

文章编号: 1004-4353(2019)04-0308-04

# 长白红景天提取物抗氧化活性的研究

李承范, 张敬东, 王思宏\*  
( 延边大学 测试中心, 吉林 延吉 133002 )

**摘要:** 为研究长白红景天的抗氧化活性,采用正交方法确定了长白红景天的最佳提取条件,在最佳条件下提取物的总黄酮含量为 3.74%。对提取物进行 DPPH、超氧负离子和羟基自由基清除测试显示,长白红景天提取物对 DPPH、超氧负离子和羟基自由基均有较好的清除能力,并且在一定浓度范围内其清除效果优于 Vc、TBHQ 和 BHT;因此,长白红景天是一种天然的优良抗氧化植物。  
**关键词:** 长白红景天提取物; 抗氧化性; 总黄酮  
**中图分类号:** TQ28      **文献标志码:** A

## Antioxidant activity of *Rhodiola angusta* extract

LI Chengfan, ZHANG Jingdong, WANG Sihong\*  
( Analysis and Inspection Center, Yanbian University, Yanji 133002, China )

**Abstract:** In order to evaluate the antioxidant activity of *Rhodiola angusta* extract, the optimum extraction conditions were determined by orthogonal method. The total flavone content of the extract is 3.74%, under the optimum extraction conditions. Furthermore, DPPH, superoxide anion and hydroxyl radical scavenging ability were verified. The results showed that *R. angusta* extract exhibit better scavenging ability to DPPH, superoxide anion and hydroxyl radical. An overview conclusion imply the scavenging effect of *R. angusta* extract is better than Vc, TBHQ and BHT. Therefore, *R. angusta* is a natural and excellent antioxidant plant.  
**Keywords:** *Rhodiola angusta* extract; antioxidant activity; total flavone

### 0 引言

长白红景天(*Rhodiola angusta*)为景天科红景天属多年生草本植物,其在吉林省主要分布在长白、安图、抚松等地,而且数量较少<sup>[1]</sup>。研究<sup>[2]</sup>表明,红景天属植物具有抗疲劳、抗衰老以及提高免疫能力等方面的药理功效,因此引起了学者的广泛关注。目前为止,有关长白红景天的研究多见于指纹图谱<sup>[3-4]</sup>、无机元素<sup>[5]</sup>、解剖学<sup>[6]</sup>、内生菌<sup>[7-8]</sup>、种群遗传<sup>[9]</sup>等方面的研究,但对长白红景天根茎提取物的抗氧化性能的研究未见报道;因此,本文对长白红景天根茎提取物的抗氧化性能进行研究,以为长白红景天的药用开发提供参考。

### 1 材料及方法

#### 1.1 材料

长白红景天采于安图县二道白河,并经长白山植物博物馆鉴定;芦丁,中国医药上海化学试剂公司生产;1,1-二苯代苦味酰基自由基(1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH)、特丁基对苯二酚(Tertiary butylhydroquinone, TBHQ)、抗坏血酸(Vc)、二丁基羟基甲苯(Butylated hydroxytoluene, BHT)、三(羟甲基)氨基甲烷缓冲液(Tris-HCl 缓冲液)、磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS),Sigma 公司生产;邻二氮菲、邻苯三酚、亚硝酸钠、硝酸铝、氢氧化钠、95%乙醇、硫酸

亚铁、双氧水、盐酸,天津科密欧化学试剂有限公司生产,且均为分析纯。

### 1.2 主要仪器

U-3400 型紫外分光光度计,Hitachi 公司生产; sp210s 型电子天平,北京赛多利天平有限公司生产; Q/BKYY31-200 型电热恒温鼓风干燥箱,上海青浦沪西仪器厂生产。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 总黄酮的提取** 将乙醇浓度、浸提温度、料液比、浸提时间作为影响总黄酮提取量的因素,利用正交试验确定最佳提取条件,各实验因素水平如表 1 所示。表 2 为总黄酮提取因素的正交实验结果表。

表 1 总黄酮提取因素水平

水平	乙醇浓度/ %	料液比/ (g/mL)	提取时间/ h	提取温度/ ℃
1	60	1 : 20	1	85
2	70	1 : 30	2	90
3	80	1 : 40	3	95

表 2 总黄酮提取因素正交实验结果

实验	乙醇 浓度/%	料液比/ (g/mL)	提取 时间/h	提取 温度/℃	总黄 酮量/%
1	1	1	1	1	1.603
2	1	2	2	2	2.957
3	1	3	3	3	3.608
4	2	1	2	3	1.776
5	2	2	3	1	1.588
6	2	3	1	2	2.995
7	3	1	3	2	2.546
8	3	2	1	3	3.852
9	3	3	2	1	2.385
$K_1$	8.168	5.925	8.450	5.576	
$K_2$	6.359	8.397	7.118	8.498	
$K_3$	8.783	8.988	7.742	9.236	
$k_1$	2.723	1.975	2.817	1.859	
$k_2$	2.120	2.799	2.373	2.833	
$k_3$	2.928	2.996	2.581	3.079	
$R$	0.808	1.021	0.444	1.220	

注:  $K_i$  表示任意列上水平号为  $i$  时所对应的试验结果之和;  $k_i$  是每列对应值之和的三分之一;  $R$  表示极差。

由表 2 可知,影响提取总黄酮的工艺因素依次为:提取温度、料液比、乙醇浓度、提取时间。由此可知,提取长白红景天时,加 40 倍长白红景天质量的乙醇(体积分数为 80%),在 95 ℃ 条件下

加热提取 1 h,提取效果最佳。

**1.3.2 总黄酮含量的测定** 称取 55 mg 芦丁置于 50 mL 容量瓶中,加入适量的乙醇(体积分数为 70%),微热溶解后定容至 50 mL,质量浓度为 110  $\mu\text{g/mL}$ 。移取芦丁溶液 0.25、0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0 mL 分别置于 10 mL 的容量瓶中,依次加入 0.5 mL 亚硝酸钠溶液(质量分数为 5%)、0.5 mL 硝酸铝溶液(质量分数为 10%)、4 mL 氢氧化钠溶液(质量分数为 4%),然后用乙醇溶液(体积分数为 70%)定容至刻度。参比液为 0.5 mL 亚硝酸钠溶液(质量分数为 5%)、0.5 mL 硝酸铝溶液(质量分数为 10%)和 4 mL 氢氧化钠溶液(质量分数为 4%)。在 510 nm 处,测量芦丁溶液的吸光度。以芦丁浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,绘制芦丁溶液的标准曲线并得到浓度与吸光度的线性关系。线性回归方程为:  $y = -0.008\ 19\ x + 0.010\ 01$ ,  $R^2 = 0.994\ 5$ 。

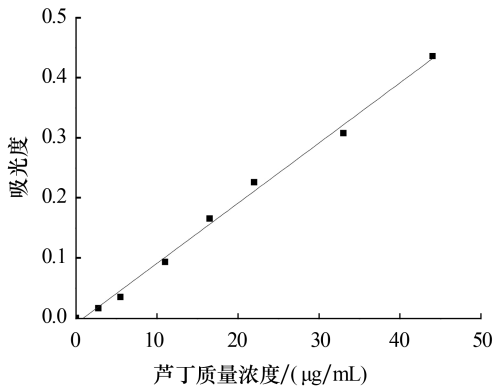


图 1 芦丁溶液的标准曲线

用正交试验得到的最佳条件提取长白红景天(2 g) 2 次,并合并提取液,过滤后转至 100 mL 容量瓶中定容。取 3 份 1 mL 提取液分别置于 10 mL 容量瓶中,依次加入 0.5 mL 亚硝酸钠溶液(质量分数为 5%)、0.5 mL 硝酸铝溶液(质量分数为 10%)、4 mL 氢氧化钠溶液(质量分数为 4%),摇匀后用乙醇溶液(体积分数为 70%)定容至刻度。以蒸馏水为空白对照,在 510 nm 处测定提取液的吸光度。

**1.3.3 DPPH 自由基的清除率测定** 用移液管移取不同浓度提取液 0.5 mL,加入 1.5 mL 乙醇(体积分数为 70%)后置于 10 mL 试管中,再加入

2.0 mL DPPH 乙醇溶液( $2 \times 10^{-4}$  mol/L);充分混匀,静置 30 min 后在 517 nm 条件下测定其吸光度  $A_i$ . 将 2.0 mL DPPH 溶液与 2.0 mL 乙醇(体积分数为 70%)溶液混合,摇匀,静置 5 min 后测定其吸光度  $A_c$ . 将 2 mL 提取液(不同浓度)与 2 mL 乙醇溶液(体积分数为 70%)混合,摇匀,静置后测定其吸光度  $A_j$ . 根据公式(1)计算提取物对 DPPH 自由基的清除率( $RSR_{DPPH}$ ),并在相同条件下计算 TBHQ、Vc 和 BHT 的 DPPH 自由基清除率.

$$RSR_{DPPH} = (1 - \frac{A_i - A_j}{A_c}) \times 100\%. \quad (1)$$

**1.3.4 羟基自由基的清除率测定** 取 9 支试管,依次加入 1 mL 0.75 mmol/L 邻二氮菲溶液、3.5 mL pH=7.4 的 PBS 和 1.5 mL 0.75 mmol/L 硫酸亚铁溶液. 在其中的 7 支试管中,分别加入不同浓度的提取液 0.5 mL,混匀,静置. 将剩余 2 支不加提取液的试管分别标记为损伤管和未损伤管,并在损伤管中加入 1 mL 体积分数为 0.01% 的双氧水溶液(未损伤管中不加双氧水溶液). 再将 9 支试管用蒸馏水稀释至 10 mL, 37 °C 恒温 1 h 后用同浓度提取液做参比液,在 536 nm 处测定吸光度. 根据公式(2)计算提取物对羟基自由基的清除率( $RSR_{OH}$ ),并在相同条件下计算 TBHQ、Vc 和 BHT 的羟基自由基清除率.

$$RSR_{OH} = \frac{A_0 - A_1}{A_2 - A_1} \times 100\%. \quad (2)$$

式中  $A_2$  为未损伤管中溶液的吸光度,  $A_1$  为损伤管中溶液的吸光度,  $A_0$  为提取液的吸光度.

**1.3.5 超氧负离子自由基的清除率测定** 在比色皿中依次加入 5.0 mL Tris-HCl 缓冲液(pH=8.2)、2 mL 蒸馏水、0.5 mL 3 mmol/mL 邻苯三酚(以 10 mmol/L 盐酸配制),迅速摇匀,每隔 30 s 测定吸光度  $A_0$  (322 nm 处,参比液为 10 mmol/L 盐酸). 用 2 mL 蒸馏水代替 2 mL 不同浓度的提取液,并按上述顺序测定吸光度  $A_1$  (用同浓度提取液做参比液). 根据公式(3)计算提取物对超氧负离子自由基的清除率( $RSR_{O_2^-}$ ),并在相同的条件下计算 TBHQ、Vc 和 BHT 对超氧负离子自由基的清除率.

$$RSR_{O_2^-} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%. \quad (3)$$

式中  $A_0$  为加入提取液之前的邻苯三酚自氧化的吸光度,  $A_1$  为加入提取液之后的邻苯三酚自氧化的吸光度.

## 2 结果与分析

### 2.1 总黄酮提取工艺优化的结果分析

按照最佳提取工艺提取长白红景天,测得所得提取物的总黄酮含量为 3.74%,这与正交试验设计中实验 8 (表 2) 接近,表明此工艺条件是合理、可行的.

### 2.2 长白红景天提取物抗氧化性能的测试

1) 对 DPPH 自由基清除能力的考察. 长白红景天提取物、Vc、TBHQ 和 BHT 对 DPPH 自由基的清除能力如图 2 所示. 由图 2 可以看出,在实验浓度范围内,长白红景天提取物对 DPPH 自由基的清除率均保持在 90%~95% 之间,与 Vc 较为接近,且优于 TBHQ 和 BHT.

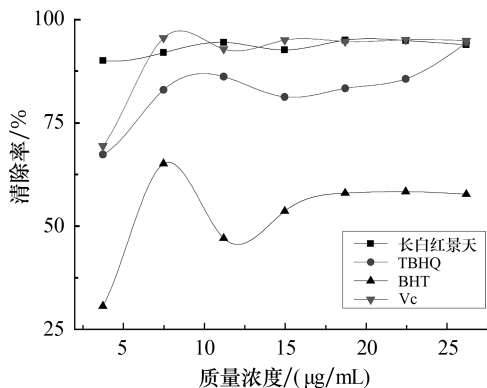


图 2 长白红景天提取物、Vc、TBHQ 和 BHT 对 DPPH 自由基的清除率

2) 对羟基自由基清除能力的考察. 长白红景天提取物、Vc、TBHQ 和 BHT 对羟基自由基的清除能力如图 3 所示. 由图 3 可以看出,在实验浓度范围内,长白红景天提取物对羟基自由基的清除率基本随浓度的增加而增加,清除率保持在 63%~100% 之间;Vc、TBHQ 和 BHT 在实验浓度范围内对羟基自由基的清除率保持在 40%~60% 之间. 这说明,长白红景天提取物对羟基自由基的清除活性优于 Vc、TBHQ 和 BHT.

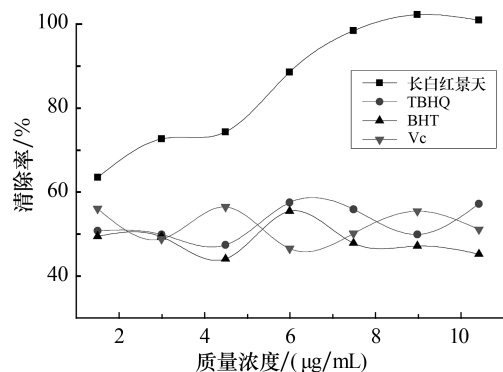


图3 长白红景天提取物、Vc、TBHQ 和 BHT 对羟基自由基的清除率

### 3)对超氧阴离子自由基的清除能力的考察.

长白红景天提取物、Vc、TBHQ 和 BHT 对超氧阴离子自由基的清除能力如图4所示.由图4可以看出,在实验浓度范围内,长白红景天提取物、Vc、TBHQ 和 BHT 对超氧阴离子自由基的清除率范围分别为:27%~50%、15%~32%、22%~32%、21%~30%,这表明长白红景天提取物在实验浓度范围内对超氧阴离子自由基的清除率优于 Vc、TBHQ 和 BHT.

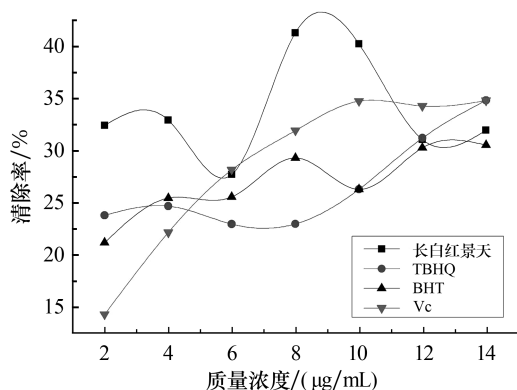


图4 长白红景天提取物、Vc、TBHQ 和 BHT 对超氧负离子自由基的清除率

## 3 结论

本文研究表明,长白红景天提取物总黄酮提取工艺的最佳条件是加40倍长白红景天质量的乙醇(体积分数为80%),在95℃条件下加热提

取1h.在最佳工艺条件下,测得长白红景天提取物中总黄酮的含量为3.74%.长白红景天提取物在实验浓度范围内对3种自由基(DPPH、羟基、超氧阴离子)均有较好的清除能力,且对3种自由基的清除能力均优于Vc、TBHQ 和 BHT.另外,长白红景天提取物对DPPH的清除能力也优于玫瑰红景天(*R.rosea* L.)<sup>[10]</sup>;因此,长白红景天是一种优良的抗氧化活性的植物.本文在研究中未对提取物中的抗氧化单体化合物进行分离和鉴定,今后将对此进行研究.

## 参考文献:

- [1] 尹秀梅,王思宏.长白山景天科植物品种、植物成分及酶抑制活性的研究进展[J].延边大学学报(自然科学版),2015,41(1):89-94.
- [2] CHIANG H M, CHEN H C, WU C S, et al. Rhodiola plants: Chemistry and biological activity [J]. Journal of Food and Drug Analysis, 2015,23(3):359-369.
- [3] 李承范,王思宏,李东浩.狼爪瓦松、钝叶瓦松和库页红景天提取物的红外光谱分析[J].中华中医药学刊,2018,36(10):2386-2388.
- [4] 王思宏,尹起范,范艳玲,等.长白山地区几种红景天品种的傅里叶变换红外光谱法鉴别研究[J].光谱学与光谱分析,2004,24(8):957-959.
- [5] 王思宏,张敬东.长白红景天中13种无机元素的分析及对比[J].延边大学学报(自然科学版),2013,39(2):125-128.
- [6] 王立军,包海鹰,张友民.长白红景天的解剖学研究[J].吉林农业大学学报,1996,18(S1):3-4.
- [7] 王梦亮,郭婷婷,张娜莎,等.2株长白红景天内生真菌的鉴定及抗氧化活性条件的优化[J].天然产物研究与开发,2015,27(4):667-673.
- [8] 魏磊,刘硕,靳立春,等.长白红景天内生真菌 *Fusariums* sp. HJT-P-5次级代谢产物研究[J].沈阳药科大学学报,2018,35(10):840-844.
- [9] 颜廷芬,周福军,阎秀峰,等.长白红景天天然种群遗传多样性及遗传分化[J].植物研究,1999,19(2):69-74.
- [10] KOSAKOWSKA O, BACZEK K, PRZYBYŁ J L, et al. Antioxidant and antibacterial activity of roseroot (*Rhodiola rosea* L.) dry extracts [J]. Molecules, 2018,23(7):1767.