

红毛五加嫩叶多糖含量测定 及其抗氧化活性研究^①

赵 薇¹, 陈奕君^{1,2}, 刘春林¹,
翟 雪¹, 任朝琴³, 刘 圆⁴

1. 西南民族大学 药学院, 成都 610041; 2. 北京中医药大学 中药学院, 北京 100029;

3. 阿坝师范学院 化学化工与生命科学系, 四川 汶川 623000; 4. 西南民族大学 民族医药研究院, 成都 610041

摘要: 通过对红毛五加嫩叶多糖提取工艺的考察, 比较不同植物部位多糖质量分数及评价其体外抗氧化活性。多糖的提取工艺为: 采用石油醚脱脂、乙醇脱色、Sevage 法除蛋白质, 水提醇沉的方法制得多糖, 此方法所得多糖颗粒疏松均匀, 品质较好; 多糖平均加样回收率为 98.44%, 相对标准偏差为 1.27% ($n=6$); 红毛五加不同植物部位多糖对 DPPH·, ABTS·⁺ 自由基均具有较强的清除能力, 对 Fe³⁺ 有较强的还原能力, 其结果与质量浓度呈良好的量效关系, 在最大质量浓度 0.384 0 g/L 下, S2 对 DPPH 清除率最高, 达到 89.8%; S3, S5, S7 对 ABTS⁺ 自由基清除率最高, 均达到 100%; 在还原性测定中, 在 1 g/L 质量浓度下 S6 吸光值最大, 达到 1.541, 显示出很好的还原性。该提取工艺合理、可行, 红毛五加不同植物部位多糖均有较强的抗氧化能力。

关键词: 红毛五加嫩叶; 多糖; 提取工艺; 含量测定; 抗氧化活性

中图分类号: TQ460.7⁺2

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2017)03-0190-07

红毛五加为五加科五加属植物红毛五加(*Acanthopanax giraldii* Harms)的干燥茎皮, 资源丰富, 广泛分布于四川、甘肃、青海、宁夏等地, 其中四川为该药材的主要产区^[1], 收载于 1977, 1987, 2010 年版的《四川省中药材标准》中。《神农本草经》将红毛五加命名为豹漆五加, 并将其列为“上品”, “久服, 轻身耐劳”^[2], 民间常以其茎皮入药, 有祛风除湿、强筋壮骨之功效。现代研究表明红毛五加含有多种皂苷成分^[3]、多糖^[4]和挥发油^[5], 药理学研究表明, 一些植物多糖有调节机体免疫功能、抗消化性溃疡、降血糖、降血脂、抗氧化等方面的生物活性^[6], 其中抗氧化是多糖的重要功能之一, 与其他外源性抗氧化剂相比, 多糖抗氧化剂具有低毒、安全和来源广等特点, 被广泛用于医药和保健食品。

目前对于红毛五加的研究多集中于其茎皮, 而对于更具开发价值的叶研究较少, 因此本试验拟采用紫外分光光度法, 通过蒽酮-浓硫酸显色法, 测定并比较红毛五加不同植物部位中多糖质量分数的差异, 并且通过对 DPPH 自由基清除率、ABTS⁺ 自由基清除率及还原性能力的测定评价其多糖的抗氧化活性, 旨在为红毛五加资源的开发利用提供科学依据和理论指导。

① 收稿日期: 2016-04-29

基金项目: 国家科技支撑计划(2015BAC05B02); 四川省教育厅自筹项目(13ZB0218)。

作者简介: 赵 薇(1992-), 女, 新疆人, 硕士研究生, 主要从事少数民族药物研究。

通信作者: 任朝琴, 副教授。刘 圆, 教授。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

葡萄糖对照品(纯度 98%以上,批号: MUST-13040103,成都曼思特生物科技有限公司), 蒽酮、浓硫酸、1, 1-二苯基-2-苦基肼基(DPPH, 纯度 90%)、无水乙醇、甲醇、氯仿、正丁醇、ABTS、过硫酸钾、铁氰化钾、磷酸盐缓冲液(pH=6.6)、三氯乙酸、三氯化铁、抗坏血酸(以下用 Vc 表示,上海惠世生化试剂有限公司,批号: 080408)等为分析纯。

DHG-9246 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司); KQ-250B 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司); AE240S 梅特勒电子分析天平(梅特勒-托利多上海有限公司); IKA RV8 V 型旋转蒸发器(艾卡(广州)仪器设备有限公司(IKA 中国)); HX-200 型高速中药粉碎机(浙江永康溪岸五金药具厂); 普析 TU-1950 紫外-可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司); HH-2 数显恒温水浴锅(金坛市宏华仪器厂); 800B 型离心机(上海安亭科学仪器厂); DZF-6020 真空干燥箱(上海齐欣科学仪器有限公司); Labconco75050 型冷冻干燥机(美国 Labconco 公司)。

1.2 试验样品

红毛五加所有样品均根据嫩叶的采摘方法,一般在上午 10 点左右,选择形态整齐美观、无斑点、无虫害、有光泽的完整部位进行采摘,样品采自四川省阿坝州、云南省新平县,由西南民族大学刘圆教授鉴定为五加科五加属植物红毛五加 *Acanthopanax giraldii* Harms、刺五加 *Acanthopanax senticosus* (Rupr et Maxim.) Harms,凭证标本保存于西南民族大学民族医药研究院标本室(表 1)。

表 1 样品来源

样品	名 称	来源/海拔	采集时间
S1	红毛五加嫩叶烘干品	四川省小金县美沃乡花牛村二组/2 850 m	2014 年 5 月 22 日
S2	红毛五加嫩叶烘干品	四川省小金县美沃乡花牛村二组/2 850 m	2015 年 5 月 18 日
S3	红毛五加嫩叶烘干品	四川省小金县美沃乡花牛村三组/3 000 m	2015 年 5 月 20 日
S4	红毛五加嫩叶烘干品	四川省金川县俄热乡/3 300 m	2015 年 6 月 15 日
S5	红毛五加嫩叶烘干品	四川省金川县庆宁乡/3 265 m	2015 年 6 月 17 日
S6	刺五加嫩叶烘干品	云南省新平县马鞍山/2 980 m	2015 年 8 月 10 日
S7	红毛五加嫩叶茶制品	四川省小金县美沃乡花牛村二组/2 850 m	2014 年 6 月 13 日
S8	红毛五加嫩叶茶制品	四川省小金县美沃乡花牛村二组/2 850 m	2015 年 6 月 15 日
S9	红毛五加皮	四川省小金县美沃乡花牛村二组/2 850 m	2015 年 5 月 19 日
S10	红毛五加叶柄	四川省小金县美沃乡花牛村三组/3 000 m	2015 年 6 月 25 日
S11	红毛五加叶柄	四川省金川县俄热乡/3 300 m	2015 年 6 月 16 日
S12	刺五加茎	云南省新平县马鞍山/2 980 m	2015 年 8 月 10 日

1.3 试验方法

1.3.1 红毛五加嫩叶不同试制品加工工艺

嫩叶烘干: 将采摘回的红毛五加嫩叶于 40 ℃电热鼓风干燥箱中干燥 48 h,烘干过程中定期翻动。

嫩叶制茶: 挑选鲜嫩的红毛五加叶片,去掉较老的叶柄,将鲜嫩五加叶片摊开,定期轻翻动 2~3 次,当顶叶下垂并失去光泽,手捏有弹性时可进行茶制。高温杀青: 杀青温度 200~220 ℃,时间 5~8 min;揉捻: 采用轻、重、轻的原则,将杀青后的五加嫩叶揉捻 5~6 min,使叶片卷成条索,破碎叶细胞挤出汁,粘附于叶表面;烘干: 将成型的五加茶置于不锈钢晒网盘中,厚度 2 cm 左右,置于烘箱中干燥,设定 60 ℃,4~5 h,取出即得。

1.3.2 多糖的提取及精制

取红毛五加嫩叶烘干品、茶制品、叶柄等干燥样品若干,打粉,过 3 号筛。分别精密称取上述样品粉末 5.0 g,置 100 mL 圆底烧瓶中,加入 10 倍量石油醚(沸程 60~90 ℃),回流 6 h,过滤,弃滤液;石油醚洗涤滤渣,挥去石油醚,滤渣加入 10 倍量 95%乙醇,回流 4 h,过滤,弃滤液;乙醇洗涤滤渣,挥去乙醇,滤

渣第一次加入 14 倍量水, 回流提取 2 h, 第二次加入 12 倍量水, 回流提取 2 h, 合并两次水提液, 用 Sevage 法除蛋白质; 水提液旋转蒸发浓缩至粘稠状时, 向浓缩液中加入无水乙醇使醇体积分数为 80%, 静置 16 h, 抽滤, 随后用无水乙醇、丙酮、乙醚多次洗涤除杂, 50 ℃ 真空干燥至恒质量, 即得红毛五加粗多糖。

1.3.3 样品溶液的制备

精密称取一定质量的上述粗多糖, 分别置于 25 mL 容量瓶中, 加水使其溶解, 在溶解的过程中可通过超声和升温的方法, 促进其溶解, 待粉末完全溶解后, 冷却至室温, 加水定容至刻度, 即得样品溶液。

1.3.4 多糖的测定方法

1.3.4.1 对照品溶液制备

精密称取干燥至恒质量的葡萄糖对照品 0.004 05 g, 置于 100 mL 容量瓶中, 用水溶解并定容至刻度, 即得质量浓度为 40.50 mg/L 的对照品溶液。

1.3.4.2 蒽酮-浓硫酸制备

精密称取蒽酮 0.20 g 于 250 mL 具塞锥形瓶中, 加 100 mL 浓硫酸溶解即得。蒽酮-浓硫酸须现配现用^[7]。

1.3.4.3 标准曲线的绘制

分别精密吸取对照品溶液 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.2, 1.4, 1.6 mL 于 10 mL 具塞试管中, 分别加水补足至 2 mL, 摇匀。另取 2 mL 蒸馏水作为空白对照。依次向各个试管中加入 4 mL 新制蒽酮-浓硫酸显色剂^[8-9], 摇匀后置沸水浴中加热 10 min, 取出, 稍微放冷后, 再置于冰水浴中 10 min, 取出, 待恢复至室温后, 于 625 nm 处测定吸光度(A)值。以质量浓度 $c(\mu\text{g/mL})$ 为横坐标, A 为纵坐标绘制标准曲线, 得回归方程: $A=0.016\ 6c+0.060\ 6$, $R^2=0.999\ 7(n=8)$ 。结果表明: 在 4.05~32.4 mg/L 之间, 葡萄糖质量浓度与吸光度具有良好的线形关系。

1.3.5 抗氧化活性测定

1.3.5.1 DPPH 自由基清除率测定^[10-12]

称取 0.004 g DPPH, 用 80% 无水乙醇定容至 100 mL 容量瓶中, 得到质量浓度为 0.04 g/L 的 DPPH 溶液。置 4 ℃ 冰箱避光保存。分别准确称取红毛五加不同样品多糖 0.20 g, 用蒸馏水溶解, 定容至 25 mL 容量瓶中, 作为红毛五加不同样品溶液母液。从母液中分别准确移取 0.01, 0.05, 0.10, 0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00, 1.20 mL 至 25 mL 容量瓶中定容。

分别取 1.0 mL 不同质量浓度的多糖样品溶液于 10 mL 具塞比色管中, 依次向其中加入 2.0 mL DPPH 溶液, 振荡混匀后, 室温下避光放置 30 min 后, 在 516 nm 处测定吸光度 A_1 , 以蒸馏水做空白对照, 平行测定 3 次, 以 V_c 做阳性对照, 计算清除率, 计算公式为

$$\text{自由基清除率}=[1-(A_1-A_2)/A_0]\times 100\%$$

式中: A_0 为 DPPH 溶液(2.0 mL)+80% 无水乙醇(1.0 mL)的吸光度; A_1 为 DPPH 溶液(2.0 mL)+样品溶液(1.0 mL)的吸光度; A_2 为 80% 无水乙醇(2.0 mL)+样品溶液(1.0 mL)的吸光度。公式中引入 A_2 是为了消除样品溶液本身颜色对实验测定的干扰。

1.3.5.2 ABTS⁺ 自由基清除率测定^[13]

准确称取 37.84 mg 过硫酸钾, 用蒸馏水溶解并定容至 10 mL 的容量瓶中, 即得浓度为 140 mol/L 的 A 溶液。准确称取 38.40 mg ABTS⁺ 标品, 溶解并转移至 10 mL 的容量瓶中, 向其中加入 1.0 mL 的 A 溶液, 再用去离子水定容至刻度, 在室温避光条件下静止 16 h, 形成 ABTS⁺ 储备液, 临用时用蒸馏水稀释至吸光度为 0.698~0.702。称取不同粗多糖样品 0.20 g, 用蒸馏水溶解, 定容至 25 mL 容量瓶中, 作为母液, 分别从母液中准确移取 0.01, 0.05, 0.10, 0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00, 1.20 mL 至 25 mL 容量瓶中定容。

分别取 1.0 mL 不同浓度的多糖样品溶液于 10 mL 具塞比色管中, 再向其中加入 2.0 mL 的储备液, 振荡混匀后, 室温避光下反应 6 min, 在 734 nm 波长下测定其吸光度 A_1 , 平行测定 3 次, 以 V_c 做阳性对照, 计算清除率, 计算公式为

$$\text{自由基清除率}=[1-(A_1-A_2)/A_0]\times 100\%$$

式中： A_0 为 ABTS+储备液(2.0 mL)+去离子水(1.0 mL)的吸光度； A_1 为 ABTS+储备液(2.0 mL)+样品溶液(1.0 mL)的吸光度； A_2 为 80%无水乙醇(2.0 mL)+样品溶液(1.0 mL)的吸光度。

1.3.5.3 还原能力测定^[14-15]

配制 0.20 mol/L 的磷酸氢二钠 100 mL 和 0.20 mol/L 的磷酸二氢钠 100 mL，准确移取 37.50 mL 的磷酸氢二钠和 62.50 mL 磷酸二氢钠至 100 mL 容量瓶中，即配成了 pH=6.6 的磷酸盐缓冲液。称取不同多糖样品 0.20 g，用蒸馏水溶解，定容至 25 mL 容量瓶中，作为母液。

分别移取母液 0.01,0.05,0.10,0.20,0.40,0.60,0.80,1.00,1.20 mL 至 25 mL 容量瓶中，定容，为样品液。取样品溶液 2.0 mL，分别加入 pH=6.6 的磷酸缓冲液 2.5 mL 和 1%铁氰化钾溶液 2.5 mL，混合后于 50℃水浴锅中放置 20 min，取出后加入 10%三氯乙酸 2.5 mL，而后于离心机中以 3 000 r/min 离心 10 min，取上层液 2.5 mL 于 10 mL 具塞比色管中，然后依次向其中加入蒸馏水 2.5 mL、0.1%三氯化铁 0.5 mL，混匀后静置 10 min，以蒸馏水为空白在 700 nm 波长下测定吸光值 A ，平行测定 3 次，以 V_c 做阳性对照。通过吸光度值的大小表示样品还原能力的强弱。

1.3.6 数据处理分析方法

本文采用 SPSS17.0 数据处理软件，对结果进行分析。

2 结果与分析

2.1 红毛五加样品粗多糖得率及多糖含量测定结果

精密称取一定质量的红毛五加药材粉末，按“1.3.2”项方法操作制备粗多糖，每组试验平行重复 3 次，粗多糖得率见表 2；分别取上述粗多糖一定量，按“1.3.3”项方法制备样品溶液，并按“1.3.4”项方法操作，测定吸光度 A ，计算样品中多糖的质量分数，每组试验平行重复 3 次，结果见表 2。

表 2 样品浸膏得率及多糖含量

批号	粗多糖得率/%	粗多糖中多糖的质量分数/%	生药中多糖质量比/(mg·g ⁻¹)
S1	16.14	17.74	28.63
S2	13.30	19.19	25.52
S3	14.80	18.70	27.68
S4	15.45	17.74	27.41
S5	13.74	19.49	26.78
S6	13.49	16.23	21.90
S7	16.78	16.11	27.04
S8	12.62	16.05	20.26
S9	7.70	26.23	20.20
S10	13.43	18.58	24.96
S11	13.44	18.28	24.57
S12	4.00	28.28	11.31

注：① 粗多糖得率=提取所得粗多糖质量÷样品粉末称样质量；② 粗多糖中多糖的质量分数=样品溶液中葡萄糖的质量÷粗多糖的称样质量；③ 生药中多糖的质量分数=粗多糖中多糖的质量分数×粗多糖得率。

由表 2 所示结果可以看出：虽然红毛五加皮及刺五加茎提取所得粗多糖中多糖质量分数较高，但由于粗多糖得率较低，因此每克生药中多糖质量分数反而低于叶中质量分数；所得红毛五加嫩叶粗多糖及嫩叶茶制品多糖质量分数较低，这可能是由于采用水提醇沉法制备粗多糖的过程中，经过了脱脂、脱色及多次洗涤去除杂质的过程，从而导致粗多糖得率降低。

2.2 红毛五加多糖抗氧化活性

2.2.1 DPPH 清除率测定结果

DPPH 法是评价抗氧化活性的常用方法，抗氧化物质可直接作用于 DPPH 自由基，使其颜色变浅，根据吸光度的变化可测定物质的抗氧化活性^[16-18]。红毛五加不同植物部位多糖对 DPPH 的清除作用结果见

图 1,以 Vc 作为对照,在测定的质量浓度范围内,不同植物部位多糖对 DPPH 自由基的清除能力均呈现出剂量依赖性. Vc 对 DPPH 自由基有较强的清除作用,在 0.032 g/L 时清除率即达 90% 以上;其中 S2 对 DPPH 自由基有最强的清除率,在最大质量浓度下清除率为 89.80%,其 IC₅₀ 值为 0.078 g/L;S10 对 DPPH 自由基清除率最弱,最大浓度下清除率为 57.30%,其 IC₅₀ 值为 0.254 g/L. 所有样品清除 DPPH 清除率从大到小依次为: Vc,S2,S11,S8,S12,S6,S3,S9,S7,S1,S5,S4,S10,均弱于 Vc. 用 SPSS 软件分析数据得出红毛五加多糖对 DPPH 自由基的半抑制质量浓度(IC₅₀ 值)见表 3.

表 3 DPPH 清除率 IC₅₀ 值

样品	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	Vc
IC ₅₀ 值/(g · L ⁻¹)	0.082	0.078	0.100	0.090	0.101	0.033	0.077	0.071	0.073	0.254	0.069	0.070	0.002

2.2.2 ABTS⁺ 清除率测定结果

ABTS 在反应体系中被氧化后会生成稳定 ABTS⁺ 自由基,为蓝绿色. 加入自由基清除剂后会使颜色减弱,吸光度下降,从而反映清除其自由基的能力^[19-20]. 红毛五加不同植物部位对 ABTS⁺ 的清除作用结果见图 2,以 Vc 作为对照,在测定质量浓度范围内,红毛五加多糖 ABTS⁺ 自由基的清除率随着质量浓度的增大而不断增大. Vc 对 ABTS⁺ 自由基有较强的清除作用,当质量浓度为 0.032 0 g/L 时清除率即达 90%,表明 Vc 对 ABTS⁺ 自由基有较强的清除能力,红毛五加多糖最大清除率可达 100%,自由基的半抑制质量浓度最大为样品 S6,IC₅₀ 值为 0.044 g/L,自由基半抑制质量浓度最小为样品 S9,IC₅₀ 值为 0.011 g/L,所有样品清除 ABTS⁺ 自由基从大到小依次为: Vc,S3=S7,S8,S2,S9,S12,S5,S10,S11,S1,S4,S6,均低于 Vc. 用 SPSS 软件分析数据得出红毛五加多糖对 ABTS⁺ 自由基的半抑制质量浓度(IC₅₀)值见表 4.

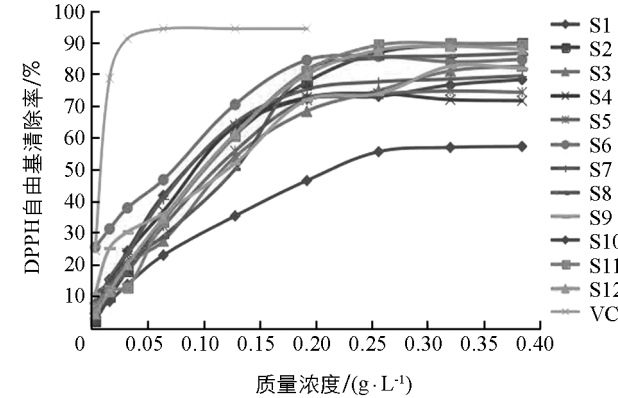


图 1 红毛五加多糖对 DPPH 自由基清除作用

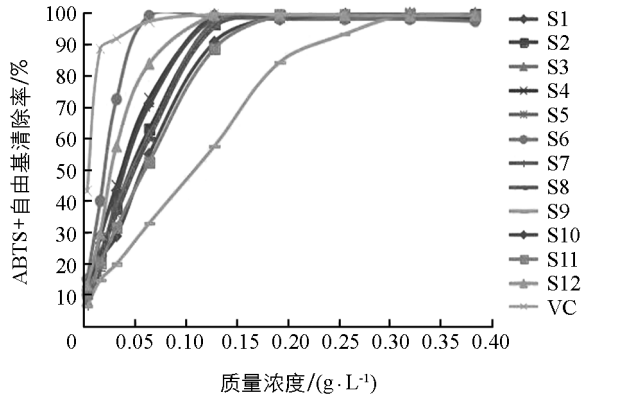


图 2 红毛五加多糖对 ABTS⁺ 自由基清除作用

表 4 ABTS⁺ 清除率 IC₅₀ 值

样品	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12	Vc
IC ₅₀ 值/(g · L ⁻¹)	0.026	0.022	0.022	0.020	0.021	0.011	0.022	0.020	0.044	0.018	0.025	0.016	0.004

2.2.3 还原性能力测定

抗氧化物质的抗氧化活性与其还原力存在直接的联系,还原力越强,抗氧化性越强. 通常采用铁氰化钾氧化样品来表征还原力,体系中 Fe³⁺ 在抗氧化剂的促进下变成 Fe²⁺,形成的 Fe²⁺. 最终测定的吸光度越大,表示还原力越强. 红毛五加不同植物部位还原性能力测定结果见图 3,以 Vc 作为对照,在测定的浓度范围内,各植物部位多糖还原能力随着质量浓度的增加而增加,当浓度为 0.384 0 g/L 时,还原性能力最大为样品 S6,吸光度达 1.541,最弱为 S9,吸光度为 0.282,所有样品还原性从大到小依次为: Vc,S6,S7,S4,S12,S2,S8,S3,S5,S10,S1,S11,S9,均弱于 Vc.

通过查阅文献,党蕾等人^[21] 比较了金钱菇、花菇、冬菇子实体中提取的多糖的还原能力,试验结果表明当多糖质量浓度为 1 g/L 时,金钱菇吸光度值达到了 0.32 左右,花菇、冬菇吸光度值约为 0.20,通

过比较可以看出当质量浓度达到 1 g/L 时,吸光度值最大为样品 S6,达到 1.541,最小为样品 S9,达到 0.55,均远远超过金钱菇、花菇、冬菇子实体中提取的多糖的还原能力,说明该类样品多糖均具有较强的还原能力。

3 结 论

1) 通过考察提取工艺可知:未经石油醚脱脂所得粗多糖呈棕褐色,结成片状,且不均匀;经脱脂所得粗多糖呈浅黄色,疏松粉末,较均匀;未经 95%乙醇脱色所得粗多糖呈棕绿色,颗粒较大,不疏松,不均匀;经 95%乙醇脱色所得粗多糖呈浅黄色,颗粒疏松且均匀。

2) 通过试验结果可知,红毛五加不同植物部位及茶制品中均含有多糖成分,均高于茎皮中多糖含量,且均具有较强的抗氧化活性。

3) 以 Vc 作对照,测定红毛五加不同植物部位多糖的清除 DPPH、ABTS⁺ 自由基能力及其还原性能力,评价其抗氧化活性,试验结果表明,该类多糖均具有较强的抗氧化活性,在一定质量浓度范围内,对清除 DPPH、ABTS⁺ 自由基能力及其还原性能力都呈现一定的量效关系,都随浓度增加而增大。

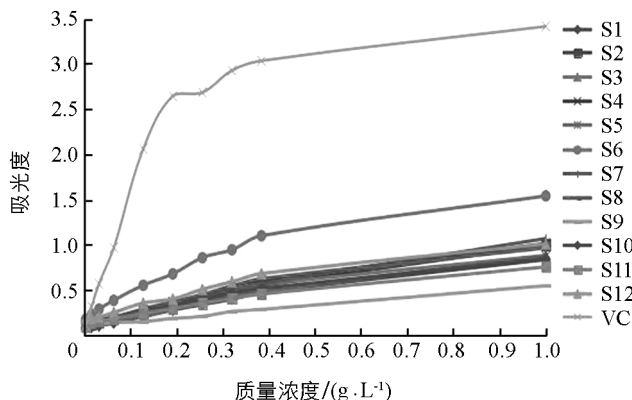


图 3 红毛五加多糖还原能力比较

参考文献:

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴: 第 2 册 [M]. 北京: 科学出版社, 1980: 1035.
- [2] 李时珍. 本草纲目(校本)(下册) [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982: 2110.
- [3] 谢宗万, 余友琴. 全国中草药名鉴(上册)—中草药同物异名集 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 611.
- [4] 孟庆艳, 刘 圆, 彭镰心, 等. 正交试验法筛选藏药红毛五加多糖的提取分离工艺 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2007, 29(1): 122—125.
- [5] 刘 圆, 孟庆艳, 孙卓然, 等. RP-HPLC 法测定不同产地藏药材红毛五加不同产地中绿原酸的含量 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(15): 1585—1586.
- [6] 高慧颖, 王 琦, 黄贤贵, 等. 火龙果花不同部位多糖的测定及其体外抗氧化活性 [J]. 福建农业学报, 2015, 30(10): 944—947.
- [7] 魏 苑, 张盛贵. 蒽酮-硫酸法测定枸杞多糖含量的研究 [J]. 食品工业科技, 2011, 32(3): 399—401.
- [8] 涂永勤, 朱华李, 曾 伟, 等. 人工增殖冬虫夏草多糖的含量测定 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2010, 32(11): 163—166.
- [9] 郑 义, 王卫东, 李 勇, 等. 高良姜多糖提取工艺优化及其抗氧化活性 [J]. 食品科学, 2014, 35(2): 126—131.
- [10] 寇 宁, 李磊强, 李钦, 等. 不同提取方法对红芪多糖体外抗氧化活性的影响研究 [J]. 食品工业科技, 2015, 36(15): 100—103, 108.
- [11] 许小向, 洪艳平, 胡捷敏, 等. 松针多糖微波提取工艺及抗氧化性研究 [J]. 食品工业科技, 2015, 36(23): 222—227.
- [12] 郭 霞, 胡尚勤. 大杯伞胞外多糖的纯化及抗氧化活性 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2013, 35(6): 36—40.
- [13] 郝旭梅, 鲍建才, 杨智慧, 等. 无梗五加叶体外抗氧化活性研究 [J]. 包装与食品机械, 2011, 29(4): 1—5.
- [14] 王 丹, 孙文静, 刘淑贞, 等. 不同杀青方式制备桑叶茶的体外抗氧化作用研究 [J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2015, 40(10): 94—99.
- [15] 王祝伟, 孙毓庆. 红毛五加药理作用研究进展 [J]. 沈阳药科大学学报, 2003, 20(1): 65—69.
- [16] 李冠楠, 夏雪娟, 赵欢欢, 等. 桑叶提取物泡腾片制备工艺及其抗氧化活性研究 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2015, 37(4): 132—137.
- [17] 涂宗财, 寇 玉, 王 辉, 等. 荷叶多糖的超声波辅助提取和抗氧化活性 [J]. 食品科学, 2013, 34(16): 108—112.
- [18] 汪瑞敏, 朱秋劲, 张春花, 等. 不同提取方法对天麻多糖抗氧化活性的影响 [J]. 食品科技, 2015, 40(3): 208—213.

- [19] 高行恩,王洪新.不同提取方法对山药多糖含量及其体外抗氧化活性的影响[J].食品与发酵工业,2015,41(7):256—262.
- [20] 于侃超,杨晓杰,王 瑶,等.不同提取方法对桔梗多糖体外抗氧化性的影响[J].天然产物研究与开发,2016,28(2):251—256.
- [21] 党 蕾,郝佳欣,江海涛.几种食用菌多糖抗氧化活性比较[J].安徽农学通报(上半月刊),2010,16(5):76—77,128.

Determination of Polysaccharide Contents in *Acanthopanax giraldii* Harms Tender Leaves and Its Antioxidant Activity

ZHAO Wei¹, CHEN Yi-jun^{1,2}, LIU Chun-lin¹,
ZHAI Xue¹, REN Chao-qin³, LIU Yuan⁴

1. College of Medicine, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China;

2. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;

3. Department of Chemical and Life Sciences, ABa Teachers College, Wenchuan Sichuan 623000, China;

4. Ethnic Medicine Institute, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China

Abstract: In an experiment reported herein, the technology for extracting polysaccharide from the tender leaves of *Acanthopanax giraldii* Harms was optimized, polysaccharide contents in different parts of the plant were compared, and its antioxidant activity was primarily evaluated. The results of optimizing extraction conditions were as follows. A combination of degrease with petroleum benzenen, decolorization with alcohol, deproteinization with the Sevage method, and the water extracting and alcohol depositing technique gave good-quality crude polysaccharide product with loose and uniform particles. The average recovery of polysaccharide was 98.44% with RSD 1.27% ($n=6$). The polysaccharide from different parts of the plant showed considerable capacity of free radical (DPPH $\cdot$ and ABTS $\cdot^+$) scavenging and Fe³⁺ reduction, its antioxidant effect being well correlated with its concentration. Under the maximum concentration of 0.384 0 mg/mL, S2 had the highest clearance rate of DPPH (89.8%), and S3, S5 and S7 had the highest clearance rate of ABTS⁺ (100%). In reducibility determination, under the concentration of 1 mg/mL, S6 polysaccharide gave the maximum absorbance value (1.541), showing a good reducibility. The optimized extraction process technology of polysaccharide from *A. giraldii* described in this paper proved to be reasonable and feasible.

Key words: tender leaf of *Acanthopanax giraldii* Harms; polysaccharide; extraction process; content determination; antioxidant activity

责任编辑 潘春燕