

‘鲁赫’刺蔷薇叶不同溶剂提取物的活性成分及抗氧化性比较

赵玉红¹, 师帅帅¹, 张立钢²

(1. 东北林业大学林学院, 黑龙江哈尔滨 150040) (2. 东北农业大学食品学院, 黑龙江哈尔滨 150030)

摘要: 本研究以‘鲁赫’刺蔷薇叶为原料, 采用超声波辅助提取法, 用不同溶剂(蒸馏水、无水乙醇、20%乙醇、40%乙醇、60%乙醇、80%乙醇、正丁醇、丙酮和乙酸乙酯)对叶中总黄酮、总多酚和原花青素进行提取, 测定提取液的抗氧化活性(DPPH自由基清除能力、羟基自由基清除能力及总还原力), 分析不同极性溶液对活性成分的提取效率, 并评价抗氧化能力与活性成分的相关性。结果表明: 不同极性溶剂提取效果不同, 其中60%乙醇提取物具有最高的粗提物得率(23.76±0.04%); 60%乙醇提取物的总黄酮和总多酚含量均为最高, 分别为74.29±0.01 mg/g和24.02±0.2 mg/g; 80%乙醇提取物原花青素含量最高(12.92±0.46) mg/g。活性成分含量与抗氧化性之间呈正相关性。总多酚和总黄酮类化合物是‘鲁赫’刺蔷薇叶提取物抗氧化活性的主要贡献者。

关键词: ‘鲁赫’刺蔷薇叶; 提取; 活性成分; 抗氧化性

文章编号: 1673-9078(2019)05-159-166

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.5.023

Bioactive Compounds Extracted by Different Solvents from *Rosa acicularis* ‘Luhe’ Leaves and Their Antioxidant Activity

ZHAO Yu-hong¹, SHI Shuai-shuai¹, ZHANG Li-gang²

(1. College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

(2. Food College, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: In this study, the extraction of bioactive compounds from *Rosa acicularis* ‘Luhe’ leaves using ultrasonic-assisted method with different solvents (distilled water, absolute ethyl alcohol, 20% ethyl alcohol, 40% ethyl alcohol, 60% ethyl alcohol, 80% ethyl alcohol, 1-butyl alcohol, acetone and ethyl acetate) was studied. Total flavonoids, total phenols, procyanidins, and antioxidant activity (DPPH radical scavenging capacity, hydroxyl radical scavenging capacity and total reducing power) were first evaluated in the extracts of *Rosa acicularis* ‘Luhe’ leaves. Correlation analysis of phytochemical contents with antioxidant activity was evaluated. Results indicated that different solvent extraction effects were different. The extract with ethanol concentration of 60% V/V possessed the highest yields (23.76±0.04)% and the highest total flavonoids and total polyphenol content (74.29±0.01) mg/g and (24.02±0.24) mg/g, respectively. The highest procyanidins content (12.92±0.46) mg/g was obtained in ethanol concentration of 80% V/V. The bioactive compounds contents were positively correlated to the antioxidant activity. Total phenols and total flavonoids are the major contributors to the antioxidant activities of *Rosa acicularis* ‘Luhe’ leave extracts.

Key words: *Rosa acicularis* ‘Luhe’ leaves; extraction; bioactive compounds; antioxidant activity

刺蔷薇(*Rosa acicularis*)又称作大叶蔷薇, 小枝密被细直皮刺, 叶大, 花深蔷薇红色^[1,2], 属于落叶丛生灌木^[3]。刺蔷薇与玫瑰、月季和兴安刺玫同属于蔷薇科蔷薇属^[4]。

收稿日期: 2018-12-30

基金项目: 哈尔滨市科技创新人才研究专项资金(2017RALXJ001); “十三五”国家重点研发计划项目(2016YFC0500307-07)

作者简介: 赵玉红(1968-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 林特产品精深加工

通讯作者: 张立钢(1973-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 功能性食品开发

蔷薇属植物中含有多种活性成分。王隶书等^[5]研究了蔷薇属植物山刺玫中根、茎、果实中黄酮含量。徐宁伟等^[6]对白花刺蔷薇的种子和果实化学成分含量进行了研究测定。从野生蔷薇不同部位提取了总皂苷、总黄酮等有效成分^[7,8]。王玲等^[9]对野蔷薇不同部位总黄酮含量进行比较, 得出根皮>叶>茎>青果皮>红果皮>红果籽>青果籽。Ouerghemmi等^[10]比较了三种野生蔷薇(*Rosa canina* L., *Rosa moschata* Herrm., *Rosa sempervirens* L.)叶中多酚组成及不同溶剂提取物的抗氧化性。陈兴都等^[11]报道玫瑰除花蕾、花瓣外, 其叶、茎、果和根均有清热解暑、顺气和胃、解渴、止血等

医疗保健功能。同时研究发现玫瑰叶、茎还有降血压、降血脂、防止冠心病, 增强人体免疫力之功能。

‘鲁赫’刺蔷薇 (*Rosa acicularis* ‘Luhe’) 是俄罗斯从野生刺蔷薇 (*Rosa acicularis*) 中选育出的一个品种, 由东北农业大学从俄罗斯西伯利亚中心植物园引进。鲁赫’刺蔷薇不仅观赏性更好, 并且具有更好的抗寒性及耐盐碱性, 是东北地区优良的绿化植物^[12]。目前国内外对于‘鲁赫’刺蔷薇主要研究其抗性和种植条件^[13], 而有关‘鲁赫’刺蔷薇叶中活性成分的研究少见报道。植物资源有八大特点, 其中一个特点是近缘种有成分相似性^[4]。因此以‘鲁赫’刺蔷薇叶为原料, 采用不同极性溶液对叶中总黄酮、总多酚和原花青素等活性成分的提取效果进行研究, 评价‘鲁赫’刺蔷薇叶中活性成分及抗氧化能力的相关性, 为将其作为潜在的抗氧化活性物质的来源具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 原料

‘鲁赫’刺蔷薇叶来源于黑龙江锦绣大地生物工程有限公司。

1.1.2 试剂

芦丁标准品、没食子酸标准品、原花青素标准品、福林酚试剂、DPPH 试剂 (1,1-二苯-2-苦基肼)、蒸馏水、无水乙醇、正丁醇、丙酮和乙酸乙酯、三氯乙酸、 $K_3Fe(CN)_6$ 、氯化铁、 $FeSO_4$ 和 H_2O_2 、水杨酸钠、水杨酸、亚硝酸钠、氢氧化钠、盐酸、三氯化铁硝酸铝、碳酸钠、甲醇、硫酸亚铁铵均为国产分析纯。

1.1.3 仪器与设备

电子天平 ALC-210.2, 北京赛多利斯仪器系统有限公司; 离心机 TDL-40B-W, 湖南星科科学仪器有限公司; 电热恒温水浴锅 DK-S12, 上海森信试验仪器有限公司; 电热恒温鼓风干燥箱 DHG-9240, 上海一恒科学仪器有限公司; 天平 HC-TP11-10, 上海精科天平; 超声波细胞粉碎机 JY98-IIIDN, 宁波新芝生物科技股份有限公司; PW-100 高速万能粉碎机 FW83, 天津市泰斯特仪器有限公司; 可见分光光度计 722 型, 上海光谱仪器有限公司; 紫外分光光度计 756 型, 上海分析仪器厂; 旋转蒸发器 RE-52A, 上海亚荣生化仪器厂。

1.2 方法

1.2.1 原料预处理

选取新鲜的‘鲁赫’刺蔷薇叶于 45 °C 干燥箱干燥,

参照刘曦^[14]方法修改, 刺蔷薇叶磨成粉, 精确称取样品, 共 9 份, 分别用蒸馏水、无水乙醇、20%乙醇, 40%乙醇, 60%乙醇, 80%乙醇, 正丁醇、丙酮和乙酸乙酯, 按 1:30(m/V) 的料液比混合, 使用超声细胞破碎仪, 在超声功率 200 W, 超声时间 6 s, 时间间隔 2 s, 超声次数 30 次的条件下^[15]提取, 残渣再按照相同的实验条件提取 1 次, 合并上清液, 得到样液备用。

1.2.2 提取液得率的计算

样液用相应的提取溶剂定容至 250 mL。取其中的 10 mL 提取液用于成分和抗氧化性分析, 剩余 240 mL 样品抽滤后用旋转蒸发器浓缩至膏状, 然后低温烘干, 并称量质量计算提取物得率, 计算公式如下。

$$\text{提取物得率}(\%) = \frac{m_1 - m_2}{m_3} \times 100\%$$

式中: m_1 为浓缩干燥后圆底烧瓶的质量/g; m_2 为浓缩前圆底烧瓶的质量/g; m_3 为折算后刺蔷薇叶粉末的质量 (干基, $m_3=4.8$ g)。

1.2.3 ‘鲁赫’刺蔷薇叶活性成分的测定

1.2.3.1 总黄酮含量的测定

以芦丁为对照, 采用 UV 法测定总黄酮含量^[16]。

芦丁标准溶液配制: 精密称取芦丁标准品置于 50 mL 容量瓶, 用无水乙醇溶解至刻度线, 摇匀, 准确吸取标准品溶液 0、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL。将各标准溶液分别置于试管中, 然后分别加入 0.75 mL 5%亚硝酸钠溶液, 摇匀, 静置 6 min。再加入 0.75 mL 10%硝酸铝溶液, 摇匀, 再静置 6 min, 加入 10 mL 4%氢氧化钠溶液, 用 60%乙醇定容到 25 mL, 摇匀, 静置 15 min 后在 510 nm 处测定 OD 值。得回归方程为 $Y=1.058X+0.0708$, $R^2=0.9992$ 。

总黄酮含量的测定: 分别取样品溶液 5 mL, 按照上述方法, 在 510 nm 处测定 OD 值。总黄酮含量以提取物中含芦丁标准品当量 (mg/g) 表示^[17]。

计算公式: 总黄酮含量 (mg/g) = C_X/C_0

式中: C_X : 测定样品溶液中芦丁标准品含量 (mg/mL);

C_0 : 样品溶液浓度 (mg/mL)。

1.2.3.2 总多酚含量的测定

以没食子酸为对照, 采用 Folin-Ciocalteu 比色法测定总酚含量^[18,19]。

标准曲线制作: 精确称取干燥的没食子酸用蒸馏水溶解并定容于 100 mL 容量瓶中, 配置成 1000 μ g/mL 的没食子酸标准储备液; 同时分别移取等体积 1.0 mL~5.0 mL 的没食子酸标准溶液于 100 mL 容量瓶中并定容, 配置成浓度分别为 10、20、30、40、50 μ g/mL 的工作液。回归方程为 $Y=0.0133X+0.0742$, $R^2=0.9990$ 。

样品测定：在 10 mL 棕色容量瓶中分别移取不同浓度的工作液 1 mL，各加入体积分数 10% 福林酚试剂 5 mL 后充分振荡摇匀，反应 5 min 加入质量分数为 7.5% 的碳酸钠溶液 4 mL 并通过蒸馏水并定容；置于 25 °C 恒温水浴条件下反应 1 h，以蒸馏水为空白对照于 765 nm 波长下测定混合体系吸光值。总多酚含量以提取物中含没食子酸当量 (mg/g) 表示。

计算公式：总多酚含量 (mg/g) = C_X/C_0

式中： C_X ：测定样品溶液中没食子酸含量 (mg/mL)； C_0 ：样品溶液浓度。

1.2.3.3 原花青素含量的测定

标准曲线制作：准确称取原花青素标品^[20]，甲醇溶解，定容与 50 mL 容量瓶，分别吸取上述溶液 2.0 mL、3.0 mL、4.0 mL、5.0 mL、6.0 mL 于 10 mL 容量瓶，甲醇定容。分别取标准溶液于具塞试管中，依次加入 6 mL 正丁醇-盐酸(V/V=95:5)及 0.2 mL 2% 硫酸亚铁铵溶液(24 g 硫酸亚铁铵溶于水，定容于 1000 mL)，摇匀后，在 95 °C 的水浴中加热 40 min，然后用自来水迅速冷却。用 1 mL 甲醇代替提取液重复以上操作，作为参比液。在 540 nm 波长处测定其吸光度。得回归方程为 $Y=4.26X+0.064$ ， $R^2=0.9990$ 。

原花青素含量测定：取提取液 1 mL，按照上述做法在 540 nm 波长处测定其吸光度。y 原花青素含量以提取物中含原花青素标品当量 (mg/g) 表示。

计算公式：原花青素标品含量 (mg/g) = C_X/C_0

式中： C_X ：测定样品溶液中原花青素标品含量 (mg/mL)； C_0 ：样品溶液浓度 (mg/mL)。

1.2.4 ‘鲁赫’刺蔷薇叶抗氧化性研究

1.2.4.1 DPPH 自由基清除能力

参考 Emira Noumi 等^[21]方法，采用 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) 测定 DPPH 自由基清除能力。取不同质量浓度的样液或 Vc 溶液 2.0 mL，加入 2.0 mL 0.1 mmol/L 的 DPPH 溶液中，摇匀，暗处反应 30 min，以无水乙醇溶液做空白对照，在 517 nm 处测其吸光值 A_1 。测定 2.0 mL 0.1 mmol/L DPPH 溶液与 2.0 mL 无水乙醇混合后在 517 nm 处的吸光度 A_0 ；测定 2.0 mL 无水乙醇溶液与 2.0 mL 样液在 517 nm 处的吸光度 A_2 ，计算其半清除率浓度(IC₅₀)。

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\%$$

1.2.4.2 羟基自由基清除作用

以 Vc 为阳性对照，在试管中加入 1.0 mL 不同浓度的样液，依次加入 2 mmol/L FeSO₄ 和 H₂O₂ 2 mL，充分震荡摇匀。静置 10 min，再依次加入 2 mmol/L 水杨酸钠 2 mL，混合均匀后置于 37 °C 水浴锅中静置

30 min，510 nm 下测定混合物 A_1 。同法，等体积的蒸馏水代替样液，测 A_0 。同法，加水杨酸用等体积蒸馏水代替，加入不同样液，测吸光值 A_2 。

$$\text{清除率}(\%) = \left(1 - \frac{A_1 - A_2}{A_0}\right) \times 100\%$$

1.2.4.3 总还原力的测定

采用普鲁士蓝还原法，取 1.0 mL 不同质量浓度的样品溶液，加 1 g/100 mL K₃Fe(CN)₆ 溶液 1 mL，50 °C 水浴 20 min 后，加入 1.0 mL 10% 三氯乙酸终止反应，然后加入 2.0 mL 蒸馏水和 0.4 mL 0.1 g/100 mL 氯化铁，混匀，静置，显色，最后于 700 nm 波长处测吸光值。吸光度越高代表还原力越大。

1.2.5 数据统计分析

每组试验重复三次，采用 Origin 8.0 制图，采用 SPSS 22.0 统计软件进行相关性、显著性差异检验，数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，以 $p < 0.05$ 作为差异显著性判断标准。

2 结果与分析

2.1 ‘鲁赫’刺蔷薇叶提取物得率及活性成分含量测定结果

采用不同溶剂对‘鲁赫’刺蔷薇叶提取物得率、总黄酮、总多酚和原花青素含量进行测定，结果见表 1。

不同溶剂提取物得率、总黄酮、总多酚和原花青素含量差别很大。60% 乙醇具有最高的粗提物得率(23.76%)，其次是 40% 乙醇提取物(20.18%)，但是乙醇浓度过高或过低都会使提取物得率降低。其中 20% 乙醇、80% 乙醇及无水乙醇提取物得率均低于蒸馏水的得率。张小倩^[22]等人研究了不同乙醇浓度对滁菊粗提物得率的影响，发现 60% 乙醇提取率最高，过高或过低的乙醇浓度粗提物得率均低于蒸馏水的得率。丙酮、正丁醇和乙酸乙酯的粗提物得率不存在显著性差异($p > 0.05$)，正丁醇的粗提物得率最低(4.01%)。总体上来说，随着提取溶剂极性的降低，粗提物的得率呈下降趋势。提取率的差异可能是因为‘鲁赫’刺蔷薇叶化学成分中极性物质(蛋白质、多糖等)含量较高，导致其在不同溶剂中的溶解性不同。Jung^[23]研究了人参不同溶剂提取物的抗氧化活性，结果发现粗提物得率也随提取溶剂极性的降低而呈下降趋势。

‘鲁赫’刺蔷薇叶 9 种不同溶剂提取物中黄酮含量在 8.59~74.29 mg/g 之间。不同溶剂对黄酮的提取效果具有不同程度的影响。不同溶剂提取物的总黄酮含量由高到低顺序为：60% 乙醇 > 40% 乙醇 > 80% 乙醇 > 20% 乙醇 > 无水乙醇 > 丙酮 > 蒸馏水 > 乙酸乙酯 > 正丁醇。

60%乙醇提取物中黄酮含量最高,为(74.29±0.01) mg/g,40%乙醇、80%乙醇提取物中黄酮含量次之,分别为(63.29±0.36) mg/g和(56.75±0.84) mg/g,二者的总黄酮含量无显著性差异($p>0.05$)。水提物、无水乙醇提取物、丙酮提取物中黄酮含量无显著差异($p>0.05$)。

正丁醇、乙酸乙酯提取物中黄酮含量最低,只有(8.59±0.30) mg/g和(15.15±0.78) mg/g,与60%乙醇提取物中黄酮含量差异极显著($p<0.01$),这种差异可能因为黄酮的结构特点或者相似相容原理,因此影响了不同样品中黄酮的溶出。

表1 ‘鲁赫’刺蔷薇叶不同溶剂提取物得率及总黄酮、总多酚和原花青素含量

Table 1 Yield and total flavonoids, total phenols, procyanidins contents of different solvent extracts from *Rosa acicularis* ‘Luhe’ leaves

(x±s, n=3)				
溶剂	提取物得率/%	总黄酮含量/(mg/g)	总多酚含量/(mg/g)	原花青素含量/(mg/g)
20%乙醇	7.98±0.08 ^e	34.04±0.96 ^{bc}	17.87±1.50 ^c	8.04±0.08 ^c
40%乙醇	20.18±0.44 ^b	63.29±0.36 ^b	22.46±0.70 ^b	10.09±0.18 ^b
60%乙醇	23.76±0.04 ^a	74.29±0.01 ^a	24.02±0.24 ^a	11.77±0.16 ^a
80%乙醇	12.80±0.22 ^d	56.75±0.84 ^b	15.73±0.39 ^d	12.92±0.46 ^a
无水乙醇	6.29±0.35 ^f	27.43±0.19 ^c	5.59±0.15 ^f	2.76±0.67 ^{ed}
蒸馏水	14.38±0.13 ^c	24.42±0.30 ^c	10.81±0.99 ^e	2.88±0.93 ^d
丙酮	4.96±0.09 ^b	26.25±0.71 ^c	0.74±0.26 ^g	9.45±0.10 ^c
乙酸乙酯	4.30±0.25 ^h	15.15±0.78 ^d	0.04±0.21 ^g	1.52±0.13 ^f
正丁醇	4.01±0.79 ^h	8.59±0.30 ^e	0.02±0.02 ^g	1.64±0.03 ^{ef}

注:同列小写字母不同表示差异显著($p<0.05$)。

‘鲁赫’刺蔷薇叶9种不同溶剂提取物中总多酚含量在0.02~24.02 mg/g之间,不同溶剂提取物的总多酚含量由高到低顺序为:60%乙醇>40%乙醇>20%乙醇>80%乙醇>蒸馏水>无水乙醇>丙酮>乙酸乙酯>正丁醇。‘鲁赫’刺蔷薇叶9种不同溶剂提取物中,正丁醇、乙酸乙酯、丙酮提取物的总多酚含量不存在显著差异($p>0.05$),其他溶剂提取物中总多酚含量差异极显著($p<0.01$),其中60%乙醇提取物总多酚含量最高,为(24.02±0.24) mg/g。正丁醇、乙酸乙酯、丙酮提取物与60%乙醇提取物总多酚含量差异极显著($p<0.01$)。对比‘鲁赫’刺蔷薇叶不同溶剂提取物中总多酚含量,发现多酚含量与提取物得率有着类似的变化规律,还发现根据相似相溶原理,在相同提取条件下乙醇水溶液能够更好的溶解样品中的酚类化合物^[24]。由于多酚类化合物种类较多,不同极性溶剂对不同酚类化合物的溶解性不同,林恋竹^[25]研究了溪黄草根不同溶剂(蒸馏水、60%乙醇、无水乙醇、甲醇、丁醇、乙酸乙酯和氯仿)提取物抗氧化活性,发现提取率为60%乙醇提取物>丁醇提取物>甲醇提取物>无水乙醇提取物>乙酸乙酯提取物>水提取物>氯仿提取物,可见提取溶剂的极性对植物多酚提取效率有较大影响。

‘鲁赫’刺蔷薇叶9种不同溶剂提取物中原花青素含量在1.52~12.92 mg/g之间。不同溶剂对原花青素的提取效果具有不同程度的影响。其中,80%乙醇提取物中原花青素含量最高为(12.92±0.46)mg/g,其次为60%乙醇,为(11.77±0.16)mg/g,而且两者中原花青素

含量无显著差异($p>0.05$)。乙酸乙酯提取物中原花青素含量最低,与正丁醇无显著差异($p>0.05$),但与其他7种提取物中原花青素含量差异显著($p<0.05$)。本试验丙酮对花青素具有较高的提取效率,提取率达到(9.45±0.10)mg/g,高于蒸馏水、无水乙醇、20%乙醇的提取率,说明‘鲁赫’刺蔷薇叶中的花青素在丙酮溶液中有较好的溶解性。周玮婧等^[26]研究了荔枝皮原花青素提取工艺,也发现了丙酮比乙醇和甲醇具有更高的花青素提取率。

2.2 提取物抗氧化性研究结果

对不同溶剂提取物的DPPH自由基清除能力、羟基自由基清除能力和总还原力进行分析。

2.2.1 不同溶剂提取物清除DPPH自由基能力

DPPH法间接测定的是混合物反应中产生自由基的抑制能力^[27]。IC₅₀值衡量诱导能力的强弱,低数值对应高抗氧化活性。‘鲁赫’刺蔷薇叶不同溶剂提取物清除DPPH自由基的IC₅₀值和不同溶剂提取物的DPPH自由基清除能力结果见表2和图1。

由图1可知,当样品浓度在0.2~1.0 mg/mL之间时,所有提取物对DPPH自由基均有一定的清除能力,且与DPPH自由基清除能力呈量效关系。‘鲁赫’刺蔷薇叶不同溶剂提取物清除DPPH的能力随着浓度的增大而增强;由图可知当浓度达0.6 mg/mL时,变化趋于平缓。提取液60%乙醇具有最高的DPPH自由基清除能力,其次为40%乙醇提取物。乙醇水溶液提取物

的清除率显著高于其他溶液提取物的清除率，但均低于 Vc。

表2 ‘鲁赫’刺蔷薇叶不同溶剂提取物清除 DPPH 自由基的 IC₅₀ 值

Table 2 IC₅₀ of DPPH radical scavenging capacity of different solvent extracts from *Rosa acicularis* ‘Luhe’ leaves

溶剂	IC ₅₀ /(mg/mL)
水	0.38±0.01
20%乙醇	0.30±0.02
40%乙醇	0.23±0.01
60%乙醇	0.19±0.01
80%乙醇	0.24±0.00
无水乙醇	0.57±0.01
正丁醇	2.17±0.01
乙酸乙酯	0.98±0.01
丙酮	0.69±0.00
Vc	0.14±0.01

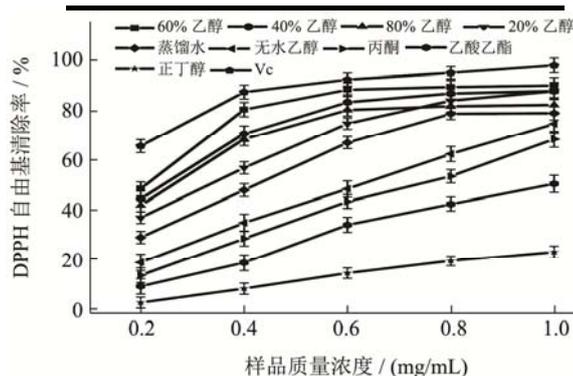


图1 不同提取物清除 DPPH 自由基的能力

Fig.1 DPPH radical scavenging capacity of different solvent extracts

‘鲁赫’刺蔷薇叶不同溶剂提取物清除 DPPH 的 IC₅₀ 值见表 2。由表 2 可知，‘鲁赫’刺蔷薇叶乙醇水提取物 DPPH 清除率接近，而且和 Vc 提取物的 DPPH 清除率相差不大，均表明了‘鲁赫’刺蔷薇叶乙醇水溶剂提取物都具有较强的清除 DPPH 能力。‘鲁赫’刺蔷薇叶不同溶剂提取物对 DPPH 的清除能力由大到小顺序为：60%乙醇提取物>40%乙醇提取物>80%乙醇提取物>20%乙醇提取物>水提取物>无水乙醇提取物>丙酮提取物>乙酸乙酯提取物>正丁醇提取物。

由上述结果可以证明‘鲁赫’刺蔷薇叶不同溶剂提取物对 DPPH 清除能力与提取溶剂的极性有关。不同极性溶剂得到的‘鲁赫’刺蔷薇叶提取物的有效成分的含量之间存在差异，基本溶剂的极性越小，得到的‘鲁赫’刺蔷薇叶提取物对 DPPH 清除率越低。综合比较：乙醇水溶液提取物>水提取>丙酮提取物>乙酸乙酯提取物>正丁醇提取物。本试验中不同浓度的乙醇水溶

液对 DPPH 的清除能力不同，但乙醇水溶液提取物对 DPPH 的清除能力优于纯有机溶剂提取物。

2.2.2 不同溶剂提取物羟基自由基清除能力

不同溶剂提取物清除羟基自由基的 IC₅₀ 值和不同溶剂提取物的羟基自由基清除能力结果见表 3 和图 2。

表3 ‘鲁赫’刺蔷薇叶不同溶剂提取物清除羟基自由基的 IC₅₀ 值

Table 3 IC₅₀ of ·OH radical scavenging capacity of different solvent extracts from *rosa acicularis* ‘Luhe’ leaves

溶剂	IC ₅₀ /(mg/mL)
水	1.669±0.001
20%乙醇	1.428±0.001
40%乙醇	1.130±0.022
60%乙醇	0.785±0.002
80%乙醇	1.785±0.019
无水乙醇	5.174±0.011
正丁醇	5.867±0.028
乙酸乙酯	8.913±0.043
丙酮	2.662±0.004
Vc	0.182±0.015

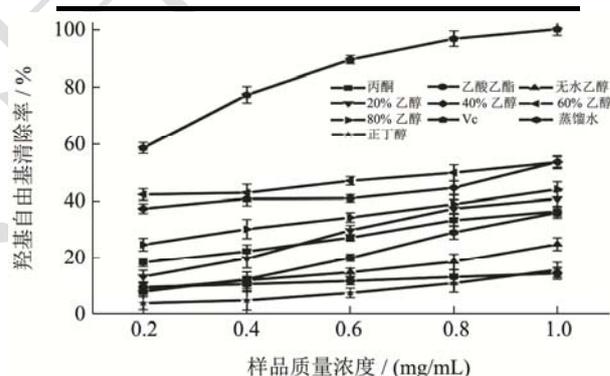


图2 不同溶剂提取物清除羟基自由基的能力

Fig.2 Hydroxyl radical scavenging capacity of different solvent extracts

由图 2 可知，当样品浓度在 0.2~1.0 mg/mL 之间时，不同溶剂提取物的对羟基自由基的清除能力与其质量浓度呈量效关系。‘鲁赫’刺蔷薇叶不同溶剂提取物清除羟基自由基的能力基本随着浓度的增大而变强，但是始终低于相同质量浓度下 Vc 的清除率。

由表 3 可知，‘鲁赫’刺蔷薇叶不同溶剂提取物清除羟基自由基的 IC₅₀ 值均大于 Vc，表明它们清除羟基自由基能力较 Vc 弱。‘鲁赫’刺蔷薇叶不同溶剂提取物对羟基自由基的清除能力由大到小顺序为 60%乙醇提取物>40%乙醇提取物>20%乙醇提取物>水提取物>80%乙醇提取物>丙酮提取物>无水乙醇提取物>正丁醇提取物>正丁醇提取物。本试验中不同浓度的乙醇水溶液对羟基自由基的清除能力不同，但乙醇水

溶液提取物对羟基自由基的清除能力优于纯有机溶剂提取物，特别是 60%乙醇溶液最优。

2.2.3 不同溶剂提取物总还原力的测定

FRAP 法测定总还原能力时，依据不同化合物还原能力的强弱，待测液颜色从黄色退变为不同程度的蓝色^[28]。

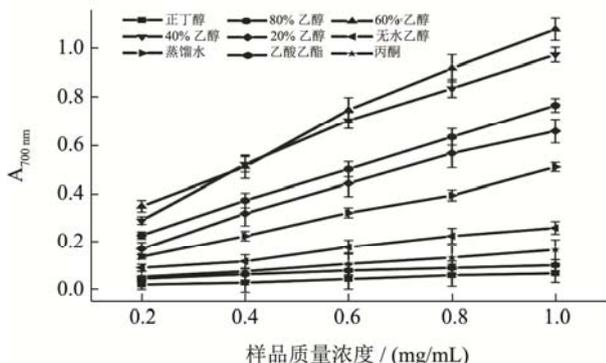


图3 不同溶剂提取物总还原力能力

Fig.3 Total reducing power of different solvent extracts

由图 3 知，‘鲁赫’刺蔷薇叶不同溶剂提取物总还原力的能力与样品浓度呈良好的效果关系。当浓度为 0.2~1 mg/mL 时，60%乙醇总还原力的能力最强，其次为 40%乙醇。总体来说乙醇水溶液提取物的还原能力强于蒸馏水浓度，而无水乙醇提取物的总还原力要低于蒸馏水提取物。而乙酸乙酯和正丁醇提取物的总还原能力最弱。李丽华等^[29]研究发现苹果皮的总还原力大小为：60%乙醇提取物>无水乙醇提取物>蒸馏水提取物>乙酸乙酯提取物，同样 60%乙醇提取物还原能力优于其他提取物，与本研究结果相似。可能由于较高浓度的乙醇水溶液更好地溶出的活性成分，具有更好的还原能力。

表 4 ‘鲁赫’刺蔷薇叶不同溶剂提取物的总还原能力分析

Table 4 Total reducing power of different solvent extracts from

Rosa acicularis ‘Luhe’ leaves		
溶剂	线性方程	R ²
水	y=0.4575x+0.0415	0.9956
20%乙醇	y=0.6135x+0.0621	0.9938
40%乙醇	y=0.8440x+0.1578	0.9849
60%乙醇	y=0.9355x+0.1589	0.9953
80%乙醇	y=0.6715x+0.0415	0.9997
无水乙醇	y=0.2205x+0.0401	0.9872
正丁醇	y=0.0625x+0.0049	0.9857
乙酸乙酯	y=0.0695x+0.0329	0.9862
丙酮	y=0.1415x+0.0211	0.9969

注：y 吸光值，x 样液浓度 (mg/mL)。

对‘鲁赫’刺蔷薇叶不同溶剂提取物的总还原力曲线进行线性模拟回归处理，得出线性模拟方程及相关

系数见表 4。

由表 4 可知，所有溶液的提取物样液的质量浓度与总还原能力都有呈较好线性关系，80%乙醇提取液的质量浓度与总还原能力有最好的线性关系。

2.3 活性成分含量与抗氧化活性的相关性分析

为了研究总多酚、总黄酮及原花青素含量与抗氧化活性间是否存在量效关系，根据其含量及 IC₅₀ 值计算了各指标的相关系数。

表 5 ‘鲁赫’刺蔷薇叶不同溶剂提取物的抗氧化活性与活性成分含量的相关性分析

Table 5 Correlation analysis of antioxidant activity with activity compounds of different solvent extracts from Rosa acicularis

‘Luhe’ leaves			
成分	总还原力	DPPH·1/IC ₅₀ 值	对羟基自由基 1/IC ₅₀ 值
总黄酮	0.913**	0.953**	0.872**
总多酚	0.991**	0.970**	0.921**
原花青素	0.725*	0.806*	0.719*

注：**表示在 0.01 水平上极显著相关，*表示在 0.05 水平上显著相关。

由表 5 可知，‘鲁赫’刺蔷薇叶不同溶剂提取物的总还原能力与总黄酮及总多酚极显著相关，分别为 (r=0.913, p<0.01)、(r=0.991, p<0.01)，而和花青素显著性相关 (r=0.725, p<0.05)；DPPH 的清除能力同样与总黄酮及总多酚呈极显著相关，为 (r=0.953, p<0.01；r=0.970, p<0.01)，与原花青素显著相关 (r=0.806, p<0.05)；对羟基自由基的清除能力与总还原能力相关性相同，与总多酚、总黄酮极显著相关 (p<0.01)，与原花青素显著性相关 (p<0.05)。这可能是由于不同溶剂提取物中各活性成分的含量也存在差异，而复杂的活性成分之间的相互协同或拮抗作用影响了提取物不同的抗氧化能力，或不同的提取溶剂对活性成分溶出情况的不同，间接影响了提取物的抗氧化能力。

‘鲁赫’刺蔷薇叶不同溶剂提取物的总还原力、DPPH 和·OH 清除能力与总多酚、总黄酮及原花青素含量均相关，尤其与总多酚、总黄酮含量极显著相关 (p<0.01)，对‘鲁赫’刺蔷薇叶提取物抗氧化活性贡献最大，已有大量的研究表明多酚及总黄酮类化合物含量与天然植物提取物抗氧化活性具有显著相关性^[30,31]。

3 结论

不同极性溶剂提取‘鲁赫’刺蔷薇叶中活性成分含量及抗氧化活性不同。60%乙醇溶液更适合提取‘鲁赫’刺蔷薇叶中总多酚、总黄酮及原花青素活性成分。总多酚和总黄酮是‘鲁赫’刺蔷薇叶提取物抗氧化活性主要贡献者，总多酚及总黄酮含量与提取物抗氧化活性具有显著的正相关性。

参考文献

- [1] 杨逢玉,杨帆,隋云吉,等.新疆 6 种驯化蔷薇果实的主要经济性状及果实营养成分含量分析[J].西部林业科学,2016,45(5):89-92,97
YANG Feng-yu, YANG Fan, SUI Yun-ji, et al. Economic characters and nutrient components in the fruits of wild *Rosa* from Xinjiang [J]. Journal of West China Forestry Science, 2016, 45(5): 89-92, 97
- [2] 冯久莹,蔡蕾,贺海洋,等.新疆 14 种野生蔷薇属植物生境调查[J].林业科学,2014,50(11):44-51
FENG Jiu-ying, CAI Lei, HE Hai-yang, et al. Investigation of habitat characteristics of 14 wild *Rosa* species in Xinjiang [J]. Forestry Science, 2014, 50(11): 44-51
- [3] 刘士侠.新疆野生蔷薇果资源[J].新疆林业,1996,6:21-22
LIU Shi-xia. Wild *Rosa* species resource in Xinjiang [J]. Xinjiang Forestry, 1996, 6: 21-22
- [4] 杨利民.植物资源学[M].北京:中国农业出版社,2008
YANG Li-min. Plant Resources [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2008
- [5] 王隶书,王海生,高军,等.山刺玫不同药用部位中总黄酮的含量测定[J].中国实验方剂学杂志.2010,16(10):56-58
WANG Li-shu, WANG Hai-sheng, GAO Jun, et al. Determination of contents of total flavonoids from different medicinal parts in *Rosa davurica* [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formula, 2010, 16(10): 56-58
- [6] 徐宁伟,李津,郭振清,等.白花刺蔷薇种子和果实的形态与组分[J].河北科技师范学院学报,2011,25(3):39-43
XU Ning-wei, LI Jin, GUO Zhen-qing, et al. The study on the morphological characters and the component analysis of seeds and fruit of *Rosa acicularis* [J]. Journal of Hebei Normal University of Science & Technology, 2011, 25(3): 39-43
- [7] 其买古丽·阿沙木,玛丽亚木·阿矾里米提,米丽班·霍加艾合买提,等.野蔷薇根中总皂苷的提取及其抑菌作用[J].光谱实验室,2013,30(6):3045-3050
QIMANGUL Hasa, MALIYAM Abulimit, MIHRIBAN Hojahmat, et al. Extraction of total saponins from *Rosa multiflora thurb* and antibacterial activity [J]. Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory, 2013, 30(6): 3045-3050
- [8] 蒋辉,何永华,曹亚玲,等.4 种蔷薇属植物叶片黄酮含量的季节性变化[J].天然产物研究与开发,2000,12(3):58-63
JIANG Hui, HE Yong-hua, CAO Ya-ling, et al. Change of the total flavonol glycosides contents of the leaves from four *Rosa* species with phenological phases [J]. Natural Product Research and Development, 2000, 12(3): 58-63
- [9] 王玲,康俊丽,尚路遥,等.野蔷薇不同部位总黄酮含量比较研究[J].中医学报,2015,208(30):1132-1134
WANG Ling, KANG Jun-li, SHANG Lu-yao, et al. Comparison of total flavonoid content in different parts of *Rosa multiflora thurb* [J]. China Journal of Chinese Medicine, 2015, 208(30): 1132-1134
- [10] Ouerghemmi S, Sebei H, Siracusa L, et al. Comparative study of phenolic composition and antioxidant activity of leaf extracts from three wild *Rosa* species grown in different Tunisia regions: *Rosa canina* L., *Rosa moschata* Herrm. and *Rosa sempervirens* L [J]. Industrial Crops and Products, 2016, 94: 167-177
- [11] 陈兴都,蒋玉梅,李霖昕,等.苦水玫瑰叶芽饮料加工工艺的优化[J].食品工业科技,2013,34(6):320-324,333
CHEN Xing-du, JIANG Yu-mei, LI Ji-xin, et al. Optimization of processing of Kushui rose leaf gems beverage [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(6): 320-324, 333
- [12] 冯亚磊,何培,王生贺,等.低温逆境下‘鲁赫’刺蔷薇抗性分析[J].齐齐哈尔大学学报(自然科学版),2017,33(5):56-63
FENG Ya-lei, HE Pei, WANG Sheng-he, et al. The resistance ability of *Rosa acicularis* ‘Luhe’ under chilling stress [J]. Journal of Qiqihar University (Natural Science Edition), 2017, 33(5): 56-63
- [13] 易照勤,初振欢,王昊天,等.‘鲁赫’刺蔷薇播种繁殖技术研究[J].高师理科学刊,2017,37(4):47-51
YI Zhao-qin, CHU Zhen-huan, WANG Hao-tian, et al. Study on seed propagation technique of *Rosa acicularis* ‘Luhe’ [J]. Journal of Science of Normal University, 2017, 37(4): 47-51
- [14] 刘曦,祝连彩,王伯初.蓝莓叶不同溶剂提取物抗氧化活性研究[J].食品工业科技,2013,34(12):101-105
LIU Xi, ZHU Lian-cai, WANG Bo-chu. Antioxidant activities of different solvent extracts from *Vaccinium blueberry* leaves [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(12): 101-105
- [15] 孙海涛,邵信儒.超声波辅助提取刺梨 SOD 工艺优化[J].食品科学,2011,32(22):109-113

- SUN Hai-tao, SHAO Xin-ru. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pigments from *Acanthopanax senticosus* Harms fresh fruit [J]. Food Science, 2011, 32(22): 109-113
- [16] 王静霞,黄艳菲,赵小燕,等.荞麦和商品苦荞茶中总黄酮的含量测定[J].食品工业科技,2013,34(2):58-60
- WANG Jing-xia, HUANG Yan-fei, ZHAO Xiao-yan, et al. Determination of total flavonoids in buckwheat and buckwheat goods [J]. Science and Technology of Food Industry, 2013, 34(2): 58-60
- [17] ZHANG S T, ZHANG L G, WANG L, et al. Total phenols, flavonoids, and procyanidins levels and total antioxidant activity of different Korean pine (*Pinus koraiensis*) varieties [J]. Forestry Research, 2018, 7
- [18] 苏晓雨,王振宇.红松种子壳多酚物质的提取及抗氧化特性[J].农业工程学报,2009,25(Spp1):198-203
- SU Xiao-yu, WANG Zhen-yu. Polyphenol extraction from *Pinus koraiensis* seed putamina and its antioxidant activities [J]. Transactions of the CSAE, 2009, 25(Supp.1): 198-203
- [19] YANG J, LIU H R, HALIM L N. Antioxidant and antiproliferative activities of common edible nut seeds [J]. Food Science and Technology, 2009, 42(1): 1-8
- [20] 陈健,孙爱东,高雪娟,等.响应面分析法优化超声波提取檳榔原花青素工艺[J].食品科学,2011,32(4):82-86
- CHEN Jian, SUN Ai-dong, GAO Xue-juan, et al. Process optimization for ultrasonic-assisted solvent extraction of proanthocyanidins from *Areca catechu* L. fruit by response surface analysis [J]. Food Science, 2011, 32(4): 82-86
- [21] NOUMI E, SNOUSS M, HAJLAOUI H, et al. Chemical composition, antioxidant and antifungal potential of *melaleuca alternifolia* (tea tree) and *Eucalyptus globulus* essential oils against oral *Candida* species [J]. Journal of Medicinal Plants Research, 2011, 5(17): 4147-4156
- [22] 张小倩,时维静,邓家胜,等.乙醇浓度对滁菊多酚类成分提取率影响[J].安徽科技学院学报,2013,27(6):44-47
- ZHANG Xiao-qian, SHI Wei-jing, DENG Jia-sheng, et al. Effects of the extraction rate of multi-component in Chujie by different concentrations ethanol [J]. Journal of Anhui Science and Technology University, 2013, 27(6): 44-47
- [23] Chang-Hwa J, Ho-Moon S, In-Wook C, et al. Antioxidant properties of various solvent extracts from wild ginseng leaves [J]. LWT - Food Science and Technology, 2005, 39(3): 237-242
- [24] 陆健,樊伟,孔维宝,等.大麦总多酚不同溶剂提取物对DPPH 自由基清除能力的影响[J].食品与生物技术学报,2008,5(1):57-61
- LU Jian, FAN Wei, KONG Wei-bao, et al. Study on the extraction of total polyphenol in barley (*Hordeum vulgare* L.) and its ability on scavenging DPPH free radical [J]. Journal of Food Science and Biotechnology, 2008, 5(1): 57-61
- [25] 董怡,林恋竹,赵谋明.溪黄草根不同溶剂提取物的抗氧化性[J].食品科学,2011,32(15):39-42
- DONG Yi, LIN Lian-zhu, ZHAO Mou-ming. Antioxidant activity of different solvent extracts from *Rabdosia serra* (Maxim.) Hara Roots [J]. Food Science, 2011, 32(15): 39-42
- [26] 周玮婧,孙智达,谢笔钧,等.荔枝皮原花青素提取工艺优化[J].农业工程学报,2009,25(1):175-179
- ZHOU Wei-jing, SUN Zhi-da, XIE Bi-jun, et al. Technology optimization for extracting procyanidins from litchi pericarp [J]. Transactions of the CSAE, 2009, 25(Supp.1): 175-179
- [27] Blomhoff R, Carlsen M H, Andersen L F, et al. Health benefits of nuts: Potential role of antioxidants [J]. British Journal of Nutrition, 2006, 96: 52-60
- [28] Pereira J A, Oliveira I, Sousa A, et al. Bioactive properties and chemical composition of six walnut (*Juglans regia* L.) varieties [J]. Food Chemistry Toxicology, 2008, 46: 2103-2011
- [29] 李利华.苹果皮不同溶剂提取物抗氧化活性研究[J].现代食品科技,2012,28(11):1470-1473
- LI Li-hua. Antioxidant activities of different solvents extracts from apple peels [J]. Modern Food Science and Technology, 2012, 28(11): 1470-1473
- [30] Socha R, Juszczak L, Pietrzyk S, et al. Antioxidant activity and phenolic composition of herbhoneys [J]. Food Chemistry, 2008, 113(2): 1481-1483
- [31] Maksimovic J J D, Milivojevic J M, Ledica M M, et al. Profiling antioxidant activity of two primocane fruiting red raspberry cultivars (*Autumn bliss and polka*) [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2013, 31(2): 1236-1239