

文章编号:1000-8551(2019)08-1658-08

# 刺梨及其近缘种质叶片主要活性物质含量及抗氧化性分析

周广志 鲁 敏 安华明\*

(贵州大学农学院,贵州省果树工程技术研究中心,贵州 贵阳 550025)

**摘 要:**为明确刺梨及其 2 个近缘种质无籽刺梨和无刺刺梨叶片中活性物质含量变化及其对抗氧化能力的贡献,本研究以刺梨、无籽刺梨和无刺刺梨为试验材料,测定其不同叶龄叶片(幼叶、成熟叶和老叶)中维生素 C(Vc)、总三萜、总酚、总黄酮含量及超氧化物歧化酶(SOD)活性变化,并用铁离子还原(FRAP)、2,2'-联氨-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐(ABTS)和 1,1-二苯基-2-苦肼基(DPPH)3 种体系分析其体外抗氧化能力,同时对 5 种抗氧化活性物质进行主成分分析。结果表明,3 个材料的不同叶龄叶片中,总酚、总黄酮、Vc 含量和 SOD 活性变化以及 3 种抗氧化活性均依次表现为成熟叶>幼叶>老叶,而总三萜含量均在老叶中为最高;3 个试验材料成熟叶中,无刺刺梨的总酚含量及其对 ABTS 自由基的清除能力、刺梨的 Vc 含量及其对 DPPH 自由基的清除能力,以及无籽刺梨的 SOD 活性及其对 FRAP 抗氧化能力均高于其他 2 个材料,刺梨老叶中的总三萜含量显著高于其他 2 个材料。相关性分析表明,总酚、总黄酮、Vc 与 3 种抗氧化方法测定结果呈显著正相关;主成分分析表明,成熟叶中具有抗氧化能力的 5 种活性物质对抗氧化能力贡献依次表现为总酚、Vc>总三萜、SOD>总黄酮,且 3 种主成分的累计贡献率达 90% 以上。本研究结果为了解和开发利用上述 3 个蔷薇属种质叶片功能成分提供了理论依据。

**关键词:**刺梨;无刺刺梨;无籽刺梨;活性物质;抗氧化活性

DOI:10.11869/j.issn.100-8551.2019.08.1658

刺梨(*Rosa roxburghii* Tratt.)为蔷薇科蔷薇属植物,其果实具有较高的营养保健和医药价值,是我国特有的并正大力开发的新兴果树,仅贵州省的种植面积已超过 10 万  $\text{hm}^2$ 。除果实外,刺梨叶中还含有丰富的营养物质,具有重要的医药和保健功能<sup>[1-2]</sup>,其相关产品开发也逐渐受到人们关注<sup>[3-4]</sup>。贵州省果树工程技术研究中心刺梨课题组前期研究表明,刺梨叶中含有较为丰富的抗氧化物质,如维生素 C(Vc)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和黄酮等活性物质<sup>[5-9]</sup>,其 Vc 含量甚至高于草莓、芒果、桃、番茄等园艺作物<sup>[10-14]</sup>。研究发现刺梨三萜类物质对其抗氧化能力具有较大贡献,且在体外试验中表现出较强的抗癌作用<sup>[15-16]</sup>。目前,对刺梨果实中的活性物质鉴定的研究已有大量报道<sup>[17-19]</sup>,而关于刺梨叶中抗氧化物质种类及其对抗氧化活性贡献等方面的研究尚鲜见报

道。

无籽刺梨(*R. sterilis* S. D. Shi)和无刺刺梨(*R. roxburghii* f. *eseiosa* Ku)是晚于刺梨被发现和开发的近缘种质。它们在植株形态、果实口感等方面与刺梨虽有相近之处,但在果实外观、果刺有无及果实营养价值等方面与刺梨存在较大差异<sup>[18,20]</sup>,具有明显的特殊性状和较大的开发利用潜力。虽然在资源分布地素有以其叶片为原料加工制作保健茶的传统习惯,但对其营养物质种类的研究鲜见报道。因此,本研究以刺梨、无刺刺梨和无籽刺梨 3 个种质资源的叶片为试验材料,分析不同叶龄叶片中 Vc、总三萜、总酚、总黄酮的含量和 SOD 活性变化,并通过测定铁离子还原(ferric reducing antioxidant power, FRAP)、2,2'-联氨-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐[2,2'-amino-di(3-ethyl-benzothiazoline sulphonic acid-6) ammonium salt,

收稿日期:2018-04-03 接受日期:2018-08-10

基金项目:国家自然科学基金项目(31660549),贵州省高层次创新型人才培养计划项目(黔科合人才 20164016)

作者简介:周广志,男,主要从事果树种质资源与遗传育种研究。E-mail:1107684726@qq.com

\* 通讯作者:安华明,男,教授,主要从事果树生理与分子生物学研究。E-mail:anhuaoming@hotmail.com

ABTS] 和 1,1-二苯基-2-苦肟基(1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl, DPPH) 3 个体系的抗氧化能力, 分析活性物质与抗氧化能力的相关性及贡献, 以期为刺梨、无刺刺梨和无籽刺梨叶片活性物质的系统评价及开发利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

以刺梨(*Rosa roxburghii* Tratt.)、无刺刺梨(*R. roxburghii* f. *eseiosa* Ku) 和无籽刺梨(*R. sterilis* S. D. Shi) 的叶片为试验材料, 其中, 刺梨和无籽刺梨的叶片采于贵州大学刺梨种质资源圃, 无刺刺梨叶片采于贵州省黔西县。采样的植株共为 20~90 株, 实验采取 3 个时期样品, 分别是生长 6~10 d 的叶片(幼叶), 生长 60~65 d 的叶片(成熟叶), 生长 100~105 d 的叶片(老叶), 3 个时期叶片样品随机取自树势基本一致的植株树冠外围中上部, 每次采样量均大于 100 g, 液氮处理后立即于-75℃保存。

### 1.2 试验试剂

标准品熊果酸、没食子酸、芦丁和水溶性维生素 E (Trolox) 均购自上海源叶生物科技有限公司; 福林酚(Folin-ciocalteu, Fc) 试剂购自北京索莱宝科技有限公司; 2,4,6-三吡啶吡嗪[2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine, TPTZ]、ABTS、DPPH 试剂购自上海源叶生物科技有限公司。其他试剂均为国产分析纯。

### 1.3 试验方法

1.3.1 Vc 含量的测定 参照王乐乐等<sup>[21]</sup>的方法, 采用 LC-15C 高效液相色谱仪(日本岛津制作所)测定 Vc 含量。

1.3.2 总三萜酸含量的测定 采用香草醛-冰乙酸法<sup>[22-23]</sup>测定总三萜酸含量, 以标准品熊果酸为对照, 称取样品 0.5~1.5 g, 加入 15 mL 75% 乙醇, 50℃ 超声提取 50 min, 8 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取上清液, 定容至 50 mL, 即为提取液, 摇匀备用。吸取 0.2 mL 提取液于 10 mL 离心管中, 依次加入 0.3 mL 5% 香草醛-冰乙酸溶液和 1 mL 高氯酸, 摇匀后于 60℃ 水浴处理 20 min, 然后于冰浴冷却, 再加入 10 mL 冰乙酸并充分摇匀, 于 545 nm 波长处测定吸光值。

1.3.3 总酚含量的测定 采用福林酚比色法<sup>[24]</sup>测定总酚含量, 以标准品没食子酸为对照(记作 CK1), 称取叶样 0.5~1.5 g, 加入 15 mL 30% 甲醇, 超声 2 h, 8 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取上清液, 定容至 50 mL, 即为提取液, 摇匀备用。吸取 0.05 mL 提取液于 10 mL

容量瓶, 依次加入 2.45 mL 蒸馏水、0.2 mL Fe、2.5 mL 20% 碳酸钠, 定容, 室温静置 2 h, 于 765 nm 波长处测定吸光值。

1.3.4 总黄酮含量的测定 采用 NaNO<sub>2</sub>-Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 比色法<sup>[25-26]</sup>测定总黄酮含量, 以标准芦丁品为对照(CK2), 称取 0.5~1.5 g 样品, 加入 15 mL 30% 甲醇, 超声提取 2 h, 8 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取上清液, 定容至 50 mL, 即为提取液, 摇匀备用。吸取 2 mL 提取液于 10 mL 离心管中, 依次加入 0.4 mL 5% NaNO<sub>2</sub>、0.6 mL 10% Al(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>、4 mL 4% NaOH, 每一步均需摇匀, 室温静置 6 min, 用 30% 甲醇定容至 10 mL, 再静置 15 min, 然后于 510 nm 波长处测定吸光值。

1.3.5 SOD 活性测定 采用氮蓝四唑法<sup>[27]</sup>测定 SOD 活性。

1.3.6 铁离子还原能力(FRAP)的测定 参照杜国荣<sup>[28]</sup>和 Benzie 等<sup>[29]</sup>的方法, 并略加改动。称取叶样 0.5 g, 加入 15 mL 30% 甲醇, 超声提取 2 h, 8 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取上清液, 定容至 50 mL 摇匀备用。于 10 mL 离心管中加入 3 μL 样品提取液和 8 mL FRAP 溶液, 37℃ 反应 10 min 后在 593 nm 波长处测定吸光值。

1.3.7 ABTS 自由基(ABTS·)清除能力的测定 参照杜国荣<sup>[28]</sup>和 Re 等<sup>[30]</sup>的方法, 并略作改动。称取叶样 0.5 g, 加入 15 mL 30% 甲醇, 超声 2 h, 8 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取上清液, 定容至 50 mL 摇匀备用。将 5 μL 样品提取液和 5 mL ABTS 溶液加入 10 mL 离心管中, 避光反应 10 min 后在 734 nm 波长处测定吸光值。

1.3.8 DPPH 自由基(DPPH·)清除能力的测定 参照杜国荣<sup>[28]</sup>和 Takebayashi 等<sup>[31]</sup>的方法, 并略作改动。称取叶样 0.5 g, 加入 15 mL 30% 甲醇, 超声 2 h, 8 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 10 min, 取上清液, 定容至 50 mL 摇匀备用。于 10 mL 离心管中加入 10 μL 样品提取液和 4 mL DPPH 甲醇溶液, 反应 2 h 后在 517 nm 波长处测定吸光值。

上述 3 种体外抗氧化性评价方法中, 均同时以 0.1 g·mL<sup>-1</sup> 没食子酸和芦丁标准液代替样品提取液作为对照。抗氧化方法结果用 μmol·L<sup>-1</sup> 水溶性维生素 E Trolox 等量抗氧化能力(trolox equal antioxidant capacity, TEAC)表示。所有试验均设 3 次重复。

### 1.4 数据处理

采用 Microsoft Excel 2007 进行数据统计分析; DPS v 7.05 统计软件进行差异显著性、相关性和主成分分析; 多重比较采用 Duncan's 新复极差法。

2 结果与分析

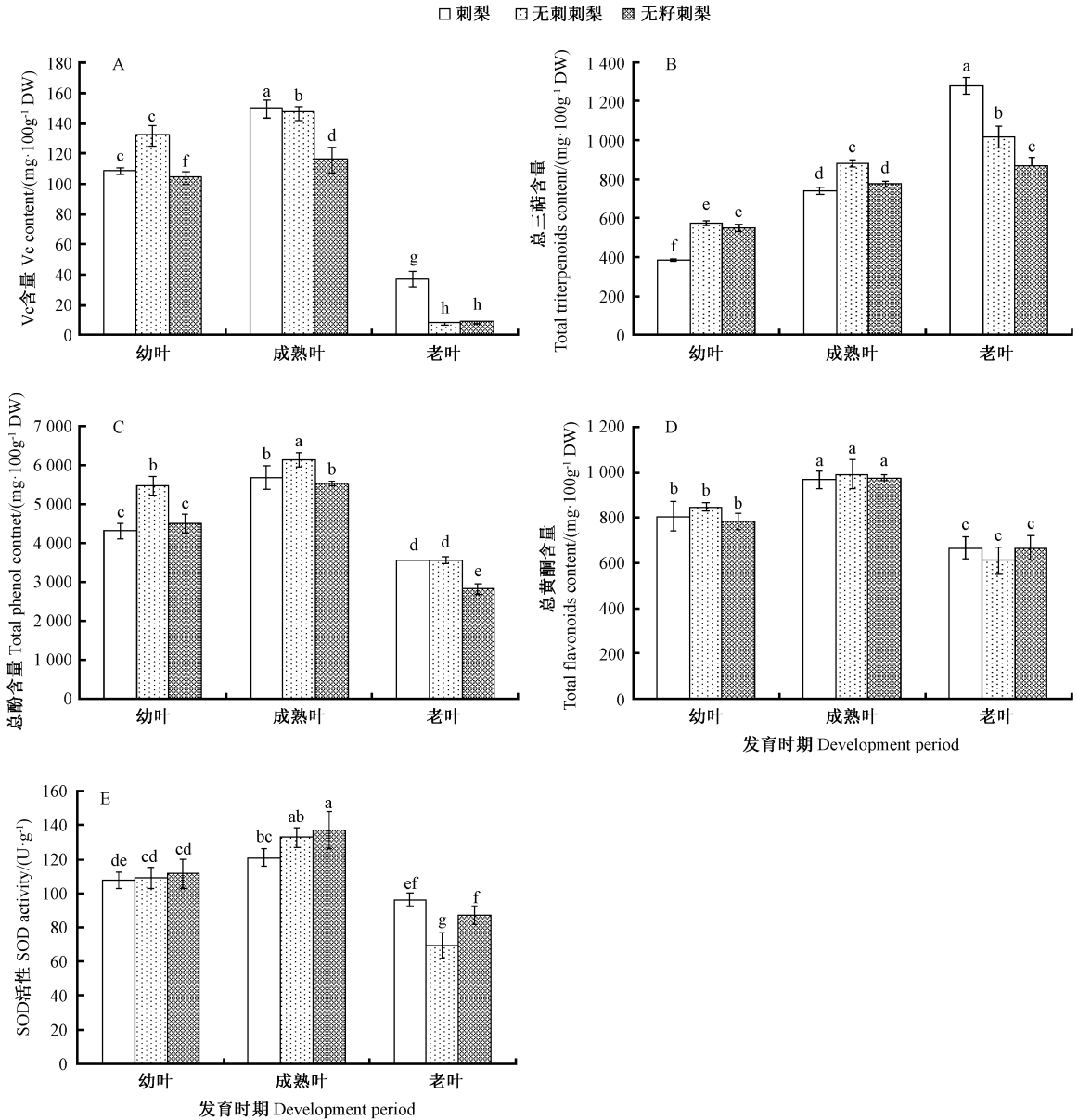
2.1 5 种主要活性物质含量变化

由图 1 可知,3 个种质资源叶片的主要活性物质含量和活性变化趋势基本一致。其中,总酚、总黄酮、Vc 含量和 SOD 活性均呈先上升后下降的趋势,依次表现为成熟叶>幼叶>老叶,总酚含量以无刺刺梨的成熟叶中为最高,3 个种质资源成熟叶中的总黄酮含量

无显著差异,Vc 含量以刺梨成熟叶中为最高,无刺刺梨和无籽刺梨成熟叶片中的 SOD 活性无显著差异;总三萜含量变化与上述 4 种活性成分不同,呈持续上升趋势,其中幼叶中总三萜含量最低,成熟叶中总三萜含量中等,老叶中含量最高,以刺梨老叶表现最为显著。

2.2 叶片抗氧化活性分析

由图 2-A 可知,3 个种质资源在不同发育时期的刺梨叶片铁离子还原能力(FRAP 值)均显著高于没食子酸和芦丁,且均随着刺梨叶片的发育 FRAP 值呈先



注:不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。下同。

Note: Different lowercase letters indicate significant difference at 0.05 level. The same as following.

图 1 不同发育时期刺梨叶片的 Vc、总三萜、总酚、总黄酮含量和 SOD 活性

Fig.1 Vc, total triterpene, total phenolic, total flavonoids content and SOD activity in leaves of *Rosa roxburghii* at different developmental stages

升高后降低的趋势,依次表现为成熟叶>幼叶>老叶,成熟叶中,无籽刺梨的 FRAP 值显著高于其他 2 种试验材料,且分别是对照(没食子酸和芦丁)的 4.38 倍和 5.43 倍。

由图 2-B 可知,3 个种质资源在不同发育时期的叶片 ABTS·清除能力均差异显著( $P<0.05$ ),且均显著高于对照(没食子酸和芦丁)。其总体变化趋势与 FRAP 值一致,依次表现为成熟叶>幼叶>老叶,且成熟叶中,无刺刺梨 ABTS·清除能力显著高于其他 2 种试验材料,分别是对照(没食子酸和芦丁)的 9.77 倍和 56.48 倍。

由图 2-C 可知,与对照(没食子酸和芦丁)相比,3 种材料在不同发育时期叶片 DPPH·清除能力差异显著( $P<0.05$ ),其 DPPH·清除能力总体变化趋势与 FRAP 值和 ABTS·清除能力基本一致,依次表现为成熟叶>幼叶>老叶,成熟叶中 DPPH·清除能力则依次表现为刺梨>无刺刺梨>无籽刺梨,这 3 种试验材料的 DPPH·清除能力分别是没食子酸的 9.75 倍、8.77 倍和

8.21 倍,分别是芦丁的 21.59 倍、19.41 倍和 18.17 倍。

2.3 活性物质含量和抗氧化能力之间的相关性

由表 1 可知,DPPH·清除能力和 FRAP 值与总酚、总黄酮和 Vc 含量均呈极显著正相关( $P<0.01$ ),与 SOD 活性均呈显著正相关( $P<0.05$ );ABTS·清除能力与 Vc 含量呈极显著正相关( $P<0.01$ ),与总酚和总黄酮含量呈显著正相关( $P<0.05$ ),与 SOD 呈正相关,但不显著。Vc 含量与 DPPH·清除能力、ABTS·清除能力和 FRAP 值均呈极显著正相关( $P<0.01$ ),总酚、总黄酮含量与 DPPH·清除能力、ABTS·清除能力和 FRAP 值均呈显著正相关( $P<0.05$ ),说明 Vc、总酚和总黄酮在刺梨叶片中抗氧化能力起关键性作用。而总三萜含量与 DPPH·清除能力、ABTS·清除能力和 FRAP 值均呈负相关,这可能与在叶片的整个发育时期总三萜含量呈上升趋势,而 DPPH·清除能力、ABTS·清除能力和 FRAP 值均呈先升后降趋势有关。

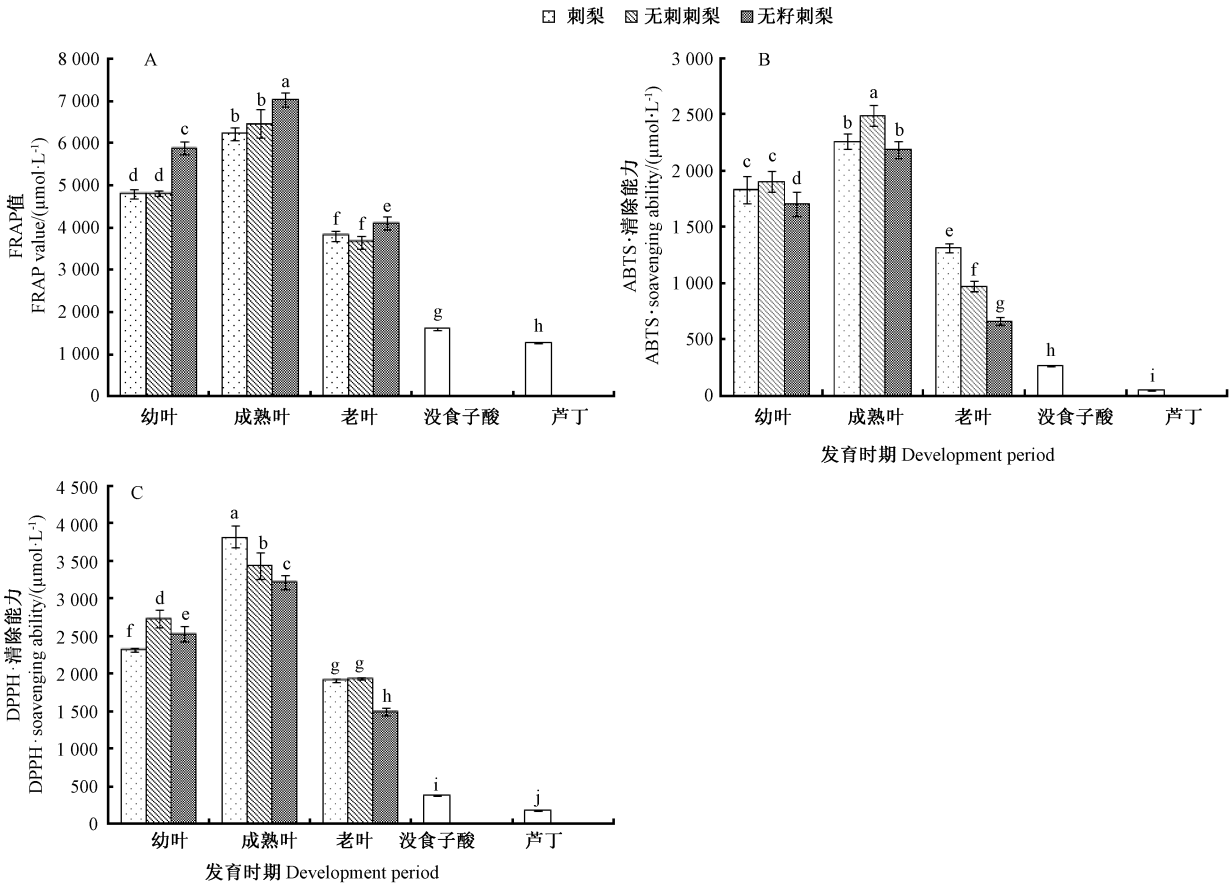


图 2 不同发育时期刺梨叶片的 FRAP 值的变化和 ABTS·、DPPH·清除能力  
Fig.2 Changes of FRAP value and ABTS·, DPPH· scavenging ability of leaves of *rosa roxburghii* at different developmental stages



表 1 活性物质与抗氧化能力的相关系数  
Table 1 Correlation coefficient between active substances and antioxidant capacity

相关系数 Correlation coefficient	总酚 含量 Total phenols content	总黄酮 含量 Total flavone content	总三萜 含量 Total triterpenes content	Vc 含量 Vc content	SOD 活性 SOD activity
DPPH·清除能力 DPPH·soavenging ability	0.95 **	0.94 **	-0.28	0.90 **	0.83 *
ABTS·清除能力 ABTS·soavenging ability	0.81 *	0.70 *	-0.60	0.91 **	0.66
FRAP 值 FRAP value	0.95 **	0.94 **	-0.28	0.90 **	0.83 *

注:\*,\*\* 分别表示相关性在 0.05 和 0.01 水平达到显著和极显著。  
Note: \* and \*\* indicates the correlation was significant and extremely significant at 0.05 and 0.01 level, respectively.

2.4 5 种活性物质对抗氧化能力的贡献

3 种刺梨叶片主要抗氧化物质,如总酚、总黄酮、Vc 含量和 SOD 活性均以成熟叶中为最高,且 3 种抗氧化能力也以成熟叶中最强,因此对成熟叶中具有抗氧化能力的 5 种活性物质进行主成分分析。由表 2 可知,各主成分特征值、贡献率及累积贡献率,取特征值大于 1 的前 2 个主成分,其累计贡献率可达到 75.138 3%,表明各性状的贡献率分散,累计贡献率增长不明显;而选择前 3 个因子,其累计贡献率能达到 91.862 2%,基本反映了 5 个活性物质对抗氧能力贡献的全部信息。主成分 PC1、PC2、PC3 的贡献率分别为 46.512 8%、28.625 4%、16.723 9%。

表 2 各性状主成分的特征向量及贡献率  
Table 2 Eigenvectors and percentages of accumulated contribution of principal components

主成分 Principal components	特征值 Eigen value	贡献率 Contribution rate/%	累计百分率 Cumulative percentage/%
PC1	2.325 6	46.512 8	46.512 8
PC2	1.431 3	28.625 4	75.138 3
PC3	0.836 2	16.723 9	91.862 2

原始变量和 3 个主成分之间的相关性如表 3 所示,PC1 中总酚和 Vc 含量的系数较大,是对第一主成分影响最大的特征向量,说明 PC1 是由总酚和 Vc 含量组成的一个综合指标。而 PC2 主要代表性指标是总三萜含量和 SOD 活性;PC3 主要代表性指标是总黄酮含量。5 种活性物质对抗氧化能力贡献依次表现为总酚、Vc 含量>总三萜含量、SOD 活性>总黄酮含量,其中以总酚和 Vc 含量贡献最大,总三萜含量和 SOD 活性次之。

表 3 刺梨叶片性状变量因子负荷量  
Table 3 Focctor loadings for petals character variable of *Rosa roxburghii*

变量 Variance	负荷量 Loading		
	PC1	PC2	PC3
总酚含量 Total phenolics content	0.627 4	0.110 2	-0.154 3
总黄酮含量 Total flavonoids content	0.097 9	0.503 5	0.856 7
总三萜含量 Total triterpenes content	0.285 7	0.628 2	-0.364 4
维生素 C 含量 Vc content	0.623 4	-0.157 7	-0.001 0
超氧化物歧化酶活性 SOD activity	-0.355 7	0.561 2	-0.330 8

3 讨论

本研究结果表明,3 种刺梨叶片中总酚含量均以生长 60~65 d 的成熟叶最高,这与谢国芳等<sup>[20]</sup>的研究结果相同。无刺刺梨成熟叶中总酚含量明显高于其他 2 个刺梨材料,因此提取总酚时应以无刺刺梨成熟叶片为最佳原料。本研究中,3 种刺梨的成熟叶片中总黄酮含量均高于果实,但各材料间无明显差异,其生长 60~65 d 成熟叶片均较果实更适合于开发和提取总黄酮;总三萜含量则以刺梨老叶中最高,因此提取总三萜类物质可以选择生长 100~105 d 刺梨老叶;在 3 种刺梨的成熟叶片中的 Vc 含量和 SOD 活性均明显低于果实,因此对 Vc 和 SOD 方面的开发以果实为主。

研究表明,以植物为主的富含天然抗氧化剂的产品,可作为自由基清除剂,防止活性氧(reactive oxygen species,ROS)损伤健康细胞<sup>[32]</sup>,用于治疗包括糖尿病、癌症、心血管疾病、神经退行性疾病和炎症疾病<sup>[33-35]</sup>。因此,开发天然抗氧化剂材料已成为一种趋势。刺梨叶中含有丰富的活性物质,其中 Vc 含量高于大部分果蔬产品,参与细胞内 ROS 清除。贵州省果树工程技术研究中心刺梨课题组前期研究发现刺梨叶片抗氧化能力是 Vc 和 SOD 协同作用的结果<sup>[8]</sup>;刺梨叶醇提物与其对 DPPH·和·OH 清除能力呈正相关<sup>[1]</sup>。本研究中,无籽刺梨叶提取物中总酚、总黄酮和 Vc 含量与 FRAP 和对 ABTS·清除能力呈正相关,这与在木菠萝、人心果和龙眼叶<sup>[36]</sup>及秀丽槭叶<sup>[37]</sup>中的研究结果一致。本研究还发现 3 种刺梨叶片的 3 种抗氧化活性均依次表现为成熟叶>幼叶>老叶,对不同基因型资源成熟叶来说,无刺刺梨对 ABTS·清除能力、刺梨对 DPPH·清除能力以及无籽刺梨 FRAP 均不同程度高于其他 2 种刺梨材料。5 种活性物质的主成分分析表明,总酚和 Vc 含量对抗氧化能力的贡献率为 46.512 8%;总三萜含量和 SOD 活性的贡献率为 28.625 4%,总黄

酮含量贡献率为 16.723 9%,说明刺梨叶片中 5 种活性物质协同发挥抗氧化功能,而其中总酚和 Vc 起着决定性作用。

总酚和总三萜类化合物是植物叶片的主要次生代谢产物,其药用价值越来越受到人们重视。研究表明,酚类物质具有防治心脑血管疾病以及消炎、抗衰老等<sup>[38-39]</sup>。研究发现印楝叶多酚提取液的 DPPH·和·OH 清除能力较 Vc 强,能够在较低质量浓度发挥抗氧化能力<sup>[40]</sup>。三萜类物质具有抗癌<sup>[41]</sup>、抗炎、抗菌、抗病毒、抗 HIV、抗衰老、降低胆固醇等生理活性<sup>[42]</sup>。本研究中,3 个试验材料成熟叶片中总酚含量明显高于无刺和无籽刺梨果实,也显著高于其他各时期叶片,对抗氧化能力的贡献率为 46.512 8%。本研究结果与前人研究<sup>[43]</sup>结果相似。费约果成熟叶中总酚含量明显高于幼叶和老叶,具有极强的抗氧化活性<sup>[43]</sup>。因此,成熟叶片是提取天然成分尤其是多酚的主要来源,尤其以无刺刺梨成熟叶最佳。刺梨果实总三萜提取物对 α-葡萄糖苷酶有较强的抑制作用,而刺梨老叶中总三萜含量高于刺梨果实<sup>[44]</sup>,因此其开发的茶叶等产品可作为防治餐后高血糖症及缓解高胰岛素血症的重要材料。

4 结论

刺梨及其 2 个近缘种质叶内含有丰富的活性物质和较强的抗氧化能力,但不同基因型资源及其不同叶龄叶片在活性物质含量和自由基清除能力等方面存在差异。对不同叶龄叶片而言,成熟叶中总酚、总黄酮和 Vc 含量最高,体外抗氧化能力最强,且前 2 类主成分对抗氧化能力的累计贡献率达到 75%以上,发育时期较长的叶片中有较高的三萜类物质积累。综上,3 个蔷薇属种质叶可作为天然抗氧化物质开发的良好材料来源。

参考文献:

[ 1 ] 李福明,汪洋,韦敏. 刺梨叶醇提物体外抗氧化活性和 α-葡萄糖苷酶抑制活性研究[J]. 中国现代应用药学, 2015, 32(6): 685-688

[ 2 ] 孙兆峰,张霞,夏作理. 刺梨叶对 2 型糖尿病大鼠脂代谢的影响[J]. 社区医学杂志, 2015, 13(10): 53-55

[ 3 ] 郭建军,陆锦锐,罗俊,孙晓惠,周艺. 刺梨茶对糖尿病小鼠血糖的影响[J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(14): 50-53

[ 4 ] 周艺,郭建军,郁建平. 刺梨茶总黄酮的提取工艺的建立及其抗氧化活性[J]. 氨基酸和生物资源, 2017, 39(2): 135-140

[ 5 ] 向显衡,何照凡,牛爱珍. 刺梨叶果中维生素 C 含量的变化[J]. 中国果树, 1984(1): 50-54

[ 6 ] Li L L, Lu M, An H. Expression profiles of the genes involved in l-ascorbic acid biosynthesis and recycling in *Rosa roxburghii*, leaves of various ages[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2017, 39(2): 44-51

[ 7 ] 樊卫国,刘进平,向灵. 刺梨花粉和叶的营养成分分析[J]. 营养学报, 1998, 20(1): 107-110

[ 8 ] 安华明,樊卫国,刘庆林,陈力耕. 刺梨果实和叶片发育过程中抗坏血酸和抗氧化酶的协同变化[J]. 园艺学报, 2007, 34(5): 1293-1296

[ 9 ] 蒋辉,龙远德. 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

[ 10 ] Cruz-Rus E, Amaya I, Sánchez-Sevilla J F, Botella M A, Valpuesta V. Regulation of L-ascorbic acid content in strawberry fruits[J]. Journal of Experimental Botany, 2011, 62(12): 4191-4201

[ 11 ] Gomez M L P, Lajolo F M. Ascorbic acid metabolism in fruits: activity of enzymes involved in synthesis and degradation during ripening in mango and guava[J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2010, 88(5): 756-762

[ 12 ] Imai T, Yusuke B, Terakami S. l-Ascorbate biosynthesis in peach: cloning of six l-galactose pathway-related genes and their expression during peach fruit development[J]. Physiologia Plantarum, 2009, 136(2): 139-149

[ 13 ] Xu Y, Zhu X, Chen Y, Gong Y, Liu L. Expression profiling of genes involved in ascorbate biosynthesis and recycling during fleshy root development in radish[J]. Plant Physiology & Biochemistry, 2013, 70(1): 269-277

[ 14 ] Ioannidi E, Kalamaki M S, Pateraki I, Mellidou I, Kanellis A K. Expression profiling of ascorbic acid-related genes during tomato fruit development and ripening and in response to stress conditions[J]. Journal of Experimental Botany, 2009, 60(2): 663-678

[ 15 ] 戴支凯,余丽梅,杨小生,石京山. 刺梨三萜化合物 CL1 体外抗人子宫内腺癌作用[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(7): 1656-1658

[ 16 ] 黄姣娥,江晋渝,罗勇,戴支凯. 刺梨三萜对人肝癌 SMMC-7721 细胞增殖的影响[J]. 食品科学, 2013, 34(13): 275-279

[ 17 ] Zeng F F, Ge Z W, Limwachiranon J, Li L, Feng S M, Wang Y S, Luo Z S. Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of *Rosa roxburghii* fruit and identification of main bioactive phytochemicals by UPLC-Triple-TOF/MS[J]. International Journal of Food Science & Technology, 2017, 52(4): 897-905

[ 18 ] He J Y, Zhang Y H, Ma N, Zhang X L, Liu M H, Fu W M. Comparative analysis of multiple ingredients in *Rosa roxburghii*, and *R. sterilis*, fruits and their antioxidant activities[J]. Journal of Functional Foods, 2016, 27: 29-41

[ 19 ] Xiang Q S, Xiao H F, Gao S B, Wen M T, Jia G L, Ren X M. *In vitro* antioxidant properties of *rosa roxburghii* aqueous extracts[J]. Australian Journal of Crop Science, 2012, 6(5): 854-860

[ 20 ] 谢国芳,徐小燕,王瑞,刘志刚. 金刺梨果实和叶中酚类、Vc 含量及其抗氧化能力分析[J]. 植物科学学报, 2017, 35(1): 122-127

[ 21 ] 王乐乐,安华明. HPLC 测定刺梨果实中维生素 C 含量方法的优化[J]. 现代食品科技, 2013, 29(2): 397-400

- [22] 周巧霞, 张经硕, 顾明, 顾振纶. 测定山楂及提取物总三萜酸的含量[J]. 中国野生植物资源, 2004, 23(5):43-44
- [23] 张雁冰, 王克让, 刘宏民. 马桑叶中总三萜酸的含量测定[J]. 时珍国医国药, 2006, 17(4):529-530
- [24] 蔡文国, 吴卫, 邵金凤, 陈鹏, 王元彪. Folin-Ciocalteu 法测定鱼腥草多酚的含量[J]. 食品科学, 2010, 31(14):201-204
- [25] 罗锋, 汪河滨, 杨玲, 周忠波. 超声-微波协同萃取法提取甘草黄酮的研究[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(8):127-128
- [26] 吴媛琳, 王世军, 张社奇, 李丙智. 修剪对苹果枝(梢)皮层总黄酮含量的影响[J]. 西北林学院学报, 2013, 28(6):103-107
- [27] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社, 2000
- [28] 杜国荣. 猕猴桃、柿和苹果果实的抗氧化能力及其抗氧化活性成分的分析[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2009
- [29] Benzie I F F, Strain J J. The Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant power": The FRAP assay [J]. Analytical Biochemistry, 1996, 239(1):70-76
- [30] Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay[J]. Free Radical Biology and Medicine, 1999, 26(9/10):1231-1237
- [31] Takebayashi J, Chen J, Tai A. A method for evaluation of antioxidant activity based on inhibition of free radical-induced erythrocyte hemolysis[J]. Methods in Molecular Biology, 2010, 594:287-296
- [32] Mayne S T. Antioxidant nutrients and chronic disease: Use of biomarkers of exposure and oxidative stress status in epidemiologic research[J]. Journal of Nutrition, 2003, 133:933-940
- [33] Albarracin S L, Stab B, Casas Z, Sutachan J J, Samudio I, Gonzalez J, Gonzalo L, Capani F, Morales L, Barreto G E. Effects of natural antioxidants in neurodegenerative disease[J]. Nutritional Neuroscience, 2012, 15:1-9
- [34] Kawaguchi K, Matsumoto T, Kumazawa Y. Effects of antioxidant polyphenols on TNF- $\alpha$ -related diseases[J]. Current Topics in Medicinal Chemistry, 2011, 11:1767-1779
- [35] Singh B N, Shankar S, Srivastava R K. Green tea catechin, epigallocatechin-3-gallate (EGCG): Mechanisms, perspectives and clinical applications [J]. Biochem Pharmacol, 2011, 82:1807-1821
- [36] 张秀梅, 骆党委, 朱祝英, 刘玉革, 杜丽清. 3 种热带果树叶子甲醇粗提物的抗氧化活性比较[J]. 核农学报, 2015, 29(1):95-100
- [37] 林立, 林乐静, 毛阳正, 祝志勇, 付涛. 秀丽槭叶总黄酮的提取及其抗氧化能力研究[J]. 核农学报, 2016, 30(12):2373-2381
- [38] Fan Z L, Wang Z Y, Liu J R. Cold-field fruit extracts exert different antioxidant and antiproliferative activities *in vitro* [J]. Food Chemistry, 2011, 129(2):402-407
- [39] Giri L, Dhyani P, Rawat S, Bhatt I D, Nandi S K, Rawal R S, Pande V. *In vitro* production of phenolic compounds and antioxidant activity in callus suspension cultures of *Habenaria edgeworthii*: A rare Himalayan medicinal orchid[J]. Industrial Crops & Products, 2012, 37(1):1-6
- [40] 王有琼, 马李一, 张重权, 段琼芬. 印楝叶多酚提取及体外抗氧化活性[J]. 精细化工, 2015, 32(1):64-68
- [41] Shanmugam M K, An H N, Kumar A P, Tan B K H, Gautam S. Targeted inhibition of tumor proliferation, survival, and metastasis by pentacyclic triterpenoids: Potential role in prevention and therapy of cancer[J]. Cancer Letters, 2012, 320(2):158-170
- [42] Fujioka T, Kashiwada Y, Kilkuskie R E, Cosentino L M, Ballas L M, Jiang J B, Janzen W P, Chen I S, Lee K H. Anti-AIDS agents, 11. Betulinic acid and platanic acid as anti-HIV principles from *Syzygium claviflorum*, and the anti-HIV activity of structurally related triterpenoids [J]. Journal of Natural Products, 1994, 57(2):243-247
- [43] 陈明, 黄仁华, 刘仁道, 王丹, 丁振柱. 费约果叶片提取物抗氧化活性研究[J]. 果树学报, 2012, 29(4):593-597
- [44] 秦晶晶, 李齐激, 薛琰, 马琳, 杨小生. 刺梨总三萜提取方法及其  $\alpha$ -葡萄糖苷酶抑制活性研究[J]. 食品工业科技, 2014, 35(10):186-189

## Analysis of Main Active Substances and Antioxidant Activities in Leaves of *Rosa roxburghii* and the Two Related Species

ZHOU Guangzhi LU Min AN Huaming\*

(Guizhou Engineering Research Center for Fruit Crops, College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025)

**Abstract:** This study aimed to understand the changes of the active substance contents and their contributions to the antioxidant properties in leaves of *Rosa roxburghii* Tratt. and its two related germplasm *R. sterilis* S.D. Shi and *R. roxburghii* f. *Eseiosa* Ku. The contents of vitamin C (Vc) total triterpenoids, total phenols, total flavonoids, and superoxide dismutase (SOD) were determined in leaves of three developmental stages (young leaves, mature leaves and old leaves) of the three germplasms. The iron ion reduction (FRAP), 2,2'-amino-bis (3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonate) ammonium salt (ABTS) and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) were used to evaluate the antioxidant activity *in vitro* and the principal component analysis of five kinds of antioxidant active substances were also made. The results showed that the changes of total phenolics, total flavonoids, Vc contents and SOD activities and the three antioxidant activities presented mature leaves > young leaves > old leaves in 3 different leaf ages of 3 materials, while the total triterpenoids have the highest content in the old leaves. In mature leaves of 3 materials, the total phenolic contents and ABTS•+ free radical scavenging capacity of *R. roxburghii* f. *Eseiosa*, the Vc contents and DPPH•+ free radical scavenging capacity of *R. roxburghii* and the SOD activity and FRAP free radical capacity of *R. sterilis* were higher than the other two materials, whereas the total triterpene contents in old leaves of *R. roxburghii* were significantly higher than the other two materials. Correlation analysis showed that total phenol, total flavonoids and Vc were significantly positively correlated with the value of three antioxidant methods. The principal component analysis indicated that the five active compounds with antioxidant capacity in mature leaves contributed to the antioxidant properties showed total phenols and Vc > total triterpenes and SOD > total flavones, and the cumulative contribution rate of the three components were more than 90%. The above results provide important theoretical basis for understanding and developing the functional components of three *Rosa* germplasms leaves.

**Keywords:** *Rosa roxburghii* Tratt., *R. roxburghii* f. *eseiosa* Ku, *R. sterilis* S. D. Shi, active substance, antioxidant activity