects were relative to the molecular weight. The lower the molecular weight of agar was, the stronger the intensity of scavenging was. The intensity of the scavenging effects on superoxide anion radical was weaker than on hydroxyl radical specially. The intensity of the scavenging effect of A_3 on hydroxyl radical was far stronger than that of the active control: thiourea.

(本文编辑 : 谭雪静)