

# 米胚多糖的组成及抗氧化性研究

罗敏<sup>1</sup>, 陈德经<sup>1,2\*</sup>, 季晓辉<sup>3</sup>

<sup>1</sup>陕西理工大学生物科学与工程学院; <sup>2</sup>陕西理工大学 陕西省资源生物重点实验室;

<sup>3</sup>陕西理工大学化学与环境科学学院, 汉中 723001

**摘要:** 为了研究米胚多糖的单糖组分、氨基酸及抗氧化性, 采用 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮柱前衍生高效液相色谱法测定米胚多糖的单糖组分; 通过氨基酸自动分析仪检测米胚多糖中的氨基酸。结果表明: 米胚多糖由甘露糖、鼠李糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、葡萄糖组成, 其物质的量比为 0.90:4.62:2.02:1.52:35.30。米胚多糖检测出 17 种氨基酸, 总氨基酸含量为 2.01%。米胚多糖对 DPPH 自由基清除率为 43.03%, 对超氧阴离子自由基的清除率为 47.84%, 对羟自由基清除率为 64.12%; 还原力随浓度的增加而增强。米胚多糖可提高小鼠血清及组织中的 SOD、T-AOC、GSH-Px 活性, 降低 MDA 含量。米胚多糖在体外和体内均具有一定的抗氧化性。

**关键词:** 米胚多糖; 单糖; 氨基酸; 抗氧化活性

中图分类号: Q532+.5; R91

文献标识码: A

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2018.6.002

## The Composition and Antioxidant Activity of Rice Germ Polysaccharide

LUO Min<sup>1</sup>, CHEN De-jing<sup>1,2\*</sup>, JI Xiao-hui<sup>3</sup>

<sup>1</sup>College of Biological Science and Engineering, Shaanxi University of Technology; <sup>2</sup>Provincial Bio-resource key Laboratory;

<sup>3</sup>Chemistry and Environmental Science, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723001, China

**Abstract:** This paper mainly analysed the monosaccharide composition analysis, amino acid analysis and antioxidant activity of rice germ polysaccharides. The monosaccharide components of rice germ polysaccharide were determined by 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone column pre-column derivatization with high performance liquid chromatography. The amino acids in the rice germ polysaccharide were detected by amino acid automatic analyzer. The results showed that the rice germ polysaccharides consisted of mannose, rhamnose, glucuronic acid, galacturonic acid and glucose with the ratio of 0.90:4.62:2.02:1.52:35.30. Rice germ polysaccharide detected 17 kinds of amino acids, total amino acid content of 2.01%. The DPPH radical scavenging rate of rice germ polysaccharide was 43.03%, the scavenging rate of superoxide anion free radical was 47.84%, the scavenging rate of hydroxyl radical was 64.12%, and the reducing power increased with increasing concentration. Rice germ polysaccharide can improve the activities of SOD, T-AOC and GSH-Px in the serum and tissues of mice and decrease the content of MDA. Rice germ polysaccharide, *in vitro* and *in vivo*, has a certain degree of antioxidant.

**Key words:** rice embryo polysaccharide; monosaccharide; amino acid; antioxidant activity

多糖又称杂多糖, 有十个以上单糖通过糖苷键连接而成的糖称为多糖, 广泛存在于动物、植物和微生物中, 其特性是高的安全性、可降解性、低毒性和高度生物相容性<sup>[1]</sup>。大量研究表明, 多糖因具有抗肿瘤、降血糖、抗氧化、提高免疫等生物活性而被广泛应用于医药及保健品行业<sup>[2-5]</sup>。关于多糖的提取工艺、结构特性及其广泛的药理活性备受学者关注, 其中多糖不同的药理活性与其空间结构有着密不可

分的关联, 而单糖组成不仅是多糖的一级结构的主要基础, 又是研究多糖生物活性的基石, 不同类型的单糖残基、糖苷键、相对分子质量等多糖独特的性质是生物活性的关键所在<sup>[6,7]</sup>。

目前, 单糖的测定方法主要是高效液相色谱法和气相色谱法等<sup>[8]</sup>。气相色谱法分析单糖组分时容易产生同分异构体, 液相色谱由 Honda 等<sup>[9-11]</sup>主要采用柱前 1-苯基-3-甲基-5-吡唑啉酮(1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone, PMP)衍生成具有强紫外吸收的糖类衍生物, 此方法分析成本低, 产物没有立体异构, 分析时间短且有效, 本文使用高效液相色谱法对

米胚多糖中单糖组成分析。通过测定米胚多糖对总抗氧化能力、羟自由基、DPPH 自由基、超氧自由基清除能力来评价米胚多糖在体外的抗氧化活性;并在小鼠体内进行实验,测定总超氧化物歧化酶(SOD)、总抗氧化能力(T-AOC)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)及丙二醛(MDA)含量来评价米胚多糖的抗氧化能力。对于全面评价米胚多糖的抗氧化性具有一定促进作用。

## 1 材料、仪器及试剂

材料:米胚(勉县定军米业发展有限责任公司,籼米);3月龄昆明种小鼠24只雌雄各半分笼饲养西安交通大学医学院实验动物中心,许可证号:SCXK(陕)2017-003。

仪器:Agilent 1100型高效液相色谱仪(Agilent,美国);BGZ-76电热鼓风干燥箱(上海博迅实业有限公司);Biochrom 30+全自动氨基酸分析仪(大昌华嘉商业有限公司);JA5003电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司);DZF-6050型真空干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司);UV-1750型紫外可见分光光度计(日本岛津仪器公司)。

试剂:D-甘露糖(Man);L-鼠李糖(Rha);D-葡萄糖醛酸(GlcUA);D-半乳糖醛酸(GalUA);D-葡萄糖(Glc);D-木糖(Xyl);D-半乳糖(Gal);L-阿拉伯糖(Ara);L-盐藻糖(Fuc),纯度98%;邻苯三酚(均购于上海源叶生物科技有限公司);1-苯基-3-甲基-5-吡啶酮(PMP)(均购于上海涛宇国际贸易有限公司);乙腈、甲醇,色谱纯(均购于天津市光复科技发展有限公司);三氟乙酸 $\geq 99\%$ (成都市科龙化工试剂厂);DPPH(北京索莱宝科技有限公司);SOD试剂盒、MDA试剂盒、GSH-Px试剂盒、T-AOC试剂盒(均购于南京建成生物工程研究所);铁氰化钾(天津市盛奥化学试剂有限公司)。

## 2 实验方法

### 2.1 米胚多糖的提取

取一定质量干燥的米胚,回流脱脂后烘干再通过提取、分离、纯化等系列工艺得米胚多糖<sup>[12]</sup>。

### 2.2 HPLC测定米胚多糖中单糖组分分析

#### 2.2.1 单糖标准品的衍生化

将9种单糖标准品配成各单糖浓度为5 mmol/L的标准溶液,取100  $\mu$ L混合单糖标品于具塞试管中,依次加入氢氧化钠和甲醇溶液混匀、振荡,在70

℃烘箱中衍生化100 min,冷却至室温,再加入HCl中和反应,再加入1 mL氯仿并振荡,静置,弃去有机溶剂,重复操作萃取3次,最后将上层水溶液过0.45  $\mu$ m滤膜,并进行高效液相色谱分析<sup>[13]</sup>。

#### 2.2.2 多糖的水解

称取米胚多糖溶解于纯水中,配制成2 mg/mL的多糖水溶液,取出1 mL多糖溶液于具塞试管中,加入4 mol/L三氟乙酸1 mL,充入氮气1 min后封管,在110℃条件下反应120 min,冷却至室温后蒸干,向试管中加入1 mL甲醇后再次蒸干,重复此步骤3次,纯水复溶,过0.45  $\mu$ m滤膜后按照上述

2.2.1多糖衍生化步骤进行米胚多糖的衍生并进行液相色谱分析。

#### 2.2.3 色谱条件

色谱柱:Diamonsil C<sub>18</sub>色谱柱(250 mm  $\times$  4.6 mm,5  $\mu$ m);流动相A为0.02 mol/L磷酸盐缓冲液(pH6.9),流动相B为乙腈;等度洗脱(体积比81:19);进样体积:10  $\mu$ L检测波长:250 nm;流速:1 mL/min。

### 2.3 氨基酸组成分析

称量9种米胚多糖样品各0.500 g于安培瓶中,分别加入10 mL 6 mol/L HCl,充氮气30 s,重复3次,封口,放入105℃恒温干燥箱内水解24 h,室温冷却后定容至10 mL,用0.22  $\mu$ m微孔滤膜过滤后,取出1 mL烘干,再加入200  $\mu$ L蒸馏水烘干,重复3次后,加入pH2.2的缓冲液1 mL,过0.22  $\mu$ m微孔滤膜后供氨基酸分析仪进样检测,检测波长在570 nm和440 nm下进行比色测定<sup>[14]</sup>。

### 2.4 米胚多糖的体外抗氧化性

#### 2.4.1 对羟自由基清除作用

采用Fenton体系<sup>[15]</sup>,向试管中加入不同质量浓度的样品溶液2 mL,9 mmol/L硫酸亚铁2 mL,9 mmol/L水杨酸-乙醇溶液2 mL最后加入9 mmol/L双氧水2 mL启动反应,震荡混匀,37℃水浴保温30 min,冷却至室温后离心(5000 rpm,10 min),取上清液在波长510 nm处每隔30 s测定其吸光度值,以蒸馏水调零,抗坏血酸为阳性对照,平行测定吸光度值3次。按下式计算羟自由基的清除率:

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

式中: $A_0$ 为不加样品溶液,加入水杨酸-乙醇显色剂的溶液吸光度; $A_1$ 为加入样品溶液和水杨酸-乙醇显色剂的溶液吸光度; $A_2$ 为加入样品溶液但不加

水杨酸-乙醇显色剂的溶液吸光度。

#### 2.4.2 对 DPPH 自由基清除作用

取 3 mL 不同质量浓度的样品溶液于试管中,分别加入 3 mL 0.1 mmol/L DPPH 溶液(用 95% 乙醇溶液配制),振荡混合后,避光 26 °C 下放置 30 min,然后在波长 517 nm 处检测,用蒸馏水调零,抗坏血酸为阳性对照,平行测定吸光度值 3 次<sup>[16]</sup>。按下式计算 DPPH 自由基清除率:

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

式中: $A_0$ :3 mL 蒸馏水 + 3 mL DPPH 溶液; $A_1$ :3 mL 样品溶液 + 3 mL DPPH 溶液; $A_2$ :3 mL 样品溶液 + 3 mL 95% 乙醇溶液。

#### 2.4.3 对超氧阴离子自由基清除作用

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

参考黄玲玲等<sup>[17]</sup>的方法并稍作修改,取不同质量浓度的样品溶液 1 mL,加入 0.05 mol/L Tris-HCl 缓冲液(pH8.2)4.5 mL,在 25 °C 水浴 10 min 后,加入 3 mmol/L 邻苯三酚溶液 0.2 mL 混匀,在 25 °C 水浴 5 min,最后加入 8 mmol/L HCl 终止反应,在波长 299 nm 处测定其吸光度值,以蒸馏水调零,抗坏血酸为阳性对照,平行测定吸光度值 3 次。按下式计算超氧阴离子自由基清除率:

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

式中: $A_0$  为不加样品溶液,加入邻苯三酚的溶液吸光度; $A_1$  为加入样品溶液和邻苯三酚的溶液吸光度; $A_2$  为加入样品溶液但不加邻苯三酚的溶液吸光度。

#### 2.4.4 总还原力

参考徐春兰等<sup>[18]</sup>的方法。取不同质量浓度的样品溶液 1 mL,加入 0.2 mol/L 的磷酸盐缓冲液(pH6.6)2 mL 和 1% 的铁氰化钾溶液 2 mL,混匀,在 50 °C 水浴 20 min 后,加入 10% 三氯乙酸 2 mL,混匀后 5000 rpm 离心 10 min,取上清液 2 mL 加入 2 mL 蒸馏水和 0.5 mL 0.1% 三氯化铁,反应 10 min 后,在波长 700 nm 处测定其吸光度值,平行测定吸光度值 3 次,以蒸馏水调零,抗坏血酸为阳性对照,吸光值越大表示其还原力越强。

### 2.5 米胚多糖的体内抗氧化活性

#### 2.5.1 动物分组与给药

实验小鼠喂养基础饲料适应 7 天后随机分为 4

组,每组 6 只,分为空白对照组:每天灌胃同样体积的 0.9% 生理盐水;阳性对照组:即  $V_C$ ,10 mg/kg;米胚多糖组(低剂量组 100 mg/(kg·d)、高剂量组 300 mg/(kg·d)),连续灌胃 30 天,第 30 天禁食过夜后称重后,乙醚麻醉,心脏取血于 1.5 mL 离心管中,置于 37 °C 水浴中放置 30 min,然后转移到 4 °C 过夜,次日于 4 °C 离心(4000 rpm,10 min)得到血清,迅速分离小鼠的肝脏、肾脏、心脏用预先准备好的冷生理盐水漂洗掉浮血,试干,称重后,按 1:9 加入生理盐水,制备成 10% 的组织匀浆液,4 °C 离心(4000 rpm,10 min)收集上清液于 -20 °C 保存,按照试剂盒说明分别测定血清及各组织中的 SOD、MDA、GSH-Px、T-AOC 含量<sup>[19]</sup>。

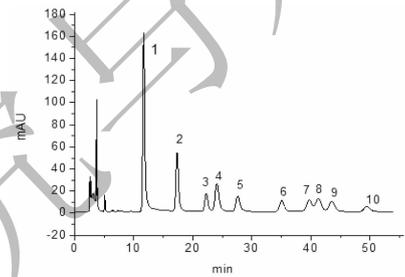


图 1 9 种混合单糖对照品 HPLC 色谱图

Fig. 1 Comparison of nine mixed monosaccharide reference products

注:1. PMP;2. D-甘露糖;3. 鼠李糖;4. 葡萄糖醛酸;5. 半乳糖醛酸;6. 葡萄糖;7. 木糖;8. 半乳糖;9. 阿拉伯糖;10. 盐藻糖。

Note:1. PMP;2. Man;3. Rha;4. GlcUA;5. GalUA;6. Glc;7. Xyl;8. Gal;9. Ara;10. Fuc.

#### 2.5.2 考马斯亮蓝法测定小鼠各组织中的蛋白含量

准确称取 0.100 g 牛血清蛋白,用生理盐水溶解并定容到 100 mL 容量瓶,此标准溶液浓度为 1 mg/mL。将标准溶液(1 mg/mL)用生理盐水稀释成 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/mL 的蛋白标准液。分别取不同浓度的蛋白标准液 1 mL 于试管中,以蒸馏水作空白,分别加入 5 mL 考马斯亮蓝 G-250 溶液,摇匀,静置 2 min,在 595 nm 处测定吸光度<sup>[20]</sup>。

#### 2.5.3 样品的测定

准确移取样品溶液 400  $\mu$ L,加入 600  $\mu$ L 生理盐水,按 2.5.2.1 方法显色,测其吸光度,并计算样品蛋白的含量。

### 2.6 数据分析

数据以“ $x \pm s$ ”表示,用 Excel 软件进行数据统计分析并作图、SPSS20.0 软件进行方差分析和多重

比较。  $P < 0.01$  为差异极显著。

### 3 结果与分析

#### 3.1 单糖 PMP 衍生物的 HPLC 分离色谱图

初步建立色谱检测条件为流动相 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH6.7):乙腈进行等度洗脱分离,通过对缓冲液浓度、乙腈体积、缓冲液的 pH 进行试验,最终确定最适色谱检测条件为:流动相: A-0.02 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH6.9) + B-乙腈,体积比为

81:19。

#### 3.2 标准曲线及线性范围

将 9 种混合单糖配制成一系列不同浓度的标样,分别对其进行衍生化反应,在相同色谱条件下进行检测,记录色谱图。以峰面积 (Y) 为纵坐标,单糖浓度 (X) 为横坐标绘制标准曲线,可得单糖标准曲线方程,结果表明 9 种单糖在 0.0625 ~ 0.5000 mmol/L 范围内显示良好的线性关系,其  $r$  在 0.9900 ~ 0.9994。结果见表 1。

表 1 单糖标准曲线线性方程及相关系数

Table 1 Standard Curve and Correlation Coefficients of Monosaccharide

单糖 Monosaccharide	保留时间 Retention time (min)	相关系数 Correlation coefficients (r)	标准曲线 Standard curve	线性范围 Linear range (mmol/L)
甘露糖 Man	17.269	0.9991	$Y = 7684.6X - 192.22$	0.0625 ~ 0.5000
鼠李糖 Rha	22.218	0.9907	$Y = 2946.0X - 80.785$	0.0625 ~ 0.5000
葡萄糖醛酸 GlcUA	24.928	0.9965	$Y = 6178.5X - 265.61$	0.0625 ~ 0.5000
半乳糖醛酸 GalUA	27.620	0.9919	$Y = 3860.0X - 231.78$	0.0625 ~ 0.5000
葡萄糖 Glc	34.854	0.9921	$Y = 3167.1X - 181.04$	0.0625 ~ 0.5000
木糖 Xyl	39.693	0.9902	$Y = 3305.2X - 180.52$	0.0625 ~ 0.5000
半乳糖 Gal	41.272	0.9994	$Y = 3718.7X - 152.98$	0.0625 ~ 0.5000
阿拉伯糖 Ara	43.517	0.9941	$Y = 3638.3X - 229.20$	0.0625 ~ 0.5000
岩藻糖 Fuc	49.181	0.9900	$Y = 2342.0X - 300.86$	0.0625 ~ 0.5000

#### 3.3 米胚多糖的单糖组分分析

将米胚多糖经柱前衍生制备的供试品在相同的色谱条件下进行色谱分析,测得米胚多糖中含有 5 种单糖,由甘露糖、鼠李糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、葡萄糖组成,其液相色谱图如图 2 所示。

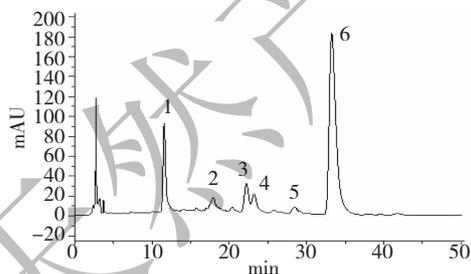


图 2 米胚多糖 PMP 衍生化色谱图

Fig. 2 PMP derived chromatogram of embryonic polysaccharide

依据单糖的峰面积及标准曲线计算可知米胚多糖中单糖甘露糖、鼠李糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、葡萄糖物质的量比为 0.90 : 4.62 : 2.02 : 1.52 : 35.30。其中葡萄糖的物质的量比占米胚多糖样品中单糖组分的 79.58%。

#### 3.4 米胚多糖中氨基酸组成分析

糖蛋白是分支的寡糖链和多肽链共价相连所构

成的复合糖,也是一种结合蛋白,多糖中的结合蛋白又较难除去,使用氨基酸分析仪分析多糖中结合蛋白见表 2。

由表 2 知,米胚多糖样品主要检测出 17 种氨基酸,米胚多糖中总氨基酸含量为 2.01%,其中谷氨酸含量较高为 0.49%,其余氨基酸含量较低。

#### 3.5 体外抗氧化活性测定结果

##### 3.5.1 羟自由基清除能力

以  $V_C$  为参照,对米胚多糖进行羟自由基清除实验,结果如图 3 所示。

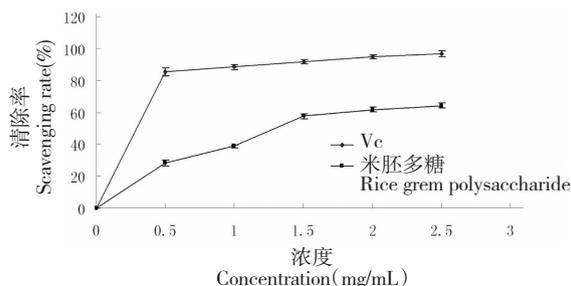


图 3 米胚多糖对羟自由基的清除率曲线

Fig. 3 Scavenging curve of rice germ polysaccharide to hydroxyl radical

表 2 米胚多糖氨基酸组成

Table 2 Analysis of amino acid composition about rice germ polysaccharides

序号 Number	氨基酸种类 Species	氨基酸含量 Content (%)	序号 Number	氨基酸种类 Species	氨基酸含量 Content (%)
1	天冬氨酸(ASP)	0.18	2	苏氨酸(THR)	0.08
3	丝氨酸(SER)	0.08	4	谷氨酸(GLU)	0.49
5	甘氨酸(GLY)	0.13	6	丙氨酸(ALA)	0.13
7	胱氨酸(CYS)	0.08	8	缬氨酸(VAL)	0.07
9	甲硫氨酸(MET)	0.03	10	异亮氨酸(ILE)	0.04
11	亮氨酸(LEU)	0.08	12	酪氨酸(TYR)	0.03
13	苯丙氨酸(PHE)	0.04	14	组氨酸(HIS)	0.12
15	赖氨酸(LYS)	0.13	16	精氨酸(ARG)	0.24
17	脯氨酸(PRO)	0.08			

从图 3 知,米胚多糖在实验设置的质量浓度范围内对羟自由基的清除作用随浓度的增大而增强,但清除作用显然没有  $V_c$  高。在浓度为 0.5 ~ 1.5 mg/mL 时,随浓度的增加米胚多糖对羟自由基的清除率显著升高,但当浓度在 2 mg/mL 以上时,随浓度的增加清除率缓慢增加。浓度在 2.5 mg/mL 时,米胚多糖对羟基自由基的清除率为 64.12%,其  $IC_{50}$  分别为 1.49 mg/mL,而  $V_c$  在浓度 1 mg/mL 时清除率达到 95% 以上。

### 3.5.2 DPPH 自由基清除能力

以  $V_c$  为参照,对米胚多糖进行 DPPH 自由基清除实验,结果如图 4 所示。

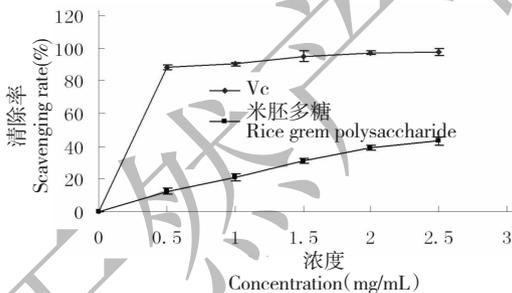


图 4 米胚多糖对 DPPH 自由基的清除率曲线

Fig. 4 Scavenging curves for rice germ polysaccharide to DPPH free radicals

从图 4 可知,米胚多糖对 DPPH 自由基均有一定的清除作用,在实验设置的浓度为 0.5 ~ 2.5 mg/mL 范围内,清除能力与质量浓度成正比,但清除作用明显小于  $V_c$ 。当浓度在 2.5 mg/mL 时,米胚多糖对 DPPH 自由基的清除率分别 43.03%,而  $V_c$  在浓度 1.5 mg/mL 时清除率达到 95% 以上。

### 3.5.3 超氧自由基清除能力

以  $V_c$  为参照,对米胚多糖进行超氧自由基清除实验,结果如图 5 所示。

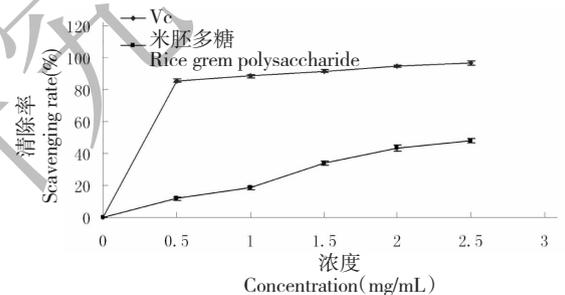


图 5 米胚多糖对超氧自由基的清除率曲线

Fig. 5 Clearance curves for rice germ polysaccharide to superoxide free radicals

从图 5 知,在实验设置的质量浓度范围内米胚多糖对超氧自由基有一定的清除能力,其清除能力与质量浓度成正比。当浓度在 2.5 mg/mL 时,米胚多糖对超氧阴离子自由基的清除率为 47.84%,而  $V_c$  在浓度 2 mg/mL 时清除率达到 94% 以上。

### 3.5.4 总还原力

以  $V_c$  为参照,对米胚多糖进行总还原力实验测定,结果如图 6 所示。

从图 6 可知,米胚多糖都具有一定的还原力,且随着质量浓度的增加,其还原力增强。选用抗氧化剂较好的  $V_c$  在起始相同浓度范围内的还原力做对比,发现米胚多糖比  $V_c$  的还原力弱。

## 3.6 体内抗氧化活性测定结果

### 3.6.1 蛋白质的标准曲线

以吸光度值(y)为纵坐标,蛋白浓度(x, mg/mL)

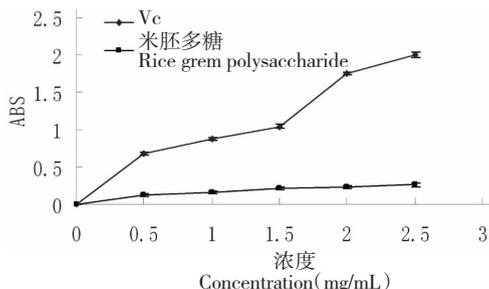


图6 米胚多糖还原力曲线

Fig. 6 Rice embryo polysaccharide reduction force curve

表3 米胚多糖对小鼠血液中抗氧化酶活性影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )Table 3 Effect of rice embryo polysaccharide on antioxidant enzymes in blood of mice( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别 Group	SOD (U/mL)	GSH-Px (U/mL)	T-AOC (U/mL)	MDA (nmol/mL)
对照组 Contro	137.84 ± 4.26	272.74 ± 14.35	33.59 ± 0.19	7.04 ± 0.84
V <sub>c</sub>	138.43 ± 4.33 <sup>a</sup>	275.41 ± 11.90 <sup>a</sup>	33.82 ± 0.15 <sup>a</sup>	6.58 ± 0.56 <sup>ab</sup>
多糖低剂量组 Low dose of polysaccharide	144.23 ± 4.20 <sup>ab</sup>	338.96 ± 18.45 <sup>**b</sup>	33.66 ± 0.27 <sup>a</sup>	6.62 ± 0.58 <sup>ab</sup>
多糖高剂量组 High dose of polysaccharide	155.43 ± 3.13 <sup>**cd</sup>	445.53 ± 34.45 <sup>**c</sup>	35.25 ± 0.43 <sup>**b</sup>	5.60 ± 0.74 <sup>**bc</sup>

注: \*\*与对照组相比,具有极显著差异( $P < 0.01$ );同一指标中不同上标字母表示组间具有极显著差异( $P < 0.01$ )。下同。

Note: \*\* Compared with the control group, there was a very significant difference ( $P < 0.01$ ); different superscript letters in the same index indicated a very significant difference between the groups ( $P < 0.01$ ). Same as below.

### 3.6.3 米胚多糖对小鼠心脏中 SOD、T-AOC、GSH-Px 活力及 MDA 含量的影响

由表4可知,不同的组别对于小鼠心脏中的 T-AOC 没有显著的提高作用。米胚多糖高剂量组对于小鼠心脏中 SOD 酶、GSH-Px 酶的效果均显著强

于对照组 ( $P < 0.01$ ), V<sub>c</sub> 组与 REP<sub>L</sub> 组无显著差异,效果接近。米胚多糖高剂量组对小鼠心脏中的 MDA 含量与对照组相比具有明显的降低作用 ( $P < 0.01$ ),可减少细胞损伤程度。

表4 米胚多糖对小鼠心脏中抗氧化酶活性影响( $\bar{x} \pm s, n=6$ )Table 4 Effect of rice embryo polysaccharide on antioxidant enzymes in mice heart( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别 Group	SOD (U/mL)	GSH-Px (U/mL)	T-AOC (U/mL)	MDA (nmol/mL)
对照组 Control	26.95 ± 1.99	261.36 ± 13.45	7.63 ± 0.21	5.44 ± 0.61
V <sub>c</sub>	29.19 ± 1.58 <sup>a</sup>	220.51 ± 12.82 <sup>ab</sup>	7.67 ± 0.30 <sup>a</sup>	4.90 ± 0.47 <sup>ab</sup>
多糖低剂量组 Low dose of polysaccharide	29.30 ± 1.54 <sup>a</sup>	230.42 ± 11.89 <sup>abc</sup>	7.68 ± 0.15 <sup>a</sup>	4.95 ± 0.19 <sup>ab</sup>
多糖低高量组 High dose of polysaccharide	39.64 ± 2.53 <sup>**c</sup>	258.43 ± 17.88 <sup>**d</sup>	7.75 ± 0.33 <sup>a</sup>	4.65 ± 0.35 <sup>**b</sup>

### 3.6.4 米胚多糖对小鼠肝脏中 SOD、T-AOC、GSH-Px 活力及 MDA 含量的影响

由表5可知,不同的组别对于小鼠肝脏中的 MDA 没有显著的降低作用。米胚多糖高剂量组对于小鼠肝脏中 SOD、T-AOC、GSH-Px 活力而言,也均高于对照组 ( $P < 0.01$ ),表现出较好的抗氧化活性。V<sub>c</sub> 组与米胚多糖低剂量组并无显著差异,但 V<sub>c</sub> 与对照组两者之间在 SOD 酶活性上差异显著 ( $P$

$< 0.01$ )。

## 4 结论

米胚多糖柱前衍生后经 HPLC 测定,其中含有单糖分别为甘露糖、鼠李糖、葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、葡萄糖,各单糖物质的量比为 0.90:4.62:2.02:1.52:35.30,但单糖存在比例差异较大,其中葡萄糖的摩尔比占米胚多糖样品中单糖组分的 79.58%。

表5 米胚多糖对小鼠肝脏中抗氧化酶活性影响 ( $x \pm s, n=6$ )Table 5 Effect of rice embryo polysaccharide on antioxidant enzymes in liver of mice ( $x \pm s, n=6$ )

组别 Group	SOD (U/mL)	GSH-Px (U/mL)	T-AOC (U/mL)	MDA (nmol/mL)
对照组 Control	102.18 ± 6.17	472.34 ± 33.63	8.53 ± 0.22	4.54 ± 0.46
V <sub>c</sub>	122.66 ± 5.49 * * bc	475.11 ± 29.02 <sup>a</sup>	8.70 ± 0.17 <sup>ab</sup>	4.48 ± 0.28 <sup>a</sup>
多糖低剂量组 Low dose of polysaccharide	111.95 ± 9.55 <sup>ab</sup>	536.17 ± 39.72 <sup>ab</sup>	8.67 ± 0.25 <sup>ab</sup>	4.35 ± 0.46 <sup>a</sup>
多糖高剂量组 High dose of polysaccharide	122.96 ± 7.90 * * bc	834.77 ± 42.15 * * c	9.01 ± 0.25 * * b	4.22 ± 0.40 <sup>a</sup>

米胚多糖中主要含葡萄糖。多糖中含有一些结合蛋白,经氨基酸自动分析仪分析,米胚多糖样品中总氨基酸含量为2.01%。

米胚多糖的体外抗氧化对 DPPH 自由基清除率为43.03%;对超氧阴离子自由基的清除率为47.84%;对羟自由基清除率为64.12%;对还原力随浓度的增加而增强。

抗氧化酶不仅在机体内可有效的清除过量的自由基,还可以防止不饱和脂肪酸的氧化,能够抑制可能成为过氧化物和自由基的形成。因此,抗氧化酶活性可被视为衡量机体抗氧化能力的一项生化指标。米胚多糖体内抗氧化在一定程度上可提高小鼠血清及组织中的 SOD、T-AOC、GSH-Px 活性,降低 MDA 含量。在心脏中 T-AOC 的活性虽然较空白组有所提高,可差异性不显著,MDA 含量在肝脏中虽低于对照组,但效果不显著,只在血清和心脏中表现出较强的显著性,GSH-Px 活性在小鼠的血清、心脏、肝脏中均表现出较强活性。本研究结果为米胚多糖的开发利用提供理论基础。

#### 参考文献

- Sui YR(隋玉荣). Research progress of polysaccharides[J]. *Tianjin Phar*(天津药学),2013,25:41-43.
- Tahmouzi S, Ghodsi M. Optimum extraction of polysaccharides from motherwort leaf and its antioxidant and antimicrobial activities[J]. *Carbohydr Polym*,2014,112:396-403.
- Zhu J, Liu W, Yu JP, et al. Characterization and hypoglycemic effect of a polysaccharide extracted from the fruit of *Lycium barbarum* L[J]. *Carbohydr Polym*,2013,98:8-16.
- Jiang CX, Zhao L, Li SL. et al. Preliminary characterization and immunostimulatory activity of polysaccharides from *Glossaulaxdidyma*[J]. *Food Chem Toxicol*,2013,62:226-230.
- Miao YZ(苗元振). Separation, purification and antioxidant activity analysis of selenium[D]. Taian: Shandong Agricultural University(山东农业大学),2009.
- Wang XH(王向红), Ji SS(吉爽爽), Sheng QH(生庆海),

- et al. Determination of monosaccharide compositions of 8 varieties Jujube water soluble polysaccharides by precolumn derivatization high performance liquid chromatography[J]. *J Chin Ins Food Sci Tech*(中国食品学报),2014,14:257-262.
- Mo KJ(莫开菊), Zhao N(赵娜), Zhu ZW(朱照武), et al. Analysis of monosaccharide composition of polysaccharide from *Nostocphaeroides* Kützinger[J]. *Food Sci*(食品科学),2015,36:89-92.
- Feng XZ(冯学珍), Chen Y(陈颖), Wu SG(伍善广). Analysis of monosaccharide compositions in *Ulvalactuca* L. polysaccharides[J]. *Sci Technol Food Ind*(食品工业科技),2014,35:91-94.
- Honda S, Akao E, Su-uzki S, et al. High-performance liquid chromatography of reducing carbohydrates as strongly ultraviolet-absorbing and electrochemically sensitive 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone derivatives [J]. *Analytical Biochemistry*,1989,180:351-357.
- Honda S, Togashi K, Taga A. Unusual separation of 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone derivatives of aldoses by capillary zone electrophoresis [J]. *Journal of Chromatography A*,1997,791:307-311.
- Honda S, Suuzki S, Taga A. Analysis of carbohydrates as 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone derivatives by capillary/microchip electrophoresis and capillary electrochromatography[J]. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*,2003,30:1689-1714.
- Zhang XY(张潇艳). Study on The extraction, purification and structure of polysaccharide from rice bran[D]. Wuxi: Jiang Nan University(江南大学),2008.
- Chen DJ(陈德经), Xu WL(徐伟良), Su W(苏文), et al. Extraction and monosaccharide composition of andrias davidianus skin mucus polysaccharide[J]. *Nat Prod Res Dev*(天然产物研究与开发),2015,27:1700-1705.
- Chen W(陈文), Wang XJ(王湘君), Zhao Y(赵阳), et al. Determination of amino acids from *Sipunculus nudus* L. by acid hydrolysis-automatic amino acid analyzer [J]. *Sci Technol Food Ind*(食品工业科技),2017,38:299-304.