

多酚类化合物与黑木耳多糖协同抗氧化作用研究

白海娜¹,王振宇^{1,2,*},张 华¹,朱大亮³

(1.哈尔滨工业大学,黑龙江哈尔滨 150090;

2.东北林业大学,黑龙江哈尔滨 150040;

3.哈尔滨工业大学后勤集团,黑龙江哈尔滨 150090)

摘要:选取白藜芦醇、原花青素、蓝莓花青素、儿茶素、阿魏酸和咖啡酸6种多酚分别与黑木耳多糖复配。检测单一组分和复配物(多酚与黑木耳多糖质量比1:1)对ABTS⁺和DPPH[·]的清除能力。通过Chou-Talalay联合指数(CI),分析它们是否具有协同抗氧化作用。白藜芦醇、原花青素分别与黑木耳多糖的复配物对ABTS⁺和DPPH[·]清除率达50%时,CI_{ABTS}值分别为0.47±0.08和0.41±0.06,CI_{DPPH}值分别为0.74±0.08和0.91±0.09,表明白藜芦醇、原花青素与黑木耳多糖具有协同抗氧化作用。咖啡酸、儿茶素分别与黑木耳多糖的复配物对DPPH[·]清除率达50%时,CI_{DPPH}值分别为0.71±0.07和0.80±0.06,表明咖啡酸、儿茶素分别与黑木耳多糖具有协同抗氧化作用。因此,结果表明人们可以通过改变日常膳食搭配来增强机体自身的抗氧化能力。

关键词:多酚类化合物,黑木耳多糖,协同,抗氧化

Study on synergistic effect of polyphenols and an *Auricularia auricular* polysaccharides combination on antioxidant activity

BAI Hai-na¹, WANG Zhen-yu^{1,2,*}, ZHANG Hua¹

(1.College of Food Science and Engineering, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China;

2.School of Forestry Northeast Forestry University, Harbin 150040, China;

3.Logistics Group, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, China)

Abstract: Six representative polyphenols, for example: resveratrol, procyanidins, blueberry anthocyanins, catechin, ferulic acid and caffeic acid, had been mixed with a *Auricularia auricular* polysaccharides component. The mass ratio of between one of six polyphenols and the *Auricularia auricular* polysaccharides was 1:1, ABTS⁺ and DPPH[·] radicals abilities of a single-component and two components were detected. Through the Chou-Talalay combination index(CI), whether established the synergistic antioxidant effect was studied. The CI_{ABTS} of procyanidins, when mixed with an *Auricularia auricular* polysaccharides complex (1:1), were 0.47±0.08 and 0.41±0.06. The CI_{DPPH} of procyanidins, when mixed with an *Auricularia auricular* polysaccharides complex (1:1), were 0.74±0.08 and 0.91±0.09. This result authenticated that resveratrol, when mixed with *Auricularia auricular* polysaccharides or procyanidins, and then when mixed with *Auricularia auricular* polysaccharides produced a synergistic antioxidant effect. Furthermore, the CI_{DPPH} of caffeic acid and catechin, when mixed with an *Auricularia auricular* polysaccharides complex, were correspondingly: 0.71±0.07 and 0.80±0.06, to produce a synergistic antioxidant effect. This research demonstrated that people could improve their own body antioxidant capacity by adjusting their diets in daily life.

Key words: polyphenols; *Auricularia auricular* polysaccharides; synergistic; antioxidant activity

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2013)22-0124-05

越来越多的研究显示,抗氧化是辐射防护和预防衰老的有效途径,因为机体过多自由基或氧化剂会分解细胞和组织,影响代谢功能,并会引起不同的健康问题。因此及时消除机体内过多的氧化自由基,

能够预防由自由基引发的相关疾病,如癌症、动脉硬化、糖尿病、白内障、心血管病、老年痴呆、关节炎等。天然的抗氧化剂与人工合成的抗氧化剂相比,具有无毒、安全、高效的特点。多酚化合物的抗氧化能力已被科学界广泛接受,可以预防相关疾病^[1-2],同时黑木耳多糖也具有较强抗氧化能力^[3]。同时,对于多药物协同抗氧化作用的研究,已成为天然的抗氧化剂研究的热点。不同抗氧化剂的协同抗氧化作用已有

收稿日期:2013-05-08 * 通讯联系人

作者简介:白海娜(1984-),女,在读博士研究生,主要从事天然产物方面的开发与研究。

报道,如维生素E、维生素C与 β -胡萝卜素^[4],果汁与 α -生育酚^[5],迷迭香与百里香^[6],三萜类与酚类物质^[7],茶多酚、维生素E与维生素C^[8-9]等。目前,对多酚化合物和黑木耳多糖各自的抗氧化作用已进行了全面和深入的研究^[10-13],但关于它们之间协同抗氧化作用的研究鲜有报道^[14-15]。

本研究是在研究白藜芦醇、原花青素、蓝莓花青素、儿茶素、阿魏酸和咖啡酸多酚化合物抗氧化活性的基础上,将多酚化合物与黑木耳多糖组合,探讨多酚与黑木耳多糖之间抗氧化活性的协同作用,以期筛选出协同抗氧化作用的最佳组合,为进一步开发安全、高效的天然抗氧化食品或抗氧化剂奠定了理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

蓝莓(*Vaccinium uliginosum* L.) 采摘于中国吉林延吉, -20°C 冷冻保存;黑木耳(*Auricularia auricular*)

中国哈尔滨市南极市场;ABTS、DPPH Sigma公司;白藜芦醇、原花青素、儿茶素、阿魏酸和咖啡酸 郑州荔诺生物科技有限公司,纯度均90%以上。

TDZ4-WS型低速离心机 长沙湘麓离心机仪器有限公司;Sp-752PC型紫外可见分光光度计 北京光谱仪器有限公司;R205型旋转蒸发器 上海申胜生物技术有限公司。

1.2 蓝莓花青素提取物

取蓝莓冻果,采用60%乙醇提取,获得蓝莓花青素粗提取物,再通过大孔吸附树脂X-5富集纯化,首先树脂预处理,装柱上样,静态吸附,用蒸馏水冲洗柱层析除去糖分及小分子物质。采用60%乙醇浓度洗脱,洗脱流速为2mL/min,收集组分^[16],真空旋转蒸发浓缩,再次纯化, -80°C 冷冻干燥,使用pH示差法^[17],检测纯度为30%。

1.3 黑木耳多糖提取物

按照文献[18]中的方法,称取30g黑木耳粉,按1:60物料比,加入1800mL蒸馏水浸泡,400W超声1h, 90°C 水浴3~5h,4000r/min,离心5min,收集上清液,黑木耳粉再重复提取一次,合并上清液,使用真空旋转蒸发浓缩体积至1/4,加入三倍体积的95%乙醇沉淀24h,4000r/min,离心5min,获得粗多糖,干燥。干粉用蒸馏水 80°C 水浴下溶解,然后用Sevage法除蛋白,按其体积的1/5加入Sevage试剂(氯仿:正丁醇=5:1),4000r/min,离心15min,除去中间变性蛋白和溶剂层,重复操作4次以上,直至除尽蛋白。将除尽蛋白的上清液减压浓缩,加入3倍体积95%乙醇沉淀24h, 40°C 真空干燥,得供试样品。

1.4 ABTS⁺清除能力测定

清除ABTS⁺的测定是参照Re Roberta等^[19]的方法,并稍作修改。ABTS阳离子自由基的产生是通过ABTS原液与过硫酸钾在室温黑暗中反应12~16h完成,在供氢抗氧化剂存在的情况下,ABTS⁺将会减少。将7mmol/L ABTS⁺和2.45mmol/L的过硫酸钾(终浓度)混合,在室温避光条件下静置过夜,将生成的ABTS⁺溶液用水稀释,使其在 30°C ,734nm波长下的吸光度为 0.7 ± 0.02 ,即得到ABTS⁺工作液。取不同浓

度的多酚、黑木耳多糖或复配物(多酚与黑木耳多糖质量比1:1)溶液1.5mL,加入试管中,在分别加入1.5mL的ABTS⁺溶液,空白管用蒸馏水代替样品溶液,对照管用蒸馏水代替ABTS⁺工作液,并做重复实验,室温避光放置6min,于波长734nm下测定其吸光度。每份样品平行操作3次,计算公式为:

$$\text{清除率}(\%) = [A_{\text{空白}} - (A_{\text{样品}} - A_{\text{对照}})] / A_{\text{空白}} \times 100 \quad \text{式(1)}$$

式中: $A_{\text{空白}}$ 为加入1.5mL ABTS⁺溶液与1.5mL蒸馏水; $A_{\text{样品}}$ 为1.5mL ABTS⁺溶液与1.5mL样品溶液; $A_{\text{对照}}$ 为1.5mL样品溶液与1.5mL蒸馏水。

1.5 DPPH·清除能力测定

清除DPPH·是参照Alvarez-Jubete等^[20]的方法,并稍作修改。利用DPPH·溶液的特征紫红色吸收峰,加入抗氧化剂或样品溶液后,吸收值下降,表示其对自由基有清除能力。DPPH·用50%乙醇配制成 0.2mmol/L^{-1} ,取1.5mL此溶液分别与1.5mL多酚、黑木耳多糖或复配物(多酚与黑木耳多糖质量比1:1)溶液,室温避光放置30min,每个浓度重复三次,517nm下测定吸光值。清除率计算公式:

$$\text{清除率}(\%) = [A_{\text{空白}} - (A_{\text{样品}} - A_{\text{对照}})] / A_{\text{空白}} \times 100 \quad \text{式(2)}$$

式中: $A_{\text{空白}}$ 为加入1.5mL DPPH·溶液与1.5mL蒸馏水; $A_{\text{样品}}$ 为1.5mL DPPH·溶液与1.5mL样品溶液; $A_{\text{对照}}$ 为1.5mL样品溶液与1.5mL蒸馏水。

1.6 联合指数(CI)

为了确定多酚和黑木耳多糖联合应用抗氧化的效果是协同作用还是叠加效应,我们采用Chou和Talady的中效原理计算联合作用指数(combination index, CI)。 $CI = D_1/Dx_1 + D_2/Dx_2$ 。 D_1 和 D_2 是药物1和药物2联合作用抑制率为50%时的作用浓度, Dx_1 和 Dx_2 是药物1和药物2单独应用抑制率为50%时的作用浓度。根据Chou和Talady的理论,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^[21-22]。

1.7 统计分析

实验中所有测试均进行3次重复,数据以均数 \pm 标准差表示。使用Calculusyn软件计算 IC_{50} 值。

2 结果与分析

2.1 ABTS⁺清除的能力

根据不同浓度多酚和黑木耳多糖单独或复配应用对ABTS⁺的清除率,计算得出 IC_{50} ,结果(见图1)。白藜芦醇、原花青素、蓝莓花青素、儿茶素、阿魏酸、咖啡酸和黑木耳多糖7种材料对ABTS⁺的清除活性 IC_{50} 分别为 (3.4 ± 0.2) 、 (1.99 ± 0.2) 、 (43.81 ± 2.5) 、 (1.59 ± 0.13) 、 (0.81 ± 0.1) 、 (2.72 ± 0.3) 、 $(73.61 \pm 1.2) \mu\text{g/mL}$,若以对ABTS⁺的 IC_{50} 来衡量,则其活性大小依次为:阿魏酸 > 儿茶素 > 原花青素 > 咖啡酸 > 白藜芦醇 > 蓝莓花青素 > 黑木耳多糖。 IC_{50} 越低,表明对ABTS⁺的清除能力越强,反之则越弱。综合比较,六种单独多酚的 IC_{50} 显著低于单独黑木耳多糖的 IC_{50} ,说明六种多酚对ABTS⁺的清除能力显著高于黑木耳多糖 ($p < 0.05$)。白藜芦醇、原花青素分别与黑木耳多糖复配后的 IC_{50} 均低于单独多酚或多糖的 IC_{50} ,说明复配后,多酚与

黑木耳多糖复配物的两物质之间存在协同增效作用。蓝莓花色苷、咖啡酸、儿茶素和阿魏酸分别与黑木耳多糖复配后,这四种复配物的 IC_{50} 处于单独多酚和单独多糖的 IC_{50} 之间,它们之间的相互关系,需要进一步分析确定。

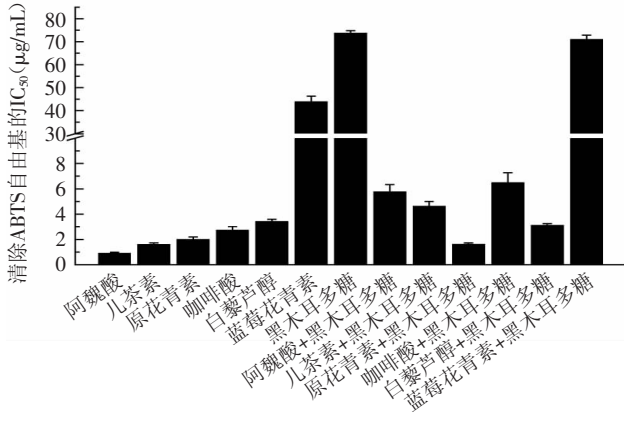


图1 单独和复配的多酚和黑木耳多糖清除ABTS⁺的 IC_{50}
Fig.1 IC_{50} value of polyphenols, *Auricularia auricular* polysaccharides, and polyphenols in combination with *Auricularia auricular* polysaccharides in scavenging ability of ABTS⁺ radical

2.2 六种多酚与黑木耳多糖对ABTS⁺清除能力的相互作用

通过多酚和黑木耳多糖单独或复配应用对清除ABTS⁺的 IC_{50} ,计算出的联合作用指数(CI)(表1)。白藜芦醇和原花青素多酚分别与黑木耳多糖的复配物,CI<0.7,表明白藜芦醇和原花青素分别与黑木耳多糖之间存在协同作用,且原花青素与黑木耳多糖的协同效果(CI 0.41 ± 0.06)最低,协同抗氧化效果最强。另外,其他四种多酚与黑木耳多糖之间对清除ABTS⁺存在拮抗作用。

表1 多酚和黑木耳多糖组合对ABTS⁺清除活性50%的CI指数

Table 1 CI Values for polyphenols and *Auricularia auricular* polysaccharides combination at 50% inhibition of ABTS⁺ radical scavenging activity

组合	CI(50%)
原花青素+黑木耳多糖	0.41±0.06
白藜芦醇+黑木耳多糖	0.47±0.08
咖啡酸+黑木耳多糖	1.23±0.08
蓝莓花青素+黑木耳多糖	1.29±0.07
儿茶素+黑木耳多糖	1.48±0.08
阿魏酸+黑木耳多糖	3.26±0.10

2.3 DPPH·清除的能力

白藜芦醇、原花青素、蓝莓花青素、儿茶素、阿魏酸、咖啡酸和黑木耳多糖7种材料对ABTS⁺的清除活性 IC_{50} 分别为(10.65±0.5)、(6.26±0.3)、(64.52±3.05)、(4.36±0.25)、(5.24±0.3)、(3.87±0.2)、(2730±100)µg/mL

(见图2),它们对DPPH·的清除活性大小分别为:咖啡酸>儿茶素>阿魏酸>原花青素>白藜芦醇>蓝莓花青素>黑木耳多糖。综合比较,六种单独多酚的 IC_{50} 低于单独黑木耳多糖的 IC_{50} ,六种复配物的 IC_{50} 处于单独多酚和单独多糖的 IC_{50} 之间,说明对DPPH·的清除能力大小为:单独多酚>复配物>单独黑木耳多糖。

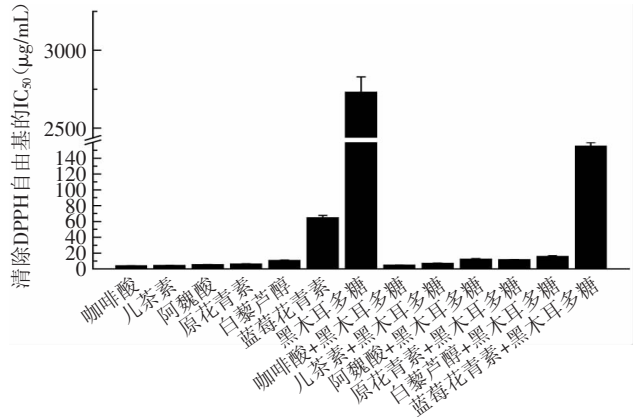


图2 单独和复配的多酚和黑木耳多糖清除DPPH·的 IC_{50}
Fig.2 IC_{50} value of polyphenols, *Auricularia auricular* polysaccharides, and polyphenols in combination with *Auricularia auricular* polysaccharides in scavenging ability of DPPH· radical

2.4 六种多酚与黑木耳多糖对DPPH·清除能力的相互作用

白藜芦醇、咖啡酸、儿茶素和原花青素多酚与黑木耳多糖联合应用时,对DPPH·清除能力的CI<1,它们之间的抗氧化作用存在协同效果(表2),协同作用大小依次为:咖啡酸>白藜芦醇>儿茶素>原花青素。另外,蓝莓花青素和阿魏酸与黑木耳多糖之间对清除DPPH·略有拮抗作用。

表2 多酚和黑木耳多糖组合对DPPH·清除活性50%的CI指数

Table 2 CI Values for polyphenols and *Auricularia auricular* polysaccharides combination at 50% inhibition of DPPH· radical scavenging activity

组合	CI(50%)
原花青素+黑木耳多糖	0.91±0.09
白藜芦醇+黑木耳多糖	0.74±0.08
咖啡酸+黑木耳多糖	0.71±0.07
蓝莓花青素+黑木耳多糖	1.23±0.08
儿茶素+黑木耳多糖	0.80±0.06
阿魏酸+黑木耳多糖	1.16±0.06

3 讨论

ABTS⁺或DPPH·清除实验是测定化合物抗氧化能力的重要方法^[2],在六种组合中,白藜芦醇与黑木耳多糖的组合对ABTS⁺(CI 0.47 ± 0.08)或DPPH·(CI 0.74 ± 0.08)清除具有最好的协同抗氧化效果,其

次是原花青素与黑木耳多糖的组合对ABTS⁺·(CI0.41±0.06)或DPPH·(CI0.91±0.09)清除也具有较好的协同抗氧化效果。研究多酚与多糖抗氧化的相互作用关系,首先要了解多酚及多糖的结构。本实验选取四大类多酚化合物,包括单环芳香类的阿魏酸和咖啡酸,黄酮类儿茶素和蓝莓花青素、二苯乙烯类的白藜芦醇和多聚体的原花青素。黑木耳粗多糖是聚合糖高分子碳水化合物,经高效液相分析,单糖组成包括主要是酸性粘多糖,由葡萄糖、葡萄糖醛酸、甘露糖、半乳糖和木糖等单糖组成^[24]。比较几种多酚结构与黑木耳多糖的复配,发现二苯乙烯类、多聚体结构与多糖的存在协同效果,这可能与其结构有关。两种或两种以上的抗氧化剂复配使用时,各种抗氧化剂在抗氧化之后,也可能使得产生的游离基相互作用生成新的酚类化合物,继续发挥抗氧化作用,使其抗氧化性能得以增强^[25]。MN Peyrat-Maillard等^[26]研究体外氧化体系下的迷迭香酸与槲皮素或咖啡酸存在协同抗氧化作用,这些复合物协同作用可能是由于抗氧化剂之间的修复机制,分子上可能形成的稳定的分子间配合物的化学结构。目前关于抗氧化协同机理主要是抗氧化剂之间修复再生作用,认为复合抗氧化剂可以相互修复再生,形成氧化还原循环系统。此外,还有人认为多种抗氧化剂通过氧化还原电位的偶联氧化,促进反应进行,以及抗氧化剂吸收氧,降低过氧化自由基的生成速度等^[29],对于它们之间相互作用机制还有待于进一步的研究。

4 结论

白藜芦醇、原花青素、蓝莓花青素、儿茶素、阿魏酸、咖啡酸和黑木耳多糖中,阿魏酸对ABTS⁺·清除能力最强,咖啡酸对DPPH·清除能力最强,黑木耳多糖对ABTS⁺·和DPPH·清除能力均最弱。白藜芦醇和原花青素分别与黑木耳多糖联合应用时,它们对ABTS⁺·清除能力具有协同作用,且原花青素与黑木耳多糖的协同效果最显强。白藜芦醇、咖啡酸、儿茶素和原花青素分别与黑木耳多糖联合应用时,对DPPH·清除能力也具有协同作用。

参考文献

- [1] Yi L, Chen C Y, Jin X, *et al.* Structural requirements of anthocyanins in relation to inhibition of endothelial injury induced by oxidized low-density lipoprotein and correlation with radical scavenging activity[J]. *Febs Letters*, 2010, 584(3): 583-590.
- [2] Fresco P, Borges F, Marques M, *et al.* The anticancer properties of dietary polyphenols and its relation with apoptosis[J]. *Current Pharmaceutical Design*, 2010, 16(1): 114-134.
- [3] Zeng W C, Zhang Z, Gao H, *et al.* Characterization of antioxidant polysaccharides from *Auricularia auricular* using microwave-assisted extraction[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2012, 89(2): 694-700.
- [4] Liu D H, Shi J, Ibarra A C, *et al.* The scavenging capacity and synergistic effects of lycopene, vitamin E, vitamin C, and β -carotene mixtures on the DPPH free radical[J]. *Lwt-Food Science and Technology*, 2008, 41(7): 1344-1349.
- [5] Graversen H B, Becker E M, Skibsted L H, *et al.* Antioxidant synergism between fruit juice and alpha-tocopherol. A comparison between high phenolic black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) and high ascorbic blackcurrant (*Ribes nigrum*) [J]. *European Food Research and Technology*, 2008, 226(4): 737-743.
- [6] Nieto G, Huvaere K, Skibsted L H. Antioxidant activity of rosemary and thyme by-products and synergism with added antioxidant in a liposome system[J]. *European Food Research and Technology*, 2011, 233(1): 11-18.
- [7] Dos Santos V, Dos Santos D P, Castro-Gamboa I, *et al.* Evaluation of antioxidant capacity and synergistic associations of quinonemethide triterpenes and phenolic substances from maytenus ilicifolia (celastraceae) [J]. *Molecules*, 2010, 15(10): 6956-6973.
- [8] Zhou B, Jia Z S, Chen Z H, *et al.* Synergistic antioxidant effect of green tea polyphenols with α -tocopherol on free radical initiated peroxidation of linoleic acid in micelles[J]. *Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions 2*, 2000, 4: 785-791.
- [9] Dai F, Chen W F, Zhou B. Antioxidant synergism of green tea polyphenols with alpha-tocopherol and L-ascorbic acid in SDS micelles[J]. *Biochimie*, 2008, 90(10): 1499-1505.
- [10] Escote X, Miranda M, Menoyo S, *et al.* Resveratrol induces antioxidant defence via transcription factor Yap1p[J]. *Yeast*, 2012, 29(7): 251-263.
- [11] Tsai Y L, Chiou S Y, Chan K C, *et al.* Caffeic acid derivatives, total phenols, antioxidant and antimutagenic activities of Echinacea purpurea flower extracts[J]. *Lwt-Food Science and Technology*, 2012, 46(1): 169-176.
- [12] Pluemsamran T, Onkoksoong T, Panich U. Caffeic Acid and Ferulic Acid Inhibit UVA-Induced Matrix Metalloproteinase-1 through Regulation of Antioxidant Defense System in Keratinocyte HaCaT Cells[J]. *Photochemistry and Photobiology*, 2012, 88(4): 961-968.
- [13] Zheng X, Wu Y, Li Y H, *et al.* A topical antioxidant complex containing vitamin C/E and ferulic acid against solar-simulated ultraviolet irradiation-induced photodamage[J]. *Journal of Dermatology*, 2012, 391(SI): 213.
- [14] Yan F, Zhang Q Y, Jiao L, *et al.* Synergistic hepatoprotective effect of Schisandrae lignans with Astragalus polysaccharides on chronic liver injury in rats[J]. *Phytomedicine*, 2009, 16(9): 805-813.
- [15] 李敏, 王劼, 赵谋明. 灵芝、姬松茸、黄芪混合多糖配伍茶多酚复合剂免疫增强作用的研究[J]. *现代食品科技*, 2009, 25(8): 885-888.
- [16] 樊梓鸾, 王振宇, 左丽丽, 等. 红豆越橘花色苷的分离及功能性研究[J]. *中国林副特产*, 2011(5): 1-4.
- [17] Rui L, Ping W, Qing-Qi G, *et al.* Anthocyanin composition and content of the *Vaccinium uliginosum* berry[J]. *Food Chemistry*, 2011, 125: 116-120.
- [18] Zhang H, Wang Z Y, Zhang Z, *et al.* Purified *Auricularia auricular-judae* polysaccharide (AAP I-a) prevents oxidative

苏氨酸、甲硫氨酸、赖氨酸分别为 2.03×10^{-3} 、3.58、 1.49×10^{-2} g/L,共3.60g/L,占总氨基酸14.77%。

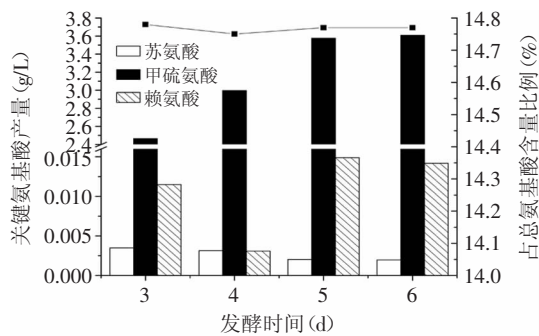


图7 发酵时间对发酵产物的影响

Fig.7 Effect of fermentational days on production

综合2.1~2.6的实验结果,可得苏氨酸、甲硫氨酸、赖氨酸分别为 2.03×10^{-3} 、3.58、 1.49×10^{-2} g/L,占总氨基酸的14.77%。

2.7 最优发酵条件下发酵产物HPLC图谱

图8为最优发酵条件下发酵产物的HPLC图谱。其中,苏氨酸、甲硫氨酸、赖氨酸的保留时间分别为12.402、15.500、29.796min。

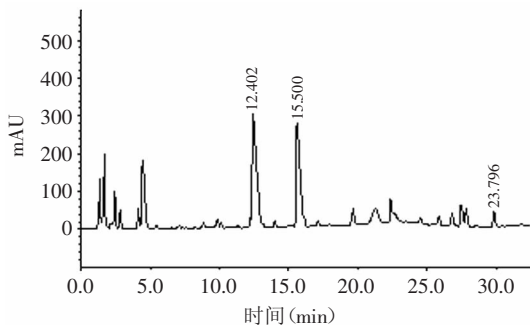


图8 发酵产物的高效液相色谱图

Fig.8 HPLC profiles of production

3 结论

(上接第127页)

stress in an ageing mouse model[J]. Carbohydrate Polymers, 2011, 84(1):638-648.

[19] Re R, Pellegrini N, Proteggente A, et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay[J]. Free Radical Biology and Medicine, 1999, 26(9-10):1231-1237.

[20] Alvarez-Jubete L, Wijngaard H, Arendt E K, et al. Polyphenol composition and *in vitro* antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking[J]. Food Chemistry, 2010, 119(2):770-778.

[21] Chou T C. Drug Combination Studies and Their Synergy Quantification Using the Chou-Talalay Method[J]. Cancer Research, 2010, 70(2):440-446.

[22] Chou T C. Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug

利用柑橘皮渣作为碳源发酵生产单细胞蛋白,并提高其中的关键氨基酸(赖氨酸、甲硫氨酸、苏氨酸)总产量。通过高效液相色谱法及比色法分析测定发酵产物中关键氨基酸及总氨基酸含量,发现在接种量之比为黑曲霉:啤酒酵母=1:1 (V/V)的搭配、20%接种量、60g/L柑橘皮渣、21g/L尿素的情况下发酵5d,可使关键氨基酸的产量最大,苏氨酸、甲硫氨酸、赖氨酸分别为 2.03×10^{-3} 、3.58、 1.49×10^{-2} g/L,占总氨基酸14.77%。总体而言,本文验证了柑橘皮渣发酵生产单细胞蛋白的可行性,同时也为柑橘皮渣的废物利用及缓解饲料蛋白危机提供了实验依据。为使柑橘皮渣发酵生产单细胞蛋白能够应用于工业规模,还需进一步研究扩大测试。

参考文献

[1] Giec A, Skupin J. Single cell protein as food and feed[J]. Food/Nahrung, 1988, 32(3):219-229.

[2] Ravindra P. Value-added food: Single cell protein[J]. Biotechnology Advances, 2000, 18(6):459-479.

[3] 郑春田,李德发.猪低污染日粮技术研究进展[J].饲料工业,2000,21(12):1-5.

[4] 赵蕾.柑橘皮渣单细胞蛋白饲料生产技术及对生长猪饲喂效果研究[D].成都:四川农业大学,2008.

[5] Vasanits A, Kutlan D, Sass P, et al. Retention/quantitation properties of the o-phthalaldehyde-3-mercaptpropionic acid and the o-phthalaldehyde-N-acetyl-L-cysteine amino acid derivatives in reversed-phase high-performance liquid chromatography[J]. Journal of Chromatography A, 2000, 870(1):271-287.

[6] Schwarz E L, Roberts W L, Pasquali M. Analysis of plasma amino acids by HPLC with photodiode array and fluorescence detection[J]. Clinica Chimica Acta, 2005, 354(1):83-90.

[7] 丁娟娟.高效液相色谱及高效色谱管电泳用于中药制剂中氨基酸成分的分析[D].合肥:安徽大学,2009.

[8] 何忠效.生物化学实验技术[M].北京:化学工业出版社,2004:68.

combination studies[J]. Pharmacological Reviews, 2006, 58(3):621-681.

[23] Kim D O, Lee K W, Lee H J, et al. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals[J]. J Agric Food Chem, 2002, 50(13):3713-3717.

[24] 刘大政.黑木耳多糖的分离纯化及结构分析[D].长春:东北师范大学,2008.

[25] 盛雪飞,彭燕,陈健初.天然抗氧化剂之间的协同作用研究进展[J].食品工业科技,2010(7):414-417.

[26] Peyrat-Maillard M N, Cuvelier M E, Berset C. Antioxidant activity of phenolic compounds in 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride (AAPH)-induced oxidation: Synergistic and antagonistic effects[J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2003, 80(10):1007-1012.